

ISSN 0044-4502

Том 78, Номер 8

Август 2023



ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ



www.sciencejournals.ru



СОДЕРЖАНИЕ

Том 78, номер 8, 2023

ОБЗОРЫ

Белковые молекулы: шаблоны и матрицы в молекулярном импринтинге

П. С. Пиденко, К. Ю. Пресняков, Н. А. Бурмистрова 675

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Опыт определения фтора в горных породах рентгенофлуоресцентным методом

Т. Г. Кузьмина, Т. В. Ромашова, М. А. Тронева, И. В. Хохлова 690

Адаптивная градуировка в электротермической атомно-абсорбционной спектроскопии

Ю. М. Садагов, А. Ю. Садагов 695

Влияние органических добавок на интенсивность линий металлов в эмиссионном спектре капельно-искрового разряда при вводе пробы в электролитный анод

В. В. Ягов, А. А. Жирков, А. А. Мальченкова 703

Обоснование возможности применения высокочувствительных пьезосенсоров в открытой системе для получения диагностической информации о летучих веществах кожи

Т. А. Кучменко, Д. А. Менжулина, И. А. Мураховский 711

Апробация методики определения изотопного состава отдельных фракций углерода в атмосферном аэрозоле методом масс-спектрометрии изотопных отношений

Д. А. Калашикова, Г. В. Симонова, О. В. Лямкина, А. О. Почуфаров 728

Биогридная технология обнаружения сверхнизких концентраций тринитротолуола в воздухе

В. Н. Кирой, П. О. Косенко, И. Е. Шепелев, И. В. Щербань, А. Б. Смоликов, Ф. В. Арсеньев, А. В. Заборовский, В. А. Аксёнов, М. И. Тивилёва, В. М. Грузнов, И. И. Засыпкина 736

ДИСКУССИИ

О систематической погрешности результата количественного химического анализа: от неправильных терминов до ошибочных концепций

Р. Б. Шагвич, Г. К. Будников, И. Ю. Громов, А. Н. Панкратов 745

ИСТОРИЯ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Истоки и формирование ионной хроматографии

Е. В. Рыбакова 754

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

Новые книги издательства John Wiley & Sons, Ltd.

766

ХРОНИКА

Юбилей И.В. Кубраковой

767

УДК 543.054/.645

БЕЛКОВЫЕ МОЛЕКУЛЫ: ШАБЛОНЫ И МАТРИЦЫ В МОЛЕКУЛЯРНОМ ИМПРИНТИНГЕ

© 2023 г. П. С. Пиденко^а, К. Ю. Пресняков^а, Н. А. Бурмистрова^а, *

^аСаратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Институт химии
ул. Астраханская, 83, Саратов, 410012 Россия

*e-mail: naburmistrova@mail.ru

Поступила в редакцию 07.12.2022 г.

После доработки 04.02.2023 г.

Принята к публикации 09.02.2023 г.

В обзоре рассмотрены вопросы молекулярного импринтинга с участием белковых молекул. Проведен анализ работ, опубликованных за последние пять лет в области биоимпринтинга и посвященных определению биомолекул, а также усилению ферментативной активности. Основное внимание уделено импринтингу белковых молекул как методу модификации структуры белковой молекулы за счет образования сайтов связывания в присутствии субстратов (белковыми молекулами с молекулярным отпечатками или импринтированными белками). Показана перспективность импринтинга белковых молекул при решении аналитических задач. Обсуждена неоднозначная трактовка термина “биоимпринтинг” при решении различных задач.

Ключевые слова: биоимпринтинг, молекулярно импринтированные полимеры, импринтированные белки, белки с молекулярными отпечатками, ферментативная активность, биосенсоры.

DOI: 10.31857/S0044450223070125, EDN: VSBGTH

Создание эффективных биомиметических систем молекулярного распознавания является важной и актуальной задачей современной химии. В настоящее время значительное число аналитических исследований, в том числе при доклинической [1], клинической [2] и ветеринарной диагностике [3], проводят с использованием различных форматов иммуноанализа, основанного на применении антител в качестве специфических рецепторных элементов. Несмотря на неоспоримые преимущества антител, существующие ограничения их применения и хранения, обуславливают значительный интерес к созданию искусственных рецепторных систем. Молекулярный импринтинг, основанный на получении молекулярных отпечатков (молекулярно импринтированных полимеров, МИП) различных соединений при синтезе полимерной матрицы в присутствии субстратов, является одной из наиболее эффективных технологий получения специфических сайтов связывания [4–7]. Впервые такого рода материалы, обладающие способностью к повышенной адсорбции отдельных алкилбензолов, были получены русским ученым М.В. Поляковым в 30-е годы прошлого века при полимеризации силикагеля в присутствии соответствующих углеводов [4]. Общая схема синтеза МИП включает сополимеризацию функционального и сшивающего мономеров в присут-

ствии субстратов (молекул шаблонов). Последующее элюирование молекул шаблона из полимерной матрицы позволяет получить структуру, которая характеризуется наличием “молекулярной памяти” по отношению к молекулам шаблона [7]. Достаточная жесткость полимерной структуры, достигаемая за счет перекрестного сшивания, отвечает за сохранение специфического расположения функциональных групп в МИП [8, 9]. Основным преимуществом применения молекулярного импринтинга является универсальность и относительная простота проведения синтеза, высокая стабильность получаемых структур и высокая специфичность сайтов связывания [8].

Традиционно синтез МИП основан на формировании селективных сайтов связывания в присутствии субстратов в органических и неорганических полимерах синтетического и природного происхождения. Альтернативным подходом к синтезу МИП является использование в качестве матрицы молекул белковой природы. Рецепторы, синтезированные таким методом, называют белковыми молекулами с молекулярным отпечатками или импринтированными белками (ИБ). Первоначально термин ИБ использовали для задач, связанных с усилением стабильности [10–12] и активности [10, 12, 13] ферментов. Возможность иммобилизации ИБ на подложках позволила на-

чать применять их для решения аналитических задач. Первым примером применения ИБ в качестве рецепторного элемента распознавания и определения можно считать работу группы Маттиассона [14], опубликованную в 2016 г.

Цель обзора – анализ работ, посвященных решению аналитических задач при использовании молекулярного импринтинга с участием биомолекул как в роли шаблона, так и матричного полимера. Показаны преимущества применения импринтированных белковых молекул как синтетического аналога природных антител при определении низко- и высокомолекулярных веществ.

БИОИМПРИНТИНГ И ИМПРИНТИРОВАННЫЕ БЕЛКОВЫЕ МОЛЕКУЛЫ. ОСОБЕННОСТИ ТЕРМИНОЛОГИИ

Развитие методов молекулярного импринтинга с участием белковых молекул привело к неоднозначному использованию термина “биоимпринтинг”, что вызывает определенные трудности при поиске и анализе литературных данных.

Традиционно в аналитической химии термином “биоимпринтинг” обозначают процессы формирования сайтов связывания, специфичных к веществам и структурам биологического происхождения – биомолекулам [15, 16], клеткам [17, 18], вирусам [19], ДНК и РНК [20–22], бактериям [23]. В то же время понятие “биоимпринтинг” применяют и для описания процесса импринтинга белковых молекул в присутствии субстратов, приводящего к образованию сайтов связывания, используемых для распознавания и определения низко- и высокомолекулярных соединений [14, 15, 24, 25]. Такое толкование обусловлено тем, что техника синтеза ИБ для решения аналитических задач [14] основана на подходах, разработанных ранее для решения задач биокатализа [26], где под “биоимпринтингом” понимают процесс усиления и сохранения активности ферментов, а также модификацию белков для придания им ферментативных свойств [27–29]. Кроме того, при описании модификации белковой структуры в процессе импринтинга также используют понятия “конформационная модификация” [30], “ферментативная память” [31], “импринтированный белок” [11, 32], “аналог переходного состояния (биомолекулярный импринтинг) (transition state analogue (biomolecular imprinting))” [26, 33], “молекулярный (био)импринтинг на основе межфазной активации (interfacial activation-based molecular (bio)-imprinting)” [10].

Таким образом, при решении аналитических задач на основе модификации структуры белковой молекулы за счет импринтинга, вероятно, бо-

лее целесообразно использовать термин “импринтированные белки”, а не “биоимпринтинг”. Процессы синтеза ИБ следует характеризовать в зависимости от типа молекулы шаблона.

МОЛЕКУЛЯРНОЕ РАСПОЗНАВАНИЕ В АНАЛИЗЕ БИООБЪЕКТОВ (БИОИМПРИНТИНГ)

Современная классификация МИП по типу синтеза включает объемный, поверхностный и эпитопный импринтинг. Ввиду сложностей, возникающих при удалении молекул шаблона из полимерной матрицы, и диффузным ограничениям при образовании комплексов МИП–молекула шаблона, объемный импринтинг не применяется при создании МИП, специфичных к биообъектам. В то же время метод поверхностного импринтинга в случае биообъектов является более эффективным и представляет собой основной метод синтеза биоимпринтированных полимеров.

Ранее опубликованы обзоры работ, рассматривающих возможности применения молекулярного биоимпринтинга для распознавания клеток [17], при разработке биосенсоров [18], а также при решении задач биомедицины и биотехнологии [34, 35]. В данном обзоре рассмотрены работы, посвященные аналитическому применению биоимпринтированных систем (табл. 1).

Биоимпринтинг клеточных структур открывает возможность получения микро- и нанотопографических отпечатков, сохраняющих форму и размер поверхности слоя клеток [40, 41]. При этом процесс биоимпринтинга включает стадии выращивания клеток, внутриклеточной фиксации и заливки полимерным материалом для получения отпечатка. Основными полимерными материалами, используемыми для клеточного биоимпринтинга, являются полидиметилсилоксан, полистирол и полиметакрилат [42]. В плане повышения степени биоразложения и экологичности материала альтернативой могут служить пластмассы на основе казеина, апробированные при получении отпечатков мышечных клеток мыши (миобласты C2C12) [42].

Известны примеры успешного применения биоимпринтинга клеток для решения аналитических задач. Описан [36] метод концентрирования и идентификации микроорганизмов в водных образцах. Предложена оригинальная схема иммуноферментного анализа (**ИФА**), в которой первичные антитела заменены на отпечатки соответствующих бактерий в полидиметилсилоксане и полиуретане, а вторичные антитела – бифункциональными наночастицами SiO₂, конъюгированными с пероксидазой хрена (**ПХ**). Полученные отпечатки обладали высокой специфичностью и позволили увеличить эффективность сорбции со-

Таблица 1. Примеры биоимпринтированных полимеров

Мономер/носитель	Шаблон	c_{\min} /ДОС	ИФ	Метод исследования	Литература
Полиуретан/–	<i>Escherichia coli</i> <i>Rhodococcus rhodochrous</i> <i>Sarcina aurantiaca</i>	–/–	~2	Абсорбционная спектроскопия	[36]
Полиуретан (полиэтиленимин)/–	Микрогранулы полиметилметакрилата	–/–	20	Проточная цитометрия	[37]
3-(Аминопропил)триметоксисилан, тетраэтоксисилан/наночастицы серебра	Двухцепочечная ДНК точечного мутантного гена экзона 21 EGFR	12.5 нМ/ 1.5–93 мкМ	4.1	ЦВА, ДИВА	[20]
1,2-Диаминобензол/графитовый электрод	Судан II (1-(2,4-диметилфенилазо)-2-нафтол)	0.3 нМ/ 1.0–500.0 нМ	–	ЦВА, КВВА	[21]
N,N'-метиленабисакриламид N-изопропилакриламид/эластомерная копия дифракционной решетки	Вирус ямчатости древесины яблони	10 нг/мл/–	–	Лазерный дифракционный анализ	[19]
Толуидиновый синий/золотой электрод	Простат-специфический антиген	–/0.001– 40 мМ	–	ЦВА, ДИВА	[38]
Толуидиновый синий/стеклоуглеродный электрод	Конъюгат простат-специфического антигена с пероксидазой хрена	2.23 нг/мл/ 0.01–100 мкг/мл	–	ДИВА, КВВА, Хроноамперометрия	[16]
1,2-Диаминобензол/модифицированный графитовый электрод	Дофамин	6 нМ/ 20–7000 нМ	–	ЦВА, ДИВА	[22]
Тетраметоксисилан, метилтриметоксисилан, 2-(метокси(полиэтиленокси)пропил)триметоксисилан (олиго(окись этилена)силан)/–	Цитохром С, зеленый флуоресцентный белок, бычий сывороточный альбумин, пероксидаза хрена, глюкозооксидаза, лизоцим	–/–	8	Абсорбционная спектроскопия Флуоресцентная спектроскопия	[39]

Используемые сокращения: ДОС – диапазон определяемых содержаний, АСМ – атомно-силовая микроскопия, ДИВА – дифференциально-импульсная вольтамперометрия, КВВА – квадратно-волновая вольтамперометрия, СЭМ – сканирующая электронная микроскопия, ЦВА – циклическая вольтамперометрия.

ответствующих им бактериальных культур ~ в два раза.

В работе [37] предложена методика направленного выделения раковых клеток из крови, основанная на применении шаблона-имитатора (микрогранул полиметилметакрилата) в качестве размерного аналога клеток лейкемии человека (HL60). Синтезированный материал характеризовался высокими характеристиками удерживания клеток и специфичностью. Дополнительное введение модификаторов (1% полиэтиленimina, 3% Полоксамера-407) позволило увеличить эффективность удерживания клетки HL60 в 20 раз. При оптимальной композиции материала удержание клеток HL60 в пять раз превышало этот показатель по сравнению с мононуклеарными клетками периферической крови человека.

Значительный интерес представляет применение метода биоимпринтинга в сочетании с различными связывающими агентами (антителами, аптамерами и пептидами) для решения задач распознавания и захвата циркулирующих опухолевых клеток. Безметочный подход к определению циркулирующих опухолевых клеток поджелудочной железы, выделяемых из здоровых клеток периферической крови, и определение селективности опухолевых клеток-мишеней по отношению к здоровым клеткам крови человека предложены в работе [40]. Многостадийный процесс синтеза молекулярных отпечатков на пленке полиэтилентерефталата позволил получить импринтированный материал, способный захватывать и концентрировать опухолевые клетки поджелудочной железы из смешанной клеточной популяции, который использовали для изоляции клеток опухоли поджелудочной железы от здоровых лейкоцитов.

Примерами применения молекулярного импринтинга при разработке биосенсоров являются работы [20, 21]. Электрохимический нанобиосенсор для определения противоракового препарата гемцитабина на основе взаимодействия с мутантным экзоном 21 гена человека EGFR предложен в работе [20], импринтинг фактор (ИФ) материала составил 4.1. Авторами работы [21] разработана сенсорная система для определения красителя Судан II на основе ДНК-импринтированного поли-*o*-фенилендиамина. Показано, что разработанный ДНК-биосенсор в 1.8 раза эффективнее сорбирует молекулы Судана II и в 2.1 раза меньше сорбирует молекулы Судана I по сравнению с известным аналогом. Это свидетельствует о перспективности предложенного подхода как для повышения сорбционной емкости, так и для улучшения селективности определения.

Достоинством биоимпринтинга является возможность получения “молекулярных отпечатков” и значительно более крупных структур. В ра-

боте [19] использовали гидрогель, синтезированный реакцией окислительной кополимеризации N,N'-метиленбисакриламида, N-изопропилакриламида и N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамина в присутствии аптамера вируса ямчатости древесины (стебля) яблони для изготовления сенсора. Аналитические характеристики разработанного сенсора (табл. 1) сопоставимы с классическим ИФА и флуоресцентными методами определения.

Биоимпринтинг белков. Анализ работ, посвященных молекулярному импринтингу белковых молекул и их использованию при разработке биосенсоров, дан в обзоре [43]. Сложность молекулярной структуры белковых молекул вызывает определенные трудности при разработке такого типа сенсорных элементов. В то же время известны примеры успешного применения биоимпринтинга при разработке электрохимических сенсоров для определения белковых молекул [16, 38, 44].

Сардаремелли и соотр. [16] разработали биосенсор для определения H₂O₂ в модельных соединениях и в составе плазмы крови человека методами дифференциальной импульсной вольтамперометрии, квадратно-волновой вольтамперометрии и хроноамперометрии. Модификацию стеклоуглеродного электрода биоимпринтированным материалом проводили методом электрополимеризации толуидинового синего в присутствии конъюгата простат-специфического антигена с ПХ. Биосенсор позволил определять H₂O₂ в модельных смесях и искусственно загрязненных образцах плазмы крови человека на уровнях 0.001–40 мМ и 0.005–25 мМ соответственно. Другой пример электрохимического биосенсора для определения H₂O₂ в образце плазмы крови человека, а также ПХ представлен в работе [38]. В качестве подложки для синтеза биоимпринтированного полимера на основе β-циклодекстрина использовали стеклоуглеродный электрод, определение H₂O₂ проводили методом хроноамперометрии при pH 6.98. Последовательную модификацию золотого электрода глутаральдегид-цистеаминовой матрицей и МИП на основе толуидинового синего использовали для определения простат-специфического антигена в образце человеческой плазмы [44].

Авторами работ [16, 38, 44] показано, что аналитические характеристики определения аналитов сопоставимы с известными сенсорными системами. Это свидетельствует о перспективности применения биоимпринтированных полимеров в биомедицинских исследованиях. В то же время отсутствие информации о сорбционных характеристиках материалов не позволяет в полной мере оценить их практическую значимость.

Интересный вариант нестандартной матрицы для биоимпринтинга белков предложен в работе [39]. Палочковидные бактерии *Bacillus subtilis* использовали как носитель при создании

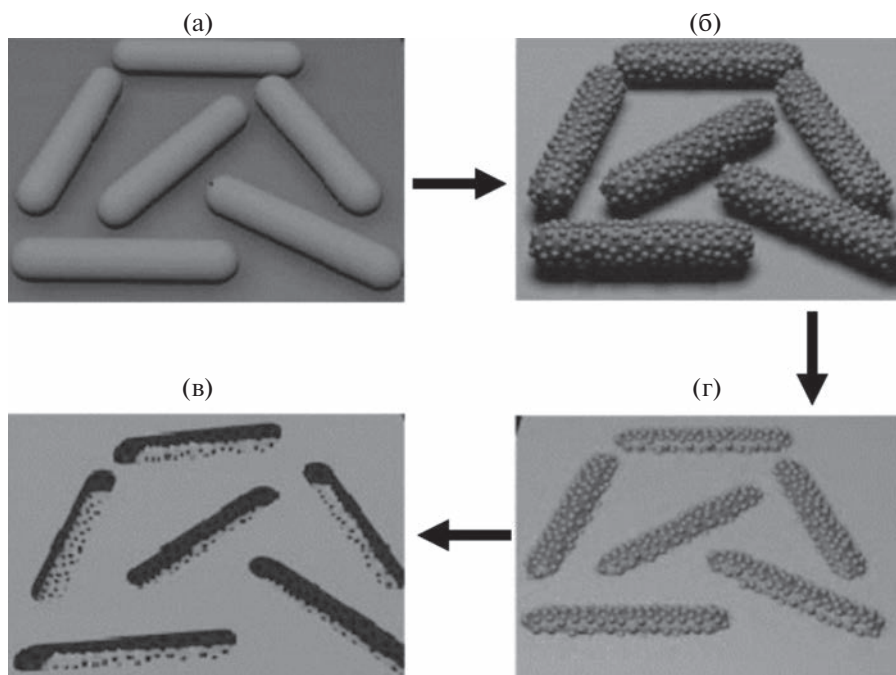


Рис. 1. Схема биоимпринтинга белков с применением бактерий. а – иммобилизация бактерий на поверхности стекла; б – белки, иммобилизованные на поверхности бактерий; в – нанесение кремнеземного золя; г – отпечатки, селективные к белку, образовавшиеся в пленке кремнезема после удаления белковых бактерий. Адаптировано из [39].

микронных отпечатков белков (цитохром С или зеленый флуоресцентный белок) в кремнеземной пленке (рис. 1). Полученный материал характеризовался высоким значением ИФ (8) и специфичностью по отношению к другим белкам, а именно к бычьему сывороточному альбумину (БСА), ПХ, глюкозооксидазе (ГО), лизоциму. Авторами обсуждены причины высокой специфичности синтезированных МИП к цитохрому С.

ИМПРИНТИРОВАННЫЕ БЕЛКОВЫЕ МОЛЕКУЛЫ

Импринтинг белковых молекул – широко распространенная техника в современной энзимологии, биотехнологии и производстве биотоплив. В данном разделе рассмотрена основа этого направления импринтинга, его краткая история и современное состояние. Импринтингом белковых молекул следует считать метод модификации структуры белковой молекулы за счет образования сайтов связывания [45]. Замена органического полимера на белковую молекулу позволяет сохранить общую концепцию молекулярного импринтинга, включающую основные этапы получения селективного сайта связывания и подходы распознавания целевых молекул [14].

Привлекательность использования белковых молекул в молекулярном импринтинге и распознавании обусловлена набором их уникальных свойств [46]. Упорядоченная укладка аминокис-

лотной последовательности формирует трёхмерную структуру белка, характеризующуюся хиральной активностью, включающую в себя щели, полости и набор функциональных групп, способных взаимодействовать как с небольшими лигандами, некоторыми видами поверхностей и с другими биополимерами посредством нековалентных гидрофобных связей. Кроме того, при взаимодействии двух и более структур проявляются кооперативные эффекты, в результате которых система получает новые свойства, отсутствующие у отдельных компонентов [47]. Взаимодействие белка с лигандом приводит к образованию наиболее комплементарного сайта связывания среди энергетически доступных конформационных микросостояний посредством незначительного изменения локальной структуры белка. Это позволяет лигандам вступать во взаимодействие с малоразличимыми конформациями белка. Таким образом, структурная память в таких системах достигается посредством конформационных изменений при образовании комплекса белок–молекула шаблона. Стабилизация и фиксация модифицированной структуры происходит при переводе комплекса в безводные среды [48], а в водных средах за счет использования сшивающих агентов [14].

Считается [8, 46], что первой попыткой создания сайта связывания в белковой молекуле явилась работа Полинга [49], в которой описывался возможный способ *in vitro* получения антител с

необходимой специфичностью из γ -глобулинов быка. Глобулин или другой белок предлагалось [50, 51] поместить в раствор, содержащий антиген, а затем обработать денатурирующим агентом или подвергнуть воздействию, вызывающим раскручивание концов цепи. Устранение влияющих денатурирующих условий приводило к ренатурации цепей и, как следствие, к образованию устойчивой в данных условиях конфигурации, комплементарной антигену и получившей свойства специфического гомологического антитела. В качестве матричного белка использовали бычий γ -глобулин, в качестве антигенов – трифенилэтиленовый краситель метиловый синий и полисахарид пневмококка III типа. Осаждение поликлональных γ -глобулинов полисахаридом пневмококка III типа показало определенную степень селективного распознавания. Считается, что полученные экспериментальные результаты обладают некоторой степенью “сомнительности”; возможно, в связи с этим идея создания искусственных антител трансформировалась в работы Дики [52] по молекулярному импринтингу на основе кремнезема для разделения смеси метилового оранжевого и этилового оранжевого. Несмотря на дальновидность Полинга, первой работой, посвященной применению описанного им подхода, можно считать работу Лиу 2004 г. [26]. В то же время работы по модификации структуры белков техникой “биоимпринтинга” за счет перевода белков в органические среды и, как следствие, усиления ферментативной активности протеазы субтилизина в органических растворителях известны с конца 1980-х годов [31]. В дальнейшем биоимпринтинг успешно применяли для сохранения конформации и химических свойств белковых молекул при глубоком замораживании или осаждении [53], улучшения свойств ферментов в системах без растворителя [12], а также в виде метода импринтирования белковых молекул при создании систем селективного распознавания [54, 55]. К области применения последних относится изготовление клинических лекарств и платформ целевой доставки лекарственных веществ в организме, поскольку получаемые белковые материалы обладают свойствами, аналогичными природным ферментам [56].

Ферментативные системы. Использование биокатализа в органическом синтезе является более эффективной и экологически чистой альтернативой традиционным химическим методам [57, 58]. Биоимпринтинг можно рассматривать как один из существующих в настоящее время экономически выгодных методов получения стабильных ферментов, характеризующихся селективными или энантиоселективными свойствами.

Основные этапы биоимпринтинга ферментов и белков представлены на рис. 2 [58]. образова-

ние комплекса между белковой молекулой и молекулой-шаблоном осуществляется в водном растворе, перевод комплекса в органический растворитель вызывает осаждение импринтированного белка и фиксацию “переходного” состояния. На следующем этапе происходит удаление молекулы шаблона, что приводит к образованию сайта связывания, устойчивого только в безводных растворителях. Водные растворы создают условия для перехода белковой молекулы к первоначальной термодинамически благоприятной конформации и, как следствие, для разрушения сайта связывания. Закс и Клибанов [57–59] используют термин “pH-память”, обозначающий сохранение и проявление ферментами каталитической активности, соответствующей кислотности водного раствора, в котором они находились при импринтинге. Объяснение этого эффекта связано с сохранением ионогенными группами белка состояния ионизации при его дегидратации и помещении в органический растворитель.

Наибольшее распространение среди ферментов, применяемых в биотехнологии, получили липазы [60] благодаря их способности катализировать ряд реакций в различных по составу средах. Тем не менее низкая стабильность и снижение активности в органических средах существенно ограничивает число коммерчески доступных липаз. Например, липаза, продуцируемая дрожжами рода *Candida antarctica*, проявляет ферментативные свойства в органической среде, однако стоимость препарата достаточно высока (2600 \$/кг в 2021 г.) [61]. Биоимпринтинг, наряду с иммобилизацией ферментов [62] и созданием липидного покрытия [63], является одним из методов модификации липаз. В случае использования липаз в качестве матричных молекул требуется межфазная активация, что связано с наличием “крышки”, закрывающей сайт связывания в водной среде и контролирующей доступ субстрата к активному центру [13, 64]. Активация межфазной поверхности двухвалентными катионами, неполярными органическими растворителями и поверхностно-активными веществами способствует повышению каталитических свойств липаз. Кроме того, успешным является применение жирных кислот, являющихся субстратами липаз, в качестве лигандов и соединений, способствующих межфазной активации [13, 48, 65, 66].

Примеры импринтированных липаз представлены в табл. 2. Метод синтеза биоимпринтированных ферментов подробно описан на примере липаз, продуцируемых *Burkholderia cepacia* [66] и *Candida rugosa* [67, 68], ряд карбоновых кислот использовали в качестве молекул шаблонов. Ферментативные свойства верифицировали по реакции переэтерификации винилацетата и бензилового спирта. Модификация липазы методом “биоимпринтинга” позволила увеличить началь-

ную скорость реакции в пять раз по сравнению с неимпринтированной липазой, полученной по аналогичной методике без добавления молекул шаблонов. Наибольшее увеличение скорости реакции показала липаза, модифицированная масляной кислотой, что авторы объясняют сопоставимыми размерами молекулы шаблона и субстрата и, как следствие, достижением наилучшей конформации фермента в процессе биоимпринтинга. При использовании перфторкарбоновых кислот самая высокая скорость наблюдалась для липазы, подвергнутой биоимпринтингу в присутствии пентафторпропионовой кислоты.

Авторами работы [72] предпринята попытка иммобилизации без носителя импринтированной липазы, продуцируемой *Candida rugosa*, для сохранения свойств в водных средах. Биоимпринтинг осуществляли по известной методике [73] с использованием олеиновой кислоты в качестве молекул шаблона, полиэтиленimina как коагрегатора фермента, глутарового альдегида – для ковалентной сшивки. Проведение “биоимпринтинга” и ковалентной сшивки липазы способствовало увеличению ее каталитической активности в реакции гидролиза в 10.4 раза по сравнению с нативной, а также увеличению термостабильности и возможности пятикратного использования без существенного снижения производительности.

Сочетание биоимпринтинга и иммобилизации ферментов открывает возможность выделения фермента после проведения реакции и таким образом его многократного использования; как результат, увеличивается чистота и снижается стоимость целевого продукта [74, 75]. Кроме того, иммобилизованные импринтированные ферменты менее подвержены денатурации, что способствует повышению стабильности при нагревании, по отношению к органическим растворителям и физическому воздействию. Повышенная стабильность ферментов обусловлена увеличением структурной жесткости белка, предотвращающей конформационные изменения, потенциально способные приводить к его инактивации [70].

Влияние иммобилизации на различных носителях (хитозан, полипропиленовые гранулы, полипропиленовый порошок, Assurel MP-1000, Nanomer I.44P, Immobead 150) на активность и стабильность биоимпринтированной рекомбинантной липазы LipC12 в органическом растворителе (*n*-гептан) изучено в работе [60]. Биоимпринтинг липазы LipC12 проводили по одностадийной методике [48], в качестве молекулы шаблона использовали олеиновую кислоту. Увеличение биокаталитической эффективности биоимпринтированной липазы LipC12 в реакции этерификации олеиновой кислоты и 1-пентанола наблюдали для всех исследуемых носителей.

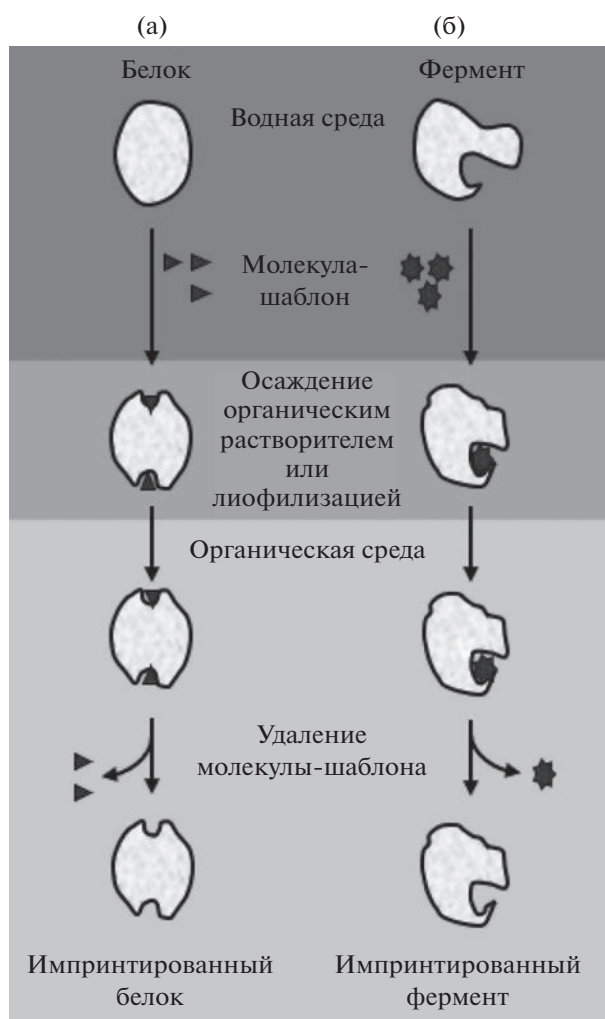


Рис. 2. Основные этапы получения импринтированных белков и ферментов методом биоимпринтинга.

Наибольшее увеличение активности наблюдалось для подложек, обладающих гидрофобными свойствами. Это может быть обусловлено проявлением у олеиновой кислоты свойств поверхностно-активного вещества и, как следствие, улучшением контакта иммобилизационной среды с носителем. Показана возможность многократного использования импринтированной липазы LipC12, иммобилизованной на подложке Immobead 150, при сохранении ферментативной активности (>95% после восьми циклов).

Биоимпринтинг рекомбинантной липазы В, полученной из *Candida antarctica* и экспрессированной в дрожжи семейства *Pichia pastoris*, описан в работе [76]. Биоимпринтинг осуществляли инкубацией предварительно иммобилизованных поперечно-сшитых ферментных агрегатов в присутствии ольванила в качестве молекул шаблона. Показано увеличение ферментативной активности липазы В в 1.6 раза по сравнению с неимприн-

Таблица 2. Импринтированные ферменты

Фермент	Молекула-шаблон	Носитель/ сшивающий агент	ИФ	Метод исследования	Литература
Липаза	<i>Burkholderia seracida</i>	–/–	4–70	Титрование	[48]
	<i>Sus scrofa domestica</i>				
Липаза	<i>Candida rugosa</i>	–/–	3	ВЭЖХ-УФ	[65]
Липаза	<i>Burkholderia seracida</i>	–/–	5	ВЭЖХ-УФ	[66]
Липаза	<i>Candida rugosa</i>	–/–	3–5	ВЭЖХ-УФ	[67]
Липаза	<i>Burkholderia seracida</i>	–/н-бензохинон	–	ГХ-ПИД, титрование	[27]
Липаза	<i>Candida rugosa</i>	–/глутаровый альдегид	10.4	ГХ-ПИД, ВЭЖХ-МС	[68]
Липаза	<i>Burkholderia seracida</i>	МНЧ/–	54	ВЭЖХ-УФ, титрование	[69]
Липаза	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	–	–	ГХ-ПИД	[28]
Липаза	LipC12	Хитозан, полипропиленовые гранулы и порошок	–	Титрование	[59]
Липаза	<i>Burkholderia seracida</i>	МНЧ, МНЧ@SiO ₂ , УНТ/–	–	ГХ-ПИ/ПФД, титрование	[29]
	<i>Candida rugosa</i>				
	<i>Rhizomucor miehei</i>				
Липаза В	<i>Candida antarctica</i>	–/глутаровый альдегид	13	ВЭТСХ	[70]
Фосфолипаза D	<i>Streptomyces sp. PMF</i>	SiO ₂ НЧ/глутаровый альдегид	14	ВЭЖХ-ИКФС	[71]

Используемые сокращения: ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; ГХ – газовая хроматография; ВЭТСХ – высокоэффективная тонкослойная хроматография; МНЧ – магнитная наночастица; ПИД – пламенно-ионизационный детектор; ПФД – пламенно-фотометрический детектор; УНТ – углеродные нанотрубки; ИКФС – инфракрасная Фурье-спектроскопия.

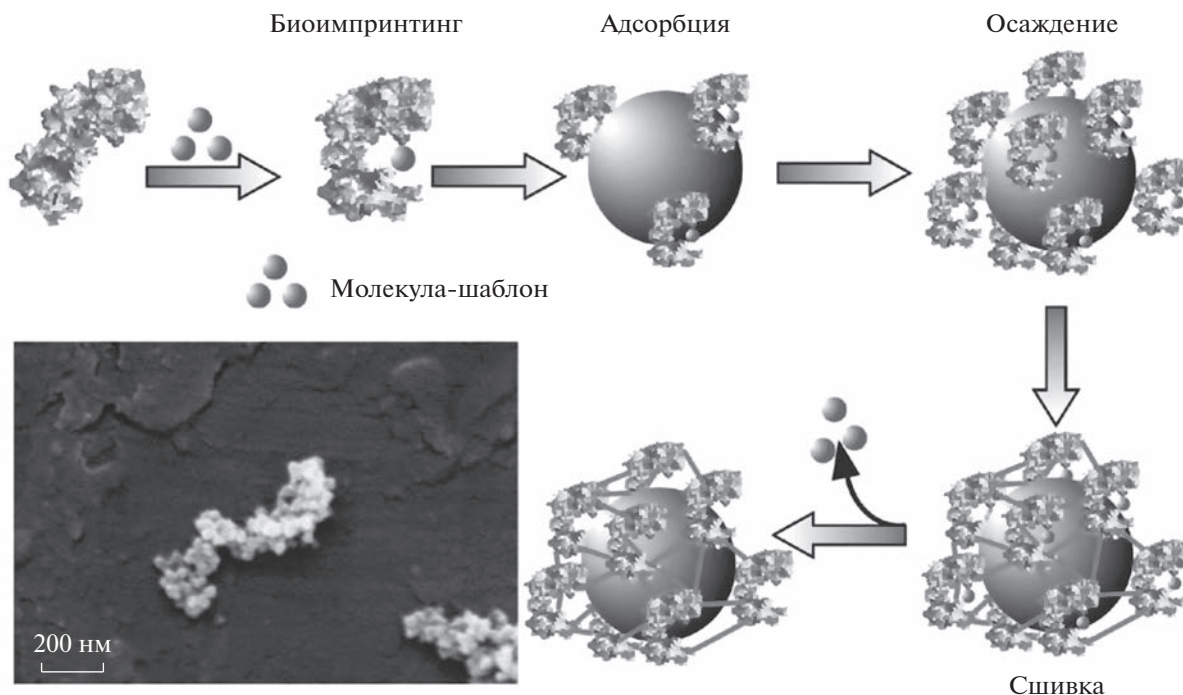


Рис. 3. Схема биопринтинга с адсорбцией и перекрёстной сшивкой. Адаптировано из [77].

тированным аналогом и в два раза по сравнению с коммерческими образцами перекрестно-сшитой липазы.

Известны примеры иммобилизации биопринтированных молекул на носителях, характеризующихся высокоразвитой удельной поверхностью, таких как мультикапилляры [71] и наночастицы [69, 77]. Адсорбция на магнитных наночастицах липазы, полученной из *Burkholderia ceracia*, биопринтированной винилацетатом, позволила увеличить активность фермента более чем на 10%, повысить выход энантиомера (от 77.4 до 98.8%) и сократить время реакции (с 60 до 20 мин) [77]. Иммобилизованная биопринтированная липаза показала высокую стабильность работы и возможность многократного использования (не менее восьми циклов) в реакции энантиоселективной перэтерификации между рацемическим 1-фенилэтанолом и винилацетатом в гексане и гептане. Пример гиперактивации фосфолипазы D представлен в работе [69]. Биопринтинг фосфолипазы D и ее последующая иммобилизация на поверхности диоксида кремния (рис. 3) позволили в 14 раз увеличить активность белка (166 953 U/г) по сравнению со свободной формой (11 922 U/г), а также обеспечить сохранение конформационных изменений при работе в водных средах.

Приведенные данные показывают, что сочетание современных протоколов импринтинга фер-

ментов с возможностью иммобилизации на поверхности носителей позволяет существенно повысить их ферментативную активность. При этом важное значение имеет величина ИФ полученных систем, которая в данном случае оценивается как отношение ферментативной активности импринтированного и неимпринтированного ферментов (табл. 2). Наиболее высокие значения ИФ отмечены для биопринтированных ферментов, иммобилизованных на поверхности носителя [69]. В связи с этим подобные системы импринтированных белков выглядят наиболее перспективными в качестве рецепторных элементов при разработке биомиметических сенсорных систем.

Рецепторные системы. Оригинальная методика “биопринтинга” овальбумина для придания ему ферментативных свойств глутатион-пероксидазы предложена Лиу в 2004 г. [26] и может считаться предвестником современного применения ИБ как рецепторных систем в аналитической химии. Основными особенностями предложенного подхода являются проведение импринтирования белка в водной среде и использование для фиксации полученной белковой структуры сшивающего агента – глutarового альдегида (рис. 4). Рассматривая этот процесс с точки зрения молекулярного импринтинга, можно сказать, что белковая молекула выступает в роли крупного функционального ко-мономера, а глutarовый альдегид – в роли сшивающего – матричного мо-

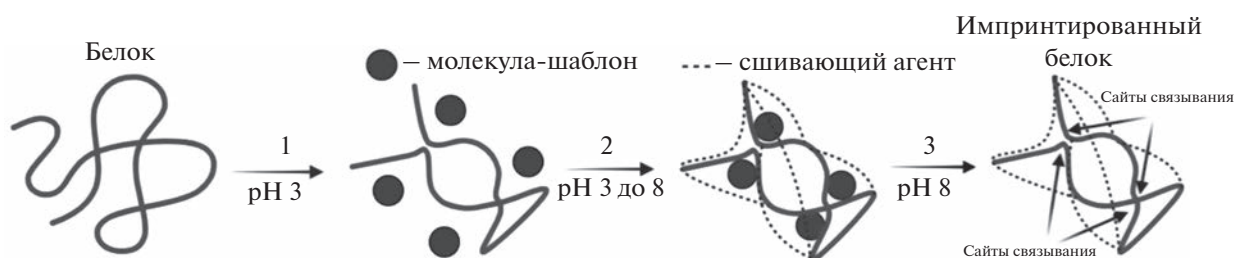


Рис. 4. Схема импринтинга белковых молекул в водной среде.

номера. Это позволяет отнести такой тип биоимпринтинга к классическому молекулярному импринтингу и использовать его терминологию.

Описанный подход получил развитие для решения задач аналитической химии, начиная с 2016 г. [14], в том числе в работах нашей группы [54, 55, 71]. Аналитические характеристики разработанных систем представлены в табл. 3.

Методика синтеза импринтированного овальбумина для определения микотоксина афлатоксина В1 разработана Матиассоном и сотр. [14]. Синтез импринтированного белка включал стадии (1) обратимой денатурации в растворе HCl

(pH 3.0, 10 мин), (2) импринтинга белка в присутствии молекул шаблона (10 мин), (3) ренатурации белка в щелочной среде (при добавлении NaOH до pH 8.0), (4) закрепления полученной структуры белковой молекулы в присутствии сшивающего агента (глутаровый альдегид, 4°C, 12 ч). Молекулы шаблона удаляли из синтезированных ИБ диализом против фосфатно-солевого буферного раствора (10 мМ, pH 7.4, 48 ч). Полученный импринтированный овальбумин успешно использовали для сенсорного определения афлатоксина В1 методом циклической вольтамперометрии. Имобилизацию ИБ проводили на золотом электроде, предварительно модифици-

Таблица 3. Рецепторные системы на основе импринтированных белковых молекул

Белок	Молекула-шаблон	Носитель	Метод исследования	c_{\min} , мкг/л	ДОС, мкг/л	ИФ	Литература
Овальбумин	Афлатоксин В1	Золотой электрод	ЦВА	0.002	1–1000	1.62	[14]
БСА	Зеараленон	МТП	ИБ-ИФА	4	8–500	2.24	[54]
Овальбумин				н/д	н/д	1.80	
ГЛУ	Зеараленон	МТП	ИБ-МФА	н/д	н/д	1.32	[24]
БСА				5	10–290	2.32	
Овальбумин	Дезоксиниваленон	МТП	ИБ-МФА	35	55–420		
Овальбумин	Зеараленон	МОВ, МК	ИБ-ИФА	0.12	1–8	2.05	[74]
Фруктозамин	Липоса-хариды	ФК	Дифракция	0.87	н/д	н/д	[77]
				<i>E. coli</i>			
				1.22			
Овальбумин	Квакхурин	МТП	ИБ-ИФА	4 мг/л	4.7–75.0 мг/л	1.5	[25]
	Моноклональные антитела против глицирризина	МТП	ИБ-ИФА	0.8 мг/л	2.3–37.5 мг/л	3.12	
ГО	Овальбумин	МТП	ИБ-МФА	6	10–2000	4.7	[29]

Используемые сокращения: ЦВА – циклическая вольтамперометрия; ГЛУ – гемоцианин лимфы улитки; МТП – микро титровальный планшет; ИБ-ИФА – иммуноферментный анализ на основе ИБ; ИБ-МФА – иммунофлуоресцентный анализ на основе ИБ; МОВ – микроструктурный оптический волновод; МК – мультикапилляр; ФК – фотонный кристалл.

рованном самоорганизующимся монослоем альфа-липоевой кислоты и активированном N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)карбодиимидом.

Синтез ИБ, специфичных к микотоксину зеараленону, с использованием различных белков (БСА, овальбумина и гемоцианин лимфы улитки) изучен в работе [55]. Сравнение сорбционных характеристик ИБ показало, что наибольшим ИФ (2.2) характеризуется БСА. Имобилизация ИБ на поверхности микропланшета позволила разработать методику определения зеараленона в формате иммуноанализа и показать возможность использования ИБ для замены антител. Валидация разработанной методики проведена на примере искусственно загрязненных образцов пшеницы и кукурузы с использованием ВЭЖХ-МС/МС. Аналитические характеристики сопоставимы с коммерческими тест-системами на основе антител. В дальнейшем работа получила продолжение [24]. Авторами предложен подход к одновременному определению зеараленона и дезоксинаваленола в формате иммунофлуоресцентного анализа на основе ИБ и применению в качестве меток люминесцентных нанокристаллов (квантовых точек) с разными длинами волн испускания (547 и 632 нм). Предложенный подход успешно апробирован при одновременном определении микотоксинов в образцах пшеницы и кукурузы. Аналитические характеристики позволяют контролировать присутствие микотоксинов на уровнях, рекомендованных Европейской Комиссией (ЕК 401/2006).

Нами показана возможность использования ИБ для модификации внутренней поверхности стеклянных микроструктурных оптических волноводов и мультикапилляров [71]. В качестве белка-носителя использовали овальбумин, молекулы шаблона – зеараленон. Показано, что использование высокоэффективных оптических платформ и систем с развитой поверхностью позволяет снизить ϵ_{\min} в 33 раза по сравнению с результатами, полученными на микропланшете.

Определенный интерес в плане применения возможностей ИБ в аналитической химии представляет работа [25]. Авторами проведено систематическое изучение влияния природы белка на свойства ИБ с использованием в качестве молекулы шаблона квакхурин. Установлено, что наилучшие сорбционные и аналитические характеристики достигаются при импринтировании моноклональных антител. Этот факт подтверждает концепцию Полинга по *in vitro* синтезу антител [49–51]. Возможность направленной смены специфичности моноклональных антител с учетом поставленной задачи является перспективным направлением современной биотехнологии. В то же время использование для импринтинга моно-

клональных антител приводит к увеличению стоимости анализа.

В ряде работ для определения биомолекул (биоимпринтинга) в качестве функционального мономера использованы белковые молекулы [14, 24, 25, 54, 55]. По аналогии с синтезом МИП, специфичных к клеточным структурам, предложена оригинальная методика обнаружения грамотрицательных бактерий на основе импринтированного фруктозоамина [78]. Липосахариды, выделенные из бактерий, использованы в качестве молекул-шаблонов, а фотонный кристалл на основе гидрогелей полистирола применен в качестве носителя. Обнаружение бактерий основано на измерении изменения дифракционных характеристик фотонного кристалла. Нами разработана методика синтеза импринтированной ГО, специфичной к овальбумину и ПХ [54]. Возможность прямого определения ПХ на основе хромогенной реакции с 3,3',5,5'-тетраметилбензидином использовали для оптимизации условий импринтинга, которые в дальнейшем применяли для синтеза импринтированной ГО, специфичной к овальбумину.

Представленные работы демонстрируют возможность создания сенсорных элементов на основе ИБ с использованием протоколов, известных для иммунохимических методов анализа. Основным преимуществом ИБ является возможность быстрого получения сенсорного элемента на целевые молекулы, отказа от использования лабораторных животных и сложного оборудования. Немаловажной является также возможность существенного снижения себестоимости анализа по сравнению с иммунохимическими аналогами при многосерийном производстве.

Синтез белков с молекулярными отпечатками является перспективной альтернативой методам определения и выделения на основе моноклональных и поликлональных антител в формате иммунохимического анализа. При этом возможность интеграции подходов, известных в области молекулярного импринтинга, позволяет получать ИБ, специфичные как к низко-, так и к высокомолекулярным соединениям и характеризующиеся более высокой стабильностью к изменениям температуры и кислотности среды по сравнению с природными антителами. Немаловажным является и тот факт, что ИБ полностью соответствуют принципам “зеленой химии” и теоретически могут быть использованы при проведении аналитических исследований и специфическом выделении молекул-мишеней как в *in vitro*, так и в *in vivo* форматах.

При получении белков с молекулярными отпечатками необходимо учитывать, что важным этапом является подбор белковой молекулы, да-

ющей возможность импринтинга отдельно для каждой молекулы-шаблона, что может занимать значительное время. Отсутствие теоретической базы при выборе белковой матрицы не позволяет в настоящее время говорить о возможности широкого внедрения данной технологии в аналитическую практику.

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грант № 22–16–00102).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Korbakis D., Schiza C., Brinc D., Soosaipillai A., Karakosta T D., Légaré C., Sullivan R., Mullen B., Jarvi K., Diamandis E.P., Drabovich A.P.* Preclinical evaluation of a TEX101 protein ELISA test for the differential diagnosis of male infertility // *BMC Medicine*. 2017. V. 15. № 1. P. 1. <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0817-5>
2. *Chau C.H., Strobe J.D., Figg W.D.* COVID-19 clinical diagnostics and testing technology // *Pharmacotherapy*. 2020. V. 40. № 8. P. 857. <https://doi.org/10.1002/phar.2439>
3. *Saushkin N.Y., Samsonova J.V., Osipov A.P., Kondakov S.E.* Strip-dried blood sampling: applicability for bovine leukemia virus detection with ELISA and real-time PCR // *J. Virol. Methods*. 2019. V. 263. P. 101. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2018.11.004>
4. *Поляков М.В.* Адсорбционные свойства силикагеля и его структура // *Журн. физ. химии*. 1931. Т. 2. № 6. С. 799.
5. *Belbruno J.J.* Molecularly imprinted polymers // *Chem. Rev*. 2019. V. 119. № 1. P. 94. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00171>
6. *Гендриксон О.Д., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б.* Молекулярно импринтированные полимеры и их применение в биохимическом анализе // *Успехи биол. химии* 2006. Т. 46. С. 149.
7. *Mosbach K.* Molecular imprinting // *Trends Biochem. Sci*. 1994. V. 19. № 1. P. 9.
8. *Sellergren B.* Molecularly Imprinted Polymers. Man-Made Mimics of Antibodies and their Applications in Analytical Chemistry. (Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry. Netherlands: Elsevier, 2001. 558 p.
9. *Spivak D.A., Shea K.J.* Binding of nucleotide bases by imprinted polymers // *Macromolecules*. 1998. V. 31. № 7. P. 2160. <https://doi.org/10.1021/ma971310d>
10. *Mingarro I., Abad C., Braco L.* Interfacial activation-based molecular bioimprinting of lipolytic enzymes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1995. V. 92. № 8. P. 3308. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.8.3308>
11. *Peißker F., Fischer L.* Crosslinking of imprinted proteases to maintain a tailor-made substrate selectivity in aqueous solutions // *Bioorg. Med. Chem*. 1999. V. 7 № 10. P. 2231. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(99\)00156-X](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(99)00156-X)
12. *González-Navarro H., Braco L.* Improving lipase activity in solvent-free media by interfacial activation-based molecular bioimprinting // *J. Mol. Catal. B: Enzym*. 1997. V. 3. № 1. P. 111. [https://doi.org/10.1016/S1381-1177\(96\)00038-0](https://doi.org/10.1016/S1381-1177(96)00038-0)
13. *Fishman A., Cogan U.* Bio-imprinting of lipases with fatty acids // *J. Mol. Catal. B: Enzym*. 2003. V. 22. № 3–4. P. 193. [https://doi.org/10.1016/S1381-1177\(03\)00032-8](https://doi.org/10.1016/S1381-1177(03)00032-8)
14. *Gutierrez A.V., Hedström M., Mattiasson B.* Bioimprinting as a tool for the detection of aflatoxin B1 using a capacitive biosensor // *Biotechnol. Rep*. 2016. V. 11. P. 12. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.05.006>
15. *Mujahid A., Iqbal N., Afzal A.* Bioimprinting strategies: From soft lithography to biomimetic sensors and beyond // *Biotechnol. Adv*. 2013. V. 31. № 8. P. 1435. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.06.008>
16. *Sardarelli S., Razmi H., Hasanzadeh M., Shadjou N.* A novel bioassay for the monitoring of hydrogen peroxide in human plasma samples based on binding of horseradish peroxidase-conjugated prostate specific antigen to poly (toluidine blue) as imprinted polymer receptor // *Int. J. Biol. Macromol*. 2020. V. 145. P. 311. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.195>
17. *Piletsky S., Canfarotta F., Poma A., Bossi A.M., Piletsky S.* Molecularly imprinted polymers for cell recognition // *Trends Biotechnol*. 2020. V. 38. № 4. P. 368. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2019.10.002>
18. *Hasanzadeh M., Shadjou N., de la Guardia M.* Cyto-sensing of cancer cells using antibody-based molecular imprinting: A short-review // *Trends Anal. Chem*. 2018. V. 99. P. 129. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.12.010>
19. *Bai W., Spivak D.A.* A double-imprinted diffraction-grating sensor based on a virus-responsive super-actuator hydrogel derived from an impure extract // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*. 2014. V. 53. № 8. P. 2095. <https://doi.org/10.1002/anie.201309462>
20. *Shoja Y., Kermanpur A., Karimzadeh F., Ghodsi J., Rafati A.A., Adhami S.* Electrochemical molecularly bio-imprinted siloxane biosensor on the basis of core/shell silver nanoparticles/EGFR exon 21 L858R point mutant gene/siloxane film for ultra-sensing of Gemcitabine as a lung cancer chemotherapy medication // *Biosens. Bioelectron*. 2019. V. 145. Article 111611. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111611>
21. *Rezaei B., Boroujeni M.K., Ensafi A.A.* Development of Sudan II sensor based on modified treated pencil graphite electrode with DNA, o-phenylenediamine, and gold nanoparticle bioimprinted polymer // *Sens. Actuators B: Chem*. 2016. V. 222. P. 849. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.09.017>
22. *Rezaei B., Boroujeni M.K., Ensafi A.A.* Fabrication of DNA, o-phenylenediamine, and gold nanoparticle bioimprinted polymer electrochemical sensor for the determination of dopamine // *Biosens. Bioelectron*. 2015. V. 66. P. 490. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.12.009>
23. *Qi P., Wan Y., Zhang D.* Impedimetric biosensor based on cell-mediated bioimprinted films for bacterial detection // *Biosens. Bioelectron*. 2013. V. 39. № 1. P. 282. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.07.078>

24. *Beloglazova N., Lenain P., Tessier M., Goryacheva I., Hens Z., De Saeger S.* Bioimprinting for multiplex luminescent detection of deoxynivalenol and zearalenone // *Talanta*. 2019. V. 192. P. 169. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.09.042>
25. *Sakamoto S., Minami K., Nuntawong P., Yusakul G., Putalun W., Tanaka H., Fujii S., Morimoto S.* Bioimprinting as a receptor for detection of kwakhurin // *Biomolecules*. 2022. V. 12. № 8. Article 1064. <https://doi.org/10.3390/biom12081064>
26. *Liu J., Zhang K., Ren X., Luo G., Shen J.* Bioimprinted protein exhibits glutathione peroxidase activity // *Anal. Chim. Acta*. 2004. V. 504. № 1. P. 185. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(03\)00763-3](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(03)00763-3)
27. *Gao J., Yin L., Feng K., Zhou L., Ma L., He Y., Wang L., Jiang Y.* Lipase Immobilization through the combination of bioimprinting and cross-linked protein-coated microcrystal technology for biodiesel production // *Ind. Eng. Chem. Res.* 2016. V. 55 № 42. P. 11037. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.6b03273>
28. *Mukherjee J., Gupta M.N.* Dual bioimprinting of *Thermomyces lanuginosus* lipase for synthesis of biodiesel // *Biotechnol. Rep.* 2016. V. 10. P. 38. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.02.005>
29. *Fan Y., Ke C., Su F., Li K., Yan Y.* Various types of lipases immobilized on dendrimer-functionalized magnetic nanocomposite and application in biodiesel preparation // *Energy and Fuels*. 2017. V. 31. № 4. P. 4372. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.7b00036>
30. *Keyes M.H., Albert D.E., Saraswathi S.* Enzyme semi-synthesis by conformational modification of proteins // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1987. V. 501 № 1. P. 201. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1987.tb45709.x>
31. *Russell A.J., Klibanov A.M.* Inhibitor-induced enzyme activation in organic solvents // *J. Biol. Chem.* 1988. V. 263. № 24. P. 11624. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)37828-1](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)37828-1)
32. *Ohya Y., Miyaoka J., Ouchi T.* Recruitment of enzyme activity in albumin by molecular imprinting // *Macromol. Rapid Commun.* 1996. V. 17. № 12. P. 871. <https://doi.org/10.1002/marc.1996.030171205>
33. *Slade C.J., Vulfson E.N.* Induction of catalytic activity in proteins by lyophilization in the presence of a transition state analogue // *Biotechnol. Bioeng.* 1998. V. 57. № 2. P. 211. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19980120\)57:2<211::AID-BIT9>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19980120)57:2<211::AID-BIT9>3.0.CO;2-Q)
34. *Дмитриенко Е.В., Пышная И.А., Мартыанов О.Н., Пышный Д.В.* Молекулярно импринтированные полимеры для биомедицинских и биотехнологических применений // *Успехи химии*. 2016. Т. 85. № 5. С. 513. <https://doi.org/10.1070/RCR4542>
35. *Medlock J., Das A.A.K., Madden L.A., Allsup D.J., Paunov V.N.* Cancer bioimprinting and cell shape recognition for diagnosis and targeted treatment // *Chem. Soc. Rev.* 2017. V. 46. № 16. P. 5110. <https://doi.org/10.1039/c7cs00179g>
36. *Filby B.W., Hardman M.J., Paunov V.N.* Antibody-free bioimprint aided sandwich ELISA technique for cell recognition and rapid screening for bacteria // *Nano Select.* 2020. V. 1. № 6. P. 673. <https://doi.org/10.1002/nano.202000113>
37. *Remaud P., Medlock J., Das A.A.K., Allsup D.J., Madden L.A., Nees D., Weldrick P.J., Paunov V.N.* Targeted removal of blood cancer cells from mixed cell populations by cell recognition with matching particle imprints // *Mater. Chem. Front.* 2020. V. 4. № 1. P. 197. <https://doi.org/10.1039/c9qm00531e>
38. *Sardarelli S., Hasanzadeh M., Razmi H.* Chemical binding of horseradish peroxidase enzyme with poly beta-cyclodextrin and its application as molecularly imprinted polymer for the monitoring of H₂O₂ in human plasma samples // *J. Mol. Recognit.* 2021. V. 34. № 5. Article e2884. <https://doi.org/10.1002/jmr.2884>
39. *Cai W., Li H.H., Lu Z.X., Collinson M.M.* Bacteria assisted protein imprinting in sol-gel derived films // *Analyst*. 2018. V. 143. № 2. P. 555. <https://doi.org/10.1039/c7an01509g>
40. *Pelle M., Das A.A.K., Madden L.A., Paunov V.N.* Bioimprint mediated label-free isolation of pancreatic tumor cells from a healthy peripheral blood cell population // *Adv. Biosyst.* 2020. V. 4. № 11. P. 1. <https://doi.org/10.1002/adbi.202000054>
41. *Sarwar M., Evans J.J.* Bioimprinting: bringing together 2D and 3D in dissecting cancer biology // *BioTechniques*. 2021. V. 71. № 5. P. 543. <https://doi.org/10.2144/btn-2021-0058>
42. *Hashemi A., Nock V., Alkaiji M., Ali A.* Enhancing the resolution of bioimprinted casein microdevices // *Int. J. Nanotechnol.* 2018. V. 15. № 8. P. 676–682. <https://doi.org/10.1504/IJNT.2018.098433>
43. *Ansari S., Masoum S.* Molecularly imprinted polymers for capturing and sensing proteins: current progress and future implications // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 114. P. 29. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.02.008>
44. *Abbasy L., Mohammadzadeh A., Hasanzadeh M., Razmi N.* Development of a reliable bioanalytical method based on prostate specific antigen trapping on the cavity of molecular imprinted polymer towards sensing of PSA using binding affinity of PSA-MIP receptor: A novel biosensor // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2020. V. 188. Article 113447. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113447>
45. *Teke M., Sezgintürk M.K., Dinçkaya E., Telefoncu A.* A bio-imprinted urease biosensor: Improved thermal and operational stabilities // *Talanta*. 2008. V. 74. № 4. P. 661. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.06.031>
46. *Piletsky S.* *Molecular Imprinting of Polymers*. CRC Press, 2006. <https://doi.org/10.1201/9781498713542>
47. *Whitty A.* Cooperativity and biological complexity // *Nat. Chem. Biol.* 2008. V. 4. № 8. P. 435. <https://doi.org/10.1038/nchembio0808-435>

48. *Brandão L.M.S., Barbosa M.S., Souza R.L., Pereira M.M., Lima Á.S., Soares C.M.* Lipase activation by molecular bioimprinting: The role of interactions between fatty acids and enzyme active site // *Biotechnol. Prog.* 2021. V. 37 № 1. P. 1. <https://doi.org/10.1002/btpr.3064>
49. *Pauling L.* A theory of the formation of antibodies // *J. Am. Chem. Soc.* 1940. V. 372. № 62. P. 2643.
50. *Pauling L., Campbell D.H.* The production of antibodies in vitro // *Science.* 1942. V. 95. № 2469. P. 440. <https://doi.org/10.1126/science.95.2469.440>
51. *Pauling L., Campbell D.H.* The manufacture of antibodies in vitro // *J. Exp. Med.* 1942. V. 76. № 2. P. 211. <https://doi.org/10.1084/jem.76.2.211>
52. *Dickey F.H.* The preparation of specific adsorbents. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1949. V. 35. № 5. P. 227. <https://doi.org/10.1073/pnas.35.5.227>
53. *Li Z., Liu H., Zhao G., Wang P., Wang L., Wu H., Fang X., Sun X., Wu X., Zheng Z.* Enhancing the performance of a phospholipase A1 for oil degumming by bio-imprinting and immobilization // *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 2016. V. 123. P. 122. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2015.11.018>
54. *Pidenko P., Presnyakov K., Beloglazova N., Burmistrova N.* Imprinted proteins for determination of ovalbumin // *Anal. Bioanal. Chem.* 2022. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s00216-022-04009-3>
55. *Pidenko P., Zhang H., Lenain P., Goryacheva I., De Saeger S., Beloglazova N.* Imprinted proteins as a receptor for detection of zearalenone // *Anal. Chim. Acta.* 2018. V. 1040. P. 99. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.07.062>
56. *Yin Y., Dong Z., Luo Q., Liu J.* Biomimetic catalysts designed on macromolecular scaffolds // *Prog. Polym. Sci.* 2012. V. 37. № 11. P. 1476. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.04.001>
57. *Klibanov A.M.* Improving enzymes by using them in organic solvents // *Nature.* 2001. V. 409. № 6817. P. 241. <https://doi.org/10.1038/35051719>
58. *Zaks A., Klibanov A.M.* Enzyme-catalyzed processes in organic solvents // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1985. V. 82. № 10. Article 31923196. <https://doi.org/10.1073/pnas.82.10.3192>
59. *Zaks A., Klibanov A.M.* Enzymatic catalysis in non-aqueous solvents // *J. Biol. Chem.* 1988. V. 263. № 7. P. 3194. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)69054-4](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)69054-4)
60. *Sánchez D.A., Alnoch R.C., Tonetto G.M., Krieger N., Ferreira M.L.* Immobilization and bioimprinting strategies to enhance the performance in organic medium of the metagenomic lipase LipC12 // *J. Biotechnol.* 2021. V. 342. P. 13. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.09.022>
61. *Mustafa A., Niikura F., Pastore C., Allam H.A., Hassan O.B., Mustafa M., Inayat A., Salah S.A., Salam A.A., Mohsen R.* Selective synthesis of alpha monoglycerides by a clean method: Techno-economic and environmental assessment // *Sustain. Chem. Pharm.* 2022. V. 27. Article 100690. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100690>
62. *Almeida F.L.C., Castro M.P.J., Travália B.M., Forte M.B.S.* Trends in lipase immobilization: Bibliometric review and patent analysis // *Process Biochem.* 2021. V. 110. P. 37. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.07.005>
63. *Joyce P., Gustafsson H., Prestidge C.A.* Engineering intelligent particle-lipid composites that control lipase-mediated digestion // *Adv. Colloid Interface Sci.* 2018. V. 260. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2018.08.001>
64. *Bordes F., Cambon E., Dossat-Létisse V., An dré I., Croux C., Nicaud J.M., Narty A.* Improvement of *Yarrowia lipolytica* lipase enantioselectivity by using mutagenesis targeted to the substrate binding site // *Chem Bio Chem* 2009. V. 10. № 10. P. 1705. <https://doi.org/10.1002/cbic.200900215>
65. *Yan Y., Zhang X., Chen D.* Enhanced catalysis of *Yarrowia lipolytica* lipase LIP2 immobilized on macroporous resin and its application in enrichment of polyunsaturated fatty acids // *Bioresour. Technol.* 2013. V. 131. P. 179. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.092>
66. *Matsumoto M., Matsui E.* Enhanced activities and thermostability of lipase pretreated with carboxylic and perfluorocarboxylic acids in transesterification // *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2018. V. 93. № 11. P. 3219. <https://doi.org/10.1002/jctb.5678>
67. *Matsumoto M., Nakao K., Tahara Y.* Effects of imprinting and water activity on transesterification and thermostability with lipases in ionic liquid // *Chem. Biochem. Eng. Q.* 2021. V. 35. № 1. P. 57. <https://doi.org/10.15255/CABEQ.2020.1899>
68. *Matsumoto M., Hasegawa Y.* Enzymatic kinetics of solvent-free esterification with bio-imprinted lipase // *Chem. Biochem. Eng. Q.* 2020. V. 33. № 4. P. 495. <https://doi.org/10.15255/CABEQ.2019.1692>
69. *Li B., Duan D., Wang J., Li H., Zhang X., Zhao B.* Improving phospholipase D activity and selectivity by bio-imprinting-immobilization to produce phosphatidylglycerol // *J. Biotechnol.* 2018. V. 281. P. 67. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.06.343>
70. *Mateo C., Palomo J.M., Fernandez-Lorente G., Guisan J.M., Fernandez-Lafuente R.* Improvement of enzyme activity, stability and selectivity via immobilization techniques // *Enzyme Microb. Technol.* 2007. V. 40. № 6. P. 1451. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2007.01.018>
71. *Burmistrova N.A., Pidenko P.S., Pidenko S.A., Zacharevich A.M., Skibina Y.S., Beloglazova N.V., Goryacheva I.Y.* Soft glass multi-channel capillaries as a platform for bioimprinting // *Talanta.* 2020. V. 208. Article 120445. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120445>
72. *Sampath C., Belur P.D., Iyyasami R.* Enhancement of n-3 polyunsaturated fatty acid glycerides in sardine oil by a bioimprinted cross-linked *Candida rugosa* lipase // *Enzyme Microb. Technol.* 2018. V. 110. P. 20. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2017.12.003>
73. *Kahveci D., Xu X.* Enhancement of activity and selectivity of *Candida rugosa* lipase and *Candida antarctica* lipase A by bioimprinting and/or immobilization for application in the selective ethanolysis of fish oil // *Biotechnol. Lett.* 2011. V. 33. № 10. P. 2065. <https://doi.org/10.1007/s10529-011-0671-z>

74. *Sheldon R.A., van Pelt S.* Enzyme immobilisation in biocatalysis: Why, what and how // *Chem. Soc. Rev.* 2013. V. 42. № 15. P. 6223.
<https://doi.org/10.1039/c3cs60075k>
75. *Cui J.D., Zhang S., Sun L.M.* Cross-Linked enzyme aggregates of phenylalanine ammonia lyase: Novel biocatalysts for synthesis of L-phenylalanine // *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2012. V. 167. № 4. P. 835.
<https://doi.org/10.1007/s12010-012-9738-0>
76. *Diaz-Vidal T., Armenta-Perez V.P., Rosales-Rivera L.C., Mateos-Díaz J.C., Rodríguez J.A.* Cross-linked enzyme aggregates of recombinant *Candida antarctica* lipase B for the efficient synthesis of olvanil, a nonpungent capsaicin analogue // *Biotechnol. Prog.* 2019. V. 35. № 4. P. 1.
<https://doi.org/10.1002/btpr.2807>
77. *Li K., Wang J., He Y., Cui G., Abdulrazaq M.A., Yan Y.* Enhancing enzyme activity and enantioselectivity of *Burkholderia cepacia* lipase via immobilization on melamine-glutaraldehyde dendrimer modified magnetic nanoparticles // *Chem. Eng. J.* 2018. V. 351. P. 258.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.06.086>
78. *Murtaza G., Rizvi A.S., Irfan M., Yan D., Khan R.U., Rafique B., Xue M., Meng Z.S.* Glycated albumin based photonic crystal sensors for detection of lipopolysaccharides and discrimination of gram-negative bacteria // *Anal. Chim. Acta.* 2020. V. 1117. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.04.018>

УДК 543.422.8

ОПЫТ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФТОРА В ГОРНЫХ ПОРОДАХ РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНЫМ МЕТОДОМ

© 2023 г. Т. Г. Кузьмина^а, *, Т. В. Ромашова^а, М. А. Тронева^а, И. В. Хохлова^а

^аИнститут геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук
ул. Косыгина, 19, Москва, 119991 Россия

*e-mail: kuzminatg@inbox.ru

Поступила в редакцию 23.12.2022 г.

После доработки 21.03.2023 г.

Принята к публикации 22.03.2023 г.

В горных породах основными минералами-концентраторами фтора являются в основном апатиты, амфиболы, слюды, флюориты, сфены, виллиомиты, в которых фтор находится в соединениях с Ca, Mg, Na. Выход рентгеновской флуоресценции фтора зависит от элемента, с которым он химически связан. С учетом этого фактора на прессованных таблетках получены три варианта градуировочных зависимостей для фтора, входящего в состав соединений CaF_2 , MgF_2 и NaF. Для градуировки использованы смеси данных фторидов с гранитом, базальтом и известняком. Для выбора адекватной градуировки при определении фтора в партии неизвестных проб предложено использовать результаты выборочного анализа сплавленных образцов партии.

Ключевые слова: рентгенофлуоресцентный анализ, определение фтора, горные породы.

DOI: 10.31857/S004445022308011X, **EDN:** SHJEDM

Результаты наших предыдущих исследований [1, 2] показали, что при рентгенофлуоресцентном определении фтора в горных породах на прессованных таблетках невозможно использование единой градуировочной зависимости для определения этого элемента во всех фторсодержащих минералах. Это связано с тем, что выход флуоресценции фтора, а следовательно, и интенсивность линии $\text{FK}\alpha$ зависит от элемента, в химическом соединении с которым он состоит.

Геохимия фтора в магматических процессах наиболее подробно рассмотрена в работе [3]. Авторами показано, что основная масса фтора связана с катионами повышенной активности. В горных породах это в основном кальций, магний и натрий.

В породах с коэффициентом агапайности $K = (\text{Na} + \text{K})/\text{Al} \leq 1$ фтор фиксируется в минералах кальция и магния. При этом в ультраосновных и основных породах главные минералы-концентраторы фтора – амфиболы, слюды и апатиты. В гранитах и гранодиоритах таковыми являются слюды, амфиболы, апатиты и флюориты. В карбонатитах – амфиболы, апатиты, флюориты. В щелочных породах фтор концентрируется в амфиболах, слюдах, апатитах и сфенах.

В агапайтовых магмах, перенасыщенных щелочами, где $K = (\text{Na} + \text{K})/\text{Al} > 1$ фтор главным образом связан с натрием (виллиомит и щелочной ам-

фибол). Криолит, в котором фтор также связан с натриевой минеральной фазой, встречается в породах, перенасыщенных SiO_2 , но является сравнительно редким минералом.

Таким образом, для рентгенофлуоресцентного определения фтора в горных породах на прессованных таблетках необходимо построить отдельные градуировки для соединений фтора с Ca, Mg и Na. Кроме того, при анализе неизвестной пробы необходим некий критерий, по которому можно сделать выбор в пользу той или иной градуировки.

Цель данной работы заключалась в разработке подхода к определению фтора в горных породах методом рентгенофлуоресцентного анализа (РФА), используя простую пробоподготовку – прессование таблеток.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Измерения проводили на рентгенофлуоресцентном спектрометре AXIOS Advanced (PANalytical B.V., Голландия), который обеспечивает возможность определения содержания широкого круга элементов от кислорода до урана в диапазоне 10^{-4} –100%. Прибор оснащен рентгеновской трубкой с Rh-анодом мощностью 4 кВт, сканирующим каналом по Соллеру с кристаллами-анализаторами (PE-002-C, PX-1, GeIII-C, LIF-200,

LIF-220) и детектирующим устройством, состоящим из проточного и отпаянного пропорциональных газовых счетчиков и сцинтилляционно-

го детектора. Условия измерения интенсивности линии $FK\alpha$ приведены ниже.

Линия	Режим рентгеновской трубки	Кристалл	Коллиматор	Пик линии, град	Фон, град	Время измерения на пике линии, с	Время измерения фона, с
$FK\alpha$	30 мА/100 кВ	PX1	550 мкм	43.105	+1.25	100	100

Фазовый анализ проб выполняли на рентгеновском дифрактометре MiniFlex 600 (Rigaku, Япония). Расшифровку рентгенодифракционных данных и фазовую диагностику образцов проводили с использованием программного пакета Smartlab Studio с подключенными порошковыми базами данных PDF-2.

Для растирания проб использовали настольную дисковую вибрационную мельницу НК40 (LGC Standards GmbH, Германия). Таблетки прессовали с помощью пресса Derimalprese DP 36 (Германия), давление прессования 70 кг/см².

Пробы для анализа готовили двумя способами:

1. Сплавление. Вместо тиглей из платины использовали доступные графитовые подложки. Пробы в соотношении 1 : 12 сплавляли со смесью метабората и тетрабората лития при 1050°C в течение 12 мин. Навеска пробы составляла 0.15 г, метабората – 0.6 г, тетрабората – 1.2 г. Полученный королек после охлаждения растирали в мельнице в течение 1 мин. Далее для уменьшения эффекта “обволакивания” в растертую пробу добавляли этанол, перемешивали в течение 5 мин стеклянной палочкой без приложения усилий, высушивали и прессовали в таблетку диаметром 3 см. Пробы перед сплавлением не прокаливали, так как в этом случае может произойти частичная потеря фтора [4]. Навеску рассчитывали таким образом, чтобы после сплавления масса пробы составила около 0.15 г. При сплавлении фтор целиком удерживается в пробе за счет щелочных плавней [5].

2. Прессование исходного материала. Пробы для анализа готовили путем прессования растертого до 200 меш исходного материала массой 300 мг в таблетки диаметром 20 мм с добавлением в качестве связующего вещества полистирола в соотношении 5 : 1. Для снижения влияния эффекта “обволакивания” после истирания пробу также отмывали этанолом.

Для градуировки использовали стандартные образцы (СО) горных пород с содержанием фтора от 0.1 до 3.5%; фториды CaF_2 , MgF_2 , NaF , Na_3AlF_6

ч. д. а. и в качестве вмещающих матриц: базальт (СМБ), гранит (СГ-1а) и известняк (КН).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для проб, спрессованных из исходного материала, разработали отдельные варианты программы для определения фтора в горных породах, где этот элемент находится в соединениях с Ca, Mg и Na. На основе способа эмпирической α -коррекции получили три градуировочные зависимости. Использовали фториды CaF_2 , MgF_2 , NaF , а в качестве вмещающих матриц гранит, базальт, известняк для CaF_2 и MgF_2 ; гранит и базальт для NaF . В градуировку с CaF_2 включили СО апатитового концентрата (АК), в градуировку с NaF – криолит (Na_3AlF_6) и их смеси с гранитом и базальтом.

Градуировка на основе фторида кальция может служить для анализа флюоритов, апатитов, сфенов; градуировка на основе фторида магния – для анализа слюд, градуировка на основе фторида натрия – для анализа виллиомита, криолита. Что касается амфиболов, то здесь фтор может входить в соединения как с Ca, так и Mg и, кроме того, в щелочных амфиболах он связан с натриевой минеральной фазой.

Для того чтобы понять, какой из трех вариантов программы следует выбрать при анализе неизвестных проб из спрессованных таблеток, может быть использовано несколько подходов. Первый – определить с помощью рентгенодифрактометрического анализа минеральный состав проб и, в частности, фторсодержащий минерал. Но в этом случае можно не получить однозначного ответа на поставленный вопрос. В частности, амфиболы, как указано выше, можно анализировать по каждой из трех градуировок. Второй подход – рассчитать коэффициент агапитности, что позволит выделить пробы, которые следует анализировать по тому варианту градуировки, в котором фтор входит в состав натрийсодержащего минерала. Третий – наиболее универсальный. Из представленной на анализ партии проб следует отобрать несколько образцов (предполагая, что

Таблица 1. Параметры градуировочных кривых

Способ подготовки пробы		Диапазон содержаний F, %	Погрешность градуировки, s, %	$c_{\text{мин}}$, %	$c_{\text{н}}$, %
Сплавление + прессование		0.1–10	0.13	0.07	0.2
Прессование:	Ca-форма	0.1–12.4	0.11	0.02	0.06
	Mg-форма	0.2–11	0.12	0.02	0.06
	Na-форма	0.05–11.3	0.10	0.02	0.06

минеральный состав в них подобен) и определить в них содержание фтора методом, который не зависит от минеральной структуры, например потенциометрией. Затем в тех же образцах, спрессованных непосредственно из исходного материала, определить фтор по каждому из трех вариантов градуировки, выделив тот, который дает наиболее близкие результаты. Все остальные пробы партии следует анализировать именно по этому варианту.

Мы в своей работе применили рентгенофлуоресцентный метод, но использовали более трудоемкий способ пробоподготовки, а именно: сплавление с флюсом. В этом случае уничтожается минеральная структура, разрушаются химические связи, и происходит минимизация матричных эффектов.

Для градуировки использовали таблетки, спрессованные после растирания сплавленных образцов: стандарты МО-5, ООКО-201, ООКО-203, АК, GN-A, MA-N, Мiса-Fe, и смеси реактивов CaF_2 , MgF и NaF с гранитом и базальтом в соотношениях 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20. Как и в случае прессованных таблеток, градуировочную функцию выбирали с помощью программы эмпирической α -коррекции.

В табл. 1 представлены характеристики градуировочных кривых для всех вариантов анализа. Во всех случаях оптимальный вид градуировочных функций выбирали таким образом, чтобы обеспечить минимальное значение стандартного отклонения, характеризующего рассеяние точек относительно линии регрессии, s :

$$s = \sqrt{\frac{\sum (c_{oi} - c_{\text{расч.}i})^2}{n - p}},$$

где c_{oi} – известное содержание фтора в пробе; $c_{\text{расч.}i}$ – рассчитанное содержание; n – число стандартов, используемых в градуировке; p – число используемых регрессионных параметров (наклон, свободный член, межэлементные коэффициенты).

Пределы обнаружения ($c_{\text{мин}}$) и пределы определения ($c_{\text{н}}$) фтора в горных породах рассчитали по формулам:

$$c_{\text{мин}} = 3s_{\text{ф}}c/I; \quad c_{\text{н}} = 3c_{\text{мин}},$$

где I – интенсивность линии за вычетом фона; c – концентрация элемента; $s_{\text{ф}}$ – стандартное отклонение измерений фона.

При прессовании проб непосредственно из исходного материала получили более низкие значения пределов определения, чем для образцов, приготовленных способом сплавления. Это связано с низким уровнем флуоресценции линии FК α при разбавлении пробы флюсом и с большей погрешностью измерений интенсивности фона.

В табл. 2 приведены допустимые коэффициенты вариации ($V_{\text{доп}}$) по третьей категории классификации [6] и полученные значения (V) для градуировочных функций, которые рассчитывали по формуле:

$$V = \frac{s}{c_{\text{ср}}} \times 100\%,$$

где s – погрешность градуировки, $c_{\text{ср}}$ – среднее значение диапазона содержаний.

При содержании фтора более одного процента погрешность по полученным градуировкам для прессованных таблеток не превосходит допустимую (см. табл. 2), для образцов, полученных сплавлением, имеет место незначительное превышение для диапазона 1–2%. При более низких содержаниях фтора анализ следует рассматривать как полуколичественный.

Достоверность результатов, полученных с помощью предлагаемого подхода, оценивали путем анализа СО, не участвовавших в градуировках: AP и Мiса-Mg (табл. 3). В AP минералом-концентратом фтора является апатит. В Мiса-Mg фторсодержащий минерал определяли с помощью рентгеновской дифрактометрии. Им оказался фторфлогопит, который относится к группе слюд. Следовательно, в прессованных таблетках эту пробу необходимо анализировать по градуировке с Mg-формой.

Предлагаемый подход применили для определения фтора в партии проб амфиболитов, в которых концентратом фтора является минерал амфибол. Выше отмечено, что в амфиболах фтор может быть связан с любым из трех элементов: Ca, Mg, Na. Из всех проб этой партии приготовили прессованные таблетки из исходного материала и определили их макросостав. Рассчитали ко-

Таблица 2. Коэффициенты вариации

Пробоподготовка	Диапазон содержаний F, %	Погрешность градуировки, V, %	Допустимая погрешность, V _{доп} , %
Сплавление + прессование	0.1–1	26	14–8
	1–2	8.6	8
	>2	4.7	6.5
Прессование	0.1–1	22	14–8
	1–2	7.3	8
	>2	3.6	6.5

Таблица 3. Результаты (%) определения фтора в стандартных образцах ($n = 3$, $P = 0.95$)

Проба	Минерал	Градуировка	Паспортное значение	Сплавленные пробы	Прессованные пробы
AP	Апатит	Ca-форма	1.09	0.95 ± 0.06	1.1 ± 0.06
Mica-Mg	Фтор-флогопит	Mg-форма	2.86	2.8 ± 0.09	2.8 ± 0.08

эффицент агапайтности. Для образцов партии он оказался в диапазоне 1.03–1.37. Следовательно, в анализируемых пробах фтор связан с натрием, и содержание фтора следует рассчитывать по третьему варианту градуировки (Na-форма). Для трех проб этой партии мы располагали данными по содержанию фтора, полученными с помощью потенциометрии. Из этих проб приготовили таблетки с использованием способа сплавления. В табл. 4 представлены результаты, полученные методами потенциометрии и РФА.

Кроме горных пород, мы располагали СО некоторых руд с известным содержанием фтора. С помощью рентгеновской дифрактометрии определили минерал-концентратор фтора – флюорит (CaF₂). Изготовили излучатели с использованием двух способов пробоподготовки. Таблетки, спрессованные непосредственно из исходного материала, анализировали по варианту градуировки с Са-формой. Полученные результаты представлены в табл. 5.

* * *

На прессованных таблетках получены три варианта градуировочных зависимостей для определения фтора, входящего в состав соедине-

ний CaF₂, MgF₂ и NaF. Диапазон содержаний фтора составил от 0.1 до 11%, погрешности градуировок – 0.10–0.12%. Для выбора наиболее адекватного варианта программы для определения фтора в партии представленных на анализ образцов предложено использовать градуировочную зависимость, полученную на сплавленных пробах (диапазон содержаний фтора 0.1–10%, погрешность градуировки 0.13%). Для этого достаточно провести выборочный анализ нескольких образцов партии.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности предлагаемого подхода к определению в горных породах такого сложного для РФА элемента, как фтор. При этом метрологические характеристики анализа (погрешность градуировки, сходимости измерений, пределы определения) могут быть улучшены. В частности, этого можно добиться путем использования непосредственно стеклянных дисков, поверхность которых получается гладкая, без неровностей, что в РФА имеет фундаментальное значение. Кроме того, в этом случае наряду с отсутствием зависимости от крупности частиц, химических связей и минеральной структуры отсутствует и эффект “обволакивания”.

Таблица 4. Результаты (%) определения фтора в амфиболитах ($n = 3$, $P = 0.95$)

Проба	Потенциометрия	РФА	
		сплавленные пробы	прессованные пробы
1	0.13 ± 0.01	0.09 ± 0.03	0.14 ± 0.02
2	0.59 ± 0.02	0.65 ± 0.03	0.53 ± 0.02
3	0.69 ± 0.02	0.75 ± 0.04	0.62 ± 0.03

Таблица 5. Результаты (%) анализа руд на содержание фтора ($n = 3$, $P = 0.95$)

СО	Паспортные значения	Сплавленные пробы	Прессованные пробы
ГСО-150-73	3.92	3.8 ± 0.1	3.8 ± 0.1
ГСО-323-73	5.83	5.9 ± 0.2	5.9 ± 0.2
ГСО-324-73	6.7	6.5 ± 0.2	6.9 ± 0.3
ГСО-575-74	1.33	1.2 ± 0.1	1.4 ± 0.1

Точность анализа на прессованных таблетках можно повысить, а пределы определения понизить, если перейти к излучателям большего диаметра – 3–4 см. Однако для этого потребуется достаточно большое количество исходного материала – 3–4 г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кузьмина Т.Г., Тронева М.А., Ромашова Т.В. Роль петрогенных элементов в возбуждении рентгеновской флуоресценции фтора // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 7. С. 636. (*Kuzmina T.G., Troneva N.F., Romashova T.V. Role of petrogenic elements in the excitation of X-Ray fluorescence of fluorine // J. Anal. Chem. 2020. V. 75. № 7. P. 896.*)
2. Кузьмина Т.Г., Тронева М.А., Ромашова Т.В. Факторы, влияющие на результаты определения фтора в горных породах рентгенофлуоресцентным методом с использованием прессованных таблеток // Журн. аналит. химии. 2022. Т. 77. № 7. С. 645. (*Kuzmina T.G., Troneva N.F., Romashova T.V. Factors affecting the determination of fluorine in rocks by X-ray fluorescence spectrometry using pressed pellets // J. Anal. Chem. 2022. V. 77. № 7. P. 874.*)
3. Когарко Л.Н., Кригман Л.Д. Фтор в силикатных расплавах и магмах. М.: Наука, 1984. 125 с.
4. Пономарев А.И. Методы химического анализа силикатных и карбонатных горных пород. М.: Изд-во АН СССР, 1961. 414 с.
5. Симаков В.А. Дис. ... докт. техн. наук. Рентгенофлуоресцентный анализ руд и продуктов их переработки при разведке месторождений. Москва: ВИМС, 2000. 252 с.
6. Стандарт отрасли. ОСТ-41-08-205-99. Методики количественного химического анализа. Москва: ВИМС, 1999. 96 с.

УДК 543.42

АДАПТИВНАЯ ГРАДУИРОВКА В ЭЛЕКТРОТЕРМИЧЕСКОЙ АТОМНО-АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ

© 2023 г. Ю. М. Садагов^а *, А. Ю. Садагов^а^аООО “Кортэк”

Никулинская ул., 27, к. 2, Москва, 119602 Россия

*e-mail: sadagov@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.02.2023 г.

После доработки 23.03.2023 г.

Принята к публикации 23.03.2023 г.

Разработан метод определения концентраций в зеэмановской электротермической атомно-абсорбционной спектроскопии, основанный на трансформации функции преобразования атомно-абсорбционного спектрометра в градуировочную зависимость, адаптированную к матрице анализируемого образца. Функция преобразования выражена однопараметрической функцией насыщения, которая является интегральной оптической характеристикой спектрометра, независимой от состава анализируемой пробы. Алгоритм метода включает измерение аналитических сигналов анализируемого образца и этого же образца с известной добавкой элемента и расчет по этим сигналам матричного коэффициента и искомой концентрации элемента в анализируемом образце. Метод адаптивной градуировки опробован для As, Au, Cd, Cu, Mo, Pd, Pb, Mo, Pd, Pb, Ti, V. Относительная систематическая погрешность определения концентрации элемента в диапазоне измерения оптической плотности атомного пара не превышает 10%. Диапазоны определяемых концентраций элементов превышают три порядка.

Ключевые слова: ЭТААС, функция преобразования, градуировочная зависимость, адаптивная градуировка, матричные влияния.

DOI: 10.31857/S0044450223080157, **EDN:** SHQANS

Градуировку аналитического прибора считают ключевой процедурой методики анализа. Подразумевается, что градуировка и последующие измерения аналитического сигнала выполняются в идентичных условиях, задаваемых методикой [1, 2]. Реально ли обеспечить идентичность условий градуировки и измерений? Согласно определению [3], градуировочный образец – это объект аналитического контроля с известным содержанием аналита. Это означает, что для градуировки необходим набор стандартных образцов состава (СОС) анализируемой пробы с различными содержаниями аналита. Как правило, это требование невыполнимо из-за отсутствия соответствующих СОС. В электротермической атомно-абсорбционной спектроскопии (ЭТААС) используются “простые” градуировочные образцы неадекватного состава, которые готовятся из стандартных образцов (ГСО или МСО) элементов. Однако степень атомизации элемента для градуировочного и анализируемого образцов могут отличаться, что является источником систематической погрешности результатов измерений.

Аналитическим сигналом в атомно-абсорбционной (АА) спектроскопии является атомная аб-

сорбционность (оптическая плотность атомного пара):

$$A = \lg \frac{I_0}{I}, \quad (1)$$

где I_0 и I – интенсивности излучения аналитической резонансной линии на входе и выходе аналитической ячейки атомизатора соответственно.

Для строго монохроматичной линии излучения по закону Бугера–Ламберта–Бера $I = I_0 \times 10^{-kc}$, где c – концентрация определяемого элемента в анализируемом образце, пропорциональная концентрации атомного пара в аналитической ячейке, k – многофакторный коэффициент, зависящий, в том числе, от степени атомизации анализируемого образца.

Наличие в источнике рассеянного излучения [4], не поглощаемого атомным паром, приводит к трансформации линейной функции $A = kc$ в функцию насыщения:

$$A = \lg \frac{I_0 + I_S}{I + I_S}, \quad (2)$$

где I_S – интенсивность рассеянного излучения.

Ранее нами показано [5], что функция преобразования входного сигнала концентрации c в выходной сигнал A атомной абсорбционности ЭТАА-спектрометра с обратным эффектом Зеемана в переменном магнитном поле аппроксимируется двухпараметрической функцией насыщения:

$$A = f(c) = \lg \frac{1+s}{10^{-kc} + s}, \quad (3)$$

где s – параметр, который определяется долей рассеянного излучения.

Для установления функции преобразования (3) использовали два градуировочных образца с концентрациями c_1 и $c_2 = 2c_1$ определяемого элемента. Очевидно, что при этом выполняется полноценная градуировка.

При определении концентрации элемента в анализируемом образце значение параметра k уточняли ведением добавки аналита в анализируемый образец. Установление функции преобразования или первичная градуировка уже не является процедурой методики анализа, а первичная градуировка после уточнения параметра k может быть использована в разных методиках. Описанный способ опробован при определении (0.0*n*–10*n*) мкг/г As, Cd Pb, Sb, Se и Te в растворах после разложения СОС илистых почв методом ЭТААС [6].

Целью данной работы является исследование функций преобразования в зеемановской ЭТААС с целью установления функции преобразования АА-спектрометра без градуировки, разработка и апробация альтернативной процедуры определения концентрации элементов в анализируемых образцах сложного состава.

ТЕОРИЯ

Функция (3) является функцией насыщения, которая стремится к значению $A_{\text{НАС}} = \lg(1 + s^{-1})$ при увеличении концентрации c . Из данного выражения для уровня $A_{\text{НАС}}$ насыщения следует: для того чтобы установить значение параметра s достаточно измерить уровень насыщения:

$$s = (10^{A_{\text{НАС}}} - 1)^{-1}. \quad (4)$$

Уровень насыщения, как и параметр s , в основном определяется характеристиками излучающего слоя [4]. Следовательно, при данном токе источника излучения и фиксированной температуре поглощающего слоя параметр k будет зависеть только от степени атомизации анализируемого образца. Таим образом, s и k являются взаимно независимыми параметрами.

Введя новую переменную $a = kc$, получим функцию преобразования $A = f(a)$:

$$A = \lg \frac{1+s}{10^{-a} + s}. \quad (5)$$

По сути, аргумент a является входным сигналом идеальной атомной абсорбционности, а функция (5) отображает преобразование идеального сигнала a в реальный сигнал атомной абсорбционности A . Функция (5) является первичной характеристикой АА-спектрометра, независимой от параметров процесса атомизации и свойств анализируемого образца.

Для определения концентрации c_x элемента в анализируемом образце используется обратная функция преобразования $a = \varphi(A)$:

$$a = -\lg[(1+s)10^{-A} - s] = \lg \frac{1 - 10^{-A_{\text{НАС}}}}{10^{-A} - 10^{-A_{\text{НАС}}}}. \quad (6)$$

Алгоритм включает измерение двух аналитических сигналов: A_1 – для анализируемого образца с искомой концентрацией c_x и A_2 – для анализируемого образца с добавленной концентрацией ($c_x + c_d$). Этим сигналам соответствуют значения $a_1 = \varphi(A_1)$ и $a_2 = \varphi(A_2)$ обратной функции преобразования. Так как $a = kc$, то решив систему двух уравнений относительно неизвестных k и c_x :

$$\begin{cases} kc_x = \varphi(A_1), \\ k(c_x + c_d) = \varphi(A_2), \end{cases} \quad (7)$$

получим:

$$k = \frac{\varphi(A_2) - \varphi(A_1)}{c_d}, \quad (8)$$

$$c_x = \frac{c_d}{\frac{\varphi(A_2)}{\varphi(A_1)} - 1}. \quad (9)$$

Установленное значение (8) параметра k трансформирует функцию преобразования (5) в градуировочную зависимость, адаптированную к анализируемому образцу. Следовательно, параметр k можно назвать матричным коэффициентом.

По сути, алгоритм измерений, основанный на решении системы уравнений (7), является вариантом метода стандартных добавок, а точнее метода одной стандартной добавки [7]. Однако в методе стандартных добавок используется градуировочная зависимость $A = f(c)$, нелинейность которой является источником систематической погрешности определения концентрации, что является существенным ограничением метода добавок. В методе адаптивной градуировки используется линейная зависимость $a = kc$ идеальной

атомной абсорбционности от концентрации, что позволяет корректно использовать метод одной стандартной добавки во всем концентрационном диапазоне.

Предложенный алгоритм измерений будет работать, если для данной матрицы коэффициент $k(c) = \text{const}$, т.е. не зависит от концентрации определяемого элемента. Такое предположение представляется логичным, поскольку концентрация матричных компонентов существенно больше концентрации аналита.

Уровень насыщения – это аналитический сигнал для концентрации элемента, которая гарантирует выполнение условия $10^{-kc} \approx 0$. Однако атомизация очень большой массы элемента связана с риском загрязнения графитовой печи. Кроме того, импульсные сигналы атомной абсорбционности для больших концентраций могут быть искажены эффектом roll-over [8]. Установлено, что для элементов, определяемых на ЭТАА-спектрометрах типа КВАНТ.З, которые использовались в наших экспериментах, значения параметра s лежат в диапазоне от 0.05 до 0.5 [5]. Это позволяет оценить минимальную концентрацию $c_{\text{НАС}}$ как обеспечивающую выполнение условия $10^{-kc_{\text{НАС}}} \approx 0.005$, т.е. $kc_{\text{НАС}} \approx 2.3$. Для того чтобы установить значение концентрации $c_{\text{НАС}}$, достаточно оценить характеристическую концентрацию $c_{\text{ХАР}}$ элемента. Из определения характеристической концентрации следует, что $kc_{\text{ХАР}} = 0.0044$, следовательно, минимальную концентрацию насыщения можно вычислить по формуле $c_{\text{НАС}} \approx 500c_{\text{ХАР}}$.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование и реактивы. Эксперименты проводились на серийных экземплярах ЭТАА-спектрометра типа КВАНТ.З, производимом ООО “КОРТЭК” (Москва). Для коррекции фонового поглощения в спектрометре используется обратный эффект Зеемана – продольно нагреваемая графитовая печь располагается в продольном переменном магнитном поле сетевой частоты. Легкая графитовая печь нагревается со скоростью около $10^\circ\text{C}/\text{мс}$, что обеспечивает высокую чувствительность АА-измерений при использовании амплитуды импульса атомной абсорбционности в качестве аналитического сигнала (амплитудная регистрация).

Спектрометр оборудован автоматической шестиламповой турелью и автоматическим дозатором. Источники резонансного излучения – одноэлементные лампы с полым катодом (ЛПК) типа ЛТ-6М, производимые ООО “КОРТЭК”. В спектрометре используются графитовые печи с пиро-

литическим покрытием (П) и без покрытия (НП), производимые фирмами ООО “ВИРИАЛ” (Санкт-Петербург) и “SCHUNK” (Германия). АА-измерения проводили для элементов (резонансная линия, нм): As (193.7), Au (242.8), Cd (228.8), Cu (324.7), Mo (313.3), Pb (283.3), Pd (340.5), Ti (364.3), V (318.5).

Анализируемые и промежуточные растворы готовили в пластмассовых пробирках для центрифугирования объемом 1.5 или 2.0 мл, которые используются в автоматическом дозаторе прибора. Для приготовления растворов использовали пипеточные одноканальные дозаторы переменного объема (Ленпипет).

В экспериментах использовали дистиллированную воду, которую получали на лабораторном аквадистилляторе типа ДЭ-4М (ЭМО). В качестве стандартного образца состава использовали СОС сухого молока GBW10117 (Китай). Промежуточные и анализируемые растворы элементов готовили из соответствующих ГСО (МСО). Для приготовления растворов использовали следующие реактивы: конц. HNO_3 (ос. ч. 27-5 ГОСТ 1125-84), конц. HCl (ос. ч. ГОСТ 14261-77), нитрат палладия концентрации 10 г/л (Palladium matrix modifier, Merck, Германия), нитрат магния концентрации 10 г/л (Magnesium matrix modifier, Merck, Германия), поверхностно активное вещество Triton X-100 (Thermo Scientific, США).

В качестве защитного инертного газа использовали аргон высшего сорта (чистота 99.993%).

Условия и процедуры. Pb, Cd, As и Au определяли в графитовых печах без пиролитического покрытия, Cu, Mo, Pd, Ti и V – в графитовых печах с пиролитическим покрытием. Во всех экспериментах дозируемая аликвота составляла 5 мкл. Для всех элементов испарение проводили в две стадии: время каждой стадий 6 с, температуры 90 и 110°C . Внутренний поток аргона закрывали только на стадии атомизации, на остальных стадиях испарения, пиролиза и очистки этот поток открывали.

При проверке модели анализируемые образцы готовили разбавлением промежуточного раствора элемента соответствующим фоновым раствором: дистиллированной водой для Cu, Cd, Mo, Pb, Pd, Ti, V, 1%-ной HCl в дистиллированной воде для Au, раствором палладиевого модификатора с концентрацией 50 мг/л палладия в дистиллированной воде для As. При проверке модели для всех элементов использовали первую стадию пиролиза со следующими параметрами: время – 6 с, температура – 200°C . На стадиях испарения и пиролиза внутренний поток аргона был открыт. Температуры стадии атомизации: 1800°C для Cd и Pb, 2100°C для Au, 2200°C для Cu, 2400°C для As и Pd, 2750°C для Mo, Ti, V. Для всех элементов длительность стадии атомизации была равна 500 мс,

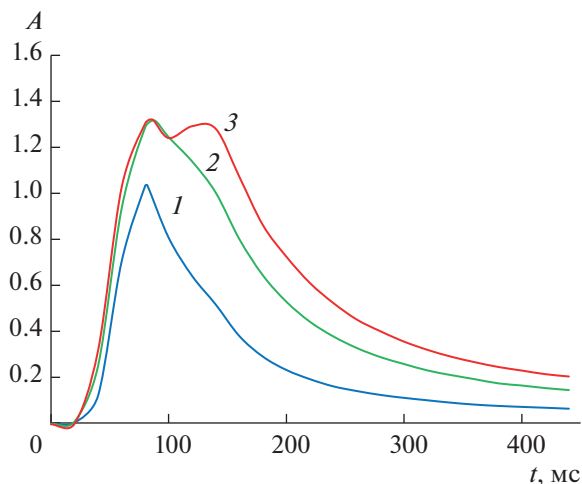


Рис. 1. Сигналы атомной абсорбционности для 125 (1; $A_{\text{макс}} = 1.034$), 250 (2; $A_{\text{макс}} = 1.318$) и 500 (3; $A_{\text{макс}} = 1.320$) мкг/л золота (фон – 1%-ная HCl) в графитовой печи Вириал НП.

а внутренний поток аргона на стадии атомизации был закрыт.

Для приготовления анализируемых образцов из СОС сухого молока GBW10117 (КНР) использовали прямой метод подготовки, без минерализации. Навеску пробы СОС сухого молока массой около 1 г разбавляли в 50 мл дистиллированной воды в кварцевой колбе при нагревании до 50–60°C. Затем объем 980 мкл раствора пробы молока переносили в пробирку автодозатора и добавляли в этот раствор по 5 мкл палладиевого и магниевого модификаторов и 10 мкл 0.1%-ного раствора Triton X-100 в дистиллированной воде. В полученном анализируемом образце определяли As, Cd и Pb. При приготовлении холостого образца вместо пробы молока в пробирку вводили 980 мкл дистиллированной воды, в которую добавляли указанные выше модификаторы. Для определения Cu анализируемый и холостой образцы разбавляли в 10 раз дистиллированной водой.

Палладиевый и магниевый модификаторы позволяют увеличить температуру графитовой печи на стадии пиролиза и предотвратить существенные потери аналита. Добавка ПАВ Triton X-100 уменьшает поверхностное натяжение раствора, что способствует локализации дозируемой капли в центральной части графитовой печи и приводит к улучшению сходимости результатов измерений.

Для минимизации фонового поглощения, возникающего при атомизации анализируемых образцов молока, на последней (перед атомизацией) стадии пиролиза графитовую печь нагревали до 700°C для Cd, 900°C для Pb, 1100°C для Cu и 1400°C для As. Время выдержки установленной температуры на этой стадии пиролиза составляло 5 с для всех элементов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В первую очередь необходимо было апробировать предложенный способ измерения уровня насыщения и доказать, что при данном токе ЛПК уровень насыщения не зависит от типа графитовой печи и состава используемого раствора элемента. Ниже приведены результаты таких экспериментов для золота. Установили, что характеристическая масса золота в графитовой печи Вириал НП $c_{\text{ХАР}} \approx 0.5$ мкг/л, следовательно, минимальная концентрация насыщения $c_{\text{НАС}} \approx 250$ мкг/л.

Из рис. 1 следует, что концентрации 250 мкг/л достаточна для установления уровня насыщения золота, поскольку при дальнейшем увеличении концентрации значение $A_{\text{НАС}}$ практически остается постоянным. Установленное значение $A_{\text{НАС}}$ является средним арифметическим трех параллельных измерений. Относительное среднеквадратичное отклонение (ОСКО) результатов параллельных измерений не превышало 1%.

Уровни насыщения золота для различных матриц, приведенные в табл. 1, отличаются на 3% от среднего значения $A_{\text{НАС}} = 1.318$, которое можно принять постоянным для данного эксперимента. Аналогично установили значения уровней насыщения для других элементов (см. табл. 2).

Для аналитического прибора, каким после градуировки становится АА-спектрометр, входной величиной является определяемая концентрация $c_{\text{ВХ}}$, а выходной величиной – найденная концентрация $c_{\text{ВЫХ}}$. Для получения искомой информации сначала проводят прямое преобразование $A = f(c_{\text{ВХ}})$ определяемой концентрации в аналитический сигнал, а затем обратное преобразование $c_{\text{ВЫХ}} = \varphi(A)$ аналитического сигнала в найденную концентрацию. Так как $\varphi(f(x)) = x$, то идеальная функция преобразования аналитического прибора имеет вид $c_{\text{ВЫХ}} = c_{\text{ВХ}}$. Однако любая реальная модель, являясь приближением, искажает эту функцию. Мы попытались оценить степень искажения идеального преобразования $c_{\text{ВЫХ}} = c_{\text{ВХ}}$ для предлагаемой модели на примере палладия (табл. 3). Каждое значение A_i является средним арифметическим четырех параллельных измерений. ОСКО результатов параллельных измерений не превышало 3%.

Полученная зависимость идеальной атомной абсорбционности a_i от определяемой $c_{\text{ВХ}i}$ является линейной ($a = 0.001902c_{\text{ВХ}}$), т. к. коэффициент детерминации $R^2 = 0.998101$. Коэффициент наклона линии регрессии $a = 0.001902c_{\text{ВХ}}$ является усредненным матричным коэффициентом \bar{k} , который использовали для вычисления $c_{\text{ВЫХ}} = a/\bar{k}$ и установления зависимости $c_{\text{ВЫХ}}$ от $c_{\text{ВХ}}$ (см. табл. 3).

Таблица 1. Уровни насыщения ($A_{\text{НАС}}$) функции преобразования золота в различных графитовых печах и матрицах

Тип графитовой печи	Матрица	$A_{\text{НАС}}$, Б
Вириал НП	1% HCl	1.317
	1% HCl + 50 мг/л Pd	1.332
	1% HCl + 5% HNO ₃ + по 50 мг/л Pd и Mg	1.298
Вириал П	1% HCl	1.32
	1% HCl + 50 мг/л Pd	1.325
	Диоктисульфид в толуоле (1 : 20)	1.308
Шунк НП	1% HCl	1.243
	1% HCl + 50 мг/л Pd	1.319
	1% HCl + 5% HNO ₃ + 50 мг/л Pd	1.254
Шунк П	1% HCl	1.394
	1% HCl + 50 мг/л Pd	1.324
Среднее арифметическое значение \pm СКО		1.31 \pm 0.04

Так как в идеале $c_{\text{ВЫХ}} = c_{\text{ВХ}}$, то отличие от единицы коэффициента наклона линии регрессии зависимости $c_{\text{ВЫХ}}$ от $c_{\text{ВХ}}$ (см. рис. 2) является критерием правильности модели. Для палладия это отличие равно -0.011% , а для других элементов значения этого параметра лежат в диапазоне от -0.03 до 0.03% , что подтверждает правильность модели.

Значение относительной погрешности определения концентрации элемента в анализируемом образце вычисляли по формуле:

$$\Delta_{\text{ОТН}} = \frac{(c_{\text{ВЫХ}} - c_{\text{Ф}}) - c_{\text{ВХ}}}{c_{\text{ВХ}}} \times 100\%, \quad (10)$$

где $c_{\text{ВХ}}$ и $c_{\text{ВЫХ}}$ – значения приготовленной и найденной концентрации элемента в анализируемом образце соответственно, $c_{\text{Ф}}$ – найденная концентрация элемента в фоновом образце.

Установление среднего значения матричного коэффициента необходимо для верификации модели. Для реализации алгоритма адаптивной градуировки, основанной на предположении о независимости матричного коэффициента от концентрации элемента, достаточно установления значения матричного коэффициента для одной концентрации. Например, в табл. 3 приведены значения найденной концентрации, рассчитанные по матричному коэффициенту $k(400) = (0.8083 - 0.0015) / 400 = 0.002017$. Градуировочная зависимость получается из функции преобразования путем измерения сигналов для фонового образца и анализируемого образца с концентрацией 400 мкг/л. Средняя относительная погрешность, которую вычисляли по формуле

$\bar{\Delta} = \sum |\Delta_i| / 9$, в этом случае составила 4%, что в 1.5 раза меньше, чем для градуировки по усредненному матричному коэффициенту.

Из табл. 3 следует, что для палладия диапазон измерения аналитического сигнала простирается от 0.0044 до 1.0638 Б, что близко к уровню насыщения, равному 1.13 Б. Предел обнаружения палладия (по ЗСКО-критерию) для нашего эксперимента составил 0.8 мкг/л. Таким образом, диапазон определяемых концентраций палладия составляет 1–1000 мкг/л, т.е. три порядка величины.

Таблица 2. Значения температуры стадии атомизации (T_A), уровня насыщения ($A_{\text{НАС}}$), параметра (s) и коэффициента детерминации (R^2) зависимости a от $c_{\text{ВХ}}$ элементов

Элемент	T_A , °C	$A_{\text{НАС}}$, Б	s	R^2
Ванадий	2750	0.823	0.177	0.9975
Золото	2100	1.320	0.0503	0.9986
Кадмий	1800	0.682	0.263	0.9968
Медь	2200	1.307	0.0519	0.9992
Молибден	2750	1.012	0.108	0.9973
Мышьак	2400	0.565	0.374	0.9982
Палладий	2200	1.126	0.0810	0.9981
Свинец	1800	0.680	0.264	0.9979
Титан	2750	0.870	0.156	0.9983

Таблица 3. Определяемые ($c_{\text{ВХ}}$) и найденные ($c_{\text{ВЫХ}} - c_{\text{Ф}}$) концентрации (мкг/л) палладия, относительные погрешности ($\Delta_{\text{ОТН}}$), измеренные сигналы атомной абсорбционности (A) и соответствующие сигналы идеальной атомной абсорбционности (a)

$c_{\text{ВХ}}$	$A, \text{ Б}$	$a, \text{ Б}$	$\bar{k} = 0.01902$		$k(400) = 0.02017$	
			$c_{\text{ВЫХ}} - c_{\text{Ф}}$	$\Delta_{\text{ОТН}}, \%$	$c_{\text{ВЫХ}} - c_{\text{Ф}}$	$\Delta_{\text{ОТН}}, \%$
0	0.00136	0.0015	0	—	0	—
2	0.00483	0.0051	1.893	-5.36	1.861	-6.98
10	0.02064	0.0223	10.930	9.36	10.351	3.51
50	0.09694	0.1058	54.837	9.67	51.731	3.46
100	0.19225	0.2123	110.831	10.83	104.356	4.36
200	0.3563	0.4034	211.304	5.65	199.444	-0.28
400	0.66017	0.8083	424.185	6.05	400.721	0.18
600	0.8633	1.1728	615.825	2.64	580.323	3.28
800	0.97236	1.4649	769.401	-3.83	725.710	9.29
1000	1.06384	1.9061	1001.472	0.15	944.789	-5.52

Кроме палладия, модель адаптивной градуировки проверили для элементов различной летучести. В табл. 2 приведены температуры атомизации, параметры функции преобразования (5) и коэффициенты детерминации зависимостей a от $c_{\text{ВХ}}$ этих элементов.

На рис. 3 показаны графики функций преобразования некоторых элементов. Для легколетучих элементов (Cd и Pb) в быстро нагреваемой графитовой печи скорость атомизации гораздо больше скорости диссипации атомного пара из

аналитической ячейки и амплитуда $A_{\text{МАКС}}$ импульса $A(t)$ атомной абсорбционности равна общему числу N_0 атомов элемента в анализируемом образце [9, 10]. С уменьшением летучести элемента скорость атомизации становится сравнимой со скоростью диссипации для среднелетучих элементов (As, Au, Cu, Pd). И, наконец, для труднелетучих элементов (Mo, Ti, V), к тому же образующих термостойкие карбиды, амплитуда $A_{\text{МАКС}}$ почти целиком определяется скоростью атомизации.

Мы полагаем, что близость коэффициента детерминации к единице для элементов различной летучести (см. табл. 3) является надежным дока-

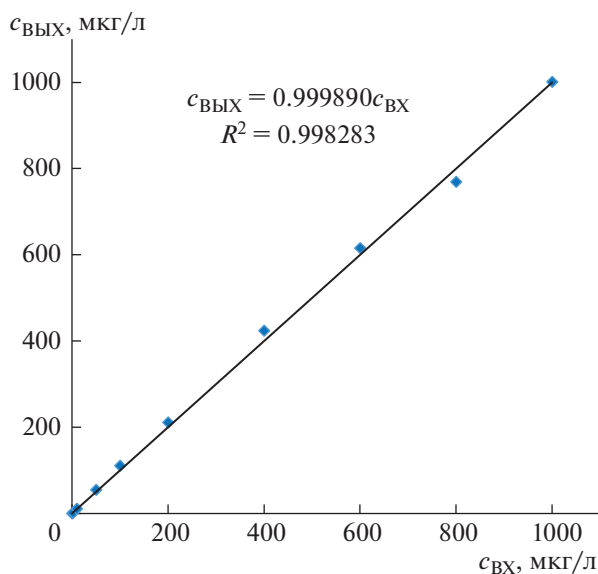


Рис. 2. График зависимости и линия регрессии найденной концентрации $c_{\text{ВЫХ}}$ от определяемой концентрации $c_{\text{ВХ}}$.

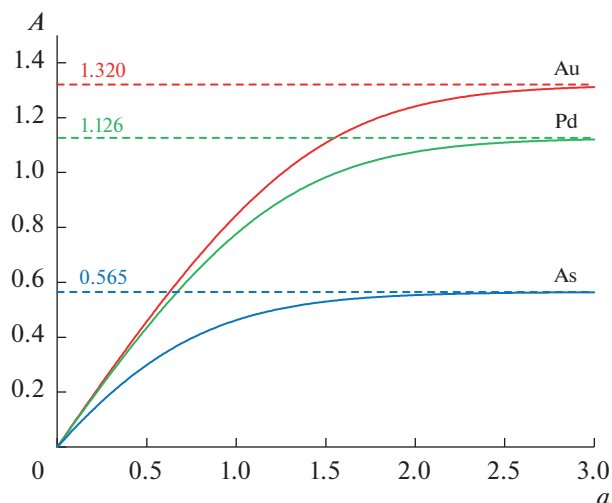


Рис. 3. Графики функций преобразования и соответствующие уровни насыщения Au, Pd и As.

Таблица 4. Концентрации (мкг/г) элементов в стандартном образце состава сухого молока GBW10117

Элемент	Аттестовано	Найдено по адаптивной градуировке ($n = 3, P = 0.95$)	Найдено по внешней градуировке ($n = 3, P = 0.95$)
Свинец	0.416 ± 0.010	0.43 ± 0.03	0.32 ± 0.02
Кадмий	0.111 ± 0.002	0.118 ± 0.008	0.082 ± 0.006
Мышьяк	0.20 ± 0.01	0.23 ± 0.02	0.13 ± 0.02
Медь	5.96 ± 0.32	6.05 ± 0.42	5.84 ± 0.38

зательством адекватности способа адаптивной градуировки при применении амплитудного способа регистрации. Адаптивная градуировка использует весь диапазон измерения атомной абсорбционности элемента, что позволяет расширить диапазон определяемых концентраций до трех порядков. При определении концентрации элемента в анализируемом образце с помощью одной добавки систематическая погрешность в основном обусловлена погрешностью приготовления концентрации добавки и практически не превышает 10% во всем концентрационном диапазоне.

Все изложенное выше демонстрирует работу метода адаптивной градуировки для образцов с простой матрицей. Прямые доказательства эффективности предлагаемого метода для сложных матриц представлены ранее [6].

С целью подтверждения эффективности метода адаптивной градуировки и сравнения влияния методов адаптивной и внешней градуировки на правильность результатов анализа определили концентрации элементов в СОС сухого молока GBW10117 (табл. 4). Если для адаптивной градуировки результаты измерений для всех элементов совпадают с аттестованными значениями, то для внешней градуировки результаты измерений оказались заниженными. При этом для As, Cd и Pb результаты измерений не совпадают с аттестованными значениями даже с учетом погрешностей. Это может быть обусловлено и депрессирующим влиянием матрицы, и разными потерями аналита при пиролизе “чистых” градуировочных и анализируемых образцов. Способ адаптивной градуировки компенсирует и первое, и второе.

* * *

Способ адаптивной градуировки используется в аттестованных методиках количественного химического анализа, разработанных ООО “Кортэк”: “Методика измерений массовой концентрации свинца, кадмия, мышьяка, цинка, меди, железа, олова в продовольственном сырье и пищевых продуктах методом электро-

термической атомно-абсорбционной спектроскопии” (ФР.1.37.2020.38609) и “Методика измерений массовой концентрации свинца, кадмия, мышьяка, цинка, меди, железа в пищевых продуктах без минерализации методом электротермической атомно-абсорбционной спектроскопии” (ФР.1.31.2021.39780).

Таким образом, функция преобразования, которая является интегральной оптической характеристикой ЭТАА-спектрометра, позволяет определить концентрацию элемента в анализируемом образце непосредственно в процессе адаптивной градуировки. Два измерения аналитического сигнала для анализируемого образца и того же образца с добавкой аналита достаточны и для установления реальной концентрационной шкалы во всем диапазоне измерения атомной абсорбционности и для установления значения искомой концентрации элемента в анализируемом образце. Адаптивная градуировка объединяет процедуры градуировки и измерения и позволяет скорректировать не только матричные влияния, но и изменения эффективности атомизации, обусловленные другими причинами, например старением графитовой печи. Кроме того, способ адаптивной градуировки позволяет определять концентрацию аналита во всем диапазоне измерения аналитического сигнала атомной абсорбционности, не ограничиваясь его узкой линейной частью.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Основы аналитической химии. В 2-х тт. Т. 1 / Под ред. Золотова Ю.А. М.: Издательский центр “Академия”, 2012. 384 с.
2. Дворкин В.И. Метрология и обеспечение качества химического анализа. М.: Техносфера, 2020. 317 с.
3. ГОСТ Р 52361-2018. Контроль объекта аналитический. Термины и определения. М.: Стандартинформ, 2018. 11 с.
4. De Loos-Vollebregt M.T.C., de Galan L. Stray light in Zeeman and pulsed hollow cathode lamp atomic absorption spectrometry // Spectrochim. Acta B. 1986. V. 41. № 6. P. 597.

5. Садагов Ю.М., Левин А.Д., Бирюкова И.В. Функции преобразования в электротермической атомно-абсорбционной спектроскопии // Измерительная техника. 2021. № 4. С. 63.
<https://doi.org/10.32446/0368-1025it.2021-4-63-67>
6. Садагов Ю.М., Тютюник О.А., Кубракова И.В., Садагов А.Ю. Учет матричных эффектов при спектротрическом определении следов элементов с использованием метода одной стандартной добавки // Журн. аналит. химии. 2022. Т. 77 № 6. С. 563.
7. Frenich A.G., Vidal J.L.M., Moreno J.L.F., Romero-Gonzalez R. Compensation for matrix effects in gas chromatography–tandem mass spectrometry using a single point standard addition // J. Chromatogr. A. 2009. V. 1216. № 2. P. 4798.
8. Yasuda K., Koizumi H., Ohishi K, Noda T. Zeeman effect atomic absorption // Prog. Anal. Atom. Spectrosc. 1980. V. 3. № 4. P. 299.
9. Sadagoff Yu.M. A longitudinally heated graphite furnace for a longitudinal magnetic field. Formation of absorbance signals // Spectrochim. Acta B. 1997. V. 52. № 9–10. P. 1395.
10. Садагов Ю.М., Лантеев С.А. Формирование аналитических сигналов в графитовых печах // Журн. аналит. химии. 1998. Т. 53. № 10. С. 1051.

УДК 543.423.1 546.46, 546.41

ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ ДОБАВОК НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ЛИНИЙ МЕТАЛЛОВ В ЭМИССИОННОМ СПЕКТРЕ КАПЕЛЬНО-ИСКРОВОГО РАЗРЯДА ПРИ ВВОДЕ ПРОБЫ В ЭЛЕКТРОЛИТНЫЙ АНОД

© 2023 г. В. В. Ягов^а, А. А. Жирков^{а, *}, А. А. Мальченкова^а

^аИнститут геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук
ул. Косыгина, 19, Москва, 119991 Россия

*e-mail: vdomah@gmail.com

Поступила в редакцию 24.12.2022 г.

После доработки 16.03.2023 г.

Принята к публикации 22.03.2023 г.

Изучено влияние природы и концентрации органических модификаторов среды на интенсивность линий некоторых тяжелых металлов (Ag, Cd, Hg, Pb, Tl, Zn) в спектре капельно-искрового разряда при вводе пробы в электролитный анод. Показано, что добавки 0.1–6 мас. % полярных органических соединений многократно повышают интенсивность линий Pb, Tl и Zn и снижают интенсивность линий Ag. Наибольший эффект – двадцатикратное усиление линий цинка – наблюдали при введении метанола в разбавленные кислоты. Сигнал кадмия нечувствителен к органическим примесям в разбавленных кислотах, но усиливается в концентрированных растворах солей.

Ключевые слова: капельно-искровой разряд, микроплазма, атомно-эмиссионная спектроскопия, электролитный анод, органические модификаторы среды, тяжелые металлы, концентрированные растворы солей.

DOI: 10.31857/S0044450223080170, EDN: SIEKTW

Тлеющий разряд атмосферного давления с жидким электродом в последнее десятилетие стал достаточно широко распространенным источником атомизации и возбуждения в атомно-эмиссионной спектроскопии [1–3]. Его статус с “перспективного объекта интереса спектроскопистов” сменился на используемый в прикладных исследованиях инструмент определения макрокомпонентов минерального состава и некоторых микропримесей чая [4], меда [5], фруктового сока [6, 7], тканей рыб и водорослей [8], стоков со свалок отходов электронной промышленности [9], цельной крови [10], донных осадков [11], подземных вод и рап [12], сажи [13]. Для всех источников с жидким электродом характерны сильные матричные влияния, которые разительно отличаются для электролитного катода и электролитного анода. Главным фактором, контролирующим распыление электролитного катода и, соответственно, поступление металлов в плазму, является ионная сила раствора; природа металла-аналита и фонового электролита играют второстепенную роль [14]. Поступление металлов из электролитного анода в плазму происходит без образования аэрозоля [15]. Это молекулярно-селективный процесс, необычная электрохимическая реакция, протекающая на границе электролит/плазма. Матричные

влияния здесь особенно значимы, а их специфичность в отношении каждого элемента весьма необычна для атомной спектроскопии.

Одним из матричных эффектов является влияние небольших добавок органических веществ [16–19]. Авторы работ [18, 19] наблюдали как усиление, так и подавление аналитических линий в спектрах тлеющего разряда с электролитным анодом (ТРЭА). Эффект сложным образом связан с природой добавок и металлов. Стабильность ТРЭА в воздухе резко снижается в присутствии многих органических веществ уже на уровне десятых долей процента [20]; очень существенными являются также ограничения по концентрации фонового электролита. Эти обстоятельства существенно ограничивают изменения химического состава раствора при изучении матричных эффектов для источников на основе ТРЭА. Благодаря импульсной природе капельно-искрового разряда (КИР) позволяет свободнее варьировать содержание как минеральных, так и органических компонентов раствора.

Цель настоящей работы – изучение влияния органических добавок на интенсивность линий ряда тяжелых металлов при вводе пробы в анодную каплю КИР. Основное внимание уделяли поиску модификаторов, дающих многократное

Таблица 1. Содержание тяжелых металлов и их спектральные линии, применяемые для расчета I/I_0

Элемент	Концентрация, мкМ	Длина волны, нм
Pb	200	405.78
Cd	200	228.80
Zn	1000	481.05
Tl	0.2	535.05
Hg	50	253.65

усиление аналитического сигнала, причем не только для разбавленных кислот, но и для концентрированных солевых растворов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Капельно-искровой разряд возникает при сближении разноименно заряженных капель водного электролита. Опускающаяся верхняя капля, образованная вспомогательным раствором (разб. HCl или HNO₃), служит для замыкания цепи, а также жидкой линзой, через которую свет попадает в оптоволоконный жгут спектрометра Maya2000 Pro. Пробу наносили в виде нижней капли объемом 20 мкл. Подробное описание прибора, включая ключ изменения полярности, дано в наших предыдущих работах [21, 22].

Растворители и реагенты. Использовали свежеприготовленную дистиллированную воду (установка очистки ДЭ-4, pH 5.8); Ag, Cd, Hg, Pb, Tl, Zn в виде растворов хлоридов соответствующих металлов с концентрацией 1 мг/мл в 0.1 М HCl (ГСО, “Экоаналитика”, Россия); азотную, соляную, муравьиную, уксусную, кислоты ос. ч. (Химмед, Россия); хлорид натрия, дигидрофосфат калия, хлорид лантана(III), сульфат магния, глицин, треонин, триптофан х. ч., (Химмед, Россия); нитрометан, формамид, этилацетат, 1,4-диоксан, диметилсульфоксид, диметилформамид ос. ч. для хроматографии (Компонент-реактив, Россия); метанол, этанол, *n*-бутанол, этиленгликоль, метилизобутилкетон х. ч. (Экос-1, Россия); полиэтиленгликоль (ПЭГ) средней молекулярной массы 12000 х. ч. (Merk, Германия).

Растворы готовили непосредственно перед проведением эксперимента. Аликвотные части отбирали при помощи набора микропипеток ThermoScience (диапазоны объемов 2–20, 20–200, 100–1000 мкл, точность отбора аликвотной части ±1.5%). Для измерения массы использовали весы Extended ED Sartorius AG (Германия).

Методики исследования. Резервуар для вспомогательного раствора (жидкой линзы) заполняли 0.12 М HCl или 0.12 М HNO₃ (в опытах с Ag). Рабочий раствор для анодного электролита гото-

вили, добавляя к 20 мМ соляной (азотной) кислоте либо к солевому раствору необходимое количество органического модификатора. В полученный раствор вносили добавку необходимых количеств определяемых элементов, наносили полученный раствор дозатором в виде капли на металлический анод и измеряли сигнал при длинах волн, указанных в табл. 1. Аналитическим сигналом служила интегральная интенсивность свечения при соответствующей длине волны за первые 40 мс разряда. Измерения проводили, варьируя состав матричного раствора при фиксированных концентрациях определяемых элементов, которые приведены в табл. 1. Сравнивали интенсивность линий тяжелых металлов с органическими добавками (I) и без них (I_0); на рисунках и в таблицах приведена относительная интенсивность I/I_0 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор органических добавок обусловлен, с одной стороны, распространенностью растворителей в аналитической практике (спирты, 1,4-диоксан и этилацетат), с другой стороны, возможностью образовывать сольваты и/или комплексы с переходными металлами (карбоновые и особенно аминокислоты). Выбор этиленгликоля и ПЭГ обусловлен сходством их химического строения с широко распространенным 1,4-диоксаном и одновременно значительным различием в теплофизических свойствах.

Большая часть данных относится к Pb, Zn и Tl: для этих элементов в подходящих условиях наблюдали многократное усиление сигнала органическими добавками. Линии кадмия слабо реагируют на присутствие органических веществ в разбавленных кислотах, но могут существенно усиливаться в растворах солей. Для ртути также наблюдали относительно слабое разнонаправленное влияние органических модификаторов. Для серебра введение 0.1–0.3 мас. % органических растворителей приводит к снижению сигнала в десятки раз и к полному исчезновению линий в спектре при большей концентрации.

Первые четыре строки табл. 2 относятся к одноуглеродным растворителям. Метанол обладает наиболее выраженным эффектом, для цинка наблюдается рекордное двадцатикратное усиление сигнала. Как видно из рис. 1, эффект связан с природой фонового электролита. Так, метанол в большей мере усиливает линии свинца и таллия в соляной кислоте, чем в азотной, тогда как для цинка наблюдается обратная картина. При этом следует отметить, что сама по себе замена 20 мМ HCl на 20 мМ HNO₃ не приводит к существенному изменению интенсивности линий Cd, Pb, Zn и Tl.

Таблица 2. Максимальные значения относительной интенсивности линий некоторых тяжелых металлов и оптимальные концентрации (мас. %) органических модификаторов

№	Органический модификатор	Диапазон концентраций, %	Pb	Zn	Tl
Фоновый электролит – 20 мМ HCl					
1	Метанол	0.4–1.5	3.5/0.4	20.0/1.4	2.2/0.4
2	Муравьиная кислота	0.1–2.4	5.1/1.4	6.0/0.7	2.1/1.4
3	Формаид	0.1–0.9	3.8/0.3	2.8/0.3	1.35/0.1
4	Нитрометан	0.1–1	1.23/0.1	1/0	1.6/0.3
5	Этанол	0.4–1.5	4.4/0.4	12.9/1.4	2.1/0.4
6	Уксусная кислота	0.3–2.0	6.9/2.0	6.4/0.3	3.4/2
7	Ацетонитрил	0.1–1.0	6.0/1.0	4.1/0.6	2.0/0.6
8	Этиленгликоль	0.15–8.0	4.8/0.3	9.5/3.0	2.4/0.4
9	Полиэтиленгликоль	0.2–1.0	3.8/0.2	10.0/0.2	2.25/0.3
10	1,4-Диоксан	0.1–3.0	5.0/0.3	10.5/1.0	2.3/0.3
11	<i>n</i> -Бутанол	0.3–1.0	2.2/0.33	8.4/0.33	1.35/0.33
12	Метилизобутилкетон	0.1–1.0	5.0/0.3	5.5/1.4	2.0/0.3
13	Этилацетат	0.4–6.0	5.9/0.4	8.0/1.4	1.9/0.4
14	Глицин	0.05–1.6	6.1/0.1	2.0/0.1	5.8/1.0
Фоновый электролит – 20 мМ HNO ₃					
15	Метанол	0.5–22	1.9/0.5	27.1/1.0	1.4/1.0
16	Этилацетат	0.3–5.0	3.7/1.0	11.8/1.0	1.1/1.0
17	Глицин	0.1–1.0	6.0/0.4	3.0/0.3	2.5/0.6
18	Диметилформаид	0.3–0.9	3.9/0.3	2.7/0.3	1.4/0.9
19	Диметилсульфоксид	0.3–1.0	3.7/0.3	7.2/0.3	1.0/0.3

Примечание: в столбцах 4–6 первое число означает кратность усиления аналитического сигнала, а второе – содержание вызывающей это усиление добавки, мас. %.

Нитрометан вовсе не усиливает сигнал Zn и слабо влияет на Pb и Tl. Формаид чуть более эффективен, муравьиная кислота дает сильный эффект в случае свинца, что согласуется с данными [22].

Строки 5–8 в табл. 2 иллюстрируют влияние полярных органических растворителей, содержащих два атома углерода. Для цинка наибольшее усиление дают спирты, для таллия и свинца – уксусная кислота. Интересно, что в случае растворов, содержащих только органическую кислоту, линии свинца в HCOOH более интенсивны, чем в CH₃COOH [22], но в качестве добавки к сильной минеральной кислоте предпочтительна CH₃COOH.

Как видно из табл. 2, диоксан и ПЭГ сходным образом усиливают сигналы металлов. То, что летучий циклический димер и нелетучий линейный полимер этиленоксида дают похожий эффект, позволяет предположить, что усиление связано с влиянием органических соединений на межфазный перенос металла, а не с реакциями в плазме.

Более гидрофобные ограниченно растворимые в воде модификаторы (11–13 в табл. 2) уме-

ренно усиливают сигнал, причем бутанол (11) заметно уступает легким спиртам для всех трех элементов.

Небольшие добавки глицина (14 в табл. 2) вызывают шестикратный рост интенсивности для линии Pb и двукратный для Zn. Для Tl глицин оказался лучшим усилителем сигнала, однако этот эффект, весьма яркий в HCl, не так сильно выражен в HNO₃ (см. рис. 2). Следует отметить, что в отличие от всех остальных модификаторов глицин изменяет ионный состав матрицы, связывая ионы водорода. Восстановление ионов таллия легче протекает в отсутствие конкурентного восстановления ионов водорода, что сказывается на сигнале. Вообще говоря, сигнал всех тяжелых металлов подавляется при повышении концентрации сильной кислоты, но если, например, для свинца оптимально присутствие 60 мМ HCl, то для Tl предпочтительны нейтральные или щелочные растворы [15].

Резюмируя, можно сказать, что для анодного варианта капельно-искрового спектрометра наиболее перспективными модификаторами среды

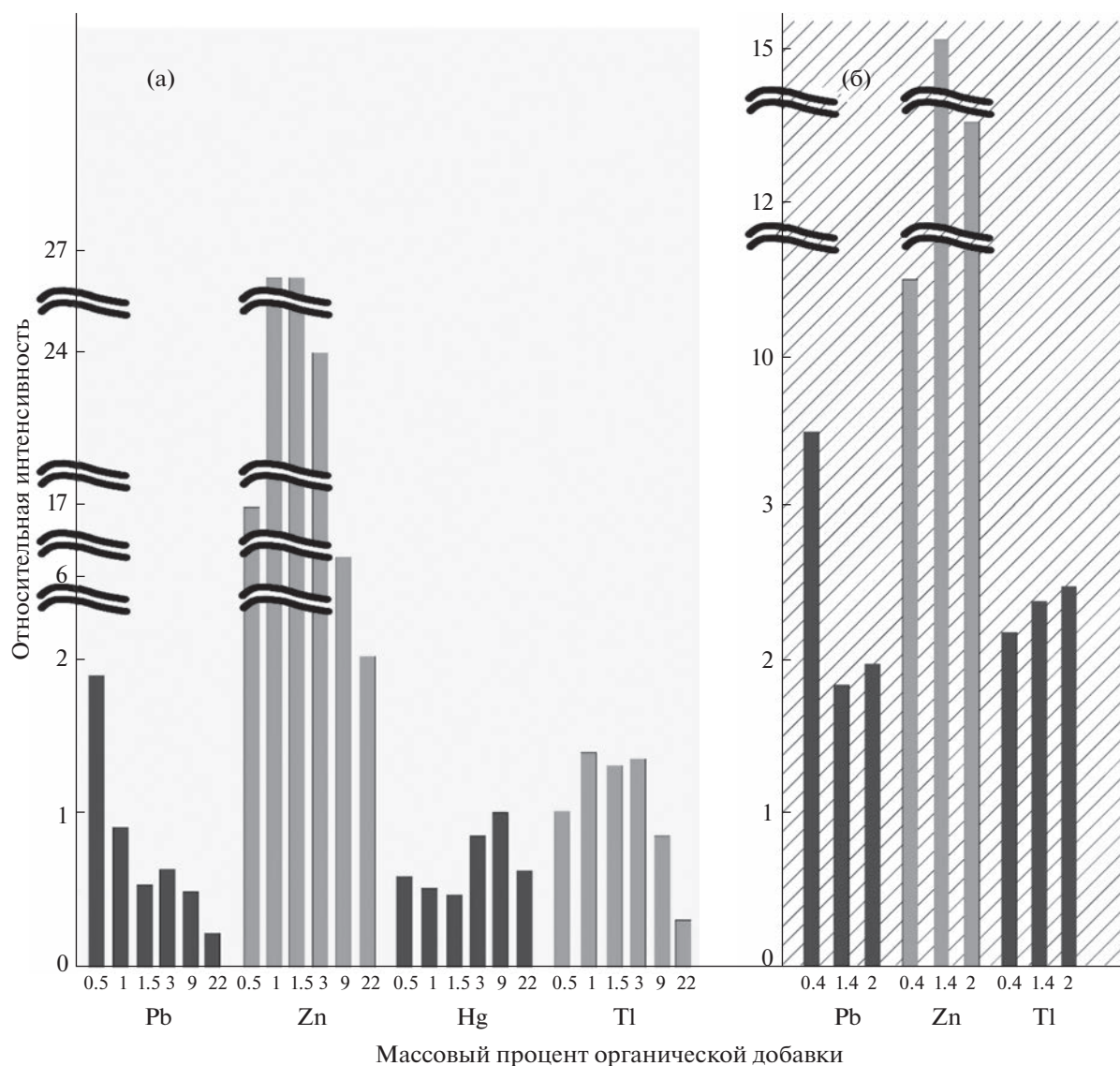


Рис. 1. Влияние метанола на интенсивность линий некоторых тяжелых металлов в спектре капельно-искрового разряда. Фоновый электролит – 20 мМ HNO_3 (а), 20 мМ HCl (б).

при атомно-эмиссионном определении Pb и Zn в кислых растворах с невысокими значениями ионной силы являются низшие спирты и карбоновые кислоты, а в случае Tl – аминокислоты. В таких средах можно рассчитывать на значимый рост коэффициентов чувствительности и снижение пределов обнаружения. Органических добавок, существенно усиливающих линии Hg, Ag и Cd на фоне разбавленных кислот, обнаружить не удалось.

Интересно сопоставить приведенные выше результаты по КИР с литературными данными по ТРЭА. В работе Швидерского с соавт. [18] изучали влияние однопроцентных добавок метанола и карбоновых кислот. Для свинца результаты хотя бы качественно согласуются: для 1%-ного мета-

нола эффект практически отсутствует как для КИР (рис. 1), так и для ТРЭА, а для уксусной и муравьиной кислот в обоих случаях наблюдали усиление. Однако, если для стационарного разряда сигнал увеличивался не более чем на треть [18], то для КИР наблюдали рост в 5–7 раз (табл. 2). В случае серебра эффекты расходятся даже по знаку: для КИР 1% метанола вызывает двадцатикратное снижение интенсивности, тогда как для ТРЭА наблюдали рост на две трети величины [18]. Указанные различия свидетельствуют о высокой чувствительности эффекта к деталям эксперимента. Стационарный ТРЭА отличается от КИР более высокой температурой жидкого анода и присутствием твердого горячего катода. Отличием КИР является стадия пробоя, предшествую-

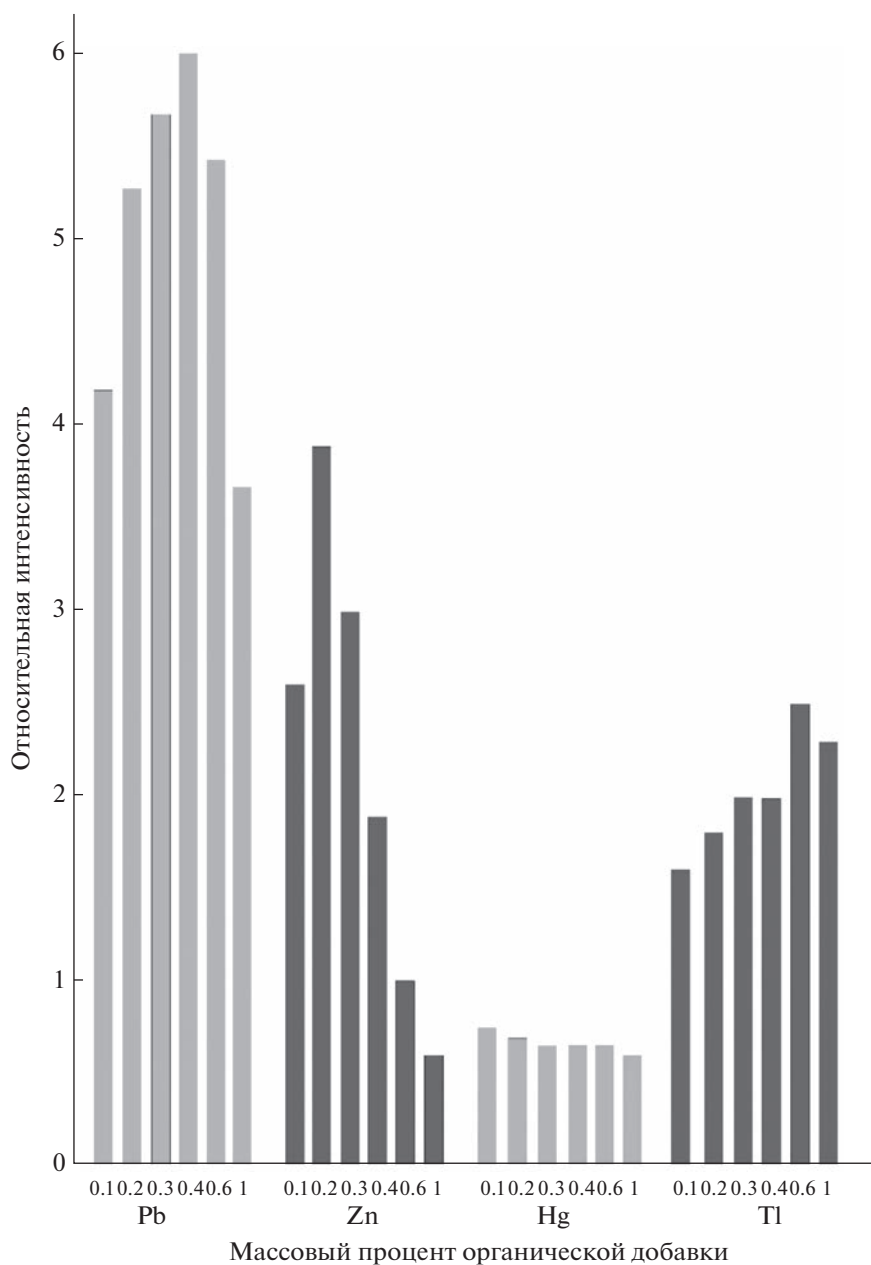


Рис. 2. Влияние аминокусусной кислоты на интенсивность линий некоторых тяжелых металлов в спектре капельно-искрового разряда. Фоновый электролит – 20 мМ HNO_3 .

щая измерению сигнала. Специфическим эффектом КИР может быть фракционирование вещества на поверхности жидкости в предпробойном электрическом поле.

В практическом отношении введение органических добавок, дающих многократное усиление сигнала, полезно для КИР, тогда как в отношении ТРЭА авторы [18–20] приходят к выводу о нецелесообразности такого приема в силу малости наблюдаемого эффекта.

Как показано в работах [19, 20], уже 2 мМ содержание щелочных, щелочноземельных метал-

лов или железа вызывает многократное падение интенсивности линий Pb и Zn в ТРЭА. Эту помеху частично или полностью удавалось скомпенсировать малыми (порядка 0.1 мас. %) добавками органических антиоксидантов. В ряде случаев восстановительный рост сигнала с увеличением концентрации органического компонента ограничивался потерей стабильности ТРЭА.

Как показано в работе [22], КИР сохраняет стабильность при высокой ионной силе электролитного анода, что позволяет наблюдать линии тяжелых металлов в насыщенном растворе хлори-

Таблица 3. Сравнение интенсивности линий тяжелых металлов в концентрированных растворах солей и в 20 мМ HCl

Элемент	Отношение сигнала в соли к сигналу в 20 мМ HCl				
	0.5 М NaCl	нас. NaCl	нас. LaCl ₃	1.3 М KH ₂ PO ₄	нас. MgSO ₄
Pb	1.56	0.75	0.42	–	–
Cd	0.30	0.62	0.37	0.34	0.33
Zn	0.84	0.64	0.78	0.12	0.88
Tl	0.51	0.48	–	0.45	–
Hg	1.10	0.55	0.15	–	0.27

да натрия, причем коэффициенты чувствительности Pb и Cd сопоставимы со значениями, характерными для разб. HCl. В табл. 3 приведены сигналы элементов, указанных в табл. 1, в концентрированных растворах солей различного зарядового типа; значения интенсивности линий нормированы на соответствующие величины в 20 мМ HCl.

Как видно из табл. 3, в растворе, имитирующем морскую воду, в случае КИР интенсивность линий Cd, Zn и Tl снизилась (относительно 20 мМ HCl) не так значительно, как в работах [19, 20], а линии Pb и Hg даже несколько усилились. Как видно из рис. 3, введение 1% этилацетата в 0.5 М раствор NaCl вызывает почти двукратный рост интенсивности излучения свинца, при дальнейшем повышении содержания модификатора сигнал падает. Для кадмия 2–4% ор-

ганической добавки обеспечивают двукратный рост интенсивности, значительно снижая подавляющее действие NaCl. Для цинка наблюдали более чем трехкратный рост сигнала.

Как видно из табл. 3, в случае более концентрированных солевых растворов линии всех элементов слабее, чем в 20 мМ HCl; в некоторых случаях сигнал снижается почти на порядок величины. В табл. 4 приведены значения наибольшей относительной интенсивности и соответствующие содержания органических добавок. Как видно из табл. 4, введение от 1 до 6% органических растворителей вызывает восстановительный рост интенсивности линий аналитов в спектрах КИР, причем в некоторых случаях интенсивность оказывается выше, чем для разбавленного раствора минеральной кислоты без модификаторов. Органические добавки в указанных концентрациях не

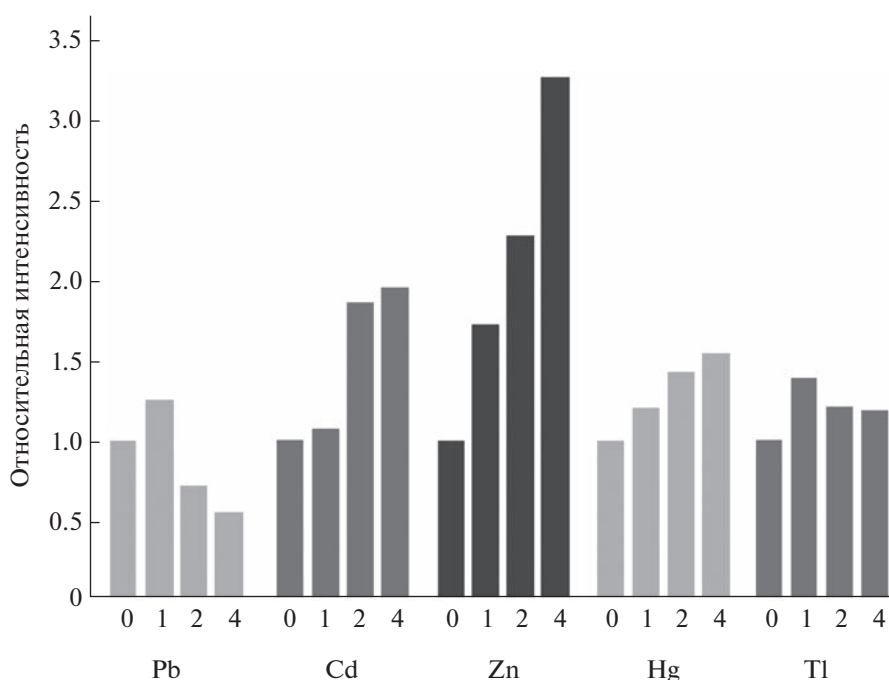
**Рис. 3.** Влияние этилацетата на относительную интенсивность линий тяжелых металлов в 0.5 М растворе NaCl.

Таблица 4. Максимальные значения относительной интенсивности линий некоторых тяжелых металлов и оптимальные концентрации органических модификаторов в концентрированных растворах солей

Элемент	Относительная интенсивность			
	нас. NaCl	нас. LaCl ₃	1.3 М КН ₂ РО ₄	нас. MgSO ₄
Pb	1.4 Этилацетат 1%	2.3 Диоксан 2%	–	–
Cd	2.7 Метанол 2.5%	1.7 Диоксан 2%	2.6 Диоксан 2%	2.1 Метанол 6%
Zn	8.3 Метанол 2.5%	3.4 Диоксан 2%	4.2 Диоксан 1%	6.3 Метанол 4%
Tl	2.9 Метанол 2.5%	–	3.0 Диоксан 1%	–

ухудшают воспроизводимость измерений в растворах и могут быть полезным средством повышения чувствительности.

Влияние органических добавок является одним из проявлений необыкновенно сильных матричных эффектов, характерных для источников с электролитным анодом. По-видимому, ключевой стадией межфазного переноса тяжелых металлов является восстановление их ионов на границе жидкость/ионизованный газ с образованием атомного пара или промежуточных летучих соединений. Элементы, способные к выходу в плазму с электролитного анода, объединяют две особенности: во-первых, все они способны к восстановлению в воде до металла и, во-вторых, обладают не слишком высокой температурой кипения. Роль органических добавок предположительно состоит в появлении на границе раздела сильных восстановителей – высокоактивных радикалов, образующихся под действием электронного пучка, бомбардирующего электролитный анод.

Наибольшая эффективность переноса металла из электролитного анода в плазму характерна для Tl(I) и Ag(I). Можно предположить, что однозарядный катион – предпочтительная стартовая форма для переноса металла из жидкости в плазму, причем ключевой стадией является рекомбинация локализованного на поверхности иона с горячим электроном, поступающим из плазмы. При этом образуется возбужденный атом металла, способный сбросить гидратную оболочку и перейти в газовую фазу. Сходные предположения используют при обсуждении механизма электронно-стимулированной десорбции [23]. Лучшими мишенями являются гидратированные катионы Ag⁺ и Tl⁺, но в этой роли могут выступать также Zn⁺, Pb⁺ и Cd⁺. Органические добавки, видимо, стабилизируют неустойчивые одновалентные формы этих тяжелых металлов. Можно также предположить, что ионы Ag⁺ не достигают по-

верхности, восстанавливаясь на некоторой глубине диффундирующими вглубь активными продуктами плазмохимического разложения органических веществ, из-за чего органические добавки подавляют сигнал серебра.

С точки зрения анализа влияние органических примесей имеет двойное значение. Во-первых, это физико-химическая помеха, которую следует иметь в виду при использовании соответствующих источников в анализе. Эта помеха существенно ограничивает возможности определения серебра в реальных объектах. С другой стороны, возможность многократного усиления сигнала простым введением небольших добавок органических соединений существенно улучшает чувствительность метода в отношении определения Zn, Pb, Tl и, в меньшей степени, Cd и Hg.

Работа выполнена по теме госзадания ГЕОХИ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pohl P., Jamroz P., Swiderski K., Dzimitrowicz A., Lesniewicz A. Critical evaluation of recent achievements in low power glow discharge generated at atmospheric pressure between a flowing liquid cathode and a metallic anode for element analysis by optical emission spectrometry // Trends Anal. Chem. 2017. V. 88. P. 119.
2. Leng A., Lin Y., Yong L., Zheng C. Progress and application of liquid electrode glow discharge for atomic spectrometry // Chinese J. Anal. Chem. 2020. V. 48. № 9. P. 1131
3. Pohl P., Greda K., Dzimitrowicz A., Welna M., Szymczycha-Madeja A., Lesniewicz A., Jamroz P. Cold atmospheric plasma-induced chemical vapor generation in trace element analysis by spectrometric methods // Trends Anal. Chem. 2019. V. 113. P. 234.
4. Jamróz P., Pohl P., Żyrnicki W. An analytical performance of atmospheric pressure glow discharge generated in contact with flowing small size liquid cathode // J. Anal. At. Spectrom. 2012. V. 27. № 6. P. 1032.
5. Greda K., Jamroz P., Dzimitrowicz A., Pohl P. Direct elemental analysis of honeys by atmospheric pressure

- glow discharge generated in contact with a flowing liquid cathode // *J. Anal. At. Spectrom.* 2014. V. 30. № 1. P. 154.
6. *Gorska M., Pohl P.* Simplified and rapid determination of Ca, K, Mg, and Na in fruit juices by flowing liquid cathode atmospheric glow discharge optical emission spectrometry // *J. Anal. At. Spectrom.* 2021. V. 36. № 7. P. 1455.
 7. *Gorska M., Pohl P.* Application of atmospheric pressure glow discharge generated in contact with liquids for determination of chloride and bromide in water and juice samples by optical emission spectrometry // *Talanta.* 2022. V. 237. Article 122921.
 8. *Shekhar R.* Improvement of sensitivity of electrolyte cathode discharge atomic emission spectrometry (ELCAD-AES) for mercury using acetic acid medium // *Talanta.* 2012. V. 93. P. 32.
 9. *Gorska M., Pohl P.* Comparison of the performance of atmospheric pressure glow discharges operated between a flowing liquid cathode and either a pin-type anode or a helium jet anode for the Ga and In determination by the optical emission spectrometry // *Talanta.* 2021. V. 226. Article 122155.
 10. *Qian L., Lei Z., Peng X., Yang G., Wang Z.* Highly sensitive determination of cadmium and lead in whole blood by electrothermal vaporization-atmospheric pressure glow discharge atomic emission spectrometry // *Anal. Chim. Acta.* 2021. V. 1162. Article 338495.
 11. *Gręda K., Jamróz P., Pohl P.* The improvement of the analytical performance of direct current atmospheric pressure glow discharge generated in contact with the small-sized liquid cathode after the addition of non-ionic surfactants to electrolyte solutions // *Talanta.* 2013. V. 108. P. 74.
 12. *Yu J., Zhang Z., Lu Q., Sun D., Zhu S., Zhang X., Wang X., Yang W.* High-sensitivity determination of K, Ca, Na, and Mg in salt mines samples by atomic emission spectrometry with a miniaturized liquid cathode glow discharge // *J. Anal. Methods: Chem.* 2017. V. 2017. P. 1.
 13. *Shekhar R., Madhavi K., Meeravali N., Kumar S.* Determination of thallium at trace levels by electrolyte cathode discharge atomic emission spectrometry with improved sensitivity // *Anal. Methods.* 2014. V. 6. № 3. P. 732.
 14. *Ягов В.В., Гецина М.Л.* Влияние состава фонового электролита на интенсивность линий металлов в электрических разрядах с жидким электролитным катодом // *Журн. аналит. химии.* 2004. Т. 59. № 1. С. 73.
 15. *Yagov V.V., Korotkov A.S., Zhirkov A.A., Zuev B.K.* Pulsed atomization and excitation sources with solution electrodes for optical emission spectroscopy / *Advances in Geochemistry, Analytical Chemistry, and Planetary Sciences.* Cham: Springer International Publishing, 2023. P. 517.
 16. *Decker C.G., Webb M.R.* Measurement of sample and plasma properties in solution-cathode glow discharge and effects of organic additives on these properties // *J. Anal. At. Spectrom.* 2015. V. 31. № 1. P. 311.
 17. *Doroski T.A., Webb M.R.* Signal enhancement in solution-cathode glow discharge – Optical emission spectrometry via low molecular weight organic compounds // *Spectrochim. Acta B: At. Spectrosc.* 2013. V. 88. P. 40.
 18. *Swiderski K., Dzimitrowicz A., Jamroz P., Pohl P.* Influence of pH and low-molecular weight organic compounds in solution on selected spectroscopic and analytical parameters of flowing liquid anode atmospheric pressure glow discharge (FLA-APGD) for the optical emission spectrometric (OES) determination of Ag, Cd, and Pb // *J. Anal. At. Spectrom.* 2018. V. 33. № 3. P. 437.
 19. *Gorska M., Pohl P., Greda K.* The application of antioxidant compounds to minimize matrix effects in flowing liquid anode atmospheric pressure glow discharge optical emission spectrometry // *Microchem. J.* 2021. V. 164. Article 105975.
 20. *Greda K., Szymczycha-Madeja A., Pohl P.* Study and reduction of matrix effects in flowing liquid anode – Atmospheric pressure glow discharge – Optical emission spectrometry // *Anal. Chim. Acta.* 2020. V. 1123. P. 81.
 21. *Ягов В.В., Коротков А.С., Жирков А.А., Погонин В.И., Зуев Б.К.* Портативный атомно-эмиссионный спектрометр для анализа растворов на основе капельно-искрового разряда // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74. № 3. С. 234.
 22. *Ягов В.В., Жирков А.А.* Аналитические возможности капельно-искрового спектрометра при вводе пробы в электролитный анод // *Журн. аналит. химии.* Т. 77. № 5. С. 427.
 23. *Агеев В.Н., Бурмистрова О.П., Кузнецов Ю.А.* Десорбция, стимулированная электронными возбуждениями // *Успехи физ. наук.* 1989. Т. 158. № 3. С. 389.

УДК 543.07:612.79

ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ПЬЕЗОСЕНСОРОВ В ОТКРЫТОЙ СИСТЕМЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ О ЛЕТУЧИХ ВЕЩЕСТВАХ КОЖИ

© 2023 г. Т. А. Кучменко^{a, b, *}, Д. А. Менжулина^c, И. А. Мураховский^a

^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, 119991 Россия

^cВоронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко
ул. Студенческая, 10, Воронеж, 394000 Россия

*e-mail: tak1907@mail.ru

Поступила в редакцию 29.08.2022 г.

После доработки 12.03.2023 г.

Принята к публикации 18.03.2023 г.

Рассмотрен единичный сенсор с пьезокварцевым трансдюсером как площадка для имитации “электронного носа”, повторяющий функцию массива сенсоров. Поставлена аналитическая задача покомпонентного обнаружения летучих органических соединений на уровне диагностически значимых концентраций в биопробах без отбора смесей и какой-либо подготовки к измерениям. Обоснована принципиальная возможность применения единичного сенсора для раздельного детектирования (распознавания) паров органических соединений и разных функциональных состояний организма при кратковременном контакте с наиболее представительной и непрерывно функционирующей биопробой – кожей (60–80 с). Определяющую роль в решении такой задачи играет применение в качестве модификатора электродов пьезокварцевых резонаторов объемных акустических волн фазы наногидроксиапатита массой 2–4 мкг. Предложены новые расчетные кинетические параметры сорбции, которые позволяют с высокой надежностью распознать в смеси биомаркеры многих заболеваний, в том числе спирты C₃–C₅, кетоны, амины линейного и циклического строения, кислоты, альдегиды и др. Сенсор с гидроксиапатитом позволяет отследить наличие молекул, соответствующих патологическим изменениям в работе многих органов и систем, сбоям в функционировании нервной и сердечно-сосудистой систем, оценить реакцию и компенсацию на стресс, голод, усталость. Сенсор перспективен для применения в качестве простой диагностической и мониторирующей тест-системы для point-of-care диагностики взрослых и детей.

Ключевые слова: сенсор, органические биомолекулы, информативность, детектирование, смеси, неинвазивная диагностика, кожа, физиологические состояния.

DOI: 10.31857/S0044450223080108, EDN: SHNGAK

В настоящее время перспективна разработка мобильных устройств на основе сенсоров. Особый интерес такие устройства представляют для диагностики состояния организма по содержанию и наличию в биопробах летучих биомолекул [1, 2], а также по изменению физических параметров (частота сокращения сердечной мышцы, давление, сокращение мышц, сужение/расширение сосудов, изменение температуры). Большинство подходов привержены традиционному пути – анализу биомолекул (идентификации и определению в выдыхаемом воздухе, различных биопробах). Это имеет значение для специалистов, но непонятно для обычного поль-

зователя. Для специалиста важна природа приоритетного метаболита(ов), для пользователя – описание состояния и оценка степени отклонения от условно нормального состояния функционирования организма. На наш взгляд, разумным решением проблемы было бы получение результатов в виде, одинаково приемлемом и для специалиста, и для пользователя.

Современные сенсорные технологии позволяют определять летучие соединения на коже и в ее секретах. Ведется разработка гибких материалов, проявляющих как высокое, так и низкое сродство к парам воды, для усиления сигнала от других вы-

делений кожи на основе полианилина [3, 4]; гибридного фотонного резонатора с металлоорганическими каркасными покрытиями для сверхчувствительного обнаружения метанола, бензола, толуола, пропилена [5]; композитного наноматериала SnO_2 для электронного носа для сверхчувствительного определения пропанола-1, -2 – маркеров рака легкого [6]. Ряд публикаций посвящен созданию различных гибких датчиков, которые имитируют кожу и ее морщины. Например, изменение прозрачности и сопротивления полидиметилсилоксановой пленки на основе многослойной нанопроволоки (NW) Ag (AgNW)/ SiO_x позволяет сформировать динамический ответ на пары этанола, толуола, ацетона, формальдегида и метанола из-за их различной способности к набуханию [7]. Наиболее близкими по методологии являются разработки наноструктурированных платформ, массивов датчиков на клейкой повязке для сканирования в режиме реального времени выдоха кожи в определенных точках на плече и груди и выделения с применением искусственного интеллекта случаев с высоким содержанием кислот, толуола, метил-, этилциклопропана, других соединений, образующих паттерн летучего выдоха кожи при туберкулезе [8].

Наш коллектив много лет работает над проблемой обоснования возможности применения химических сенсоров на наноструктурных материалах для разработки портативных диагностических устройств периодического анализа летучего профиля кожи для установления отклонений от нормального состояния работы органов и систем.

Предложен и обсуждается в этой работе инновационный прибор на основе одного сенсора (биосканер состояния и здоровья), который за 30–80 с контакта с кожей (без нарушения ее целостности) сканирует летучие соединения органической (спирты, кетоны, альдегиды, кислоты, амины) и неорганической (вода, аммиак) природы. В программном обеспечении прибора в режиме реального времени обрабатываются полученные результаты и выводится вербальная и численная оценка причин и степени отклонения от условной нормы здоровья.

Цель работы – оценка возможности применения единичного сенсора на основе пьезокварцевого резонатора объемных акустических волн с твердотельным наноструктурированным покрытием на основе гидроксипатита для оценки состояния процессов в организме, а также возможности детектирования нескольких летучих биомаркеров в смеси по его сигналам.

Основная задача исследования – анализ состава легколетучих соединений биопроб и самой большой, динамично меняющейся, непрерывно отражающей состояния организма и процессов в нем пробы – кожи человека. Ранее установлены

уровни выделения аммиака, продуктов окисления спирта, воды, аминов [9], кислот, других соединений [10], выделяемых человеком через кожу [11], кровь [12], пот, мочу [13], выдыхаемый воздух [14], которые взяты за основу при моделировании экспериментов с индивидуальными параметрами органических биомолекул. Избирательность детектирования молекул мы связываем с природой наноструктурированного сорбента на поверхности сенсора. Дифференциация при диагностической оценке по сигналам сенсора на коже связана с применением зон Захарьина–Геда [15–18]. Эти доступные, представительные участки кожи связаны с работой отдельных органов и систем, поэтому предположили, что состав летучего профиля на них позволит оценить стабильность функционирования органов желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, общий уровень стресса в организме.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Характеристика приборов. Микроконцентрации летучих молекул, выделяющихся кожей, детектировали пьезосенсорами на основе наноструктурированного сорбента на многоканальных нановесах MCNanoW-PQ (ООО “Сенсорика – Новые Технологии”, Россия) [19] с восемью рабочими каналами и на экспериментальной модели биосканера здоровья с одним каналом ScanBio-1 [20] (ООО “СЕНСИНО”, Россия). Для изготовления пьезосенсоров применяли пьезокварцевые резонаторы (ПКР) объемных акустических волн (массчувствительные, АТ-среза) с базовой частотой колебания кварцевой пластины 7.0–15.0 МГц, серебряными электродами диаметром 3–5 мм, разных производителей (ОАО “Пьезо”, ООО “Кварц”, ЗАО “ЭТНА”, Россия).

Многоканальные нановесы и одноканальный анализатор связаны с индивидуальными программами для регистрации изменения частоты колебания и при пересчете соответственно прикреплённой массы сорбированных молекул. Программы обеспечивают первичную регистрацию сигналов с резонаторов в режиме реального времени с шагом 1 с и разрешением 1 Гц.

Изменение частоты колебаний кварцевой пластины ($-\Delta F_i$, Гц) прямо пропорционально массе модификатора (сорбента) за счет адсорбции на ней паров аналитов. Эта закономерность позволяет устанавливать прямые связи кинетики сорбции (скорость изменения сигнала), массы адсорбированных молекул (величина сигнала сенсора) с их присутствием, природой и концентрацией в выдохе кожи.

Режим измерения на биопробе: полное время (цикл измерения) составляет 160 с на одном участке поверхности кожи. После окончания

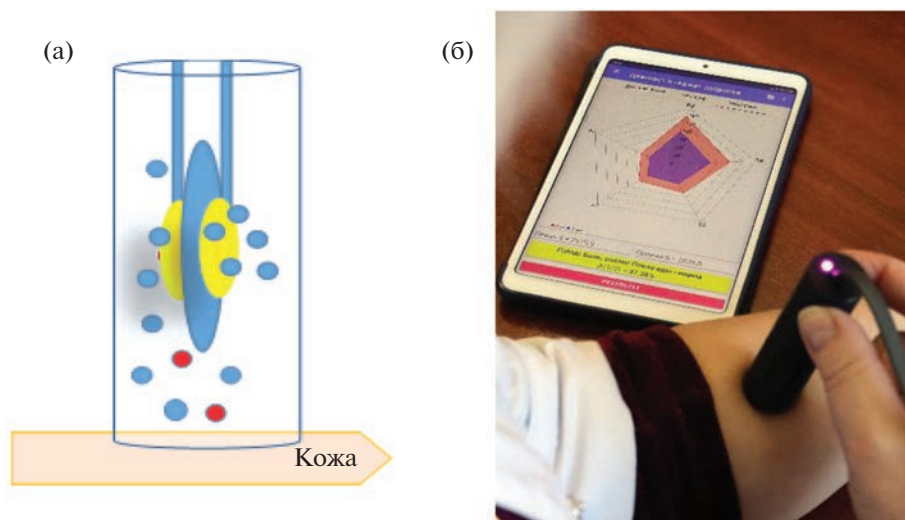


Рис. 1. Схема измерения (а) и фото прибора ScanBio-1 (б) при анализе выделений кожи.

цикла можно сразу переходить к другой точке или повторить измерение в выбранной. Активная нагрузка (контакт прибора с кожей) составляет 60 с, далее следует самопроизвольная десорбция в течение 100 с, во время которой происходит восстановление сенсора.

На многоканальных нановесах, оснащенных герметичной ячейкой из фторопласта объемом 140 см³ с открытым входом для фронтального ввода паров от анализируемой пробы или индивидуального соединения, изучали сорбционные свойства наносорбентов, оценивали стабильность и воспроизводимость откликов сенсоров из одной или разных партий. Ячейка анализатора ScanBio-1 с одним сенсором имеет объем 5 см³, схема и прибор для детектирования молекул, выделяемых кожей, представлены на рис. 1.

Выходные сигналы пьезосенсоров – изменение частоты колебаний ($-\Delta F_i$, Гц) при сорбции/десорбции легколетучих веществ с шагом в 1 с в виде хроночастотограмм ($-\Delta F_i = f(\tau)$, где τ – время измерения), максимальные сигналы пьезосенсоров ($-\Delta F_{\max}$, Гц). Это наиболее полная регистрируемая характеристика и наиболее простой из рассчитываемых параметров соответственно.

Для расчета параметров сорбции легколетучих соединений применяли кинетический аналитический сигнал сенсора $-\Delta F_i$, Гц, фиксируемый в разные моменты времени при нагрузке (контакте с кожей) и без нее. Соотношения таких сигналов характеризуют диффузию воды, органических соединений от поверхности кожи к сенсору и скорость сорбции на фазе сорбента.

Новые относительные параметры микровзвешивания рассчитываются по хроночастотограммам

сразу после измерения в программном обеспечении прибора ScanBio-1 (HSMELLSOFT) [21].

Модификатор электродов пьезокварцевых резонаторов. В качестве модификатора применили фазу наногидроксиапатита (ГА), нанесенную на поверхность электродов ПКР массой 2.0–4.0 мкг. Наногидроксиапатит $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ получали по золь-гель методике [22]. Приготовили несколько партий сорбента в разное время из разных партий реагентов. Размер частиц контролировали турбидиметрией ацетоновых и изопропанольных суспензий. Наногидроксиапатит является совместимым с биологическими тканями материалом, объяснимы его особые сорбционные свойства по отношению к легколетучим биомолекулам, которые выделяются в процессе жизнедеятельности живых организмов. Ранее подробно изучена сорбция паров индивидуальных соединений и их смесей на фазах ГА разной массы: спирты алифатические C_2 – C_5 нормального и изомерного строения; кетоны (ацетон, метилэтилкетон), фенол, амины линейные и циклические (метиламин, диэтиламин, циклопентил-, гексил-, гептиламины), C_1 – C_5 -кислоты алифатические; хлороформ, алкилацетаты C_2 – C_5 , ацетальдегид, аммиак, вода – на сегодняшний день 60 веществ [23].

Методика измерения. Для изменения, регулирования чувствительности и селективности микровзвешивания паров органических веществ на электроды пьезокварцевого резонатора, обезжиренные ацетоном или хлороформом, наносили фазы сорбента из ацетоновой суспензии (0.5 г фазы/10 мл), стабилизированной в ультразвуковой ванне [23] путем выдерживания резонаторов в ней в течение некоторого времени. Массу фаз ГА в оптимальном диапазоне от 2 до 4 мкг варьировали путем изменения времени экспозиции резона-

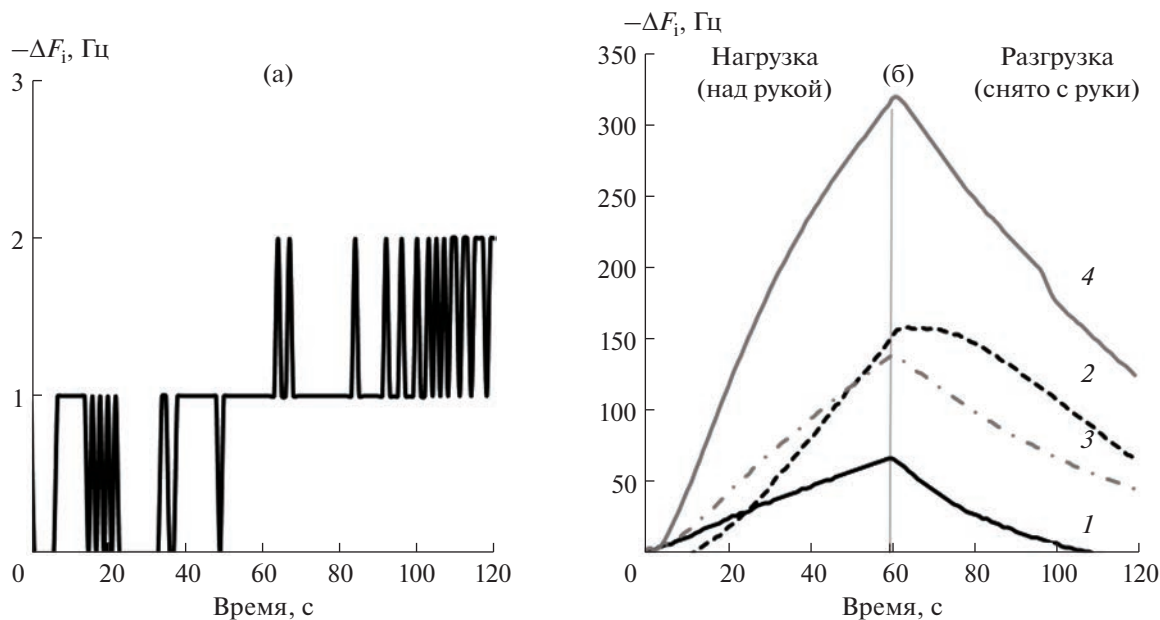


Рис. 2. Типичные виды выходного сигнала одного сенсора в открытой ячейке детектирования над кожей для состояний: норма (1), спазм, стресс (2), воспаление (3), сильное возбуждение (4).

тора в суспензии (от 5 до 15 с). Свободный растворитель удаляли в сушильном шкафу (40 мин при температуре от 50°C). Типичные виды выходных кривых сенсора на холостом ходу и над кожей в разных состояниях человека представлены на рис. 2.

По значениям функции в определенные моменты времени (дискретные значения изменения частоты колебания сенсора) рассчитывали кинетические параметры эффективности процесса в двух конкретных точках $a_f(\tau_1/\tau_2)$, которые показывают, во сколько раз скорость сорбции в точке τ_1 больше/меньше скорости сорбции в точке τ_2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Управление основными свойствами пьезосенсоров. Для единичного сенсора как элемента газоанализатора и измерительных элементов “электронных носов” не предполагается возможность одновременного детектирования многих компонентов. Важны селективность и чувствительность к конкретному газу или классу соединений. Если детально рассмотреть физико-химические основы функционирования масс-чувствительных сенсоров (пьезовесы сорбционного типа), можно попытаться по полной выходной кривой пьезосенсора решить задачу селективного детектирования отдельных газов в смеси при совместном присутствии из-за различного вклада их в сорбцию. В этом случае максимальное изменение частоты колебаний кварцевой пластины при нагрузке парами относительно исходного стабильного уровня (базовой

линии), $-\Delta F_{\max}$, Гц, не несет полной аналитической информации, хотя традиционно применяется в системах “электронный нос” для решения задач классификации сложных смесей соединений.

Аналитические характеристики сенсора определяются многими параметрами, но основной из них – сорбционные свойства модификатора поверхности электродов пьезокварцевого резонатора. Полимерные пленки, которые широко применялись для модификации ПКР 10–30 лет назад, в силу своей природы имеют большую емкость, но низкие селективность и чувствительность, а также значительное время латентного периода [24]. При переходе к твердотельным сорбентам, наноструктурам и наноматериалам эти характеристики частично были улучшены и потеряли актуальность. Так, например, применение углеродных наноматериалов (однослойных, многослойных нанотрубок, фуллеренов), неорганических солей позволило перейти от закрытых ячеек детектирования к открытым, повысить стабильность базовых линий и снизить шум [24]. Самые главные достоинства наноматериалов – использование в качестве фактора взаимодействия с аналитами не только химических особенностей строения и наличия определенных функциональных групп на поверхности, но и возможности варьировать распределение мезо- и микропор. Это позволило сделать большой скачок в области приборостроения на основе одного/нескольких пьезовесов. Следующим этапом стал традиционный подбор наноструктурированных фаз, обеспечивающих высокие чувствительность, селективность, дли-

тельное время активной эксплуатации даже в условно агрессивных для модификатора условиях. Для решения задачи высокочувствительного фиксирования изменения малых концентраций легколетучих молекул — приоритетных метаболитов обменных процессов в организмах человека и животных — непосредственно над биопробами разной природы (слизь, моча, другие выделения) требуются покрытия, характеризующиеся высокими эксплуатационными характеристиками [25, 26]. Особый интерес вызывает задача определения молекул, выделяемых кожей, которые в разных сочетаниях и концентрациях могут отражать как нормальные, так и патологические процессы в органах и системах организма — спиртов, альдегидов, кетонов, кислот, аминов, аммиака, воды, продуктов распада гормонов нормального и циклического строения. Многочисленными исследованиями доказано, что летучие биомолекулы отражают особенности метаболических процессов и являются более информативным паспортом организма человека, чем геном [27].

Ранее обоснованы сорбционные свойства фаз на основе наноструктурированного гидроксипатита и его применение в качестве модификатора пьезосенсоров, доказана его сорбционная активность по отношению к летучим биомолекулам как естественным продуктам жизнедеятельности живых систем: пищевым продуктам [28], биопробам животных, человека [29, 30]. Варьирование массы наногидроксипатита на электродах пьезорезонатора позволяет изменять не только чувствительность микровзвешивания, но и селективность по отношению к смеси соединений. Поиск качественных характеристик микровзвешивания (идентификационных параметров для отдельных аналитов) позволяет решать задачи по распознаванию отдельных молекул или групп близких молекул в смеси без разделения.

Информативность выходных кривых сенсоров. Особенности взаимодействия с разными по природе парами из фронта смеси рассматривали только в статических условиях, когда вещества из пробы диффундируют к сенсору, взаимодействуют с модификатором и десорбируются с покрытия самопроизвольно, без участия газа-носителя. Статические условия фронтальной подачи анализируемой смеси в околосенсорное пространство позволяют проявиться индивидуальным свойствам молекул с учетом их строения, размеров, летучести и концентрации в смеси. Для решения аналитических задач оценивали неравновесную сорбцию и равновесную десорбцию паров на фазе модификатора с посекундной регистрацией изменения частоты колебания кварцевой пластины (рис. 1б). В системе с разбавленными смесями паров и малыми массами модификаторов электродов ПКР преобразователь (кварцевая пластина)

функционирует устойчиво и сигнал мало зашумлен, поэтому любые воспроизводимые изменения хроночастотограммы за полное время сорбции—десорбции паров несут аналитическую информацию и минимально связаны с электронной (микросхемы) и физической (размеры и базовая частота колебаний) составляющими сигнала пьезосенсора.

Время нагрузки сенсора парами выбирается с учетом:

1) устойчивости пробы: живые пробы анализируются в течение не более 1–1.5 мин, в то время как полимерные, например, от 2 мин;

2) концентрации нативных летучих компонентов: чем меньше концентрация, тем меньше время фиксирования сорбции из-за их быстрой самопроизвольной десорбции с сенсора и, напротив, чем больше концентрация, тем меньше время контакта сенсора с пробой для предотвращения перегрузки резонатора;

3) концентрации примесей или новых образующихся в пробе компонентов, отражающих негативные или позитивные процессы в объекте.

Внешний вид хроночастотограмм в парах индивидуальных веществ и смесей, а также над кожей одинаков и представлен двумя ветками — сорбции и десорбции, отличающихся скоростью изменения сигнала. Для установления особенности реакции одного сенсора на различные компоненты смеси на ветках сорбции и десорбции применен математический алгоритм дифференцирования и нормирования с установлением отдельных участков, связанных с последовательностью/доминирующей сорбцией аналитов из смесей.

Восходящая кривая хорошо воспроизводится в открытой ячейке детектирования, дифференцирование ее позволяет установить ступенчатый характер сорбции смеси веществ, выделяемых сложными пробами. Этот процесс не является равномерным для разных аналитов. Фронтальное движение паров способствует самопроизвольному регулированию момента достижения аналитами поверхности сенсора за счет разной их летучести и скорости выделения из пробы в газовую фазу. Эти общие принципы применили для обоснования возможности детектирования отдельных молекул и их смесей одним сенсором без разделения.

Единичный сенсор на основе наногидроксипатита как газовый детектор. Для подтверждения применимости пьезосенсора на основе наноструктурированного гидроксипатита для разработки новых аналитических приборов, в том числе для контроля состояния живых систем, следует обосновать стабильность его свойств. Важно доказать следующее:

1) воспроизводимость сорбционных свойств сенсоров для разных партий и производств как пьезорезонаторов, так и сорбента;

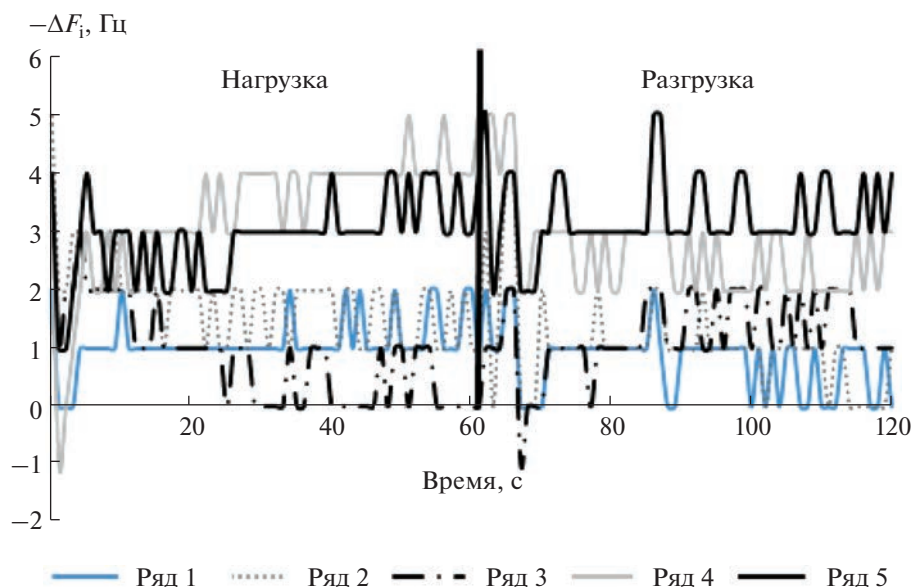


Рис. 3. Изменение выходного сигнала пьезокварцевых резонаторов без сорбента с разными базовыми частотами колебания кварцевой пластины (F_0) при контакте и без контакта с кожей. Номер ряда сигналов соответствуют номеру резонатора: $\text{ПКР}_1 = 8\,193\,421$ Гц, $\text{ПКР}_2 = 15\,003\,736$ Гц, $\text{ПКР}_3 = 7\,300\,008$ Гц, $\text{ПКР}_4 = 10\,002\,575$ Гц, $\text{ПКР}_5 = 15\,004\,108$ Гц.

2) влияние на получаемую аналитическую информацию зависимости шума и дрейфа базовой линии сенсора от характеристик ПКР;

3) надежность регистрируемых и расчетных данных пьезосенсора в парах летучих соединений;

4) правильность интерпретации состояния человека (для примера) по результатам детектирования смеси летучих соединений кожи пьезосенсором с ГА.

Пьезокварцевые резонаторы без покрытия практически не реагируют на летучие соединения кожи независимо от базовой частоты колебания кварцевой пластины. Известно, что чем больше базовая частота колебания, тем выше чувствительность микровесов при нагрузке по массе. В случае биообъекта кожи сенсоры без модификаторов неактивны при любых базовых частотах в диапазоне 7–15 МГц. Пример хроночастотограмм пяти резонаторов без покрытия из разных партий при контакте с кожей представлен на рис. 3. Установлено, что увеличение температуры воздуха в ячейке детектирования при контакте с кожей с температурой порядка 30–37°C и значительное увеличение концентрации веществ в замкнутой системе не приводят к изменению отклика немодифицированных сорбентом резонаторов. Это значит, что изменения отклика резонатора с покрытием модификатора определяются только эффективностью и особенностями сорбционных процессов на нем и не зависят от собственных характеристик трансдюсера. При этом нет никакой связи шума системы при нагрузке и без нее с

исходной частотой колебания ПКР. В табл. 1 представлено изменение частоты колебания ПКР на начальном участке выходных кривых, когда система находилась в холостом режиме.

В соответствии с уравнением Зауэрбрея увеличение базовой частоты колебания от 7 до 15 МГц должно привести к росту отклика ПКР при равной нагрузке (в средах с одинаковыми свойствами) в 4–5 раз. Однако связь (коэффициент корреляции Пирсона) между рядом значений базовой частоты кварца и средним изменением частоты колебания ПКР в холостом режиме минимальна и составляет 0.8714. Такая степень корреляции указывает на прямую связь параметров. Очевидно, что тенденция увеличения шума с ростом базовой частоты колебания пьезокварцевого резонатора положительная. Изменения сигнала пьезорезонатора без модификатора составляют не более 1–3 Гц за 15 с, находятся на уровне шума как при контакте с биопробой, так и в отсутствие контакта. Отсюда следует минимальный вклад собственных свойств преобразователя сигнала в изменение откликов сенсора над биопробами.

Наноструктурированный ГА разной массы на электродах резонатора существенно увеличивает отклик сенсора на летучие соединения кожи. Пример выходных кривых сенсора при контакте и без контакта с кожей добровольца показывает (рис. 16), что изменение частоты колебания при нагрузке и при самопроизвольной десорбции после измерения превышает естественный шум в 15–100 раз. Это доказывает, что изменение сигнала сенсора является результатом сорбционно-де-

Таблица 1. Дрейф базовой линии пьезокварцевых резонаторов с разной базовой частотой в открытой ячейке детектирования без нагрузки

Время, с	Номер ПКР				
	1 ($F_0 = 8\,193\,421$ Гц)	2 ($F_0 = 15\,003\,736$ Гц)	3 ($F_0 = 7\,300\,008$ Гц)	4 ($F_0 = 10\,002\,575$ Гц)	5 ($F_0 = 15\,004\,108$ Гц)
	$-\Delta F_1$, Гц	$-\Delta F_2$, Гц	$-\Delta F_3$, Гц	$-\Delta F_4$, Гц	$-\Delta F_5$, Гц
0	2	5	3	3	4
1	0	2	1	-1	1
2	0	2	2	0	1
3	0	3	2	1	2
4	1	3	3	2	3
5	1	3	2	3	4
6	1	3	2	2	3
7	1	3	2	2	3
8	1	3	2	3	2
9	1	3	2	2	3
10	2	2	2	3	3
11	1	2	2	2	3
12	1	2	1	2	2
13	1	2	1	3	3
14	1	2	1	3	2
15	1	2	2	3	3
Среднее	0.94 ~ 1	2.63 ~ 3	1.88 ~ 2	2.06 ~ 2	2.63 ~ 3

сорбционных процессов в системе, связанных с природой и концентрацией летучих соединений, выдыхаемых кожей. При изготовлении сенсоров предпочтительно использовать кварцевые резонаторы из одной партии с близкими базовыми частотами. Следует учитывать влияние на аналитические характеристики сенсоров массы модификатора. Необходимо обеспечить формирование фазы из индивидуального диапазона масс для каждого сорбента. Также обязательной является стадия обучения и стабилизации сенсоров по стандартным смесям или парам индивидуальных аналитов, которые выбираются в соответствии с задачами анализа.

Стабильность состава летучих соединений кожи как диагностическая информация. При стабильной работе сенсора необходимо доказать, что его отклик при контакте с кожей человека, а также вид хроночастотограмм связаны с процессами в организме, с биохимическими реакциями и их продуктами при нормальном физиологическом функционировании и изменяются заметно при сбое этих процессов. Важно также оценить повторяемость сигналов сенсоров с ГА из разных партий при контакте с кожей. Для этого установили воспроизводимость сигналов сенсора при сорбции летучих соединений кожи на левом предплечье (рис. 4, пример одного добровольца).

Очевидно, что состав смеси летучих соединений во всех экспериментах был одинаков, и различия в абсолютных сигналах сенсоров на 60-ой секунде контакта прибора с кожей определяются чувствительностью отдельных сенсоров. Различия максимальных сигналов сенсоров в представленном примере составляют от 50 до 250 Гц. Делать выводы об изменениях выдоха кожи и реакциях организма имеет смысл только для конкретного сенсора и индивида. На этом этапе имеют важное значение стандартизация сенсоров при изготовлении, их поверка, обеспечение получения одинаковой аналитической информации при измерении. Рассмотрим, насколько критичны продемонстрированные различия в чувствительности сенсоров из одной партии при решении задач идентификации веществ.

Все выделения организма содержат продукты метаболических превращений. Летучие метаболиты представлены в большей степени в выдыхаемом воздухе, поте, некоторые — в моче, спинальной жидкости (табл. 2). Пот является продуктом выделения порами кожи, как и летучие вещества. Учитывая природу, строение и физиологическое назначение кожи (прежде всего, как самого большого органа выделения), между составом полярных летучих веществ кожи и пота существует устойчивая корреляция с точки зрения физиоло-

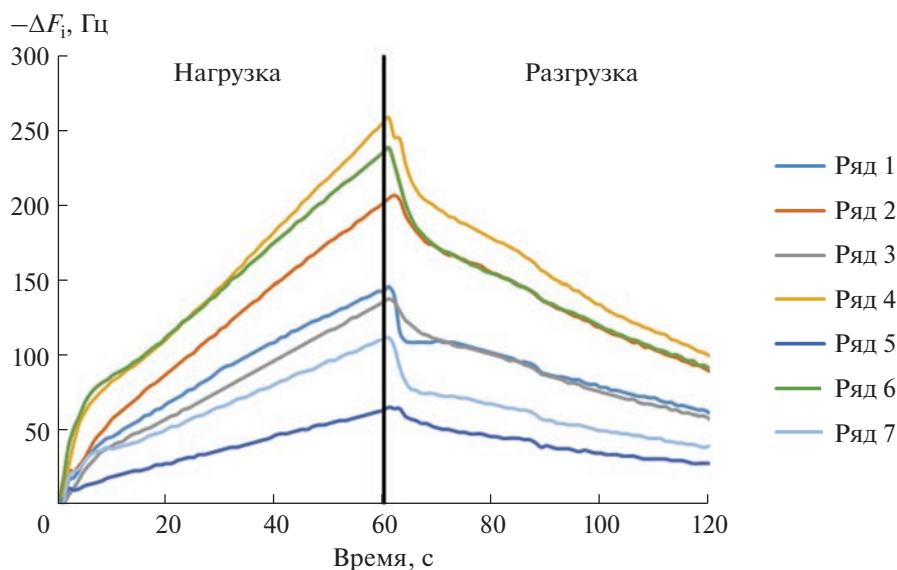


Рис. 4. Выходные кривые сенсоров с наногидроксиапатитом при контакте с рукой (нагрузка) добровольца в состоянии “норма”. Базовые частоты колебания кварцевой пластины соответственно: сенсор 1 (ряд 1) = 9990928 Гц, сенсор 2 (ряд 2) = 9983403 Гц, сенсор 3 (ряд 3) = 9989444 Гц, сенсор 4 (ряд 4) = 9972961 Гц, сенсор 5 (ряд 5) = 9988845 Гц, сенсор 6 (ряд 6) = 9991481 Гц, сенсор 7 (ряд 7) = 9988549 Гц.

гии, как и между соединениями, фиксируемыми в поте и выдохе, моче, спинальной жидкости [2]. В литературе все чаще появляются публикации о разработке способов оценки содержания выделяемых кожей летучих биомаркеров с помощью массива сенсоров [31]. Преимущественно все решения направлены на детектирование этих соединений в местах максимального скопления потовых желез, где их концентрация значительная. Однако преимуществом пьезосенсоров является высокая чувствительность по массе адсорбированных летучих соединений, что позволяет применять в качестве объекта тестирования участки с минимальным представительством потовых желез, исключая таким образом значительное мешающее влияние паров воды на результаты распознавания других соединений (микропримесей летучих органических соединений). Площадь плотного контакта прибора ScanBio-1 и поверхности кожи охватывает от 60 до 80 пор, поэтому любые изменения в выделяемых веществах сразу изменяют состав веществ внутри ячейки детектирования.

Для доказательства связи состава летучих соединений, выделяемых кожей, и физиологическими процессами в организме на первых этапах эксперимента измеряли пульс, артериальное давление, фиксировали влажность ладоней и проводили опрос добровольцев об ощущении волнения или страха перед процедурой измерения. Выборка 150 измерений для 10 человек показала разную степень связи различных стандартных биометри-

ческих показателей и сигналов сенсора с ГА на коже (табл. 3).

Стандартные биометрики организма (частота сердечных сокращений, систолическое артериальное давление) линейно связаны с сигналами сенсора на коже левого предплечья в состоянии нормы, определяющем уровень выделения нативных летучих молекул. В состоянии стресса (легкое волнение, испуг) характер связи значительно меняется, что говорит об изменении химического состава выделяемых кожей соединений. Это согласуется с физиологией реакции кожи и биохимическими процессами при стрессе (изменение диаметра пор, повышение уровня гормонов, ацетона). Полученные результаты доказывают чувствительность и адекватность реакции сенсора на изменения состава аналитов даже при естественных (физиологически нормальных) реакциях организма.

Возможность распознавания летучих биомаркеров одним пьезосенсором. Все вещества, которые выделяются кожей, оказывают влияние на сигнал сенсора. Но при стрессе, например, наибольший вклад в сорбцию вносят гормоны (адреналин и другие), продукты их распада, вода. При отклонениях в работе органов желудочно-кишечного тракта и нервной системы также фиксируется выброс ацетона, альдегидов, при развитии воспаления в разных органах — кислот, аминов, кетонов [32]. При этом диагностическое значение имеют отклонения от нативных содержаний веществ в сторону уменьшения или, наоборот, увеличения, а также появление веществ, которые

Таблица 2. Примеры детектируемых в биопробах летучих биомаркеров и связанных с ростом их концентрации заболеваний, нарушений (составлено по материалам сайта и сопряженным публикациям [2])

Биомаркеры	Нарушения метаболизма с повышением концентрации в биопробах
<p>Бутановая (масляная) кислота, ¹<i>n</i>-гидроксibenзальдегид, гексанон, пентанон, 1-гидрокси-2-пентанон, сульфиды, гептанон, метилциклогексанола, <i>n</i>-крезол, метилсалицилат, <i>o</i>-тимол, бутанон, ундекан, 1,3-дитиоциклогексан, диметилтрисульфид, диметилтрисульфид; ²ацетон, дигидроксиацетон, циклогексанон, циклопентанон, ацетилацетон, 2-метилпентаналь, 4-метил-2(3)-пентанон, 2-гексанон, геканаль и др., ацетальдегид, этан, пропан, акрилонитрил; ³4-аминобутановая кислота</p>	<p>Расстройство дыхательной системы (астма), расстройство нижнего отдела желудочно-кишечного тракта (колоректальный рак¹, язвенный колит^{2, 10}, эозинофильный эзофагит^{3, 10}); расстройство иммунной системы (СПИД)</p> <p>³ Печеночная энцефалопатия, заболевание головного мозга, характеризующееся потерей функции мозга, расстройство нервной системы Болезнь Альцгеймера, эпилепсия, менингит</p>
Ацетальдегид (этаналь)	Расстройство нервной системы (болезнь Альцгеймера ³); алкоголизм; психические расстройства (депрессия, алкогольный синдром, шизофрения)
<p>Фенол, индол, ⁴бутанол-1, сероводород, ундеканаль, гептаналь, метил-, этилпропионат (-бутаноат), уксусная, пропановая и бутановые кислоты, этанол, 6-метил-гептанон-2, метилсульфанилметан, ⁵пропанол-1, гексан, гептан, ундекан, азиридин, 1-метил-4-пропан-2-илциклогекса-1,4-диен</p>	Воспалительные заболевания кишечника (язвенный колит, болезнь Крона ⁴ , синдром раздраженного кишечника ⁵ , целиакия, колоректальный ¹ и гастроэзофагеальные рак и рефлюксная болезнь)
Легкие неорганические газы (кислород, азот, диоксид углерода, водород), метан ⁶ оксид азота, S-нитрозо-тиолы	Диета, расстройство пищеварения; ожирение (артериальная гипертензия, метаболический синдром), рассеянный склероз ⁶
Ацетон , изопрен, метилнитрат, оксиды азота , формальдегид, метанол, этанол, ацетальдегид, ацетон, изопрен, пентанальдиметилсульфидлимонен, пропанол-2	Сахарный диабет, кетонемия
Уксусная кислота	Рак легких ¹⁰ , болезнь Канавана ⁷ , болезнь Тая-Сакса ⁷ , органическая ацидемия, заболевание кленовым сиропом, расстройство центральной нервной системы
^{7,8} Аммиак, ⁸ диметиламин, триметиламин	Алкаптонурия, цистиноз, фенилкетонурия, саркозинемия, тирозинемия; расстройство кровеносной и лимфатической системы; уремия, почечная недостаточность ^{7,8} ; эозинофильный эзофагит ⁸
⁹ Серосодержащие соединения (диметил-сульфид, метилмеркаптан, этилмеркаптан)	Нарушение метаболизма холестерина; функции печени ⁹
¹⁰ Этанол (продукт гликолиза)	Миелопатия шейки матки, шейная спондилогическая; поясничная радикулопатия

Примечание: выделены высокоспецифичные биомаркеры; надстрочные индексы соответствуют сочетаниям биомаркеров и заболеваний, при которых их содержание повышено.

Таблица 3. Наиболее статистически надежные коэффициенты корреляции Пирсона для разных биометрических показателей у добровольцев ($n = 100$)

Связь параметров	Коэффициент корреляции Пирсона	
	стресс	норма
Пульс/систолическое артериальное давление	0.908	0.826
Пульс/ ΔF_{\max} , Гц (левое предплечье)	0.311	0.982
Систолическое артериальное давление/ ΔF_{\max} , Гц (левое предплечье)	0.624	1.00

Таблица 4. Воспроизводимость расчетного кинетического параметра сорбции бензальдегида $S(30/60)$ на сенсоре с наногидроксиапатитом ($n = 16$, $P = 0.95$ ($\alpha = 0.05$))

№ опыта	$S(30/60)$	№ опыта	$S(30/60)$	№ опыта	$S(30/60)$	№ опыта	$S(30/60)$
1	0.360	5	0.340	9	0.340	13	0.320
2	0.410	6	0.360	10	0.350	14	0.370
3	0.350	7	0.340	11	0.370	15	0.330
4	0.440	8	0.380	12	0.330	16	0.390
Среднее арифметическое: 0.361 ± 0.017		Дисперсия: $\sigma^2 = 0.00101$		Среднеквадратическое отклонение: $\sigma = 0.03181$		Коэффициент вариации: $V = 8.8\%$	

синтезируются при сбоях в метаболических путях. В табл. 2 указаны фактически паттерны летучих биомаркеров различных заболеваний и отклонений, не связанных с генетическими сбоями. Среди набора селективных смесей веществ (паттерны заболеваний) в табл. 2 выделены высокоспецифичные биомаркеры, связанные с развитием разных патологий. Для обоснования применения одного сенсора следует установить возможность детектирования по его сигналам характерных смесей или индивидуальных биомаркеров, выделяемых кожей. Для оценки селективности сенсора с ГА к повышенным концентрациям биомаркеров изучали сорбцию паров и устанавливали для них идентификационные параметры.

На примере бензиламина рассмотрели повторяемость одного из кинетических относительных параметров сорбции при самопроизвольной диффузии паров тест-вещества к сенсору. Имитировали выделение и диффузию паров в ячейку детектирования путем выдерживания прибора над опре-

деленным объемом пробы ($V_{\text{пробы}} = 1-10$ мкл, табл. 4). В качестве одного из параметров выбрали $S(30/60)$ – отношение площадей под выходной кривой в диапазоне от 10 до 30 с и в диапазоне от 10 до 60 с. С физической точки зрения он показывает скорость прироста массы вещества или смеси нескольких веществ при сорбции на модификаторе сенсора. Установили, что вариация этого параметра для бензальдегида не превышает 10%. Более простым параметром, который отражает особенность сорбции и непосредственно рассчитывается по абсолютным сигналам сенсора при нагрузке для 30-й и 60-й с, является кинетический параметр $a_f = -\Delta F(30/60)$. Для различных по чувствительности сенсоров с ГА (различия в 2–5 раз) параметры $a_f(30/60)$ и $S(30/60)$ высокостабильны и маловариативны для одной и той же концентрации вещества. Ниже приведены значения относительных параметров сорбции бензальдегида на сенсорах с ГА из разных партий.

Номер сенсора в партии (рис. 4)	1	2	3	4	5	6	7	Границы параметров
$a_f(30/60)$	0.62	0.58	0.56	0.56	0.56	0.60	0.59	0.56–0.62
$S(30/60)$	0.31	0.30	0.30	0.31	0.31	0.33	0.32	0.30–0.33



Рис. 5. Карты рассеивания частоты идентификации тест-веществ (а) и вербальных описаний (б) по сигналам сенсора с наногидроксиапатитом.

Параметр $S(30/60)$ в меньшей степени зависит от стадии производства сенсоров и варьирования массы модификатора на электродах, поэтому более надежен. По этому параметру высоконадежно идентифицируются индивидуально и в смеси с другими веществами пары диэтиламина.

Нами предложено от 8 до 16 различных кинетических параметров сорбции, которые отражают природу и концентрацию компонентов. Однако высокоспецифические для каждого аналита параметры найти по хроночастотограмме не удалось. Это также объясняется природой сорбента, который не образует заметных связей с аналитами. Для повышения надежности распознавания веществ в смеси, в том числе в выделениях из биопроб разной природы, используют сочетание нескольких расчетных параметров. Для каждого параметра границы значений определяли отдельно для 60-ти тест-веществ. Число надежных границ для соединений существенно различается. Например, для нагрузки парами в течение 60 с из 10 расчетных кинетических параметров сорбции выделены 8 селективных для бутанола-2, 7 — для ацетона и по одному параметру для 20 разных веществ. Чтобы суммировать полученную информацию и наглядно оценить степень надежности распознавания отдельных веществ в смеси с помощью онлайн-генератора Wordclouds.com, по облаку слов созданы облако тегов (рис. 5а) и карта изображения для тест-веществ, по которым обучен сенсор с ГА. Величина изображения слова на карте пропорциональна частоте его упоминания в наборе надежных кинетических параметров и с аналитической точки зрения определяет избира-

тельность и надежность распознавания соответствующего вещества в биопробе этой аналитической системой.

Ранее доказано, что высоконадежно идентифицируются по сигналам сенсоров в массиве “электронного носа” вещества в смеси, для которых срабатывают одновременно три и более расчетных параметра [33]. Для одного сенсора с ГА к таким веществам относятся (в порядке незначительного уменьшения надежности): бутанол-2, ацетон, этанол, пентанол-1, бутанол-1, метиловый эфир тиофенкарбоновой кислоты, вода, триметиламин, муравьиная кислота, пропандиаль, ацетальдегид, гормон роста, метиламин, гексанон, бутановая (масляная) кислота, этандиаль, пропанол-1, пропанол-2, метилэтилкетон, бензиламин, бензальдегид, диэтиламин, капроновая кислота, амилацетат, аммиак, метилбензальдегид, метилпропанол, тиофенкарбальдегид, пропановая кислота, морфолин, 4-метилпентанол-2, никотиновый альдегид, бутилацетат, триэтиламин. Большинство этих соединений входит во многие паттерны летучих соединений, которые ассоциируют с разными заболеваниями [2, 32, 33] (табл. 2). Это значит, что их появление, превышение биологически нормальных содержаний в пробе будут надежно зафиксированы и распознаны.

Следует учитывать и степень перекрывания границ параметров для индивидуальных веществ. С учетом этого, даже два положительных срабатывания расчетных кинетических параметров позволяют говорить о присутствии в смеси таких важнейших биомаркеров, как циклопентил-, гек-

Таблица 5. Параметры $a_f(30/60)$ для сенсоров из разных партий в парах индивидуальных соединений ($n = 4$)

Маркировка сенсоров	Этанол	Ацетальдегид	Ацетон	Бутанол-1	Вода	Диэтиламин
Сенсор 1 Партия 1	0.32 ± 0.02	0.46 ± 0.02	0.35 ± 0.02	0.49 ± 0.02	0.46 ± 0.03	0.25 ± 0.03
Сенсор 2 Партия 1	0.36 ± 0.03	0.44 ± 0.03	0.41 ± 0.03	0.53 ± 0.03	0.48 ± 0.03	0.30 ± 0.03
Сенсор 1 Партия 2	0.36 ± 0.03	0.45 ± 0.02	0.41 ± 0.03	0.52 ± 0.02	0.51 ± 0.02	0.27 ± 0.02
Сенсор 2 Партия 2	0.39 ± 0.02	0.45 ± 0.02	0.43 ± 0.02	0.52 ± 0.02	0.50 ± 0.02	0.25 ± 0.02
Сенсор 1 Партия 3	0.39 ± 0.01	0.42 ± 0.02	0.32 ± 0.02	0.52 ± 0.02	0.48 ± 0.02	0.20 ± 0.02
Сенсор 2 Партия 3	0.36 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.33 ± 0.01	0.50 ± 0.02	0.45 ± 0.02	0.18 ± 0.02
Сенсор 1 Партия 4	0.38 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.39 ± 0.02	0.50 ± 0.02	0.42 ± 0.02	0.17 ± 0.02
Сенсор 2 Партия 4	0.34 ± 0.02	0.44 ± 0.02	0.32 ± 0.02	0.48 ± 0.02	0.47 ± 0.02	0.14 ± 0.02
Среднее	0.36 ± 0.03	0.44 ± 0.02	0.37 ± 0.05	0.51 ± 0.03	0.47 ± 0.04	0.22 ± 0.08

силамины, метиламин, метоксиэтиламин, толуол (арены), пероксид водорода, кетоны циклические.

В наборе кинетических параметров присутствуют не только индивидуальные, но и универсальные параметры для групп соединений: ацетатов, гормонов, аминов, спиртов, кетонов. Попадание расчетных параметров при анализе биопроб даже в диапазоны значений таких универсальных параметров повышает надежность принятия решения.

Значения характерных границ для кинетических параметров сильно зависят от постоянства концентрации аналита и температуры при измерении. Влияние температуры при анализе кожи на распознавание веществ незначительно, так как даже при развитии воспалительных процессов для двух разных точек на коже она не может различаться более чем на 1 градус за 5 мин. Исключения составляют местные воспалительные процессы эпидермиса и дермы кожи. В этом случае будут фиксироваться различающиеся более чем на 15%, абсолютные сигналы сенсора. Это различие также является важным и информативным. При значительном изменении концентрации вещества или появлении новых веществ в смеси параметры a_f меняются (табл. 5). Однако эти изменения не являются одинаковыми для всего набора кинетических параметров. С учетом того, что для каждого вещества их несколько, сохраняется надежность распознавания их в смеси.

Примеры диагностической оценки состояния по сигналам пьезосенсора. Правильность подхода к

идентификации веществ многократно проверяли по стандартным смесям и биопробам разной природы. Надежность распознавания и описания состояния подтверждали стандартными методами анализа, различающимися в соответствии с природой проб, например гинекологических [30]. Установили, что по качественным параметрам биомаркеры при аномальном росте их концентраций фиксируются в пробах высоконадежно.

Для единичного сенсора с ГА наиболее надежно из всех обучающих выборок фиксируются смеси нативных соединений, которые соответствуют норме физиологического состояния организма. Мы считаем, что именно в этом отражается правильность выбора биологически совместимой с тканями человека фазы наногидроксиапатита в качестве модификатора сенсора.

Для создания систем диагностики, особенно для необученных пользователей, важно разработать вербальные характеристики результатов измерения. При этом термины должны быть интуитивно понятными. Для этого параллельно с обучением по тест-веществам и смесям проводили измерения на коже 500 человек (добровольцев) год в возрасте с 5 до 95 лет. По результатам более чем 15000 измерений для каждого идентификационного кинетического параметра выделили границы с вербальным описанием "норма". Параллельно при сборе результатов сканирования летучих соединений кожи фиксировали персональную информацию добровольцев об имеющихся нарушениях, заболеваниях, их выраженности и описании физиологического состояния

Таблица 6. Значения максимальных сигналов сенсоров с наногидроксиапатитом из одной партии при фиксации летучих соединений кожи добровольца А

Номер измерения	Сторона измерения	Сенсор 1	Сенсор 2	Примечания, субъективные описания состояния
1	Левая, волнение	40	36	Измерения проведены без перерыва С 10.00 до 10.20 последовательно
2	Левая	37	34	
3	Левая	33	30	
4	Левая	33	29	
5	Левая	35	31	
6	Левая	31	27	
7	Левая	25	22	
8	Левая	29	27	Сильный голод, усталость
9	Левая	24	20	
10	Левая	32	29	Измерения проведены без перерыва Последовательно после принятия пищи
11	Левая	31	30	
12	Левая	30	28	
13	Левая	31	28	
14	Левая	32	30	
15	Левая	34	31	
16	Правая	36	32	
17	Правая	34	31	
18	Правая	36	30	
19	Левая, волнение	40	36	
20	Левая	35	34	

(усталость, слабость, боль, волнение и т.п.). Всего для выборки сформировали 20 вербальных описаний, для которых также оценивали частоту попадания в индивидуальные границы кинетических параметров.

Карта изображения надежности вербальных оценок состояний добровольцев, которые фиксирует сенсор с ГА, представлена на рис. 5б. Установили, что с высокой надежностью распознаются состояния с описанием “усталость”, “упадок сил” с вариацией выраженности (легкая, заметная, критическая степень), “воспаление”, “спазм”, “сильный стресс, повышен уровень гормонов”, “слабость”, “голод”, “боль”, “норма”. Очень важно, что высоконадежно фиксируются естественные реакции организма, например, на повышение/понижение температуры окружающей среды (“повышенная влага, сухость”), а также инструментальные ошибки системы (“ошибка измерения, проверить сенсор”). В отдельную надежную группу границ параметров попадают вербальные метки “вирус”, “повышение давления”, “повышенная активность органов в проекции”.

Неоспоримой ценностью такого обучения сенсоров с ГА является установление и идентификация физиологических состояний при отклонении от условной нормы. Такой подход открывает

возможности для самоконтроля состояния в домашних условиях, а периодический мониторинг позволит на ранних этапах обнаружить и предотвратит развитие острых и хронических заболеваний.

Немаловажно оценить воспроизводимость сигналов сенсора и их постоянство для одного человека. Оценили изменение максимальных сигналов сенсора с ГА в течение нескольких минут, дня, после приема пищи, на левом и правом предплечьях добровольца А. Считали, что состав выдоха кожи постоянен при относительно устойчивом состоянии здоровья и отражает стабильность биохимических процессов в клетках (табл. 6).

Прослеживается устойчивая реакция двух сенсоров из разных партий для одного человека и изменение сигналов при изменении состояния: легкое волнение (учащение пульса, влажные ладони) вызывает практически мгновенную (с задержкой в 7–10 с) реакцию сенсоров на изменение состава смеси летучих соединений, выделяемых кожей. Повышаются сигналы на левом предплечье (зона проекции сердца и сосудов). Через 3 мин по сигналу сенсора при нормальном протекании биохимических процессов в организме такая реакция исчезает. При небольшой реакции со стороны нервной системы на коже правого предплечья не

Таблица 7. Максимальный сигнал (Гц) сенсоров с наногидроксиапатитом в течение длительного времени на коже добровольца Т1*

Дата/примечание	Сторона измерения	Сенсор 1	Сенсор 2
18.07.2019	Левая	57	68
	Правая	73	72
18.07.2019 30 мин после кофе	Левая	72	77
	Правая	80	97
19.07.2020	Левая	62	66
	Правая	58	68
8.11.2019	Левая	60	65
	Правая	58	64
1.02.2020	Левая	71	81
	Правая	65	74
Через 5 ч	Левая	65	67
	Правая	65	68
23.01.2020	Левая	74	81
	Правая	62	69
22.01.2020, усталость	Левая	59	76
	Правая	71	78
29.6.2020	Левая	68	92
6.07.2020	Левая	97	100
	Правая	79	81
8.09.2020	Левая	72	105
	Правая	63	91
16.02.2021	Левая	60	69
	Правая	63	70
Спирт этиловый**	1 (Март)	77	103
	2 (Июль)	90	114
	3 (Декабрь)	78	100

* Состояние легкого волнения (учащение пульса, влажные ладони).

** Внутренний стандарт для оценки стабильности и чувствительности массива.

отмечается изменений. Для добровольца А установили высокую повторяемость результатов в течение короткого времени и в течение 6 ч. При этом при длительном времени без употребления пищи уменьшается количество веществ, выделяемых кожей на предплечье левой и правой рук. Значит, по сигналам сенсора хорошо прослеживаются и естественные состояния: снижение активности метаболических процессов, голод, усталость, необходимость приема воды. Это доказывает возможность применения прибора для персональной диагностики состояния. Степень корреляции Пирсона сигналов 1 и 2 сенсора (табл. 6) для добровольца А составляет $r = 0.9584$ (очень высокая положительная). Это значит, что оба сенсора одинаково фиксируют изменения в составе выдоха кожи одного человека. Оценили

повторяемость сигналов сенсоров из одной партии при измерении на левом и правом предплечьях у добровольцев в разное время года при длительном мониторинге (на примере одного добровольца в период с 18.07.2019 по 16.02.2021 гг. в состоянии условной нормы) (табл. 7). Данные демонстрируют стабильность летучего метаболома добровольца Т1 за длительное время и надежность обоих сенсоров. Степень корреляции Пирсона сигналов 1 и 2 сенсора (табл. 7) для добровольца Т1 на левом предплечье составляет $r = 0.8070$ (очень высокая положительная), на правом – $r = 0.6758$ (высокая положительная). Степени корреляции сигналов для правого предплечья для этого добровольца в течение длительного времени ниже. Это связано с тем, что он имеет клинически диагностированные нарушения в работе

Таблица 8. Изменение сигналов сенсоров с наногидроксипапатитом из одной партии в течение длительного времени мониторинга для разных добровольцев*

Маркировка пробы, пол/примечания	Сторона измерения	Сенсор 1	Сенсор 2
Доброволец Т1, ж	Левая	57	66
	Правая	58	68
Доброволец 2 (голод), м Нарушен отток желчи	Левая	110	35
	Правая	146	50
Доброволец 3 (голод), ж	Левая	205	106
	Правая	209	94
Доброволец 3 после еды	Левая	171	62
	Правая	144	59
Доброволец 4, ж	Левая	105	Сбой сигнала 100
	Правая	114	
Доброволец 5 (голод), м	Левая	115	56
	Правая	121	64
Через 12 ч	Левая	100	51
	Правая	111	60
Доброволец 6, ж	Левая	93	28
	Правая	82	25
Голод, есть проблемы в работе желудочно-кишечного тракта	Левая	85	20
	Правая	95	24
Доброволец 7, ж	Левая	112	20
	Правая	67	10
Доброволец 8 (13.8.2019)	Левая	77	17
	Правая	64	20
Доброволец 9, ж; жалобы на боль	Левая	119	24
	Правая	114	31

* Фиксируется состояние легкого волнения при измерении.

органов желудочно-кишечного тракта, что отражается справа. За время мониторинга наблюдали сезонные обострения хронического заболевания, ухудшение состояния после перенесенной инфекции (ковид), и, как следствие, ухудшение повторяемости сигналов сенсоров. Приведенные примеры доказывают, что сенсор с ГА может быть применен для длительного мониторинга состояния организма.

Установили, что люди имеют персональный профиль летучих соединений, а вот изменения состава профилей протекают у добровольцев в одинаковом направлении (табл. 8). Например, стресс, голод, усталость вызывают одинаковые изменения сигналов. Данные получены двумя сенсорами из одной партии для разных добровольцев в один день в одинаковых условиях окружающей среды (для примера). При наличии патологии в организме или в работе нервной системы, при стрессе или легком волнении наблюдается

резкое и значительное изменение сигналов сенсоров на левом предплечье. Это может вызывать увеличение сигналов и на правом предплечье. Степень линейной корреляции сигналов сенсоров 1 и 2 (табл. 8) для выборки на левом предплечье составляет $r = 0.6396$ (высокая положительная), на правом – $r = 0.6003$ (высокая положительная). Выборка и реакция добровольцев на стресс, персональное состояние различаются, что отражается на величине коэффициента корреляции. Дополнительное ослабление связи двух выборок объясняется низкой чувствительностью сенсора 2. По величине сигнала сенсоров просматривается индивидуальность профиля летучих соединений кожи разных людей. При этом одинаковые причины (голод, легкий стресс) вызывают близкие изменения состава смеси летучих соединений на правом предплечье (голод) и на левом предплечье (стресс). У добровольцев отсутствуют явные патологии и обострения, болезни

(кроме добровольцев 2 и 6). Представленные данные убедительно демонстрируют неслучайность изменений и статистическую надежность результатов.

* * *

Продемонстрированы возможности аналитической системы для индивидуального контроля состояния процессов и здоровья организма на основе одного сенсора с фазой наноструктурированного гидроксипатита. Результат достигнут путем предварительного обучения сенсора по парам биомаркеров, связанных с конкретным состоянием, нарушениями в работе организма; за счет выделения индивидуальных особенностей сорбции и расчета кинетических параметров, определения их устойчивых границ вариации при разных концентрациях аналитов; путем систематического изучения реакции сенсора при контакте с кожей добровольцев разного пола, возраста, состояния в отсутствие и при наличии диагностированных заболеваний, определения границ изменения кинетических параметров сенсора для этих состояний с присвоением границам вербальных реплик (описания), путем присваивания набору химических веществ словесных реплик “норма”, “стресс” и др. по результатам детектирования сенсором определенных особенностей в изменении летучих соединений выдоха кожи.

Сенсоры с ГА стабильны в течение 8–15 месяцев, рассчитаны на более чем 3000–5000 измерений с воспроизводимостью (повторяемостью) сигналов не менее 95% (погрешность 5%). Сравнить с золотым стандартом полученные данные для веществ кожи на сегодняшний день не представляется возможным, поскольку вещества кожи не определяются прямыми методами либо эти данные также носят исследовательский характер.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Новикова Л.Б., Кучменко Т.А. Аналитические возможности систем искусственного обоняния и вкуса. Часть 1. Электронные носы // Вестник ВГУИТ. 2019. Т. 81. № 3. С. 236. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2019-3-236-241>
2. <https://hmdb.ca/metabolites/> (дата обращения 28.8.2022 г.).
3. Deng Y., Sun J., Jin H., Khatib M., Li X., Wei Z., Wang F., Horev Y.D., Wu W., Haick H. Chemically modified polyaniline for the detection of volatile biomarkers of minimal sensitivity to humidity and bending // *Adv Healthc. Mater.* 2018. V. 7. № 15. Article e1800232.
4. Steffens C., Leite F.L., Manzoli A., Sandovall R.D., Fatibello O., Herrmann P.S. Microcantilever sensors coated with a sensitive polyaniline layer for detecting volatile organic compounds // *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2014. V. 14. № 9. P. 6718.
5. Tao J., Wang X., Sun T., Cai H., Wang Y., Lin T., Fu D., Ting L.L., Gu Y., Zhao D. Hybrid photonic cavity with metal-organic framework coatings for the ultra-sensitive detection of volatile organic compounds with high immunity to humidity // *Sci. Rep.* 2017. V. 31. № 7 P. 41640.
6. Khatoun Z., Fouad H., Alothman O.Y., Hashem M., Ansari Z.A., Ansari S.A. Doped SnO₂ nanomaterials for E-nose based electrochemical sensing of biomarkers of lung cancer // *ACS Omega.* 2020. V. 5. № 42. P. 27645.
7. Qu C., Wang S., Liu L., Bai Y., Li L., Sun F., Hao M., Li T., Lu Q., Li L., Qin S., Zhang T. Bioinspired flexible volatile organic compounds sensor based on dynamic surface wrinkling with dual-signal response // *Small.* 2019. V. 15. № 17. Article e1900216.
8. Vishinkin R., Busool R., Mansour E., Fish F., Esmail A., Kumar P., Gharaa A., Cancilla J.C., Torrecilla J.S., Skenders G., Leja M., Dheda K., Singh S., Haick H. Profiles of volatile biomarkers detect tuberculosis from skin // *Adv. Sci.* 2021. V. 8. № 15. Article 2100235.
9. Marchesi J.R., Holmes E., Khan F., Kochhar S., Scanlan P., Shanahan F., Wilson I.D., Wang Y. Rapid and noninvasive metabonomic characterization of inflammatory bowel disease // *J. Proteome Res.* 2007. V. 6. P. 546.
10. Bain M.A., Faull R., Milne R.W., Evans A.M. Oral L-carnitine: Metabolite formation and hemodialysis // *Curr. Drug Metab.* 2006. V. 7. P. 811.
11. Raman M., Ahmed I., Gillevet P.M., Probert C.S., Ratcliffe N.M., Smith S., Greenwood R. Fecal microbiome and volatile organic compound metabolome in obese humans with nonalcoholic fatty liver disease // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2013. V. 11. P. 868.
12. Azario I., Pievani A., Del Priore F., Antolini L., Santi L., Corsi A., Cardinale L. Neonatal umbilical cord blood transplantation halts skeletal disease progression in the murine model of MPS-I // *Sci. Rep.* 2017. V. 25. № 7. P. 73.
13. Liebich H.M., Woll J. Serum volatile substances: Profile analysis and quantification // *J. Chromatogr.* 1977. V. 11. № 142. P. 505.
14. Walton C., Fowler D.P., Turner C., Jia W., Whitehead R.N., Griffiths L., Dawson C., Waring R.H., Ramsden D.B., Cole J.A., Cauchi M., Bessant C., Hunter J.O. Analysis of volatile organic compounds of bacterial origin in chronic gastrointestinal diseases // *Inflamm. Bowel Dis.* 2013. V. 19. P. 2069.
15. Берсенева В.А. Структура висцерокутанного синдрома (патогенез зон Захарьина-Геда) // *Журн. невропат. психиатр.* 1979. Т. 79. № 7. С. 884.
16. Лыжко Е.В. Численная модель анализа генерации тепла, кровотока и температуры в зонах Захарьина-Геда // *Современные наукоемкие технологии.* 2009. № 11. С. 137.
17. Соломянский А.Е. О кожно-температурных зонах Захарьина-Геда // *Журн. невропат. психиатр.* 1974. Т. 74. № 7. С. 1020.
18. <https://meduniver.com/Medical/Anatom/503.html> (дата обращения 29.8.2022 г.).
19. Кучменко Т.А., Доровская Е.С., Менжулина Д.А., Умарханов П.У. Патент № 2764964 РФ. Мобильное устройство на основе массива сенсоров для анали-

- за биопроб малого объема. Заявка № 2021110885 от 16.04.2021. Оpubл. 24.01.2022.
20. *Кучменко Т.А., Менжулина Д.А.* Патент № 2764965 РФ. Одноканальный анализатор выделяемых кожей легколетучих биомолекул. Заявка № 2021110924 от 16.04.2021. Оpubл. 24.01.2022.
21. *Кучменко Т.А., Мураховский И.А., Менжулина Д.А.* Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ 2021662698, 03.08.2021. Программа “Health by smell of skin (HSMELLSOFT)” для фиксации, расчета, представления и описания данных односенсорного гаджета. Заявка № 2021616688 от 29.04.2021. Оpubл. 24.01.2022.
22. *Буланов Е.Н.* Получение и исследование наноструктурированных биосовместимых материалов на основе гидроксипатита. Нижний Новгород, 2012. 103 с.
23. *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.
24. *Kuchmenko T.A., Lvova L.B.* A Perspective on recent advances in piezoelectric chemical sensors for environmental monitoring and foodstuffs analysis // *Chemosensors*. 2019. V. 7. № 3. P. 39.
25. *Боченков В.Е., Сергеев Г.Б.* Наноматериалы для сенсоров // *Успехи химии*. 2007. Т. 76. №. 11. С. 1084.
26. *Хатько В.В.* Химические сенсоры на основе наноструктурированных материалов. Ч. 1. Газовые сенсоры (обзор) // *Приборы и методы измерений*. 2014. V. 2. № 9. С. 5.
27. *Wanping Aw, Shinji Fukuda.* An integrated outlook on the metagenome and metabolome of intestinal diseases // *Diseases*. 2015. V. 3. № 4. P. 341.
28. *Кучменко Т.А., Бодренко Е.В., Анохина Е.П.* Экспрессный способ анализа крепких спиртных напитков массивом пьезосенсоров “электронный нос” // *Аналитика и контроль*. 2017. Т. 21. № 3. С. 262.
29. *Кучменко Т.А., Доровская Е.С., Менжулина Д.А., Корнехо Туэрос Х.В., Санабриа Перез Э.А., Гевара Янки П.В., Уанка Вийянес Я.Д.П.* Изучение сорбции и возможности идентификации легколетучих биомолекул в смеси по сигналам пьезосенсоров “электронного носа” на микросорбентах // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2022. Т. 22. № 1. С. 21.
30. *Kuchmenko T.A., Dorovskaya E.S., Umarchanov 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. Т. 358. Article 131538.
31. *Pennazza G., Santonico M., Bartolazzi A., Martinelli, Paolesse R., Di Natale C., Bono R., Tamburrelli V., Cristina S., D’Amico A.* Melanoma volatile fingerprint with a gas sensor array: In vivo and in vitro study // *Procedia Chemistry*. 2009. V. 1. № 1. P. 995.
32. *Mochalski P., Leja M., Slefarska-Wolak D., Mezmale L., Patsko V., Ager C., Królicka A., Mayhew C. A., Shani G., Haick H.* Identification of key volatile organic compounds released by gastric tissues as potential non-invasive biomarkers for gastric cancer // *Diagnostics*. 2023. V. 13. P. 335.
33. *Кучменко Т.А., Шуба А.А.* Информативность выходных сигналов “электронного носа” на пьезосенсорах // *Аналитика и контроль*. 2017. Т. 21. № 2. С. 72.

УДК 543.51/550.42

АПРОБАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИЗОТОПНОГО СОСТАВА ОТДЕЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ УГЛЕРОДА В АТМОСФЕРНОМ АЭРОЗОЛЕ МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ИЗОТОПНЫХ ОТНОШЕНИЙ

© 2023 г. Д. А. Калашникова^{a, b, *}, Г. В. Симонова^a, О. В. Лямкина^a, А. О. Почуфаров^b

^a Институт мониторинга климатических и экологических систем Сибирского отделения Российской академии наук
просп. Академический, 10/3, Томск, 634055 Россия

^b Институт оптики атмосферы им. В.Е. Зуева Сибирского отделения Российской академии наук
пл. Академика Зуева, 1, Томск, 634055 Россия

*e-mail: terrezaprk@mail.ru

Поступила в редакцию 01.12.2022 г.

После доработки 28.02.2023 г.

Принята к публикации 01.03.2023 г.

Соотношение стабильных изотопов углерода может дать важную информацию об источниках атмосферных соединений углерода. Рассмотрена методика определения изотопного состава отдельных углеродсодержащих фракций атмосферного аэрозоля методом масс-спектрометрии изотопных отношений. Проведен пробный анализ значений изотопного состава углерода ($\delta^{13}\text{C}$) для различных углеродсодержащих фракций аэрозоля (общий углерод, органический + элементный углерод без карбонатной составляющей, водорастворимый органический углерод, водонерастворимый углерод и элементный углерод), отобранного в морских арктических экспедициях, на ледовой станции “Мыс Баранова”, в геофизической обсерватории ИМКЭС СО РАН г. Томск и с борта самолета-лаборатории Ту-134 “Оптик”.

Ключевые слова: атмосферный аэрозоль, масс-спектрометрия изотопных отношений, соотношение стабильных изотопов углерода $\delta^{13}\text{C}$.

DOI: 10.31857/S0044450223070071, EDN: VRVQKY

Углеродсодержащая часть аэрозолей составляет от 2 до 5% глобальных выбросов аэрозолей [1] и охватывает широкий спектр природных и антропогенных видов аэрозолей с различным химическим составом и структурой. Углеродсодержащие частицы аэрозоля традиционно подразделяются на элементный углерод (ЕС), органический углерод (ОС) и карбонатный углерод, причем последний составляет лишь незначительную часть углеродсодержащего аэрозоля [2] и образуется в основном в результате повторного получения суспензии из минеральной пыли, обогащенной карбонатом кальция (CaCO_3), чаще всего из почвенной пыли [3]. Элементный углерод в аэрозоле считается первичным загрязнителем, который появляется исключительно в результате первичных выбросов и в основном связан с источниками горения. Элементный углерод претерпевает незначительные химические превращения, что делает его полезным индикатором первичных антропогенных загрязнителей воздуха [4]. Фракции ОС представляют собой первичные и вторичные загрязнители (как природного, так и антропогенного происхождения) и образуются в результате

конденсации летучих органических соединений [5]. В то время как первичный органический углерод в основном образуется в результате сжигания и/или от биогенных источников, вторичный органический углерод появляется в результате атмосферных реакций с участием газообразных органических прекурсоров [6]. Соотношение стабильных изотопов углерода может предоставить важную информацию об источниках атмосферных соединений углерода. В настоящее время большинство исследований сосредоточено на изучении изотопного состава общей фракции углерода (ТС, $\delta^{13}\text{C}_{\text{TC}}$) с целью идентификации источников углерода. Однако исследования [7] показали, что измерение величины $\delta^{13}\text{C}$ в различных углеродсодержащих фракциях аэрозоля расширяет возможности различения источников загрязнения и помогает идентифицировать вторичные процессы, влияющие на атмосферные частицы аэрозоля.

Цель работы заключалась в апробации методики определения изотопного состава углерода отдельных углеродсодержащих фракций атмосферного аэрозоля методом масс-спектрометрии

изотопных отношений. С этой целью проанализирован изотопный состав углерода атмосферного аэрозоля, отобранного в морских арктических экспедициях, на Ледовой станции “Мыс Баранова”, в геофизической обсерватории ИМКЭС СО РАН г. Томск и с борта самолета-лаборатории Ту-134 “Оптик”.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для отбора образцов атмосферного аэрозоля использовали стекловолоконные фильтры без связующей основы MGF (Munktell, Швеция) диаметром 47 и 70 мм, пористостью 0.7 мкм. Предварительно фильтры прокаливали при 500°C в течение 5 ч для удаления органических загрязнителей. Отбор аэрозоля на фильтры осуществляли с помощью вихревой воздуходувки ERSTEVAK – EVL22/11 (ERSTEVAK Ltd., Китай) в течение 2–3 дней.

Образцы аэрозоля ($n = 13$) с высот 500–9000 м на фильтры отбирали с борта самолета-лаборатории Ту-134 “Оптик” (Институт оптики атмосферы им. В.Е. Зуева СО РАН, Томск) в течение времени полета (2–3 ч) в районе Караканского бора (Новосибирская область) и на маршруте Белоярск–Мухрино–Плотниково в период с 10.10.2021 г. по 04.10.2022 г. Атмосферный аэрозоль ($n = 6$) на полярной станции “Ледовая станция “Мыс Баранова” (о. Большевик, архипелаг Северная Земля, 79°16'59" с.ш., 101°38'17" в.д.) отбирали сотрудники Института оптики атмосферы им. В.Е. Зуева СО РАН в 2019–2020 гг. Атмосферный аэрозоль ($n = 10$) также отбирали во время следования научно-исследовательского судна (НИС) Росгидромета “Профессор Мультановский”, которое состоялось в июне 2019 г. в рамках проекта “Трансарктика 2019” и проходило в окраинных Дальневосточных и арктических морях России от Владивостока до Мурманска и в морских экспедициях во время 71-го, 80-го, 83-го и 84-го рейсов НИС “Академик Мстислав Келдыш”: 71-ый рейс – июнь–июль 2018 г. в акватории Балтийское море–Северное море–Северная Атлантика (вблизи берегов Гренландии)–Норвежское море–Баренцево море (вблизи архипелага Шпицберген); 80-ый рейс – август 2020 г., проходил в водах Балтийского, Северного, Норвежского и Баренцева морей; 83-ий рейс – июнь–июль 2021 г., экспедиция проходила по маршруту Белое море–южная часть Баренцева моря–Карское море; 84-ый рейс – июль–август 2021 г., маршрут пролегал в Баренцевом море и Норвежско–Гренландском бассейне, а также вблизи архипелага Шпицберген. Пробы отбирали сотрудники Института оптики атмосферы им. В.Е. Зуева СО РАН. Также образцы аэрозоля ($n = 9$) отбирали в 2020 г. в геофизической обсерватории ИМКЭС СО РАН сотрудники обсерватории.

Изотопный состав углерода определяли методом масс-спектрометрии изотопных отношений легких элементов с использованием изотопного масс-спектрометра DELTA V Advantage, совмещенного с элементным анализатором Flash 2000 (Thermo Fisher Scientific, Бремен, Германия), оснащенного окислительно-восстановительным реактором (приборы предоставлены центром коллективного пользования ТомЦКП СО РАН). Перед анализом с помощью пуансона дырокола вырезали круг из фильтра диаметром 6.8 мм (площадь 36.3 мм²). Образцы фильтров с атмосферным аэрозолем помещали в оловянные капсулы. Запакованные в капсулы образцы загружали в автосамплер элементного анализатора Flash 2000. Капсула, попадая в окислительный реактор, сжигалась в потоке газа-носителя (гелий марки 6.0 (ООО “НИИ КМ”, Москва), 250 мл/мин) с одновременной подачей чистого кислорода (180 мл/мин). Полученный продукт окисления (CO₂) поступал в восстановительный реактор. Для удаления воды использовали ловушку с перхлоратом магния. Газ CO₂ по капилляру попадал в ионный источник масс-спектрометра DELTA V Advantage через систему газораспределения Conflo IV.

Изотопный состав обозначается символом δ , измеряется в промилле (‰) и определяется по формуле:

$$\delta^{13}\text{C} = \left[\frac{R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}}} \right] \times 1000,$$

где R_{sample} и R_{standard} – отношение тяжелого изотопа углерода к легкому в исследуемом образце и стандарте соответственно.

При анализе водорастворимого органического углерода использовали изотопный масс-спектрометр DELTA V Advantage, совмещенный с системой анализа водных образцов Gas Bench II. Стандартное отклонение результатов измерения анализируемых образцов водорастворимого органического углерода не превышало $\pm 0.7\%$.

Калибровку лабораторного рабочего газа сравнения CO₂ проводили по международному стандартному образцу МАГАТЭ – IAEA-600 Caffeine с известной величиной отношения стабильных изотопов углерода: $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = (-27.771 \pm 0.043)\%$. Воспроизводимость результатов изотопного анализа газа сравнения CO₂ составляла $\pm 0.02\%$. Погрешность трех последовательных измерений анализируемых образцов твердой фазы не превышала $\pm 0.2\%$.

Пять углеродсодержащих фракций аэрозоля, т.е. общий углерод (TC), органический + элементный углерод без карбонатной составляющей (OC + EC), водорастворимый органический углерод (WSOC) (экстрагируемый водой), водонерастворимый углерод (WInsC) (не экстрагируемый

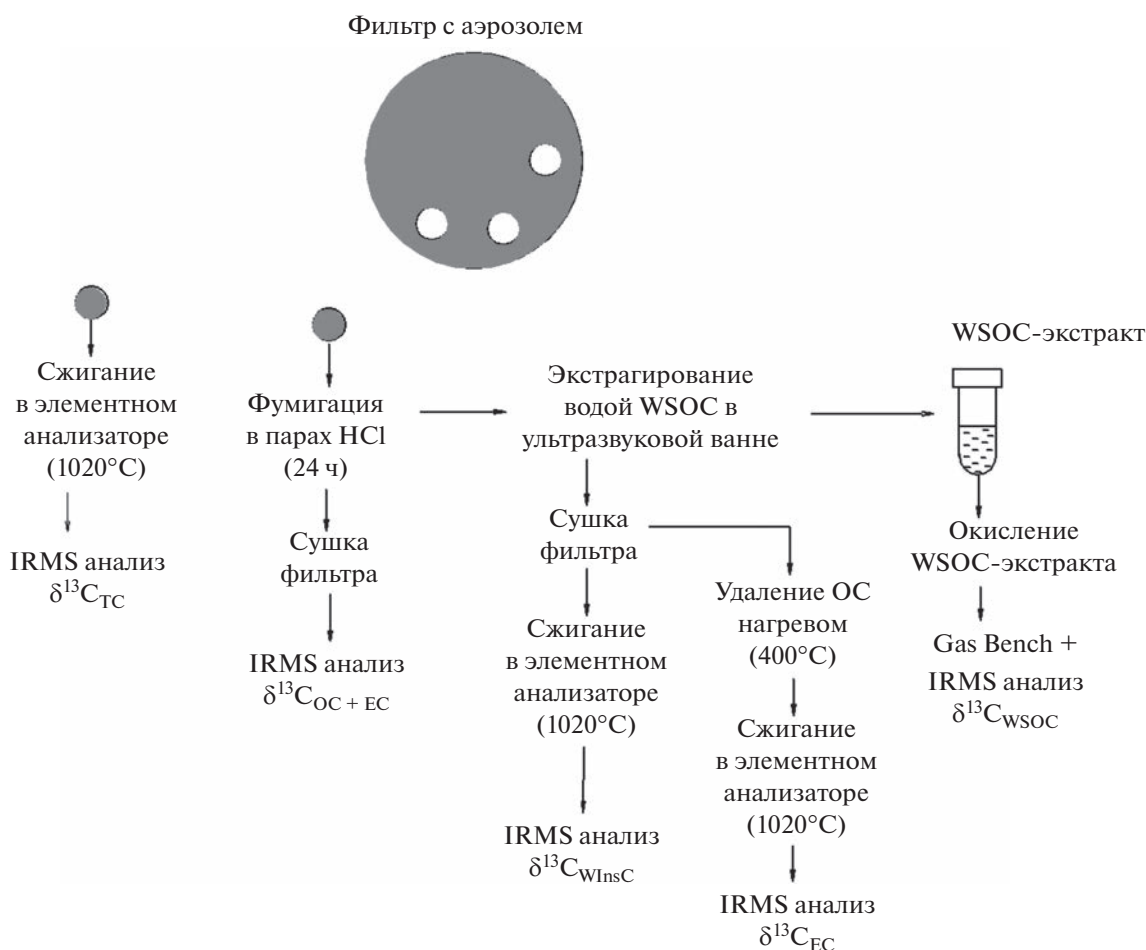


Рис. 1. Схема проведения изотопного анализа углерода разных фракций атмосферного аэрозоля, отобранного на стекловолоконный фильтр, методом масс-спектрометрии изотопных соотношений.

водой) и элементный углерод (ЕС), анализировали в соответствии с предложенной методикой, схема соответствующих операций изображена на рис. 1.

Процедура изотопного анализа разных углеродсодержащих фракций атмосферного аэрозоля, отобранного на стекловолоконные фильтры, состоит из следующих этапов:

1. Анализ изотопного состава общего углерода (ТС) атмосферного аэрозоля.

Для измерения значения изотопного состава общего углерода ($\delta^{13}\text{C}_{\text{TC}}$) достаточно образцы фильтра с атмосферным аэрозолем упаковать в оловянные капсулы, сжечь в элементном анализаторе (1020°C) и полученный CO_2 проанализировать с помощью изотопного масс-спектрометра DELTA V Advantage (метод EA + IRMS).

2. Анализ изотопного состава органического углерода и элементного углерод без карбонатной составляющей (OC + EC).

Для определения величины $\delta^{13}\text{C}_{(\text{OC} + \text{EC})}$ часть фильтра выдерживают в течение 24 ч в эксикаторе в парах конц. HCl для удаления карбонатов [8]. Затем образцы фильтров высушивают в течение 8 ч в вытяжном шкафу для удаления паров кислоты, упаковывают в оловянные капсулы, сжигают в элементном анализаторе (1020°C) и полученный CO_2 анализируют с помощью изотопного масс-спектрометра DELTA V Advantage (метод EA + IRMS).

3. Анализ изотопного состава водонерастворимого углерода (WInSC).

Для определения величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{WInSC}}$ используют образцы фильтров, подготовленные для изотопного анализа величины $\delta^{13}\text{C}_{(\text{OC} + \text{EC})}$, и удаляют из них водорастворимый органический углерод путем экстракции водой в ультразвуковой ванне в течение 30 мин с использованием 10 мл особо чистой воды с удельным сопротивлением $18.2 \text{ МОм} \cdot \text{см}$. Полученный экстракт водорастворимого органического углерода (WSOC-экс-

тракт) помещают в виалы для дальнейшего анализа. А фильтры после экстракции высушивают в течение 8 ч в вытяжном шкафу, упаковывают в оловянные капсулы, сжигают при 1020°C и полученный CO₂ анализируют с помощью изотопного масс-спектрометра DELTA V Advantage (метод EA + IRMS).

4. Анализ изотопного состава водорастворимого органического углерода (WSOC).

Для определения величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{WSOC}}$ проводят анализ изотопного состава непосредственно WSOC-экстракта. Предварительно WSOC-экстракт фильтруют для удаления взвешенных частиц. Затем применяют метод мокрого окисления с использованием персульфата натрия в качестве окислителя с целью превращения органического водорастворимого углерода в CO₂. В этом исследовании мы адаптировали метод мокрого окисления [9] с целью его применения для определения стабильных изотопов водорастворимого органического углерода (WSOC) в аэрозолях. При обработке проб для изотопного анализа органического углерода ключевым моментом является устранение влияния растворенного неорганического углерода. Неорганический углерод в образце должен быть полностью удален после его преобразования в CO₂. В связи с этим анализ должен состоять из двух этапов. Предварительно виалы из боросиликатного стекла объемом 12 мл прокалывают при 500°C в течение 5 ч для удаления органических загрязнителей. Затем помещают 0.5 мл WSOC-экстракта в виалу, добавляют 0.5 мл H₃PO₄ (85%). Полученную смесь нагревают на песчаной бане в течение 60 мин при 80°C для удаления загрязнителей и образовавшийся CO₂ удаляют продувкой гелием (99.999%, марка 6.0, ООО «НИИ КМ», Москва) при помощи системы Gas Bench II. Избыточное давление в верхнем пространстве над раствором экстракта уравнивают с атмосферным давлением путем прокалывания септы крышки виалы иглой. Затем в виалу с помощью шприца вводят 1 мл окислителя (2.5 г Na₂S₂O₈ + 100 г H₂O) и 50 мкл AgNO₃ (0.10 М) в качестве катализатора [10]. Виалу вновь нагревают (80°C) в течение 60 мин для превращения органического углерода в растворе (WSOC-экстракте) в CO₂. Охлаждают виалу до комнатной температуры для конденсации влаги перед анализом и во избежание повреждения измерительного оборудования. Затем выделенный в верхнее пространство виалы CO₂ анализируют с использованием системы Gas Bench II, подключенной к изотопному масс-спектрометру Delta V Advantage (метод Gas Bench II + IRMS).

5. Анализ изотопного состава элементного углерода (EC).

Для измерения величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{EC}}$ используют образцы фильтров, подготовленных для определения величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{WInsC}}$, предварительно нагревая их до 400°C в течение 4 ч для обеспечения полного удаления органического углерода. Затем упаковывают в оловянные капсулы и сжигают в элементном анализаторе (1020°C), а полученный CO₂ анализируют с помощью изотопного масс-спектрометра DELTA V Advantage (метод EA+IRMS).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Первоначально проводили холостой анализ, т.е. определяли изотопный состав углерода в чистом фильтре. Согласно паспортным данным на фильтры связующая основа в них отсутствует, однако элементный анализ чистых фильтров показал наличие углерода. Для пяти проанализированных фильтров среднее значение содержания углерода составило (1.2 ± 0.4)%, а среднее значение изотопного состава углерода – (–28.2 ± 0.3)‰ ($\delta^{13}\text{C}_{\text{фон}}$). Для удаления карбонатной составляющей в фильтрах использовали обработку фильтров парами HCl. При анализе изотопного состава углерода чистого фильтра после его обработки парами HCl величина $\delta^{13}\text{C}_{\text{фон}}$ составила (–29.2 ± 0.2)‰. Уменьшение значения изотопного состава углерода чистого фильтра на 1‰ свидетельствует о наличии в чистом фильтре карбонатов. По этой причине следует проводить коррекцию измеренных значений изотопного состава общего углерода атмосферного аэрозоля с учетом содержания в чистых фильтрах углеродсодержащих компонентов. Дополнительно для минимизации фоновой составляющей углерода необходимо предварительно прокалывать фильтр при 500°C в течение 5 ч для удаления органических соединений.

При проведении анализа отдельных фракций углерода можно не вводить поправку на фоновую карбонатную составляющую фильтра, так как перед анализом изотопного состава органического углерода и элементного углерода (OC + EC) фильтры с атмосферным аэрозолем обрабатывают парами конц. HCl для удаления карбонатов.

Результаты исследования изотопного состава углерода отдельных углеродсодержащих фракций атмосферных аэрозолей, отобранных как с континентальной части суши, так в морских и самолетных экспедициях, представлены на рис. 2.

Несмотря на ограниченную выборку образцов фильтров ($n = 38$), отобранных в разных районах (над континентальной поверхностью, над морем, в атмосфере на высотах от 500 до 9000 м), заметна разница значений изотопного состава углерода

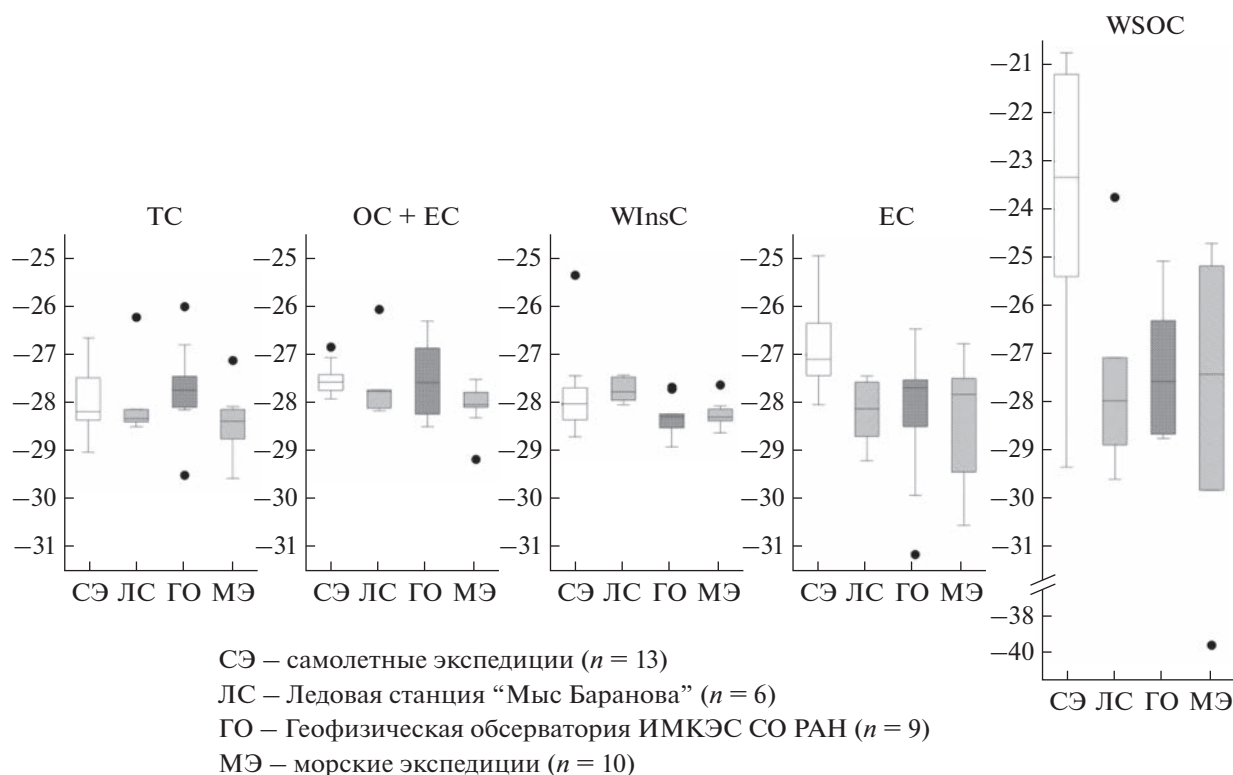


Рис. 2. Диаграммы размаха числовых значений величины $\delta^{13}\text{C}$ для разных углеродсодержащих фракций аэрозоля: диапазон между первым и третьим квартилем распределения заключен в рамку, вертикальные линии (“усы”) на нижнем и верхнем концах оси рамки представляют минимальные и максимальные значения, которые не считаются выбросами, вертикальной линией в рамке и цифрой обозначена медиана выборки значений; точками обозначены выбросы величины $\delta^{13}\text{C}$.

как для общего углерода, так и для отдельных углеродсодержащих фракций. Выявлено обогащение изотопного состава общего углерода тяжелым изотопом углеродом ^{13}C с увеличением содержания углерода. Наибольшая концентрация углерода (до 7%) зафиксирована в образцах, отобранных на континентальной части суши в геофизической обсерватории ИМКЭС СО РАН, медиана выборки значений величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{TC}}$ равна -27.7‰ , величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{OC+EC}}$ -27.6‰ . Самое низкое среднее значение величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{OC+EC}}$, равное $(-28.1 \pm 0.5)\text{‰}$, и среднеквадратичное отклонение разницы между величиной $\delta^{13}\text{C}_{\text{TC}}$ и величиной $\delta^{13}\text{C}_{\text{OC+EC}}$ ($\sigma = 0.3\text{‰}$) зафиксировано в образцах аэрозоля, отобранного в морских экспедициях. В работе [11] показано, что для источников морских аэрозолей характерны значения величины $\delta^{13}\text{C}$ от -22 до -18‰ , однако в нашем случае получены достаточно низкие значения величин $\delta^{13}\text{C}_{\text{TC}}$ и $\delta^{13}\text{C}_{\text{OC+EC}}$, что не подтверждает влияние карбонатов морского происхождения на значения величины $\delta^{13}\text{C}$. По-видимому, это связано с тем, что карбонаты морского происхождения эф-

фективно разлагаются при подкислении аэрозолей свежей морской солью; подобное явление отражено в работе [12].

Наибольший интерес представляет элементный углерод, изотопный состав которого зависит от первичных источников, из которых он происходит, и мало отличается от величины $\delta^{13}\text{C}$ первичных источников [13]. В работе [14] показана четкая связь между физическим состоянием различных видов топлива, побочных продуктов их сгорания и их величиной $\delta^{13}\text{C}$. Газообразные побочные продукты наиболее обогащены легким изотопом ^{12}C , жидкие топлива имеют промежуточное значение величины $\delta^{13}\text{C}$ и твердое топливо (уголь) показывает самые высокие значения величины $\delta^{13}\text{C}$. Нами зафиксирован наибольший разброс значений величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{EC}}$ для образцов морских экспедиций, наименьший – для образцов, отобранных на Ледовой станции “Мыс Баранова”. Наиболее обогащены тяжелым изотопом ^{13}C образцы самолетных экспедиций, среднее значение величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{EC}}$ равно $(-26.9 \pm 0.8)\text{‰}$. В образцах морских экспедиций значение величины

$\delta^{13}\text{C}_{\text{EC}}$ медианы выборки (-28.1%) более низкое, что указывает на то, что источником элементного углерода являлись продукты нефтепереработки (скорее всего, дизельное топливо). Для остальных образцов значения медианы выборки значений величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{EC}}$ соответствуют смеси изотопного состава сажевого углерода, образующегося при горении как продуктов нефтепереработки, так древесины и угля.

Другим важным источником углеродсодержащего аэрозоля является органическая фракция, которая состоит из водонерастворимого и водорастворимого органического углерода. Водонерастворимый органический углерод содержит неполярные вещества, такие как ПАУ, *n*-алканы и высокомолекулярные полярные молекулы (карбонильные и карбоксильные соединения), высокомолекулярные биогенные соединения типа белкового материала и целлюлозы [3]. Источники происхождения водорастворимых органических соединений углерода из-за их гигроскопических свойств могут быть различными, включая сжигание угля, нефтепродуктов, биомассы, биогенные и морские выбросы, соответствующие значения величины $\delta^{13}\text{C}$ аналогичны значениям величины $\delta^{13}\text{C}$ исходного материала. В работе [15] отмечено, что органические соединения, образующиеся при сгорании древесины или дизельного топлива и бензина, имеют значения от -26 до -28% . Другим важным первичным источником органических соединений в атмосфере является биогенная эмиссия. Хотя исследования изотопного состава углерода органических кислот, непосредственно выделяемых растениями, до сих пор не проводились, можно оценить их изотопный состав по другим летучим органическим соединениям (например, по изопрену). В работе [16] сообщается, что изотопный состав углерода изопрена существенно не отличается от растительного материала, который обычно составляет от -26 до -27% для С3-растений. Это показывает, что первичные источники органического углерода, как биогенные выбросы, так и сжигание топлива, демонстрируют схожие значения изотопного состава углерода.

Исследования изотопного состава WSOC-фракции атмосферного аэрозоля немногочисленны из-за сложности процедуры анализа. В работе [8] дана сводка результатов определения значений величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{WSOC}}$ по данным, собранным со всего мира, диапазон значений меняется от -27.6 до -17.5% , и подобно нашему исследованию значение величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{WSOC}}$ обогащено изотопом ^{13}C по сравнению со значением величин

$\delta^{13}\text{C}_{\text{TC}}$ и $\delta^{13}\text{C}_{\text{OC} + \text{EC}}$. В работе [17] показано, что окисление соединений в аэрозольной фазе (старение) приводит к обогащению тяжелым изотопом ^{13}C , тогда как вторичное образование органических соединений приводит к обогащению легким изотопом ^{12}C . В нашем исследовании диапазон значений величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{WSOC}}$ варьирует от -29.8 до -19.1% . Низкие значения величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{WSOC}}$ могут быть вызваны вторичными процессами образования органических соединений, связанными с реакциями окисления в атмосфере. Одной из наиболее важных реакций, способствующей образованию органических кислот в атмосфере, является окисление ненасыщенных летучих органических соединений озоном [18]. Реакции, связанные с образованием органических кислот в атмосфере, могут приводить к значительному фракционированию, вызванному обогащением легким изотопом ^{12}C образовавшихся органических кислот по сравнению с их предшественниками. Согласно кинетическому изотопному эффекту скорость реакции молекул, содержащих более тяжелые изотопы, обычно ниже, чем у молекул, содержащих более легкие изотопы [19]. Следовательно, окислители предпочтительнее реагируют с молекулами с более легкими изотопами (обратный кинетический изотопный эффект), что приводит к обогащению тяжелым изотопом ^{13}C остаточных материалов и обогащению легким изотопом ^{12}C продуктов окисления твердых частиц [20]. Экстремально низкое значение величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{WSOC}}$ составило -39.5% и зафиксировано в образце аэрозоля, отобранном в ходе 80-го рейса морской экспедиции НИС "Академик Мстислав Келдыш", в районе гидротермальных разломов между Норвежским и Гренландским морями, недалеко от острова Ян Майн. Данный результат требует дополнительного изучения. Если рассматривать средние значения величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{WSOC}}$, то во всех образцах, кроме образцов самолетных экспедиций, средние значения величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{WSOC}}$ практически равны средним значениям величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{EC}}$, поэтому можно сделать вывод, что в основном преобладают первичные источники возникновения водорастворимых органических соединений.

Несмотря на ограниченное количество доступных для сравнения данных, полученных в различных исследованиях, применение методики определения изотопного состава отдельных фракций углерода в атмосферном аэрозоле мето-

дом масс-спектрометрии изотопных отношений выявило различия в величине $\delta^{13}\text{C}$ отдельных углеродсодержащих фракций аэрозоля. Это указывает на различные процессы, связанные с формированием и преобразованием фракций, что позволяет использовать данную методику анализа для расширения возможности различения источников происхождения и идентификации вторичных процессов, влияющих на атмосферные частицы аэрозоля и стимулирует проведение дальнейших углубленных исследований.

Авторы благодарны сотрудникам Геофизической обсерватории ИМКЭС СО РАН С.В. Смирнову, М.В. Пахместеровой, Н.С. Тирсковой, Е.Т. Чемяковой за отбор проб атмосферного аэрозоля, сотрудникам ИОА СО РАН Д.В. Симоненко, И.А. Круглинскому, Ю.С. Турчиновичу за проведение самолетных и морских экспедиций.

Исследование изотопного состава атмосферного аэрозоля, отобранного во время проведения самолетных экспедиций, проведено при финансовой поддержке проекта №76-НИР, анализ фильтров с аэрозолем, собранных в геофизической обсерватории ИМКЭС СО РАН, выполнялся в рамках государственного задания ИМКЭС СО РАН (проект FWRG-2021-0001), образцы атмосферного аэрозоля, отобранные в морских экспедициях и на Ледовой станции "Мыс Баранова", анализировали при поддержке проекта РНФ № 21-77-2005.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Folland C.K., Karl T.R., Christy J.R., Clarke R.A., Gruza G.V., Jouzel J., Mann M.E., Oerlemans J., Salinger M.J., Wang S.-W. Observed climate variability and change / *Climate Change* 2001. 2001. P. 99.
2. Chow J.C., Watson J.G. PM_{2.5} carbonate concentrations at regionally representative interagency monitoring of protected visual environment sites // *J. Geophys. Res.* 2002. V. 107. P. 8344. <https://doi.org/10.1029/2001JD000574>
3. Fisseha R., Saurer M., Jäggi M., Siegwolf R.T.W., Dommen J., Szidat S., Samburova V., Baltensperger U. Determination of primary and secondary sources of organic acids and carbonaceous aerosols using stable carbon isotopes // *Atmos. Environ.* 2009. V. 43. P. 431. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2008.08.041>
4. Ho K.F., Lee S.C., Cao J.J., Li Y.S., Chow J.C., Watson J.G., Fung K. Variability of organic and elemental carbon, water soluble organic carbon, and isotopes in Hong Kong // *Atmos. Chem. Phys.* 2006. V. 6. P. 4569. <https://doi.org/10.5194/acp-6-4569-2006>
5. Weber R.J., Sullivan A.P., Peltier R.E., Russell A., Yan B., Zheng M., Gouw J., Warneke C., Brock C., Holloway J.S., Atlas E.L., Edgerton E. A study of secondary organic aerosol formation in the anthropogenic-influenced southeastern United States // *J. Geophys. Res.* Atmos. 2007. V. 112. Article D13302. <https://doi.org/10.1029/2007JD008408>
6. Sudheer A.K., Aslam M.Y., Upadhyay M., Rengarajan R., Bhushan R., Rathore J.S., Singh S.K., Kumar S. Carbonaceous aerosol over semi-arid region of western India: Heterogeneity in sources and characteristics // *Atmos. Res.* 2016. V. 178–179. P. 268. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2016.03.026>
7. Suto N., Kawashima H. Online wet oxidation/isotope ratio mass spectrometry method for determination of stable carbon isotope ratios of watersoluble organic carbon in particulate matter // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2018. V. 32. P. 1668. <https://doi.org/10.1002/rcm.8240>
8. Morera-Gómez Y., Cong Z., Widory D. Carbonaceous fractions contents and carbon stable isotope compositions of aerosols collected in the atmosphere of Montreal (Canada): Seasonality, sources, and implications // *Front. Environ. Sci.* 2021. V. 9. Article 622521. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.622521>
9. Fisseha R., Saurer M., Jäggi M., Szidat S., Siegwolf R.T.W., Baltensperger U. Determination of stable carbon isotopes of organic acids and carbonaceous aerosols in the atmosphere // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2006. V. 20. P. 2343.
10. Zhou Y., Guo H., Lu H., Mao R., Zheng H., Wang J. Analytical methods and application of stable isotopes in dissolved organic carbon and inorganic carbon in groundwater // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2015. V. 29. P. 1827. <https://doi.org/10.1002/rcm.7280>
11. Miyazaki Y., Kawamura K., Jung J., Furutani H., Uematsu M. Latitudinal distributions of organic nitrogen and organic carbon in marine aerosols over the western North Pacific // *Atmos. Chem. Phys.* 2011. V. 11. P. 3037. <https://doi.org/10.5194/acp-11-3037-2011>
12. Turekian V.C., Macko S.A., Keene W.C. Concentrations isotopic compositions and sources of size-resolved particulate organic carbon and oxalate in near-surface marine air at Bermuda during spring // *J. Geophys. Res.* 2003. V. 108(D5). Article 4157. <https://doi.org/10.1029/2002JD002053>
13. Ni H., Huang R.J., Cao J., Liu W., Zhang T., Wang M., Meijer H.A.J., Dusek U. Source apportionment of carbonaceous aerosols in Xi'an, China: Insights from a full year of measurements of radiocarbon and the stable isotope ^{13}C // *Atmos. Chem. Phys.* 2018. V. 18. P. 16363. <https://doi.org/10.5194/acp-18-16363-2018>
14. Widory D. Combustibles, fuels and their combustion products: A view through carbon isotopes // *Combust. Theory Model.* 2006. V. 10. P. 831. <https://doi.org/10.1080/13647830600720264>
15. Widory D., Roy S., Le Moullec Y., Goupil G., Cocherie A., Guerrot C. The origin of atmospheric particles in Paris: A view through carbon and lead isotopes // *Atmos. Environ.* 2004. V. 38. P. 953.
16. Rudolph J., Anderson R.S., Czapiewski K.V., Czuba E., Ernst D., Gillespie T., Huang L., Rigby C., Thompson A.E. The

- stable carbon isotope ratio of biogenic emissions of isoprene and the potential use of stable isotope ratio measurements to study photochemical processing of isoprene in the atmosphere // *J. Atmos. Chem.* 2003. V. 44. P. 39.
17. *Bikkina S., Andersson A., Ram K., Sarin M.M., Sheesley R.J., Kirillova E.N., Rengarajan R., Sudheer A.K., Gustafsson Ö.* Carbon isotope-constrained seasonality of carbonaceous aerosol sources from an urban location (Kanpur) in the Indo-Gangetic Plain // *J. Geophys. Res. Atmos.* 2017. V. 122. P. 4903.
<https://doi.org/10.1002/2016JD025634>
18. *Chebbi A., Carlier P.* Carboxylic acids in the troposphere, occurrence, sources, and sinks: A review // *Atmos. Environ.* 1996. V. 30. P. 4233.
19. *Kirillova E.N., Sheesley R.J., Andersson A., Gustafsson Ö.* Natural abundance ^{13}C and ^{14}C analysis of water-soluble organic carbon in atmospheric // *Anal. Chem.* 2010. V. 82. P. 7973.
<https://doi.org/10.1029/2006GL028325>
20. *Rudolph J., Czuba E., Norman A. L., Huang L., Ernst D.* Stable carbon isotope composition of nonmethane hydrocarbons in emissions from transportation related sources and atmospheric observations in an urban atmosphere // *Atmos. Environ.* 2002. V. 36. P. 1173.
[https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(01\)00537-4](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(01)00537-4)

БИОГИБРИДНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ОБНАРУЖЕНИЯ СВЕРХНИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ТРИНИТРОТОЛУОЛА В ВОЗДУХЕ

© 2023 г. В. Н. Кирой^a, П. О. Косенко^a, И. Е. Шепелев^a, И. В. Щербань^a, А. Б. Смоликов^a, Ф. В. Арсеньев^b, А. В. Заборовский^c, В. А. Аксёнов^d, М. И. Тивилёва^d, В. М. Грузнов^{e,f,*}, И. И. Засыпкина^e

^aЮжный федеральный университет
ул. Б. Садовая, 105/42, Ростов-на-Дону, 344006 Россия

^bФонд перспективных исследований
Бережковская наб., 22, стр. 3, Москва, 121059 Россия

^cНаучно-производственное объединение “Специальная техника и связь”
Министерства внутренних дел
Российской Федерации
ул. Пруд Ключики, 2, Москва, 111024 Россия

^dСибирский филиал Научно-производственного объединения “Специальная техника и связь”
Министерства внутренних дел Российской Федерации
ул. Кутателадзе, 3, Новосибирск, 630055 Россия

^eИнститут нефтегазовой геологии и геофизики им. А.А. Трофимука Сибирского отделения
Российской академии наук
просп. Академика Коптюга, 3, Новосибирск, 630090 Россия

^fНовосибирский государственный технический университет
просп. Карла Маркса, 20, Новосибирск, 630073 Россия

*e-mail: GruznovVM@ipgg.sbras.ru

Поступила в редакцию 21.02.2023 г.

После доработки 29.03.2023 г.

Принята к публикации 03.04.2023 г.

Технология основана на регистрации фокальной активности (ФА) обонятельной луковицы (ОЛ) крыс при предъявлении крысам паров тринитротолуола (ТНТ) с концентрацией 4.7×10^{-15} г/см³ отдельно и в смеси с насыщенными парами комплексной помехи из специй. Регистрация ФА ОЛ крыс осуществлялась с помощью матрицы из 16 специальных электродов, имплантированных в дорсальную часть ОЛ крысы. Установка для регистрации ФА ОЛ крыс содержала бокс с крысой, источники паров (одорантов), многоканальную цифровую систему цифровой регистрации электрических сигналов с матрицы электродов, программное обеспечение, содержащее алгоритмы распознавания и классификации предъявляемых крысе одорантов. Источники паров ТНТ: статического объема приготовления с концентрацией порядка 10^{-15} г/см³ и источник с концентрацией 4.7×10^{-15} г/см³ в потоке воздуха, предъявляемом крысам. Данные 25 испытаний показали 100%-ную вероятность обнаружения паров ТНТ указанных концентраций в чистом воздухе и также в присутствии сложной запаховой помехи в виде паров от смеси красного перца, кориандра, табака и др., которые, как правило, маскируют для животных запах ТНТ.

Ключевые слова: обонятельная луковица, фокальная активность, взрывчатые вещества, биосенсорная тест-система.

DOI: 10.31857/S0044450223080091, EDN: SHDSTZ

Проблема обнаружения паров опасных веществ в воздухе является актуальной как в контексте экологического мониторинга, так и решения задач в сфере охраны здоровья и безопасности людей [1, 2].

Портативные быстродействующие газоаналитические обнаружители паров взрывчатых веществ (ВВ) с временем реакции 1–3 с широко ис-

пользуются в практике антитеррористического контроля. Это приборы на основе спектрометрии приращения ионной подвижности (СПИП) “Пилот”, “МО-02” и на основе спектрометрии ионной подвижности “Кербер”, а также приборы “Fido XT” (США), “Заслон-М” (Россия) на основе гашения люминесценции. Порог обнаружения паров ТНТ у большинства серийных приборов

находится на уровне 10^{-13} г/см³. Исключением является отечественный прибор “Шельф-ПКЛ” с временем обнаружения 2–5 с на основе СПИП с ионизатором по методу лазерной десорбции микрочастиц ВВ с контролируемой поверхности с порогом обнаружения паров ТНТ 3×10^{-15} г/см³ [3], т.е. для увеличения чувствительности применяется лазерная десорбция.

В ряде публикаций отмечено значительное влияние высокой пороговой чувствительности на возможность быстрого обнаружения объектов с ТНТ. В частности, в работах [4, 5] экспериментально показано, что при пороге обнаружения концентрации паров ТНТ 10^{-16} г/см³ возможно значительное сокращение времени обнаружения объекта с 200 г ТНТ с момента его помещения в автоматическую камеру хранения – до 5 мин вместо нескольких суток при пороге 10^{-15} г/см³. Задержка обнаружения обусловлена медленным накоплением в ячейке камеры хранения обнаруживаемой концентрации паров.

Однако несмотря на наличие чувствительных аналитических приборов практические задачи обнаружения объектов с ВВ и наркотиками часто решаются с использованием специально обученных животных. Последнее связано с тем, что животные-макросматики обладают чрезвычайно высокой чувствительностью в режиме реального времени.

В настоящее время наряду с методиками обучения животных интенсивно исследуется активность структур обонятельного анализатора животных методом биогибридной технологии с анализом сигналов с микроэлектродов, имплантированных в дорсальную (заднюю) часть обонятельной луковицы (ОЛ) [6, 7]. Это наиболее перспективные направления исследования, которые позволяют обнаруживать активные нейроны и нейронные популяции, гломерулы ОЛ и исследовать их активность, непосредственно связанную с процессами анализа ольфакторной (обонятельной) информации [8]. Экспериментально показано, что устойчивые повторяющиеся сочетания данных активации гломерул (одорант-специфичные паттерны) ОЛ устойчиво воспроизводятся при повторных предъявлениях [9] одорантов и существенно различаются при предъявлении одорантов, различающихся физико-химическими свойствами [8]. Вследствие этого регистрация и анализ паттернов вызванной фокальной активности (ФА) ОЛ позволяет решать задачи, связанные с распознаванием и классификацией одорантов [10, 11].

Целью настоящей работы являлось определение возможности обнаружения следовых количеств паров ТНТ по сигналам фокальной активности, регистрируемым микроэлектродной матрицей с дорсальной поверхности ОЛ крысы, в условиях отсутствия и наличия паров запаховой

помехи в виде смеси, содержащей следующие ингредиенты: перец красный молотый, табак курительный и др., пары которых, как правило, маскируют у животных запах ТНТ.

Эксперименты выполняли в НИТЦ нейротехнологий ЮФУ, (Ростов-на-Дону) и в Сибирском филиале ФКУ НПО “СТиС” МВД России (Новосибирск).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Экспериментальные животные. Эксперименты выполняли на четырёх взрослых самцах серых доместицированных крыс, широко используемых в лабораториях (массой от 350 до 450 г), которые содержали в индивидуальных клетках с постоянной температурой (23 ± 1)°С, влажностью 45% и 12 : 12 часовым циклом свет : темнота. Крысам был предоставлен свободный доступ к пище (коммерческий состав) и воде (очищенной). Все эксперименты и процедуры по уходу за животными были одобрены комитетом по биоэтике Южного федерального университета (Россия).

Вольфрамовые остро заточенные микроэлектроды ($n = 16$) в стеклянной оболочке (диаметр меньше 30 мкм) имплантировались в дорсальную часть ОЛ на глубину, соответствующую представительству так называемых митральных клеток (около 500 мкм), с межэлектродным расстоянием 500 мкм. Верификацию расположения кончиков микроэлектродов проводили после завершения экспериментальных работ посредством гистологического исследования срезов ОЛ. Микроэлектродная матрица и разъем, с которым она была соединена, укреплялись на черепе светоотверждаемой пластмассой. После операции крысам отводилось время для восстановления в течение одной недели. В экспериментах использовали четыре крысы. Выбранные особи не различались по возрасту, не имели ранее заболеваний. Многократные повторения нагрузок крыс одорантом с учетом межстимульных интервалов проводили в течение не более 20 мин. Ниже приведены результаты обнаружения паров ТНТ для крысы с наиболее правильным расположением кончиков микроэлектродов.

Отметим, что крысы с такой подготовкой по имплантации электродов, по режиму ухода и содержания перед экспериментами ранее успешно использовались в исследованиях воздействия наркоза на ФА ОЛ крыс, а также при отслеживании информативных признаков в гамма-частотном диапазоне ФА ОЛ [11, 12]. Для контроля функционального состояния крыс эксперименты проводились с ксилазин-золотеликовой анестезией крыс (внутримышечно 5 и 15 мг/кг соответственно). Применение наркоза позволяло сформировать контролируемое функциональное состояние

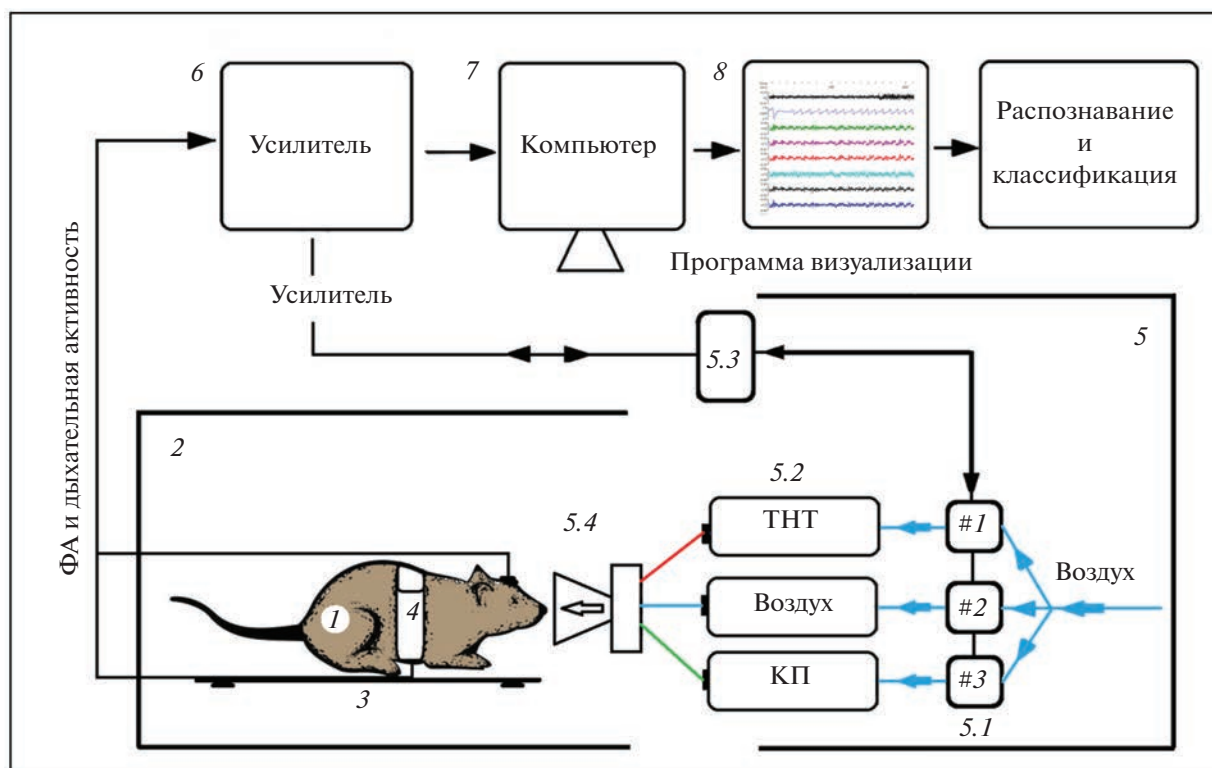


Рис. 1. Схематическое изображение экспериментальной установки для проведения электрофизиологических экспериментов с регистрацией фокальной активности обонятельной луковицы крысы при предъявлении одорантных стимулов. 1 – наркотизированная крыса с вживленной микроэлектродной матрицей; 2 – экспериментальная камера (бокс); 3 – система для автоматического поддержания температуры тела животного; 4 – система контроля дыхания; 5 – аппаратно-программный комплекс, обеспечивающий управление режимом стимуляции животного газо-воздушными смесями (одоризатор); 5.1 – клапаны, 5.2 – источники одорантов, 5.3 – плата управления клапанами #1, #2, #3 подачи одорантов, 5.4 – маска для подачи газовой смеси; 6 – усилитель – 32-канальная цифровая система Plexon Multichannel Acquisition Processor (MAP) (Plexon Corp., Dallas, Texas, USA); 7 – компьютер; 8 – программа визуализации сигналов фокальной активности (программное обеспечение Plexon).

крыс в течение двух часов, что значительно больше длительности экспериментов, а также нивелировало воздействие таких факторов, как степень голода, стресса и т.д.

Регистрация фокальной активности обонятельной луковицы крысы. Блок-схема экспериментальной установки для регистрации ФА ОЛ крысы показана на рис. 1. Крыс помещали в прямоугольную камеру (2) размером $100 \times 50 \times 30 \text{ см}^3$ внутри клетки Фарадея. Регистрацию 16 сигналов ФА ОЛ крысы осуществляли с помощью 32-канальной цифровой системы Plexon Multichannel Acquisition Processor (MAP) data acquisition system (Plexon Corp., Dallas, Texas) [12]. Система MAP содержит усилитель сигналов (6) с преобразованием сигналов в цифровой код с частотой дискретизации 10 кГц по каждому из каналов, компьютер (7), программное обеспечение Plexon-Sort Client (8) для визуализации зарегистрированных сигналов, распознавания и идентификации целевых сигналов, соответствующих предъявленным одорантам.

Синхронизация регистрации ФА ОЛ с временем предъявления стимулов (одорантов) осуществлялась с помощью платы управления клапанами (5.3). Все данные поступали на жесткий диск компьютера. Одновременно осуществлялся контроль постоянства температуры и дыхания крысы электронными системами (3 и 4) соответственно. Фокальную активность регистрировали в ходе экспериментов непрерывно в течение 3 с.

Методики приготовления и предъявления газо-воздушных смесей (ГВС). Газовоздушные смеси готовили для экспериментов, которые проводили в два этапа. Первый этап состоял в настройке параметров алгоритма обнаружения и демонстрации возможности обнаружения следовых концентраций пара ТНТ в воздухе. Эту работу выполняли на базе НИТЦ нейротехнологий ЮФУ (Ростов-на-Дону). Второй этап – обнаружение следовых концентраций пара ТНТ в воздухе в присутствии паров запаховой комплексной помехи выполняли на базе Сибирского филиала НПО

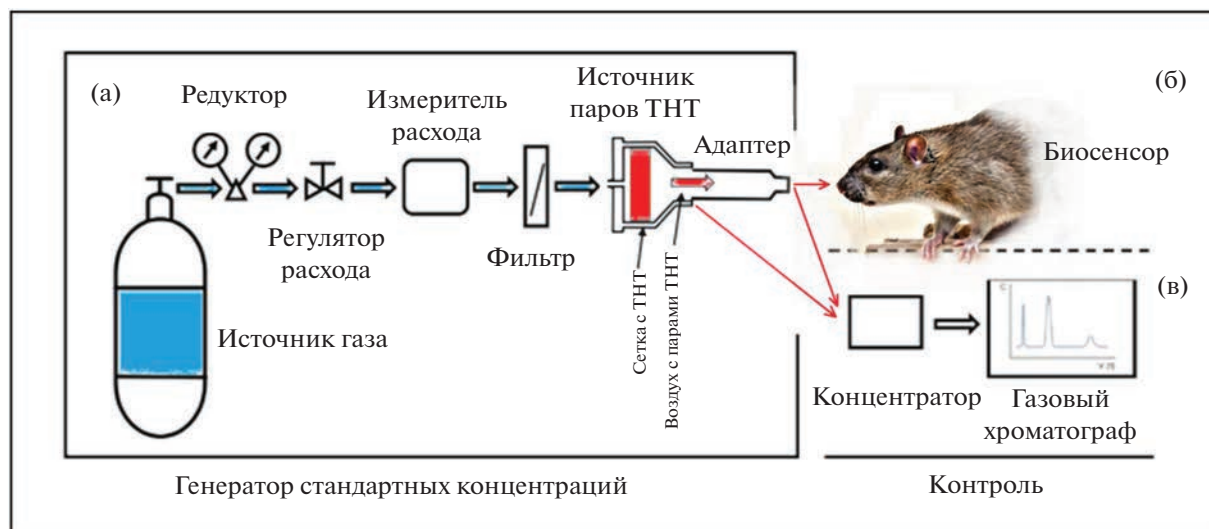


Рис. 2. Схема получения и контроля источника паров тринитротолуола в эксперименте. Генератор стандартных концентраций (а), биосенсор – крыса (б), контроль состава газовой смеси (в).

“Специальная техника и связь” МВД РФ (Новосибирск).

Для экспериментов I этапа готовили пары ТНТ в воздухе с концентрацией не более 10^{-15} г/см³ методом статического объемного приготовления градуировочных газовых смесей [13]. Использовали три стеклянных 15-литровых баллона, предварительно вымытых ацетоном и дистиллированной водой. В первом баллоне формировали концентрацию насыщенного пара ТНТ $\sim 10^{-11}$ г/см³. Для этого использовали раствор ТНТ в ацетоне с концентрацией 10^{-2} г/см³ (10 мг/мл) производства АО ГосНИИ “Кристалл”. 5 мл раствора распределяли по дну и стенкам первой 15-литровой емкости и в открытом виде помещали емкость под вытяжку на 24 ч для удаления паров растворителя. Далее баллон закрывали герметичной крышкой, в которую был герметично вмонтирован патрубок с вентилем, и выдерживали в течение 48 ч при температуре окружающего воздуха $23 \pm 2^\circ\text{C}$ и нормальном атмосферном давлении (в пределах 740–760 мм. рт. ст.). Масса вещества в емкости с учетом его летучести превосходила необходимую для создания насыщенного пара. Далее последовательным двукратным разведением насыщенного пара в соответствии с методикой [13] получали в третьем баллоне концентрацию $\sim 10^{-15}$ г/см³. Перенос газозвушных смесей ТНТ при каждом разведении осуществляли одноразовыми шприцами объемом 150 мл. Разведение паров осуществляли непосредственно перед проведением каждого эксперимента с животными. Концентрацию оценивали расчетным путем.

В третий баллон был встроены герметичный пакет с патрубком в крышке. Подачей воздуха в пакет со скоростью 2 л/мин обеспечивали подачу

паров ТНТ в приготовленной концентрации в маску крысы через систему подводных трубок и программно управляемых компьютером клапанов. Продолжительность предъявления каждой пробы составляла 5 с. Межстимульный интервал, во время которого в маску крысы подавался только воздух с той же интенсивностью, составлял 10 с.

Для второго этапа экспериментов с испытаниями биогибридной технологии в ИНХ СО РАН создан генератор стандартных концентраций (ГСК) паров ТНТ (рис. 2а) на основе источников паров (ИП) ТНТ с концентрациями 1.92×10^{-13} и 1.91×10^{-14} г/см³ [14]. Формирование паров ТНТ в созданном ГСК осуществляли пропусканием отфильтрованного осушенного воздуха (ООВ) через ИП ТНТ (рис. 2). Пары подавались в маску (рис. 1, позиция 5.4) околоносового пространства животного через адаптер (стеклянную трубку) со скоростью 1 л/мин.

На выходе ИП ТНТ и адаптера периодически отбирали пробы ГВС для контроля концентрации паров ТНТ портативным газовым хроматографом ЭХО-М [15] с порогом определения паров ТНТ в воздухе 10^{-14} г/см³ с предварительным концентрированием с коэффициентом 10^2 .

Хроматограммы проб ГВС с парами ТНТ на выходе ИП и адаптера при комнатной температуре 23°C представлены на рис. 3. По амплитуде хроматографических пиков (выделены) оценивали концентрацию паров. Удовлетворительное качество анализа, включая пробоотбор и хроматографирование, иллюстрируется уменьшением амплитуды пика примерно на порядок при смене ИП ТНТ с концентрацией 1.92×10^{-13} г/см³ на ИП с концентрацией 1.91×10^{-14} г/см³. Из сравне-

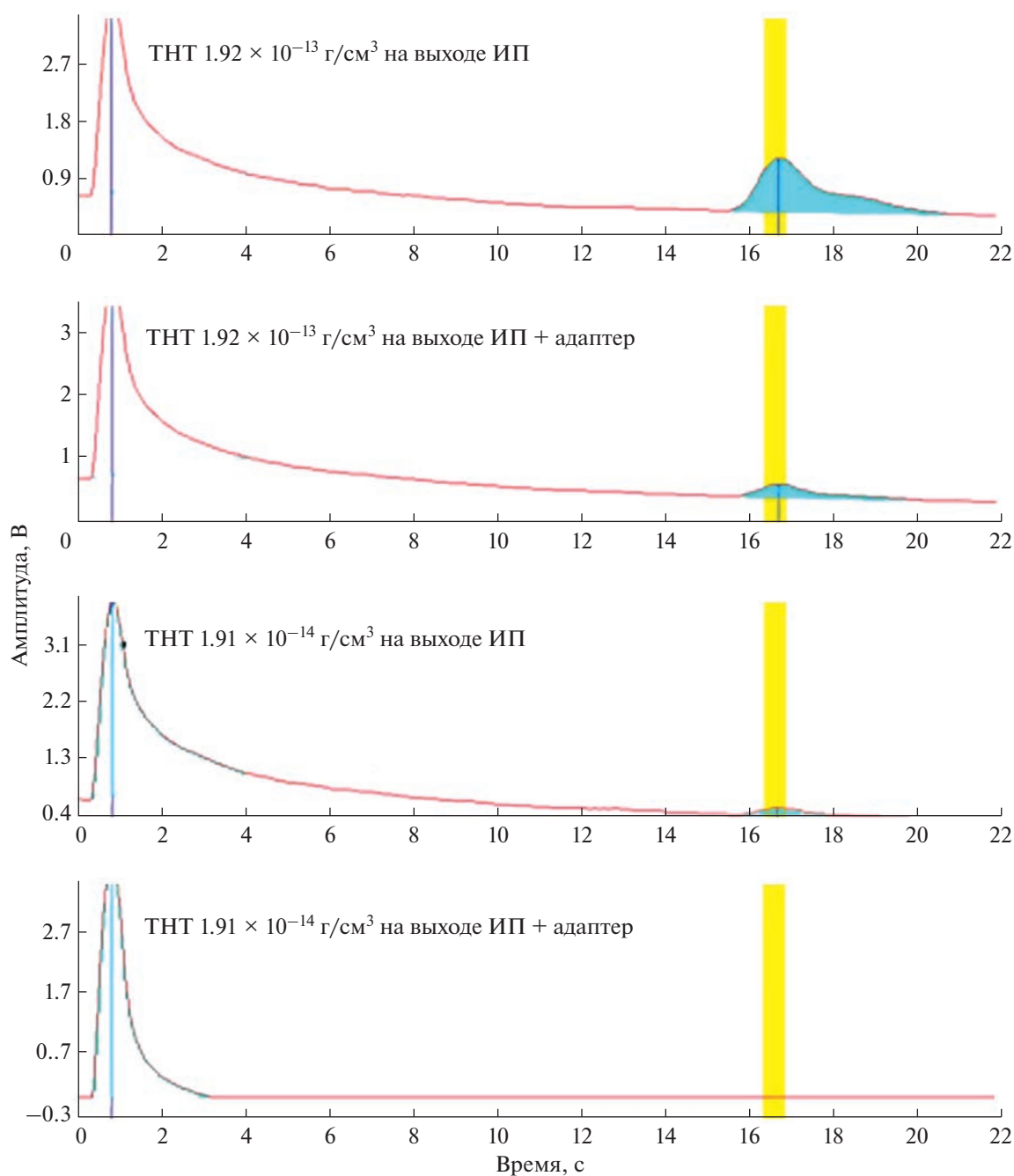


Рис. 3. Примеры хроматограмм проб тринитротолуола, полученных на выходе источника паров и адаптера при определении концентрации паров. Колонка поликапиллярная с 0.2 мкм фазы SE-30, температура колонки 170°C, поток газа-носителя (аргон) 55 мл/мин.

ния хроматограмм ИП с концентрацией ТНТ 1.92×10^{-13} г/см³ без адаптера и с адаптером следует, что наличие адаптера уменьшает концентрацию пара примерно в четыре раза. На этом основании оценена концентрация ТНТ на выходе адаптера при ИП 1.91×10^{-14} г/см³, которая составила 4.8×10^{-15} г/см³. В такой концентрации пары ТНТ предъявляли животному.

В качестве запаховой помехи использовали комплексную помеху (КП на рис. 1) в виде сложной смеси ингредиентов, содержащей приправу “универсальную” ТУ 10.84.12-015-52230123-217 (состав: соль, перец зеленый сладкий (кусочки), чеснок гранулированный, лук молотый, морковь (кусочки), куркума молотая, перец красный молотый, кориандр молотый, зелень петрушки сушеная, зелень укропа сушеная, зелень базилика

Таблица 1. Вероятность обнаружения на тестовых выборках

Номер эксперимента	Вероятность обнаружения
1	90.0
2	83.3
3	90.0
4	83.3
5	86.7
6	76.7
7	96.7
8	76.7
9	86.7
10	96.7
Среднее значение	86.7 ± 6.7

сушеная, перец душистый молотый, лавровый лист молотый, краситель E160a); табак курительный тонко резаный “Corsar of the queen zwage” и стиральный порошок “Dosia ActiveMax”, ГОСТ 32479-2013 (состав: кислородсодержащий отбеливатель менее 5%, анионные и неионогенные ПАВ, цеолит, поликарбоксилаты, энзимы, оптический отбеливатель, антивспениватель, ароматизатор).

Комплексную помеху помещали в склянку Дрекселя и считали, что в ней образуется насыщенный пар веществ всех ингредиентов КП при комнатной температуре 23°C.

Алгоритм обнаружения паров тринитротолуола по характеристикам сигналов фокальной активности обонятельной луковицы крыс. Записанная в экспериментах ФА ОЛ, как правило, очень зашумлена и нестационарна, в том числе под влиянием двигательных артефактов. На рис. 4 приведен характерный пример зарегистрированной ФА ОЛ при предъявлении животному очищенного воздуха без паров ТНТ.

Продолжительность записей около 7 с. Периодичность процесса вдох–выдох у крысы около 1 с. Предъявление паров ТНТ не сопровождается сколько-нибудь выраженными и визуально идентифицируемыми изменениями характера ФА ОЛ крысы.

Для обнаружения/классификации наличия ТНТ использовали метод анализа общих пространственно-спектральных характеристик (паттернов) ФА ОЛ (common spatio-spectral patterns, CSSP) [16], который успешно применяется при распознавании и классификации электроэнцефалограмм (ЭЭГ) человека, в частности при разработке биогибридных протезов.

В методе CSSP [16] регистрируются две цифровые матрицы X_1 и X_0 соответственно при предъ-

явлении ГВС с ТНТ и без ТНТ. Число строк равнялось числу микроэлектродов, число столбцов определялось временем регистрации сигналов 3 с и частотой дискретизации 250 Гц, что соответствовало 750 столбцам. Эти матрицы в методе CSSP используются для определения оптимальных характеристик цифровых фильтров для каждого канала регистрации ФА и весовых коэффициентов в методе логистической регрессии, которая в свою очередь используется в качестве алгоритма обнаружения/классификации [17].

Пример удовлетворительной настройки алгоритма обнаружения по критерию максимальной вероятности обнаружения паров в расчетной концентрации $\sim 10^{-15}$ г/см³ для тестовой серии из 10 экспериментов представлен в табл. 1. Концентрацию готовили упомянутым ранее методом статического объемного приготовления градуировочных газовых смесей.

Вероятность обнаружения достаточно высокая, в интервале (80–93.4)%. Настройки обнаружителя в этой тестовой серии экспериментов использовали в следующих экспериментах по обнаружению паров ТНТ в присутствии комплексной паровой помехи.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При апробировании биогибридной технологии реализованы два этапа экспериментов. На первом этапе использовали три образца ГВС: пары ТНТ, КП и ООВ. На втором этапе пары ТНТ подавались через склянку Дрекселя, содержащую КП, и по отдельности пары КП и ООВ. Образцы ГВС подавали животным в случайной последовательности. Продолжительность предъявления каждой пробы – 5 с, пауза – 10 с. В общей сложности каждый образец ГВС предъявляли 25 раз. Результаты двух этапов апробации технологии при подаче животному ГВС, содержащих пары ТНТ в концентрации 4.7×10^{-15} г/см³, приведены в табл. 2. Из таблицы следует, что вероятность обнаружения паров ТНТ биогибридным детектором в концентрации 4.8×10^{-15} г/см³ в составе ГВС (в том числе в составе КП) составила 100%.

Полученные результаты (табл. 1, 2) показывают высокую среднюю вероятность обнаружения паров низколетучего ТНТ в интервале 86.7–100% в газоздушных смесях в сверхнизких концентрациях до 10^{-15} г/см³. Эти результаты подтверждают высокую чувствительность к запахам фокальной активности обонятельной луковицы, регистрируемой от нейронов/гломерул [18–20].

Экспериментально показана возможность обнаружения паров ТНТ в ГВС в сверхнизких концентрациях с вероятностью, не уступающей вероятности обнаружения обученными животными [21].

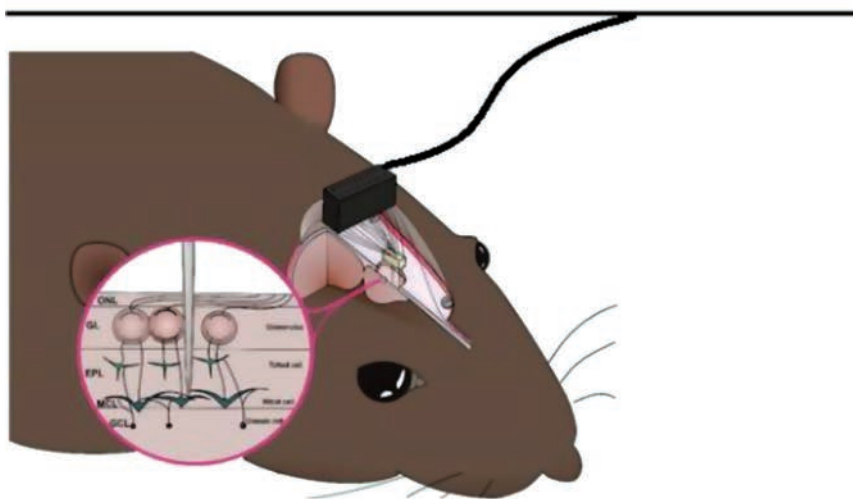
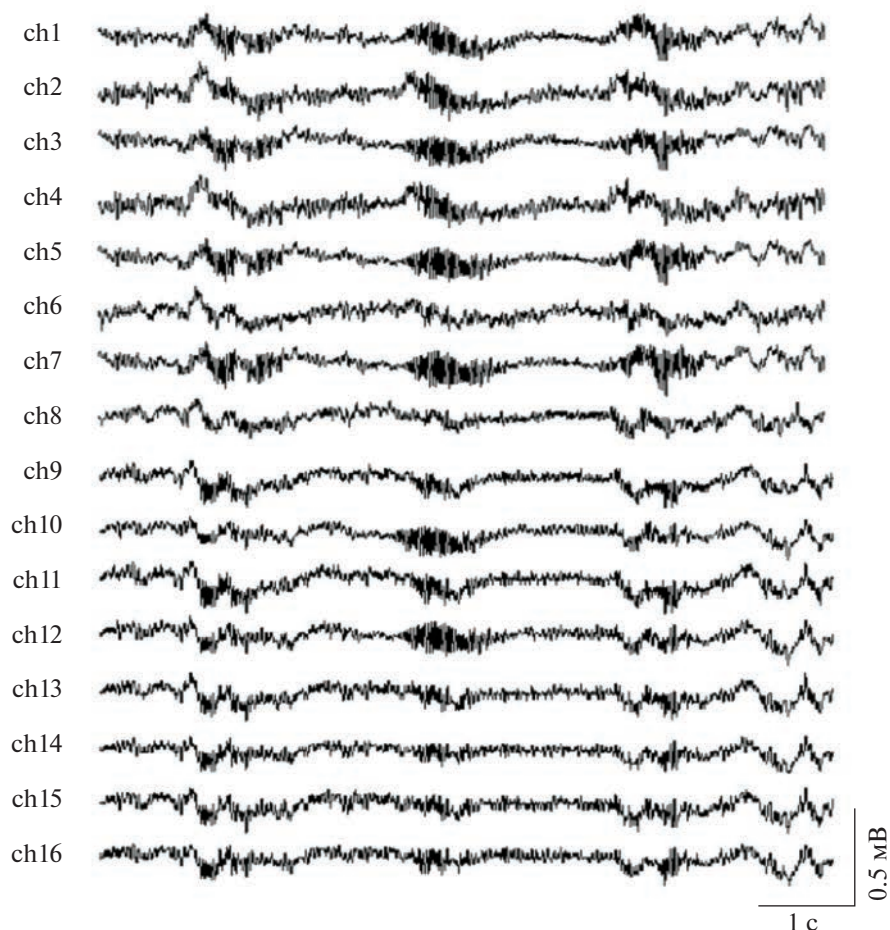


Рис. 4. Пример фокальной активности обонятельной луковицы крысы, зарегистрированной при предъявлении воздуха без паров тринитротолуола.

Впервые достигнута 100%-ная вероятность обнаружения низкой следовой концентрации паров ТНТ 4.8×10^{-15} г/см³ в составе паров многокомпонентной комплексной помехи в виде смеси красного перца, кориандра, табака и др., кото-

рые, как правило, маскируют для животных запах ТНТ. Этот результат позволяет утверждать, что разрабатываемая биогридная технология в настоящее время не имеет аналогов по возможностям обнаружения паров ТНТ среди известных

Таблица 2. Результаты апробации биогибридного детектора обнаружения паров тринитротолуола

№ серии	Наименование газовой смеси	Количество предъявлений (каждому животному)	Вероятность, % (n/кол-во предъявлений ГВС)
№ 1	ТНТ (4.7×10^{-15} г/см ³)	25	100% (25/25)
	КП	25	0% (0/25)
	ООВ	25	0% (0/25)
№ 2	ТНТ (4.7×10^{-15} г/см ³) + КПС	25	100% (25/25)
	КП	25	0% (0/25)
	ООВ	25	0% (0/25)

аналитических методов в условиях присутствия паров-помех.

Учитывая используемую в экспериментах концентрацию паров ТНТ (4.8×10^{-15} г/см³) и объем ГВС до 8 мл, вдыхаемый крысой в течение 3 с [22], оценили для исследуемого биогибридного детектора предельную обнаруживаемую массу ТНТ в пробе, которая составила 0.04 пг, в том числе и на фоне насыщенных паров КП. Отметим, что метод газовой хроматографии со спектрометром приращения ионной подвижности в приборе ЭХО-СПИП [5] обеспечивает определение ТНТ массой 0.08 пг в пробе с временем отбора пробы до 10 с и временем анализа пробы не менее 20 с.

* * *

Таким образом, показано, что исследуемая биогибридная технология обеспечивает обнаружение паров ТНТ в сверхнизкой концентрации без предварительной пробоподготовки и в режиме времени, близком к реальному. Достигнутая высокая вероятность обнаружения паров ТНТ (табл. 2) свидетельствует о том, что обнаруживаемая концентрация 4.8×10^{-15} г/см³ в присутствии помехи не является предельно низкой и целесообразно продолжить исследования способности крысы к обнаружению паров ТНТ при более широкой постановке задачи, включая получение зависимостей отклика крысы от ее состояния (возраст, голод, температура и др.), а также от наличия запаховых помех, связанных с условиями практического применения исследуемой биогибридной технологии.

Материалы статьи подготовлены при поддержке: Фонда перспективных исследований (Договор от 01.11.2017 г. № 6/112/2017-2020), Программы стратегического академического лидерства Южного федерального университета (“Приоритет 2030”), Программы фундаментальных научных исследований РФ. Проект FWZZ-2022-0027 “Новые технологии внелабораторного химического анализа и контроля, прецизионных измерений физических полей природных и техногенных объектов” (ИНГГ СО РАН).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Saravanan N.P., Venugopalan S., Senthilkumar N., Santhosh P., Kavita B., Gurumallesh Prabu H. Voltammetric determination of nitroaromatic and nitramine explosives contamination in soil // *Talanta*. 2006. V. 69. № 3. P. 656.
2. Salinas Y., Martínez-Mañez R., D Marcos M., Sancenón F., M Costero A., Parra M., Gil S. Optical chemosensors and reagents to detect explosives // *Chem. Soc. Rev.* 2012. V. 41. № 3. P. 1261.
3. Детектор паров взрывчатых веществ “Шельф-ПКЛ” [Электронный ресурс]. <http://www.bn-ti.ru/des.asp?itm=5591&tbl=04.01.01> (дата обращения: сентябрь 2022 г.).
4. Грузнов В.М., Балдин М.Н., Аксёнов В.А. Роль высокой чувствительности газоаналитических обнаружителей и их современные характеристики // Научно-технический портал МВД России. 2019. № 4. С. 61.
5. Грузнов В.М., Балдин М.Н., Прямов М.В., Максимов Е.М. Определение концентрации паров взрывчатых веществ с дистанционным автоматизированным отбором проб при контроле объектов // *Журн. аналит. химии*. 2017. Т. 72. № 11. С. 1000.
6. Homma R., Nagayama S. A prism method for optical glomerular mapping of the medial olfactory bulb in mice // *Front Neural Circuits*. 2019. V. 13. P. 79.
7. Olofsson J.K., Freiherr J. Neuroimaging of smell and taste // *Handb Clin. Neurol.* 2019. V. 164. P. 263.
8. Murthy V.N. Olfactory maps in the brain // *Annu. Rev. Neurosci.* 2011. V. 34. P. 233.
9. Baker K.L., Vasan G., Gumaste A., Pieribone V.A., Verhagen J.V. Spatiotemporal dynamics of odor responses in the lateral and dorsal olfactory bulb // *PLoS Biology*. 2019. V. 17. № 9. Article e3000409.
10. Vizcay M.A., Duarte-Mermoud M.A., de la Luz Aylwin M. Odorant recognition using biological responses recorded in olfactory bulb of rats // *Comput. Biol. Med.* 2015. V. 56. P. 192.
11. Shepelev I.E., Kirov V.N., Scherban I.V., Kosenko P.O., Smolikov A.B., Saevskiy A.L. Tracking of informative gamma frequency range in local field potentials of anesthetized rat olfactory bulb for odor discrimination // *Biomed. Signal Process. Control*. 2022. V. 71. Article 103139.
12. Kosenko P.O., Smolikov A.B., Voynov V.B., Shaposhnikov P.D., Saevskiy A.I., Kirov V.N. Effect of xylazine-tiletamine-

- zolazepam on the local field potential of the rat olfactory bulb // *Comp. Med.* 2020. V. 70. № 6. P. 492.
13. ГОСТ Р ИСО 6144-2008. Анализ газов. Приготовление градуировочных газовых смесей. Статический объемный метод. Москва: Стандартинформ, 2009. 24 с.
 14. *Надолинный В.А., Коломиец Ю.Н., Мардежова Г.А., Даниленко А.М., Пронин В.Г.* Способ приготовления стандартных газовых смесей и устройство для его осуществления. Патент № 2410678 РФ. Заявка 2009137173/28 от 07.10.2009, опубл. 27.01.2011.
 15. *Грузнов В.М., Филоненко В.Г., Балдин М.Н., Шишмарёв А.Т.* Портативные экспрессные газоаналитические приборы для определения следовых количеств веществ // *Рос. хим. журн.* 2002. Т. 46. № 4. С. 100.
 16. *Koles J.Z., Lazar M.S., Zhou Z.* Spatial patterns underlying population differences in the background EEG // *Brain Topography.* 1990. V. 2. № 4. P. 275.
 17. *Hastie T., Tibshirani R., Friedman J.H.* *The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference, and Prediction.* New York: Springer, 2009. P. 745.
 18. *Gao K., Zhuang L., Qin Z., Zhang B., Huang L., Wang P.* In vivo bioelectronic nose using transgenic mice for specific odor detection // *Biosens. Bioelectron.* 2018. V. 102. P. 150.
 19. *You K.J., Ham H.G., Lee H.J., Lang Y., Im Ch., Koh Ch. S., Kim M.-Y., Shin Hung-Cheul, Shin Hyun-Chool* Odor discrimination using neural decoding of the main olfactory bulb in rats // *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 2010. V. 58. № 5. P. 1208.
 20. *Zhuang L., Guo T., Zhang B.* *In Vivo Bioelectronic Nose. Bioinspired Smell and Taste Sensors.* Dordrecht: Springer, 2015. P. 167.
 21. *Walker D.B., Walker J.C., Cavnar P.J., Taylor J.L., Pickel D., Hall S., Suarez J.* Naturalistic quantification of canine olfactory sensitivity // *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2006. V. 97. № 2–4. P. 241.
 22. *Patterson M.A., Lagier S., Carleton A.* Odor representations in the olfactory bulb evolve after the first breath and persist as an odor afterimage // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2013. V. 110. № 35. P. E3340.

О СИСТЕМАТИЧЕСКОЙ ПОГРЕШНОСТИ РЕЗУЛЬТАТА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА: ОТ НЕПРАВИЛЬНЫХ ТЕРМИНОВ ДО ОШИБОЧНЫХ КОНЦЕПЦИЙ

© 2023 г. Р. Б. Шаевич^a, *, Г. К. Будников^b, **, И. Ю. Громов^c, А. Н. Панкратов^d

^aИнститут водных проблем Российской академии наук
ул. Губкина, 3, Москва, 119133 Россия

^bКазанский федеральный университет, Химический институт им. А.М. Бутлерова
ул. Кремлевская, 18, Казань, 420008 Россия

^cООО «Перспектива»
рп. Андреевка, 7, Солнечногорск, Московская обл., 141551 Россия

^dООО «ТСИ»
ул. Генерала Лизюкова, 36а, Воронеж, 394053 Россия

*e-mail: shaevich@mail.ru

**e-mail: HermanBudnikov@kpfu.ru

Поступила в редакцию 15.11.2022 г.

После доработки 10.01.2023 г.

Принята к публикации 13.01.2023 г.

Отмечается, что классическая схема систематических погрешностей (или, что то же самое, перечень разновидностей систематических погрешностей) отражает, в общем, реальную ситуацию, что не исключает ее дополнение и конкретизацию по мере появления новых видов измерений и усложнения существующих. Это не должно означать отмены общеметрологической, проверенной временем классификации. Однако в последние десятилетия стали проявляться тенденции, направленные на замену содержаний терминов и определений на содержания, им не свойственные, или на внедрение в метрологическую практику терминов, не имеющих реального смысла вообще. Это, в свою очередь, привело к появлению ошибочных концепций в части обеспечения правильности результатов количественного химического анализа, созданию далеко не безупречных нормативных документов, что, в числе прочих причин, обусловлено не критическим отношением к международным стандартам. Как следствие, неточности и ошибочные рекомендации встречаются в монографиях и в учебниках, где имеются разделы, связанные с метрологическими аспектами химического анализа.

Ключевые слова: систематическая погрешность результата анализа, правильность результата измерения, погрешность метода, среднее квадратическое отклонение, достоверность результата анализа.

DOI: 10.31857/S0044450223060117, **EDN:** DWTUUY

Некоторые общие замечания. К середине прошлого столетия все в большей степени стало сказываться наличие проблемы, суть которой сводится к тому, что экспериментальные данные, полученные для идентичных объектов и в номинально идентичных условиях, но в разных лабораториях разными исследователями, весьма часто оказывались несогласованными, несовпадающими. К ним относятся данные, характеризующие состав веществ, значения физико-химических параметров, характеризующих многочисленные показатели (кинетические, термодинамические и др.) процессов, фундаментальные константы. Эта проблема с течением времени оставалась и продолжает оставаться все более важной в связи с включением в сферу исследований и практиче-

ских применений экспоненциально увеличивающегося числа веществ и с возрастанием требований к эксплуатационным характеристикам материалов, используемых в изделиях ответственного назначения, качеству пищевых продуктов в связи с ужесточением норм экологического контроля. Можно утверждать, что отмеченная проблема является общей для всех видов измерений, выполнение которых отягощено трудностью или невозможностью обеспечить достаточный контроль значительной части условий эксперимента или, что то же самое, наличием большого числа неконтролируемых и трудно контролируемых источников погрешностей. Именно эти источники в итоге приводят к смещению всей серии результатов измерений от истинного значения измеряемой

величины, формируя таким образом погрешность, действующую в стабильных условиях эксперимента как систематическая. Доминирующая роль систематических погрешностей в общей погрешности результатов измерений, а значит, и в отмеченных выше расхождениях в данных эксперимента с течением времени стала выявляться все больше.

Что касается данных, характеризующих результаты количественного химического анализа, то проблема правильности (полноты исключения систематических погрешностей), остающаяся общей и актуальной для многих видов измерений, здесь приобретает наибольшую остроту, особенно в области малых и весьма малых содержаний. Это в целом объясняется сложностью процессов, лежащих в основе химического анализа как измерительного процесса, множеством источников погрешностей и суперпозицией их действия [1]. По мере продвижения в область все меньших содержаний компонентов как аналитов относительные погрешности результатов определений возрастают, нередко достигая порядка определяемых содержаний и более (см., например, [2–6]). Оценка таких погрешностей (контроль правильности результатов анализа) оказывается достаточно непростой задачей. В области малых и весьма малых содержаний задача контроля правильности еще более усложняется из-за усиления роли мешающих факторов, остающихся вне контроля, что приводит к существенному снижению эффективности метода добавок и межлабораторного эксперимента. Из-за больших расхождений в результатах лабораторий – участников межлабораторного эксперимента, вызванных доминирующей ролью систематических погрешностей, возрастают и трудности создания стандартных образцов (СО).

Разновидности систематических погрешностей (составляющие систематической погрешности результата измерения) в общем виде перечислены в классическом труде М.Ф. Маликова “Основы метрологии” [7], а также в учебной литературе [8, 9]. Классификация причин возникновения систематических погрешностей результатов количественного анализа является многоаспектной, так как число их источников весьма велико и они нередко могут быть как различными, так и совпадающими для разных объектов анализа, методов и реализации последних в виде методик. Источники погрешностей, характерных для количественного химического анализа, перечислены во многих публикациях, например [1, 10, 11]. Наиболее существенные по их влиянию на количественные определения малых содержаний систематизированы в монографии [11]. Детальный перечень систематических погрешностей, конкретизирующий и дополняющий общеметрологическую классификацию при-

менительно к химическому анализу, представлен в книге [1]. Это, однако, не означает отмену классической схемы: все перечисленные в ней источники отражают, в общем, реальную ситуацию, что не исключает при необходимости ее дополнения и конкретизации по мере появления новых видов измерений, усложнения прежних и расширения круга задач. Используемые в метрологической практике термины и определения (или вновь разрабатываемые) не должны, таким образом, противоречить общей, проверенной временем классификации погрешностей. Однако в последние десятилетия стали проявляться тенденции, направленные на замену содержаний терминов и определений на содержания, им не свойственные, или на внедрение в метрологическую практику терминов, не имеющих реального смысла вообще. Это, в свою очередь, привело к появлению ошибочных, ставших устойчивыми концепций в части обеспечения правильности результатов анализа, созданию нормативно-технических документов, тщательное следование которым может привести к результатам, ничего не имеющим общего с реальностью. Сложившаяся ситуация обусловлена отсутствием у значительной части исследователей четких представлений о причинах возникновения систематических погрешностей, общих для всех видов измерений, и о множестве причин, для химического анализа специфичных. Ошибочные концепции, смешивание понятий, использование некачественной терминологии в публикациях и нормативных документах – все это не могло не явиться результатом исчезновения преемственной связи с фундаментальными работами по теории измерений в целом, и работами, заложившими основы химической метрологии, в которых нашли решение многие принципиальные задачи количественного анализа как измерительного процесса.

Ниже изложен наш взгляд на сложившуюся ситуацию во взаимосвязанных направлениях.

Некорректные термины и определения, относящиеся к проблеме правильности результатов измерений. Ошибочные выводы и рекомендации. Для объективной оценки сложившейся ситуации достаточно ограничиться некоторыми типичными примерами использования терминов, определений, рекомендаций и предписаний, находящихся в принципиальном несоответствии с основными положениями метрологии.

Первоочередной интерес представляет рассмотрение ситуации на примере международного стандарта ISO Standard 5725-1: 1994. Part 1 (русская версия ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002) [12], ограничившись его первой частью, которая содержит основные положения и определения.

Рассматривая термины, рекомендованные стандартом ISO, вначале остановимся на термине

“среднеквадратическое отклонение воспроизводимости (reproducibility standard deviation)” (п. 3.19, раздел 3. Определения).

Воспроизводимость измерений (reproducibility of measurements), как известно, характеризует близость друг к другу отдельных значений в серии результатов измерений, полученных в разных условиях. Иначе говоря, это степень разброса относительно полученного среднего результата в серии измерений, т.е. среднеквадратическое отклонение.

Казалось бы, все ясно. Но появился ранее не существовавший в отечественной нормативно-технической документации термин *“среднеквадратическое отклонение воспроизводимости”*, который раскрывается как *“стандартное (среднеквадратическое) отклонение результатов измерений (или испытаний) полученных в условиях воспроизводимости”* (п. 15). Если этот термин трактовать, исходя только из его формулировки (нет необходимости доказывать, что название термина должно соответствовать его определению), то приходим к абсурду: поскольку, согласно формулировке термина, в качестве случайной величины выступает сама воспроизводимость, то для установления *“среднеквадратического отклонения воспроизводимости”* потребуется серия воспроизводимостей. Все это настолько далеко от математической строгости, что напрашивается аналогия с известным *“маслом масляным”*. Что касается термина *“условия воспроизводимости (reproducibility condition)”*, то он раскрывается как *“условия, при которых результаты измерений (или испытаний) получают одним и тем же методом на идентичных объектах испытаний в разных лабораториях, разными операторами с использованием различного оборудования”* (п. 3.18 раздела 3. Определения). Однако приемлемая воспроизводимость (подчеркнем, в области аналитически освоенных содержаний) может быть достигнута и при выполнении межлабораторного эксперимента разными методами. Это обстоятельство учтено в отечественном нормативном документе ГОСТ 16263-70 [13], где воспроизводимость измерений определяется как качество измерений, отражающее близость друг к другу результатов измерений, выполняемых в различных условиях (в разное время, в разных местах, разными методами и средствами). Как известно, при установлении аттестуемых характеристик стандартных образцов в разных лабораториях используются разные методы. Кроме того, сам термин *“условия воспроизводимости”* не представляется удачным и с позиций языковых норм.

Рассматривая рекомендуемые стандартом ISO термины, нетрудно установить, что их названия нередко не соответствуют содержанию из-за смешивания понятий. Так, в разделе 1. Область при-

менения (п. 3.9) в числе рекомендуемых названий термин *“систематическая погрешность лаборатории (laboratory bias)”*, который определяется как разность между математическим ожиданием результатов измерений, полученных в отдельной лаборатории, и принятым референтным значением (accepted reference value). Если в качестве референтного (опорного) значения принято аттестованное значение определяемого компонента в стандартном образце, то для получения указанной разности следует воспроизвести аттестованное значение в условиях данной лаборатории. Иначе говоря, материал стандартного образца нужно подвергнуть анализу подобно неизвестной пробе. Далее нужно вывести среднее значение по результатам параллельных определений. Однако такая разность по определению не что иное, как оценка систематической погрешности результата измерения, полученного в данной лаборатории при использовании конкретного метода для анализа конкретного объекта. Если распространить такое понятие, как *“систематическая погрешность лаборатории”* на все многообразие объектов, методов и исследуемых содержаний, то получим множество *“систематических погрешностей лаборатории”*, что не может не вносить путаницу, поскольку одно из основополагающих понятий метрологии – систематическая погрешность результата измерения – заменено термином *“систематическая погрешность лаборатории”*. Следует также учесть, что в числе источников систематической погрешности результата анализа могут быть и такие, которые действуют при проведении анализа и в условиях других лабораторий. Оценить отдельно погрешности, присущие только данной лаборатории, и погрешности, оказавшиеся общими для нее с другими лабораториями, в силу сложности и неразделимости процессов, приводящих к возникновению погрешностей количественного анализа, не представляется возможным.

В п.3.10 и далее используется термин *“систематическая погрешность метода измерений (bias of the measurement)”*. Этот термин раскрывается как *“разность между математическим ожиданием результатов измерений, полученных во всех лабораториях, применяющих данный метод, и истинным (или в его отсутствие принятым опорным значением измеряемой характеристики)”*, стало быть, референтным значением. (Надо полагать, что под *“всеми лабораториями”* подразумеваются все же не все лаборатории мира, а только участвующие в межлабораторном эксперименте, и неплохо бы также выяснить у составителей стандарта, когда бывает обеспечено *“присутствие”* истинного значения, которое всегда остается неизвестным.) Рассмотрим, может ли указанная разность представлять познавательную и практическую ценность с учетом того, что аналитика интересуется

итоговая погрешность результата анализа при реализации данного метода в условиях конкретной лаборатории, а также пределы погрешности для заданной доверительной вероятности, на которые можно рассчитывать при реализации методики вообще. В примечании 6 к пункту 3.10 указывается: *“Систематическую погрешность метода измерений оценивают отклонением среднего значения результатов измерений, полученных от большого числа различных лабораторий, применяющих один и тот же метод”*. Отклонением от чего – не сказано, видимо, от референтного значения. Тогда, если в качестве референтного значения принять аттестованное значение содержания в стандартном образце как наиболее надежном средстве контроля правильности, то для установления разности между математическим ожиданием и референтным значением материал стандартного образца следует подвергнуть межлабораторному анализу подобно неизвестной пробе. Причем, как предусмотрено стандартом, методом, одинаковым для всех лабораторий. Затем нужно установить разность между полученным общим средним значением и аттестованным содержанием. Однако использование одинакового метода все равно сопряжено с доминирующим действием множества неконтролируемых источников погрешностей, не обусловленных сущностью данного метода. Это подтверждается тем, что значительные расхождения в результатах лабораторий не устраняются и при использовании ими одинакового метода [14]. Тогда разность между полученным обобщенным средним результатом и аттестованным значением для СО, которое устанавливается также как обобщенный средний результат по данным межлабораторного эксперимента, даже выполненного с привлечением разных методов, может оказаться несущественной, что дает основания усомниться в ее познавательной и практической ценности.

Еще один введенный стандартом ISO 5725-1-2002 термин *“лабораторная составляющая систематической погрешности (laboratory component bias)”* определяется как *“разность между систематической погрешностью лаборатории и систематической погрешностью метода измерений”*. С учетом сказанного о реальных составляющих этой разности такой термин не может рассматриваться как имеющий смысл. Кроме того, с введением его в метрологический оборот получим вслед за *“систематической погрешностью лаборатории”* множество *“лабораторных составляющих систематической погрешности”*.

Вызывает сомнение необходимость и в самом обилии терминов.

Последствием не критического отношения к международным стандартам явились разработка и внедрение российских и межгосударственных

нормативных документов, дублирующих недостатки стандартов ISO, например РМГ 61-2010 [15]. Рекомендательным этим документом набор терминов и их содержаний в основном совпадает с терминологией ISO, поэтому выводы, сделанные по результатам анализа терминов ISO, могут быть распространены и на рассматриваемые рекомендации. Некоторые неточности, однако, отметим дополнительно. Неудачным представляется термин *“приписанная точность анализа”*, поскольку она может быть истолкована как оцененная не вероятностно, а в качестве величины детерминированной и стабильной во времени. Не будет лишним напомнить в этой связи, что в аналитической практике принято, и не без оснований, при реализации методики периодически, по истечении определенных сроков повторно использовать стандартные образцы для контроля правильности результатов анализа и принятия мер для ее поддержания. Представляется целесообразным ввести понятия *“фиксированная погрешность”*, допускающего неоднозначную трактовку, просто указывать точность, которая может быть официально гарантирована (например, стандартом на метод анализа) с указанием возможных пределов погрешности результата анализа, оцененных вероятностно.

О недостаточном уровне подготовки документов свидетельствует и переименование средств контроля правильности результата анализа, которые всегда так и назывались в соответствии с их метрологическим назначением, в *“средства контроля показателя правильности методики анализа”* (раздел *“Общие положения”*).

Ошибочные рекомендации и другие неточности можно встретить в монографиях и учебниках. Ниже приведены лишь некоторые, из числа многих, примеры, свидетельствующие не о случайном, а о системном характере смешивания понятий. Очевидно, что подобная ситуация не могла сложиться вне связи с некачественной нормативно-технической документацией.

Так, в разделе *“Систематические погрешности”* фундаментального учебника [16] точность анализа определяется как *“собирательная характеристика метода или методики, включающая их правильность и воспроизводимость”*. Однако точность результатов количественного химического анализа определяется в основном не столько особенностями того или иного метода или методики, сколько условиями реализации процедуры анализа. Поэтому если говорить о точности анализа, то более корректно использовать термин *“точность результата анализа (или результата измерения) при использовании данной методики”*. Как отмечается в [17], *“...нельзя абстрактно говорить о точности того или иного метода “вообще”, т.к. известно, что нередко разные методы анализа данно-*

го вещества дают результаты примерно одинаковой точности, т.е. после устранения источников грубых ошибок (“методика подработана” по выражению аналитиков) несколько соответствующих методов становятся практически равноточными”.

В том же разделе учебника [16] утверждается, что “Основной вклад в общую погрешность вносят методические погрешности, обусловленные методикой определения. В методическую погрешность входят погрешности отбора пробы, переведения пробы в удобную для анализа форму (растворение, сплавление, спекание, погрешности операций концентрирования и разделения компонентов)”.

Однако такой вывод находится в противоречии с общепринятым определением погрешности метода и действительным положением дел. В общей метрологии погрешность метода определяется как одна из составляющих систематической погрешности измерения, обусловленная несовершенством самого метода, несовершенством модели, на которой метод основан [7, 8]. С этим определением по существу совпадает определение, содержащееся и в ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002, где погрешность метода определена как “составляющая систематической погрешности измерения, обусловленная несовершенством реализации принятого принципа измерения”. Следовательно, все остальные составляющие систематической погрешности результата анализа, а их большинство, не попадают под определение систематической погрешности метода. В числе причин недостаточного совершенства метода могут быть неполнота протекания химической реакции, положенной в основу метода, неполнота осаждения и др. Иначе говоря, это те же причины, о которых читаем, если продолжить ту же цитату: “Особо можно выделить погрешности, связанные с природой химической реакции, положенной в основу метода обнаружения или определения компонента. Так, в гравиметрии такие погрешности вызваны хоть малой, но заметной растрескиваемостью осаждаемой формы, процессами соосаждения”. Заметим, что нередко подобные причины удается выявить, а вызванную ими погрешность снизить до приемлемой, что, однако, не устраняет большие межлабораторные расхождения при постановке межлабораторного эксперимента одним и тем же методом. Это подтверждает факт доминирующего вклада в формирование погрешности результата анализа многочисленных, в большинстве неконтролируемых, источников, а не погрешности метода. Что касается таких погрешностей, как погрешность отбора пробы, погрешности, связанные с переводом пробы в удобную для анализа форму (загрязнения, потери), которые вносят существенный вклад наряду с другими источниками в формирование общей систематической погрешности, и которые нередко могут быть общими для разных методов, то их следует отнести не к

методическим, а к оперативным погрешностям [1]. По этой же причине нельзя отнести к методическим также и инструментальные погрешности. Уместно подчеркнуть, что использование даже безупречной методики в условиях конкретной лаборатории сопровождается действием множества источников погрешностей и их суперпозицией, что приводит к необходимости использования таких средств контроля правильности, как стандартные образцы.

В учебно-методическое руководство [18] включен раздел “Систематическая погрешность процедуры (метода) анализа” и предлагается математическая модель, отвечающая по существу содержанию термина “систематическая погрешность методики анализа”, предусмотренная стандартом ISO. Цитируем дословно: “Судить о неисключенной систематической погрешности процедуры анализа θ_M можно на основании результатов анализа стандартного образца (СО) с известной концентрацией аналита, полученных в различных лабораториях с использованием различных экземпляров одних и тех же СИ. При этом систематическая погрешность СИ переходит в разряд случайных. В этом случае можно принять, что

$$\theta_M \approx \theta = |\bar{x}_{\text{изм}} - x_{\text{СО}}|,$$

где θ – суммарная неисключенная систематическая погрешность, $\bar{x}_{\text{изм}}$ – результат анализа СО; $x_{\text{СО}}$ – концентрация аналита в СО”.

Заметим, что указанная разность фактически является разностью двух обобщенных средних значений содержаний, полученных по результатам двух межлабораторных экспериментов при анализе идентичного объекта (см. выше). Еще раз отметим, что к такому выводу придем, если учесть, что аттестованные характеристики СО устанавливаются как обобщенные средние по результатам межлабораторного эксперимента (см. выше). Познавательная ценность подобной разности представляется весьма сомнительной, если принять во внимание наши доводы, приведенные при рассмотрении термина “систематическая погрешность метода”. Следует учесть и немалые затраты на фактически повторный межлабораторный эксперимент.

В монографии [19] находим такое утверждение: “Современные методы исследований (в частности, масс-спектрометрия) позволяют устанавливать относительную атомную (молекулярную) массу с точностью, значительно превышающей практические потребности”. И далее: “Скрытые систематические погрешности свойственны большинству методов, используемых для анализа объектов сложного состава. Правда, известны несколько методов, практически свободных от таких погрешностей (например, масс-спектрометрия с изотопным разбавлением), однако они чрезвычайно до-

роги, применимы лишь в отдельных случаях и редко используются для выполнения рутинных анализов”.

Известно, однако, что систематические погрешности свойственны не “большинству методов”, а всем без исключения измерениям, где бы и кем они не проводились. Можно лишь говорить о пренебрежимо малом или, в зависимости от поставленной задачи, допустимом значении величины погрешности.

Что касается вывода о том, что точность измерений атомной массы при использовании наиболее эффективных методов анализа превышает практические потребности, то такой вывод нельзя считать соответствующим действительности: значительные межлабораторные расхождения имеют место и при применении масс-спектрометрических методов, что подтверждается, например, исследованиями, выполненными МАГАТЭ с целью установления следовых содержаний элементов в образцах рыб [5]. Правда, в этих исследованиях метод масс-спектрометрии с изотопным разбавлением не применялся. Однако и при использовании самых эффективных методов все этапы химического анализа не могут быть полностью подконтрольными, что обуславливает необходимость применения СО. К сожалению, информацию, содержащую объективные сведения о реальной точности результатов анализа, выполняемых именно методом масс-спектрометрии с изотопным разбавлением, обнаружить не удалось. Ее оценка, с учетом высокой эффективности метода, представляется актуальной. Но сведения, приведенные в монографии в доказательство точности анализа при использовании этого метода, якобы превышающей практические потребности, не могут рассматриваться как убедительные, поскольку фактически утверждается возможность полной подконтрольности всех этапов анализа.

В этой же монографии используется термин “*достоверно зафиксированная систематическая погрешность методики*”. Не исключено, что появление этого термина стало следствием введения термина “*приписанная погрешность методики анализа*” (см., например, [15]). Как уже отмечалось, точность, которая может быть заранее гарантирована при использовании данной методики, может быть оценена только вероятностно. Поэтому будет правильно использовать именно такое понятие, как точность, которая может быть гарантирована (например, стандартом на метод анализа) с указанием возможных пределов погрешности.

Резюмируя итоги рассмотрения терминологии, используемой в современной нормативно-технической документации и публикациях, посвященных метрологическим аспектам химического анализа, можно утверждать, что она нередко находится в противоречии с терминами, принятыми в общей

метрологии, или допускается неверная их трактовка. Однако необходимость строгого следования правильным терминам не должна, разумеется, означать отмену понятий, не закрепленных в нормативных документах, но четко отражающих существо дела и правильным терминам не противоречащих.

Ошибочная трактовка проблемы адекватности стандартных образцов и исследуемых проб веществ. Одним из важнейших аспектов стратегии применения стандартных образцов является обеспечение приемлемой их адекватности анализируемым пробам. К сожалению, в этом направлении не обошлось без утверждений, далеких от принципов практического использования стандартных образцов. Остановимся в этой связи на примере, хотя, возможно, и единственном в своем роде, однако опубликованном ни много ни мало в столь серьезном издании, как “Энциклопедия современного естествознания” [20]. Цитируем: “*С позиций практического применения стандартные образцы состава разделяют на адекватные и неадекватные по отношению к пробе. Адекватные стандартные образцы максимально близки по химическому составу к анализируемой пробе. Они необходимы при использовании аналитических методов, резко реагирующих на присутствие “третьих” элементов, т.е. на все составляющие химической композиции пробы, а не только на определяемые элементы. К этим методам относятся, например, рентгенофлуоресцентный и атомно-эмиссионный анализ с искровым источником возбуждения спектра, твердотельная масс-спектрометрия и др. Такие методы, как активационный анализ, “мокрые” химические и физико-химические методы анализа, атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой обычно не требуют применения адекватных стандартных образцов. Это позволяет производить значительно меньшее разнообразие стандартных образцов, чем число объектов химического анализа (стали, сплавы, сырьевые материалы, объекты окружающей среды и т.п.)*”.

Однако использование стандартных образцов всегда требует их адекватности исследуемым пробам. Вопрос о возможности применения той или иной разновидности стандартных образцов решается (или должен решаться) с учетом того, насколько они адекватны пробам. В случае если приемлемая адекватность не может быть реализована, использование таких СО недопустимо, так как использование неадекватных анализируемым пробам образцов не даст ничего, кроме искаженной информации о действительном содержании аналита. В этом случае ничего не остается другого, как подобрать другие СО в соответствии с поставленной аналитической задачей. Утверждение, что такие методы, как активационный анализ, “мокрые” физико-химические и химические методы, атомно-эмиссионная спектроскопия с

индуктивно связанной плазмой и др. не требуют применения адекватных стандартных образцов, напрямую противоречит практике химического анализа: значительное количество, если не большинство, соответствующих СО используется именно в этих методах. Что касается возможностей сократить число производимых разновидностей СО, то реализация таких возможностей осуществляется вовсе не в связи с мифическим отсутствием потребностей в создании СО, адекватных пробам. Если стандартный образец (или комплект СО) может быть использован для анализа нескольких разновидностей некоторого материала (вещества), то в этом случае можно говорить о групповом стандартном образце или комплекте таких СО [21]. Возможности их использования определяются принципом и особенностями метода (методик) анализа проб, а также требованиями к правильности его результатов [21]. Большинство типов и комплектов СО разрабатываются и используются именно как групповые образцы. Расширение применения таких СО должно рассматриваться как существенный резерв до тех пор, пока ориентация на них не приводит к отрицательным последствиям вследствие нарастания несоответствия СО и анализируемых веществ [21].

К вопросу о соотношении систематической и случайной погрешностей результатов количественного химического анализа. Как ни странно, но в учебниках и обобщающих монографиях последних лет не отражена доминирующая роль систематических погрешностей вообще и возрастание этой роли по мере уменьшения определяемых содержаний. Более того, в учебном пособии [18] доминирующая роль отводится не систематическим, а случайным погрешностям: *“...необходимость в выяснении причин возникновения и в устранении систематических погрешностей возникает далеко не всегда, а только в тех случаях, когда они сопоставимы со случайной погрешностью и не позволяют выполнить измерение с заданной точностью”*. Таким образом, если следовать приведенному тексту, систематическая погрешность меньше, чем случайная, пока не станет сопоставимой со случайной. И это несмотря на то, что доминирующая роль систематических погрешностей во многих видах измерений и, особенно, в количественном химическом анализе подтверждена многократно, начиная с последней четверти позапрошлого века. В качестве только одного из примеров приведем высказывание, содержащееся в монографии, посвященной спектральному анализу чистых веществ [22]: *“Обширный экспериментальный материал свидетельствует о том, что межлабораторные ошибки, которые можно считать характеристикой систематических ошибок..., подчас превосходят случайные внутрилабораторные ошибки в среднем в 3–4 раза, а иногда в 10 и более раз; расхождения обычно тем больше, чем*

меньше содержания определяемого элемента”. Подобная ситуация остается фактом и на сегодняшний день (см. раздел “Некоторые общие замечания”). На основе обобщения многочисленных данных, содержащихся в публикациях и документах, установлены закономерности, характеризующие изменение межлабораторных погрешностей по мере уменьшения определяемых содержаний, дифференцированные применительно к различным основам и методам количественного анализа [1, 23]. Остается добавить, что именно доминирование систематической погрешности обусловило необходимость создания таких средств контроля правильности, как стандартные образцы.

Отсутствие достаточного внимания к ограничению возможностей некоторых рекомендуемых способов контроля правильности. Сущность, возможности и ограничения известных способов контроля и обеспечения правильности (в их числе использование стандартных образцов, способ добавок и др.) изложены в ряде источников. Наиболее полно они рассмотрены в монографиях [1, 17, 21], а также в публикациях [23–26], включая и способы, которые в качестве средств контроля правильности в условиях конкретной лаборатории могут найти лишь ограниченное применение. Однако рекомендации к использованию именно этих способов в учебно-методической литературе нередко даются без указания на необходимость учета реальных ситуаций, ограничивающих их возможности. Такого рода способы представлены как “референтные”, “образцовые”, “независимые”, “заслуживающие доверия”, “методики сравнения” и др. Предполагается, что их применение дает больше шансов на получение правильных результатов анализа. Однако при использовании даже самых лучших методов в условиях конкретной лаборатории задача все-таки сведется к доказательству правильности, необходимость которого очевидна с учетом действия многочисленных источников загрязнений и потерь. Кроме того, разработка сотен “референтных”, “независимых”, “заслуживающих доверия” и т.п. методов — задача непростая, если под методом понимать не что-то общее, а его реализацию в виде конкретной методики [6].

Необходимость объективного подхода при установлении требований к точности результата анализа. Решения, позволяющие определить требуемую точность, были в свое время найдены для двух типов задач, отличие между которыми обусловлено объективными обстоятельствами, и, исходя из того, что “...важнейшей характеристикой качества аналитического контроля должна являться не точность, взятая изолированно, а его достоверность” [17]. Одну из таких задач следует отнести к случаям, когда можно на основе обобщенных оценок судить о достоверности, установив связь между такими параметрами, как размер поля технологи-

ческого допуска относительно контролируемого параметра, фактическое его распределение, а иногда и другие. Такой подход позволяет, задавшись проектируемой достоверностью, определить требуемую точность или, не имея возможности повысить точность, расширить поле допуска. Применительно к серийному выпуску продукции это создает основу для контроля производств, для которых контроль химического состава является показателем качества. Указанная задача распадается на ряд частных, для которых найдены решения применительно к конкретным обстоятельствам.

Найдены решения и для другого класса задач, связанных с тем, что контроль индивидуален, так как закон распределения контролируемого параметра неизвестен или непостоянен. Подходы, позволяющие определить допустимые значения погрешностей, основаны на установлении зависимости между точностью аналитического контроля и точностью указания содержания определяемого компонента [1, 17] с учетом понятия минимума различия [27]. Эти решения в свое время были закреплены в нормативных документах, позднее отмененных по причинам, оставшимся неизвестными.

Необходимость обеспечения надежного контроля качества веществ и материалов возникает и в отсутствие норматива на содержание компонента, например, при аналитическом контроле продукции, критерием качества которой является чистота (реактивы, чистые металлы, химико-фармацевтические препараты). Варианты тактики разработаны и для этого круга объектов.

Все отмеченное выше создало предпосылки для упорядочения системы стандартов на вещества и материалы и на методы их испытаний. Очевидно, что начатое в этом направлении целесообразно возобновить и продолжить.

Детальное изложение этих решений, актуальность и эффективность которых не утратила силу (вопреки голословным утверждениям, содержащимся во введении к монографии [19]), не входит в задачу данной публикации. При необходимости с ними можно ознакомиться по первоисточникам (см. [1, 17, 21]).

Рассмотрим в этой связи, что предлагается ныне действующей нормативно-технической документацией на одном, достаточно красноречивом примере. В соответствии с п. 5.2.1 раздела “Разработка методик измерений” ГОСТ Р 8.563-2009 [28] “*требования к точности измерений устанавливаются с учетом всех составляющих погрешности (методической, инструментальной, вносимой оператором, вносимой при отборе и приготовлении пробы)*”. В специальном приложении указаны “типичные составляющие” погрешности измерений. Приняв во внимание ограничения поэле-

ментного учета систематических погрешностей (см., например, [6, 7]), остается заключить, что подход, рекомендованный стандартом, может привести к необоснованному расширению поля допуска на содержания контролируемого компонента и, следовательно, необоснованному занижению требований к точности анализа.

С учетом изложенного в данном сообщении приходится заключить, что действующая нормативно-техническая документация, имеющая отношение к задачам количественного химического анализа, в том числе и на международном уровне, должна быть как минимум фундаментально переработана. Соответствующие усилия следует предпринимать с учетом, во-первых, базовых положений метрологии и, во-вторых, с учетом уже упоминавшихся рекомендаций по метрологическому совершенствованию системы стандартов на вещества и материалы, а также методы анализа.

Нет необходимости доказывать, что базовые положения метрологии не должны оставаться вне поля зрения исследователей и авторов учебно-методической литературы. Возвращаясь к вопросу о преимуществах, не лишним будет отметить необходимость учета найденных в свое время решений, которые не только не утратили актуальность, но могут оказаться еще более востребованными по мере усложнения задач, стоящих перед химическим анализом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Шаевич А.Б.* Аналитическая служба как система. М.: Химия, 1981. 264 с.
2. *Dorner W.G.* Das Problem mit den Systematischen Fehlern // Chem. Rdsch. (Schweiz). 1984. № 23, 25–26.
3. Department of Earth Sciences. The Open University. GeoPT 11 – An International Proficiency test for Analytical geochemistry laboratories – Report on round 11/July 2001. 7 p.
4. *Magnusson B., Koch M.* Measurement quality in water analysis / Reference Module in Earth Systems and Environmental Science. Quality of Drinking Water Analysis. 2013. 169 p.
5. IAEA Analytical Quality in Nuclear Applications Series No 55. Worldwide Interlaboratory Comparison on the Determination of Trace Elements in a Fish Sample. IAEA-MESL- ILC-TE-BIOTA-2017. Vienna: International Atomic Energy, 2018. 79 p.
6. *Шаевич Р.Б.* Обеспечение правильности результатов измерений малых и ультрамалых содержаний компонентов в веществах, материалах и средах. Ч. 1. Состояние проблемы // Метрология. 2016. № 3. С. 46. (*Shaevich R.B.* Assurance of the correctness of the results of measurements of low and ultra-low contents of components in natural and synthetic substances and media. Part 1. State of problem // Measurement Techniques. 2016. V. 59. № 9. P. 1017.)

7. *Маликов М.Ф.* Основы метрологии. Ч. 1. Учение об измерении. М.: Комитет по делам мер и измерительных приборов при СМ СССР, 1949. 477 с.
8. *Бурдун Г.Д., Марков Б.Н.* Основы метрологии. М.: Изд-во стандартов, 1972. 312 с.
9. *Тюрин Н.И.* Введение в метрологию. М.: Изд-во стандартов, 1973. 279 с.
10. *Прокофьев В.К.* Фотографические методы количественного спектрального анализа металлов и сплавов. Ч. 2. М.–Л.: Гос. изд-во технико-теоретической литературы, 1951. 327 с.
11. *Коренман И.М.* Аналитическая химия малых концентраций. М.: Химия, 1966. 167 с.
12. ISO Standard 5725-1:1994. Part 1: General Principles and Definitions.
13. ГОСТ 16263-70. Государственная система обеспечения единства измерений. Метрология. Термины и определения. М.: Изд-во стандартов, 1986. 55 с.
14. *Камбулатов Н.Н., Геншафт С.А., Налимов В.В., Пинес В.Г.* К вопросу о точности химического анализа маргеновских шлаков // Заводск. лаборатория. 1954. Т. 20. № 3. С. 374.
15. РМГ 61-2010. Государственная система обеспечения единства измерений. Рекомендации по межгосударственной стандартизации. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. М.: Стандартинформ, 2013. 59 с.
16. Основы аналитической химии. Т. 1 / Под ред. Золотова Ю.А. М.: Издательский центр "Академия", 2012. 351 с.
17. *Шаевич А.Б.* Измерение и нормирование химического состава веществ. М.: Изд-во стандартов, 1971. 280 с.
18. *Родинков О.В., Бокач Н.А., Булатов А.В.* Основы метрологии физико-химических измерений и химического анализа. Учебно-методическое пособие. СПб.: ВВМ, 2010. 136 с.
19. *Дворкин В.И.* Метрология и обеспечение качества химического анализа. М.: ТЕХНОСФЕРА, 2020. 318 с.
20. *Карпов Ю.А.* Аналитическая химия / Энциклопедия "Современное естествознание". Т. 6. Общая химия, 2000. С. 265.
21. *Шаевич А.Б.* Стандартные образцы для аналитических целей. М.: Химия, 1987. 184 с.
22. Спектральный анализ чистых веществ / Под ред. Зильберштейна Х.И. Л.: Химия, 1971. 416 с.
23. *Shaevich A.B.* Metrological aspects of quantitative analysis // Crit. Rev. Anal. Chem. 1985. V. 15. № 3. P. 361.
24. *Шаевич А.Б.* Доказательство правильности результатов количественного химического анализа, обобщающая статья // Заводск. лаборатория. 1987. Т. 53. № 6. С. 4.
25. *Shaevich A.B.* Analytical service: Approach to the activity optimization according to accuracy criterion of analysis results // J. Anal. Chem. 1989. № 335. P. 9.
26. *Каплан Б.Я., Карпов Ю.А., Филимонов Л.Н.* Особенности метрологии анализа веществ высокой чистоты / Проблемы аналитической химии. Т. VII. М.: Наука, 1987. С. 41.
27. *Борель Э.* Вероятность и достоверность. М.: Физматгиз, 1961. 120 с.
28. ГОСТ Р 8.563-2009. Национальный стандарт РФ. Методики (методы) измерений. М.: Стандартинформ, 2010. 27 с.

УДК 543.544.14(091)

ИСТОКИ И ФОРМИРОВАНИЕ ИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

© 2023 г. Е. В. Рыбакова*

*Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской академии наук
Ленинский просп., 31, к. 4, Москва, 119991 Россия*

**e-mail: rybakova_elena@list.ru*

Поступила в редакцию 21.02.2023 г.

После доработки 02.03.2023 г.

Принята к публикации 07.03.2023 г.

Показаны истоки возникновения и пути формирования ионной хроматографии. Отражены малоизвестные факты и публикации, показано существенное влияние развития приборостроения в ВЭЖХ и технологий синтеза сорбентов низкой емкости на разработку этого метода. Изложена ранняя история разработок в области ионной хроматографии в научных группах в США: Х. Смолла (Dow Chemical и Dionex Corp.) и Дж. Фрица (Университет штата Айова), проанализированы научные работы и отмечены ключевые заслуги этих ученых.

Ключевые слова: история хроматографии, ионная хроматография, приборостроение в хроматографии.

DOI: 10.31857/S0044450223080145, **EDN:** SHMTAK

В 2023 г. отмечается 120-летие открытия хроматографии М.С. Цветом, и в ознаменование этого события представляется уместным изложить историю возникновения и формирования одного из направлений хроматографии – ионной хроматографии, ставшей к настоящему моменту одним из важнейших методов аналитической химии при анализе объектов окружающей среды и контроле технологических процессов в энергетике.

ИСТОКИ ИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Метод ионной хроматографии стал известен в 1975 г., когда была опубликована пионерская работа американских ученых и инженеров, сотрудников компании Dow Chemical (США) “Новый ионообменный хроматографический метод с использованием кондуктометрического детектирования” [1] (термин “ионная хроматография” авторы не применяли). Однако с точки зрения решения задачи разделения ионов, у этого метода были предшественники. Наши исследования показали [2–4], что метод ионообменной хроматографии, впервые названный *ионной хроматографией* (Ionenchromatographie), был предложен в 1937 г. немецким химиком-аналитиком Г.-М. Швабом. Его статья [5] содержала краткое описание методики разделения катионов, в ней также упоминалось, что авторы предприняли попытки разделения анионов. Шваб пользовался техникой М.С. Цвета. В качестве сорбента использовали оксид алюминия фирмы “Merck”, подготовленный по Брокманну. Идентифицировали компоненты ви-

зуально. В общей сложности Г.-М. Швабом с аспирантами было подготовлено семь публикаций, посвященных различным задачам неорганического анализа, в основном смесей катионов, методом неорганической хроматографии (так в дальнейшем Шваб именовал свой метод). Было показано, что новый метод применим для разделения и количественной оценки состава ряда смесей неорганических солей, а также для отделения целевых ионов от примесей. Идею применения неорганической хроматографии как инструмента для отделения целевых ионов от примесей использовал и развил шведский химик-аналитик О. Самуэльсон [3].

Шваб написал раздел “Хроматография”, вошедший в сборник “Физические методы в аналитической химии”. [6]. Работы Шваба по неорганической хроматографии оказали влияние на дальнейшее развитие метода. Они вошли во второе издание книги Л. Цехмейстера и Л. Челноки “Хроматография. Адсорбционный анализ” 1938 г. [7]. В 1941 г. обновленная монография Цехмейстера и Челноки под названием “Принципы и практика хроматографии” была издана на английском языке [8]. С этого времени метод неорганической хроматографии стал широко известен и имел ряд последователей [3]. Однако ограниченные возможности применения оксида алюминия и фактическое отсутствие теоретических обоснований наблюдаемых процессов вызывали и критику [9].

В начале 1940-х гг. Цехмейстер предложил применить разработанную Швабом неорганиче-

скую хроматографию в Манхэттенском проекте [10]. Отметим, что Шваб использовал комплексообразование в качестве приема разделения неразделяемых пар катионов. Публикация работ в области хроматографии, проведенных в рамках Манхэттенского проекта, в специальном выпуске журнала "J. American Chemical Society" (1947, Т. 69, вып. 11.) произвела настоящую революцию в развитии метода [4]. Элюирование катионов редкоземельных элементов путем комплексообразования (тарtratом или цитратом аммония) с синтетическими ионообменниками привело к открытию новой техники разделения. Для детектирования разделяемых элементов чаще всего использовали метод радиоактивных индикаторов. Среди публикаций есть работа Баумана и Эйхорна "Основные свойства катионообменной синтетической смолы", в которой авторами впервые отмечен эффект "доннановской мембраны" вокруг частицы катионообменника Dowex-50. Позднее Бауман с коллегой назовет механизм разделения на основе этого эффекта ионной эксклюзией, что послужило началом нового направления – ион-эксклюзионной хроматографии [11]. В этом выпуске журнала важны были не только практические аспекты разделения и изучение свойств сорбентов, но и формирование основ теории хроматографии. Успех применения химиками Манхэттенского проекта синтетических ионообменников для разделения как катионов, так и анионов определил дальнейшее развитие метода ионообменной хроматографии, как с тех пор стали его называть.

Однако для хроматографического разделения и последующего анализа состава смесей катионов щелочных и щелочноземельных металлов, а также неорганических анионов, все еще не было надежной и простой методики. Например, для разделения Na, K и Mg на колонке длиной 59 см, заполненной катионообменником Dowex, требовалось около 5 ч элюирования 0.7 M HCl [12]. Анализ примеров применения неорганической хроматографии показывает, что в случае элюирования окрашенных ионов вопрос детектирования решали чаще всего спектрофотометрически, а в случае простых катионов и анионов, которые в большинстве своем не окрашены, применяли либо метод радиоактивных индикаторов, что дорого и неудобно, либо привычные методы мокрой химии, что не позволяло автоматизировать процесс.

В 1950-х гг. коммерческие или синтезируемые специально катионообменники для аналитической хроматографии в сочетании с возможностью непрерывного детектирования элюата с применением спектрофотометров с проточной ячейкой, способствовали развитию аминокислотного анализа. В свое время успех хроматографического метода М.С. Цвета в разделение органических веществ подтолкнул Г.-М. Шваба к идее развития

хроматографии неорганических веществ, так же и успехи ионообменной хроматографии неорганических веществ способствовали развитию хроматографии в области химии белка и аминокислот. Разделение аминокислот на катионообменнике с помощью цитратного буферного раствора с помощью нингидриновой реакцией и детекцией на спектрофотометре с проточной ячейкой, осуществленное в 1951 г. американскими химиками В. Штайном (W.H. Stein) и С. Муром (S. Moore), позволило создать классический метод анализа смесей аминокислот [13], отмеченный Нобелевской премией 1972 г.

Идея использовать кондуктометрию для детектирования ионов была достаточно очевидна. Хотя первый подобный детектор применили для катионов щелочных металлов (1951 г.), наиболее удачная модель была успешно использована при анализе смесей аминокислот и галактозаминов при их ионообменном разделении без дериватизации [14]. О развитии конструкции проточного кондуктометра мы писали ранее [4]. Однако вплоть до 1975 г. кондуктометрический детектор в ионообменной хроматографии применяли редко, поскольку на фоне высокой электропроводности подвижной фазы было практически невозможно различить пики разделенных ионов.

РАЗВИТИЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ ТЕХНИКИ (КОНЕЦ 1950-х гг. – НАЧАЛО 1970-х гг.)

Аминокислотный анализ произвел революцию в биохимии, и ионообменная хроматография здесь сыграла ключевую роль. Однако поначалу продолжительность анализа составляла 24 ч, и причина была в низкой эффективности процесса разделения.

Еще в 1941 г. в публикации о жидкостно-жидкостной распределительной хроматографии (отмеченной Нобелевской премией по химии 1952 г.) А. Мартин и Р. Синг [15] предсказали, что для дальнейшего улучшения эффективности разделения необходимо применять сорбент с малым зернением частиц и высокое давление. Применение насосов высокого давления в аминокислотном анализе позволило существенно ускорить разделение до 2–3 ч. Так, в 1958–1963 гг. аминокислотный анализатор, оснащенный поршневым насосом, термостатом, проточным детектором и самописцем для регистрации сигнала детектора стал полноценным жидкостным хроматографом в привычном для нас понимании, и основная заслуга в этом принадлежит П. Гамильтону [16, 17].

Как ни парадоксально, успех и бурное развитие газовой хроматографии послужили одним из важных толчков в развитии жидкостной. И дело не только в трудности хроматографирования не-

летучих веществ. Уже хорошо развитая к началу 1960-х гг. теория газохроматографического разделения показала, что главной проблемой неэффективности разделения в жидкостной хроматографии является медленная диффузия в жидкой подвижной фазе. И решать эту проблему необходимо путем развития технологии сорбентов.

В 1963–1964 гг. американский ученый Ч. Хорват сначала разработал способ нанесения пористого слоя на внутреннюю поверхность капиллярных ГХ-трубок, а затем технологию получения поверхностно-пористых сорбентов, названных им “пилликулярными”, которые он впервые применил для жидкостной хроматографии. Первые удачные опыты разделения жирных кислот были осуществлены на стальной колонке длиной 1 м и диаметром 1 мм, заполненной поверхностно-пористым сорбентом, покрытым тонким слоем графитированной сажи. Для осуществления работ Хорват собрал один из первых жидкостных хроматографов, сделав многие детали собственными руками. К 1968 г. Хорват и его коллега С. Липски продемонстрировали быстрое (6 мин) разделение нуклеиновых кислот на колонке 3 м × 1 мм, заполненной пилликулярным сорбентом (примерно 50 мкм) с ионообменным слоем при давлении 2380 psi [18]. Эти разработки открыли эпоху хроматографии высокого давления, позже (по предложению Хорвата) она получила название высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Заслуга разработки первых коммерческих пилликулярных сорбентов для ВЭЖХ принадлежит Дж. Киркланду (1968 г.). В это же время были сделаны первые коммерческие хроматографы в компании Waters в тесном сотрудничестве Дж. Вотерса с инженерами Dow [19]. В рекламной листовке Waters от 1970 г. предлагались жидкостные хроматографы для разделений методами жидкостно-жидкостной, жидкостно-твердофазной, ионообменной и гелепроникающей хроматографии. Первые коммерческие двухплунжерные насосы высокого давления были разработаны и представлены этой компанией на выставке Pittcon в 1972 г. [20].

Тем не менее к началу 1970-х гг. при многочисленных попытках использовать ионообменную хроматографию в анализе смесей “простых” катионов и анионов и при наличии подходящей хроматографической аппаратуры существовало как минимум два препятствия, делавших невозможной реализацию этой аналитической задачи. Речь идет об отсутствии высокоэффективных ионообменных сорбентов низкой емкости и работающей системы кондуктометрического детектирования при использовании сильных электролитов в качестве элюента. При этом следует учесть, что потребность в ионном анализе и в то время, и сейчас была колоссальной, и ее остро

осознавали ряд химиков, работавших в компании Dow Chemical – крупном американском производителе ионообменных смол, используемых при водоподготовке в энергетике и промышленности.

ХЕМИШ СМОЛЛ И ЕГО ВКЛАД В СОЗДАНИЕ МЕТОДА ИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

В 1955 г. инженер-химик Х. Смолл начал работать в Лаборатории физических исследований подразделения компании Dow Chemical в Мидленде (США). Директором лаборатории был участник Манхэттенского проекта В. Бауман, о котором мы упоминали ранее. Позднее Бауман перейдет в подразделение компании в Техасе на более высокую должность. Непосредственным начальником Смолла был Р. Уитон, соавтор Баумана по исследованию ионной эксклюзии [11]. Таким образом Смолл попал в научную среду выдающихся синтетиков-ионообменщиков и пионеров ионообменной хроматографии.

Летом 1971 г. Смолл получает от Баумана запрос о том, не ведутся ли в Мидленде какие-либо исследования в области неорганической хроматографии [21]. В ответ Смолл излагает свои соображения по ионообменным смолам, которые можно сделать для этих целей, и выражает желание использовать кондуктометр как детектор. Следует отметить, что Смолл к этому моменту около 15 лет занимался ионообменными смолами, а также разработал новый способ хроматографического разделения крупных частиц – гидродинамическую хроматографию. В ответном письме Бауман излагает идею о том, как повысить чувствительность кондуктометра. Он предлагает разделить ионы щелочных металлов на колонке Dowex 50 (сильный катионообменник), используя HCl в качестве элюента, и соединить эту колонку с колонкой Dowex 44 (слабый анионообменник) для удаления HCl. Расчёты Смолла показали, что недостаточная емкость второй колонки не позволит реализовать такую идею, но замена колонок – разделяющая малой емкости, удаляющая элюент – большой емкости – может быть решением. Имея опыт поверхностного сульфирования полимеров, Смолл синтезировал сульфированный полистирол-дивинилбензолный (2% сшивки) катионообменник низкой емкости и упаковал в одной колонке нижним слоем Dowex-1-ОН, верхним слоем примерно той же толщины новый катионообменник. Колонку соединил с кондуктометром и пропустил через нее 0.01 М HCl. Соотношение емкостей разделяющего слоя (верхнего) и нижнего составляло около 1 : 100, что позволило “поглощающему” элюенту слою эффективно снизить электропроводность элюата. Разделение длилось 2 ч. В итоге 9 ноября 1971 г. была получена отличная хроматограмма катионов (рис. 1).

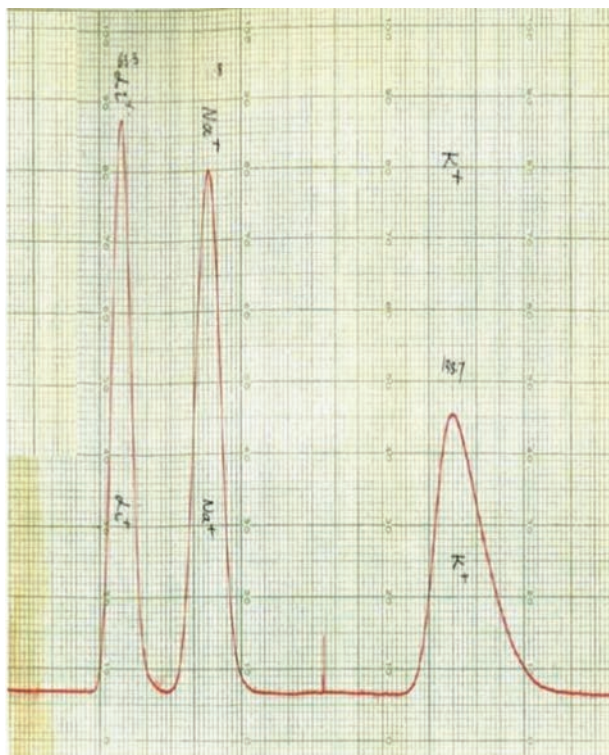


Рис. 1. Фотография первой хроматограммы катионов, полученной Х. Смоллом в 1971 г. Левый пик Li^+ , средний пик Na^+ , правый пик K^+ .

Поняв, что принцип работает, Смолл приступил к разработке низкоемкостного анионообменника, так как в хроматографическом разделении неорганических анионов он справедливо видел гораздо более широкую перспективу. До этого, примерно 15 лет назад, Смолл занимался проблемой электростатического слипания ионообменников, из этого опыта родилась идея поверхностной агломерации. Тонкоизмельченный анионообменник смешивают с сульфированным катионообменником зернением 50 мкм, в результате на поверхности последнего образуется слой микрочастиц анионообменника. Таким способом Смолл получил первый поверхностно агломерированный анионообменник низкой емкости.

Стараясь решить проблему насыщения “поглощающего” слоя, из-за чего его требуется часто регенерировать, Смолл предложил концепцию будущего непрерывно регенерируемого подавителя. Он сульфировал поверхность полиэтиленовой хирургической трубки, превратив ее в катионообменную трубчатую мембрану, трубку поместил в постоянно перемешиваемую суспензию катионообменника в H^+ -форме. Через трубку пропускал поток элюата (NaOH , содержащий хлорид и нитрат из анализируемой смеси). Несмотря на положительный результат, идею ка-

пиллярного подавителя на время пришлось оставить ввиду сложности и невоспроизводимости технологического процесса изготовления полых ионообменных трубок и дальше развивать метод с использованием подавительной колонки (suppressor – подавитель).

В середине декабря 1971 г. Смолл доложил о своих результатах на семинаре компании Dow, после чего к работам подключился Т. Стивенс. Примерно за полгода совместной работы, по словам Смолла, Стивенс оптимизировал время элюирования за счет высоких скоростей потока и колонок малого диаметра; подключил к хроматографу автосамплер и компьютер; отработал процедуру получения поверхностно агломерированных анионообменников, что позволило продемонстрировать их превосходство перед коммерческими пелликулярными анионообменниками на основе силикагеля, разработал несколько методик определения катионов в реальных образцах, таких как моча, сыворотка крови и т.д.

В конце 1972 г. Смолл занялся подбором более сильного элюента по сравнению с гидроксидом, способного вытеснить с колонки сильно удерживаемые и многозарядные анионы. С фенолятом в качестве элюента были получены хорошие результаты и достаточно длительное время именно этот элюент был основным при разделении “стандартных анионов” – галогенидов, нитрата, сульфата и фосфата. После прохождения подавительной колонки фенолят переходит в фенол, обладающий небольшой электропроводностью. Отметим малоизвестный факт, что после публикации [1], где использовался фенолят в качестве элюента для разделения анионов, Д. Гьерде и Дж. Фриц, осознав, что разбавленные растворы фенолята обладают сравнительно невысокой электропроводностью, догадались подсоединить разделяющую колонку напрямую к кондуктометру. Информация об успешных опытах применения разбавленных растворов гидроксида и фенолята как элюентов в одноколоночном варианте ионной хроматографии имеется в книге [22], однако указана ссылка на “неопубликованную работу”.

Уникальные элюирующие свойства карбонат–гидрокарбонатного буферного раствора были обнаружены Смоллом случайно. При использовании растворов NaOH разной концентрации для разделения пары хлорид–бромид оказалось, что более разбавленный раствор со временем стал обладать большей элюирующей силой, чем концентрированный. Причина – поглощение шлочью углекислого газа и образование карбоната. Этот универсальный элюент, где гидрокарбонат вытесняет с анионообменника однозарядные анионы, а карбонат – многозарядные, со временем стал основным элюентом для анионообмен-

ной ионной хроматографии. В публикации 1975 г. карбонат–гидрокарбонатный элюент не упоминается, как, впрочем, и разработанная к тому моменту технология синтеза латексных микрокапсул анионообменника. И в дальнейшем для производства агломерированных анионообменников использовали только синтезированные латексные частицы, а не раздробленный анионообменник, как в начале.

Необходимо отметить значение этой первой публикации. Авторы показали, что, используя комбинацию ионообменных смол (как коммерческих, так и подготовленных авторами), они смогли нейтрализовать или подавить фон элюента без существенного воздействия на разделяемые ионы, что, в свою очередь, позволяло использовать кондуктометр в качестве универсального и очень чувствительного детектора ионов. С использованием этого подхода были разработаны методики быстрого определения щелочных и щелочноземельных металлов, неорганических анионов, многих аминов и органических кислот (со скоростью до 1 мин на ион, в среднем 3 мин на ион) в различных объектах, например в сточных и поверхностных водах, сыворотке крови, моче и фруктовых соках. “Метод имеет большой динамический диапазон и способен определять небольшие количества одних ионов на фоне высокой концентрации других ионов. Этот метод особенно привлекателен для анионов в связи с тем, что для их определения обычно требуется множество отдельных методик”, пишут авторы в заключении. Публикация столь значима для аналитической химии, что вошла в собрание Американского химического общества “Вехи в аналитической химии” 1994 г. [23], и даже в современном учебнике по аналитической химии студентам рекомендовано ознакомиться с ее содержанием [24].

Таким образом, анализируя данные публикации Смолла с коллегами [1] в сравнении с описанием его исследований, предшествующих публикации [21], мы понимаем, что в публикации в 1975 г. нашли отражение базовые принципы нового метода, основные примеры его применения, но не раскрыты важные технические детали, которые в том числе были предметом пакета патентов, полученных Dow в период 1973–1975 гг. В начале 1975 г. Dow Chemical предоставила только что образованной компании Dionex лицензию на производство и продажу инструментов, которые воплощали идею кондуктометрии с подавлением фонового сигнала. Юридические детали коммерциализации технологий, разработанных в основном Х. Смоллом и В. Бауманом и реализованных компанией Dionex в 1975–1980-е гг., отражены в обзоре [25]. Отметим некоторые важные факты ранней истории этой компании. Именно компания Dionex назвала метод “ионной хроматографией”, а на осенней сессии Американского хи-

мического общества, состоявшейся в Чикаго 24–28 августа 1975 г., к началу которой вышел номер журнала “Analytical Chemistry” с публикацией Смолла с коллегами, был представлен их первый коммерческий ионный хроматограф Dionex Model 10 [26].

В 1979 г. за разработку ионной хроматографии Смолл, Стивенс и Бауман были удостоены медали Albert F. Sperry (American Instrument Society), присуждаемой за заслуги в области инженерии.

Непрерывно регенерируемый капиллярный мембранный подавитель, задуманный Смоллом, был доведен до коммерческого продукта совместно со Стивенсом в 1981 г. [27]. Капиллярный подавитель представлял собой устройство, внешне похожее на колонку, внутри которой был помещен скрученный ионообменный капилляр. Элюат из колонки протекал по ионообменному капилляру, внешняя сторона которого в противотоке омывалась раствором регенеранта. Для равномерной подачи регенерирующего раствора требовался дополнительный насос. С этого момента подавитель действительно стал устройством, а не просто колонкой с высокеемкостной смолой.

К 1981 г. компания Dionex, понимая, что использование элюентов и регенерантов на основе кислот и щелочей приводит к коррозии металлических частей насосов и жидкостного тракта, стала производить полностью безметаллические ионные хроматографы, к тому же окончательно отказалась от применения подавительных колонок и предлагала пользователям подавители. Это не могло не сказаться на стоимости оборудования и не вызвать некоторое недовольство пользователей, особенно тех, кто хотел использовать ионную хроматографию, применяя имеющиеся у них жидкостные хроматографы. О разработках так называемой “одноколоночной ионной хроматографии”, в основном использующей органические элюенты с низкой электропроводностью, которые не приводят к коррозии элементов жидкостного тракта, подробнее в следующем разделе.

В 1982 г. выходит одна из ключевых работ Смолла “Хроматография с косвенной фотометрией” [28]. В ней показаны возможности применения ионообменного разделения неорганических ионов в сочетании с фотометрическим детектированием для точного и чувствительного определения “прозрачных ионов”, не видимых фотометрическим детектором, в случае если вытесняющие ионы элюента поглощают свет. Например, ион фталата поглощает УФ-излучение (высокий фоновый сигнал). Фталат-ион вытесняет анионы аналита с колонки и прохождение их через ячейку детектора вызывает падение оптической плотности — появляется отрицательный пик. Этот метод, пишет автор, имеет много преимуществ по сравнению с кондуктометрией без

подавителя. В конце указывается, что разработка является предметом патента, заявленного Dionex.

В обзоре о современном состоянии метода ионной хроматографии 1983 г. [29] Смолл отмечает, что если изначально под “ионной хроматографией” понимали ионообменное разделение и кондуктометрическое детектирование с использованием подавителя, то с 1979 г. появилась кондуктометрия без подавителя, и сначала компания “Wescan”, потом “Waters” и др. стали предлагать ионные хроматографы, построенные на этом принципе. Тогда же появились примеры разделения ионов на циано-фазе, в начале 1980-х гг. для детектирования хромофорных ионов стали применять УФ-детекторы, а также сочетание разделения ионных соединений на обращенной фазе и УФ-детектирование, появились примеры ионообменного разделения катионов с послеклоночным комплексообразованием и последующим фотометрическим детектированием. Все эти варианты стали относить к ионной хроматографии и даже ретроспективно включили в это определение аминокислотный анализ. “В настоящее время, – пишет Смолл, – термин “ионная хроматография” включает любой метод хроматографии, применяемый для определения ионов”. И, несмотря на то что в обзоре нередко упоминается применение ионной хроматографии для определения органических соединений, автор называет метод “современной неорганической хроматографией”.

Смолл уходит из компании Dow в 1983 г. и становится научным консультантом Dionex Corp., где реализует несколько успешных проектов в области применения электролитических процессов в ионообменных смолах. Истоки интереса к этой тематике лежат в первых научных исследованиях, проведенных Смоллом после окончания Королевского университета Белфаста, Северная Ирландия. В 1951 г. Смолл начал работать химиком в Исследовательском центре атомной энергии в Англии. Он исследовал электрохимические свойства новой катионообменной смолы Dowex-50. В 1953 г. результаты были оформлены в виде диссертации. Смолл пишет: “Я часто возвращался к своим самым ранним опытам с ионообменниками в надежде найти применение их проводящим свойствам, и еще в 1974 г. я предложил использовать электрически поляризованные ионообменные слои в ионной хроматографии” [30].

В 1989 г. выходит монография Смолла “Ионная хроматография” в серии “Современная аналитическая химия” [26]. Во введении автор, говоря об истоках ионной хроматографии, начинает отчет с синтеза первых ионообменников, осуществленный Адамсом и Холмсом (1935 г.); другой важной вехой считает работы Манхэттенского проекта. Описывая современное состояние метода,

Смолл практически воспроизводит содержание изложенного нами ранее обзора [29], добавив информацию о набирающем популярность варианте разделения ионов с применением ион-парного механизма, отметив важную роль ион-эксклюзионного варианта разделения в ионной хроматографии. Смолл также отмечает, что благодаря пользователям ионных хроматографов расширился круг объектов исследования, возможность анализа которых не могли даже представить авторы метода: кислотные дожди; анальгетики; химикаты; моющие средства; питьевая вода; ферментационные бульоны; удобрения; продукты питания и напитки; вода высокой чистоты; руды; пестициды; фармацевтические препараты; физиологические жидкости; гальванические ванны; гидролизаты белка.

Важной особенностью монографии Смолла является то, что это действительно фундаментальный труд, где каждый процесс, каждое явление теоретически обосновано, текст изобилует математическими выкладками, графиками, диаграммами. Он охватывает все известные на тот момент варианты разделения и детектирования, отмечает достоинства и, главное, недостатки каждого из подходов. В монографии излагаются принципы работы и применения микромембранного подавителя (устройства на основе плоской ионообменной мембраны), который пришел на смену капиллярному подавителю в 1986 г. Такой подавитель обладал существенно большей динамической емкостью, и с ним стало возможно использовать градиентное элюирование с кондуктометрическим детектированием. Приложениям метода автор отводит около 20 страниц из 276. Удивительно, но монография Смолла не переиздавалась. Видимо, метод был изложен настолько исчерпывающе, что после двух изданий монографии Фрица и Гьерде “Ионная хроматография” в 1982 и 1987 гг. третье издание вышло только в 2000 г. Один из ближайших коллег и соавторов Смолла по ряду изобретений 1990-х гг. Дж. Ривелло неспроста называет его монографию “библией ионной хроматографии”.

Несмотря на то, что мембранные подаватели с успехом применялись с 1980-х гг., в 1993 г. Смолл предложил концепцию использования подавительной колонки малого объема с химической регенерацией после каждого анализа. Смолл с коллегами смогли продемонстрировать успешную работу такого подавителя как для изократической, так и для градиентной ионной хроматографии. Конструкция подавителя была запатентована в США, но Dionex решил не коммерциализировать устройство, и в конечном итоге лицензия была передана компании Metrohm AG [31]. С тех пор эта компания производит барабанные подаватели по патенту Смолла.

В 1994–1998 гг. Смолл разрабатывает устройство IonReflux, принцип которого он описал так: “... мне удалось продемонстрировать образование элюента, разделение и подавление в одном электрически поляризованном слое с использованием воды в качестве подвижной фазы” [30]. Итогом этой многолетней работы стала статья в “Analytical Chemistry” [32]. Хотя устройство так и не было коммерциализировано компанией Dionex, эти разработки использовались в подавителе Atlas с монолитными ионообменниками, в технологии RFIC-ER (безреагентная ионная хроматография с регенерацией элюента), а также легли в основу разработки картриджа генератора элюента. Патент на это изобретение был заявлен Смоллом в 1998 г.

В 2008 г. Смоллом была подана патентная заявка на “электрохимический насос” [31]. При приложении напряжения происходит электролиз воды, образовавшиеся ионы H^+ и OH^- , пройдя через ионообменные мембраны, объединяются. Током электролиза, а значит производством воды, можно управлять. Линейная зависимость тока и расхода была показана в диапазоне от 2 до 100 мА. Максимальный поток составлял около 5 мкл/мин, что подходит для капиллярной жидкостной хроматографии. Разработка не была коммерциализирована. Вероятно, последняя разработка Смолла – модернизация устройства IonReflux – была сделана в 2015 г. Последнее время появляются сообщения по применению этого устройства в портативных ионных хроматографах для непрерывного контроля анионов и катионов [33].

Излагая личный вклад в историю ионной хроматографии, Смолл выделил три составляющих успеха метода: выявление необходимости его разработки (потребности в методе), устранение технических препятствий и коммерческая работа Dionex. В метод поначалу мало кто верил и, по мнению Смолла, он не стал бы мощным аналитическим инструментом, как сегодня, если бы не предприимчивость корпорации Dionex, которая с 1975 г. поставила все на ионную хроматографию [21].

За свою карьеру Смолл получил 52 патента. Он автор множества статей, а также книги “Ионная хроматография”, его приглашали в качестве пленарного докладчика на многие конференции. В 1994 г. он был отмечен в книге “Вехи аналитической химии” за статьи по ионной хроматографии и косвенному фотометрическому детектированию. Смолл удостоен множества наград, среди них Золотая медаль им. Герберта Х. Дау, высшая награда Dow Chemical, а также премия Американского химического общества в области хроматографии. В 2010 г. по предложению компании “Dionex” была учреждена кафедра “Ионного анализа”, носящая его имя в Техасском университете в

Арлингтоне. Хемиш Смолл скончался 20.08.2019 г. на девяностом году жизни.

ДЖ. ФРИЦ И ЕГО ВКЛАД В РАЗРАБОТКУ ОДНОГО ИЗ НАПРАВЛЕНИЙ ИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Примечательно, что именно на упоминавшейся выше сессии Американского химического общества 1975 г. к награде Американского химического общества в области хроматографии за 1976 г. был представлен Джеймс С. Фритц, доктор наук, профессор химии Университета штата Айова. Анонс награждения был напечатан в том же номере журнала “Analytical Chemistry”, что и статья Смолла, Стивенса и Баумана [1], в котором было отмечено, что “научные интересы доктора Фрица сосредоточены, кроме прочего, на быстром ионообменном разделении”. Очевидно, что Дж. Фриц, получив награду за хроматографические достижения, не мог не включиться в разработки нового метода хроматографии ионов. Однако впервые о разработке Смолла с коллегами он упоминает в обзорной статье 1977 г. о применении хроматографии в анализе неорганических материалов [34]. Как было нами установлено, Дуглас Гьерде в эти годы был аспирантом у Фрица. Фриц, к тому моменту более 20 лет работающий в области ионообменного разделения катионов, на собственном опыте знал, что, несмотря на некоторые успехи в автоматизации хроматографирования, ионообменное разделение протекало очень медленно и поэтому было не очень популярным. Фриц и Гьерде так напишут о выходе статьи Смолла с коллегами 1975 г.: “Новообретенная способность быстро разделять и количественно определять сложные смеси анионов и катионов щелочных металлов при низких концентрациях мгновенно стала сенсацией”.

В статье Гьерде и Фрица, приуроченной к 30-летию выхода их первой публикации о новом варианте ионной хроматографии без подавления, авторы раскроют некоторые подробности начала их совместной работы в ионной хроматографии [35]. Описывая значение открытия метода, авторы отмечают: “Изобретение хроматографии с подавлением ионов было одним из поистине великих достижений в современном химическом анализе”. И в то же время дают оценку своим работам: “Хроматография с детектированием без подавления, как правило, менее чувствительна, чем хроматография с подавлением, хотя было показано, что она подходит для многих применений”.

В статье также отражены истоки научной деятельности Фрица в области ионного обмена и хроматографии. Дж. Фриц начал свою деятельность в Университете штата Айова в качестве доцента в 1951 г. Через несколько лет он начал сотрудничество с лабораторией Министерства

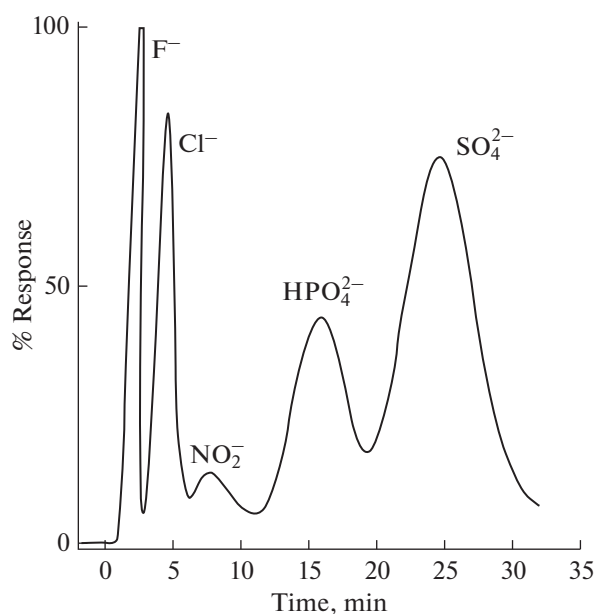


Рис. 2. Хроматограмма разделения фторида, хлорида, нитрита, гидрофосфата и сульфата соответственно на анионообменной смоле XAD-1 низкой емкости. 0.04 мэкв/г, 150–160 меш. Колонка: 56 см × 3 мм. Элюент: 2.5 мл/мин 0.0015 М NaHCO_3 и 0.0012 М Na_2CO_3 .

энергетики США в Эймсе в области разделения ионов металлов с помощью ионообменной хроматографии. В рамках этого сотрудничества Фриц познакомился с серией новых “макросетчатых” полистирольных и полиакрилатных смол XAD от компании “Rohm & Haas, Inc.” (Филадельфия, США). Эти смолы были пористыми и стабильными, с большой площадью поверхности (около $300 \text{ м}^2/\text{г}$). Используя их, Фриц разработал методику улавливания органических загрязнителей из природной воды для последующего анализа методами ГХ и ГХ-МС и обнаружил, что смолы XAD можно легко дериватизировать в ионообменники. Катиониты различной обменной емкости получали сульфированием серной кислотой в мягких условиях. Емкость анионообменников можно варьировать путем хлорметилирования и последующего превращения в ионообменники реакцией с третичным амином, обычно триметиламином. Полученные таким образом ионообменники исследовали на влияние обменной емкости на удерживание ионов. В частности, было выяснено, что уменьшение емкости ионообменной колонки снижает удерживание двухзарядных ионов быстрее, чем однозарядных. Было также обнаружено, что катионообменные [36] и анионообменные [37] смолы с низкой емкостью можно использовать для разделения различных металлов и комплексов металлов в относительно мягких условиях элюирования.

Около 1978 г. Билл Рич, вице-президент по маркетингу компании “Dionex”, предложил группе Фрица во временное пользование ионный хроматограф Dionex Model 10. Первые испытания нового прибора были проведены с анионообменной колонкой малой емкости XAD-1, изготовленной Фрицем и коллегами ранее. Подаватель и условия разделения были использованы как рекомендовано Dionex. За исключением пика фторида, который не был виден из-за глубокого “провала” мертвого объема, получилась хроматограмма, довольно похожая на хроматограмму с колонкой Dionex.

В течение нескольких месяцев колонка Фрица была “доработана”. В статье [38] описано получение макропористых анионообменных смол различной емкости на основе сорбентов XAD и изучение зависимостей коэффициентов селективности от емкости смолы. Интерес к этой работе авторы объясняют недостаточным вниманием к ионообменникам низкой емкости, особенно анионообменникам, ссылаясь при этом только на публикацию Смолла и коллег 1975 г. Чтобы продемонстрировать применимость новых смол, стеклянную колонку размером 50 см × 3 мм заполняли анионообменником XAD-1 зернением 150–160 меш, емкостью 0.04 мэкв/г, подключали к ионному хроматографу Dionex. В статье представлена хроматограмма разделения анионов на карбонат/гидрокарбонатном элюенте с использованием подавателя (рис. 2) и отмечено, что давление на колонке довольно низкое (100 psi), что позволяет использовать сорбент с меньшим размером частиц для получения лучшего разделения. Упомянуто, что разрешение компонентов на хроматограмме сравнимо с разрешением, полученным при использовании коммерческого сорбента. В качестве основного был сделан вывод о том, что “смола с более низкой емкостью позволяет использовать более низкую концентрацию элюента”.

Как пишут Гьерде и Фриц [35], идея разработки “одноколоночного варианта ИХ” принадлежит Габриэлле Шмуклер, которая приехала из Израиля в университет Айовы в творческий отпуск в 1978 г. Она продемонстрировала Фрицу и его аспирантам хроматографическое разделение комплексных ионов благородных металлов с использованием элюента, содержащего полиэлектролит, и кондуктометрического детектора. В заключении доклада Шмуклер предложила коллегам использовать ионный хроматограф без подавательной колонки, возможно, с использованием элюента из полиэлектролита с низкой электропроводностью. Гьерде заинтересовала эта идея и он начал свои эксперименты на “доработанной” анионообменной колонке, присоединив ее напрямую к детектору, однако применение полиэлектролитов не привело к хорошим результа-

там, колонка “отравлялась” и разделения не было. По утверждению Гьерде, фталат калия в качестве элюента был использован случайно, и неожиданно была получена хорошая хроматограмма. Это послужило началом исследований, результаты которых были доложены в 1979 и 1980 гг. [39, 40].

Во введении к статье [39] авторы отмечают достоинства метода ионной хроматографии, разработанного Смоллом и коллегами, однако указывают на недостатки использования подавительной колонки – необходимость ее частой регенерации, а также сложность детектирования анионов очень слабых кислот ввиду их низкой электропроводности. Далее авторы пишут, что предложили “два нововведения: (1) использование специальной анионообменной смолы с очень низкой емкостью и (2) применение элюента с очень низкой электропроводностью”. Используемые элюенты – водные растворы бензоата калия, фталата калия или *орто*-сульфобензоата аммония позволяют добиться очень четкого разделения анионов в отсутствие подавительной колонки. В дискуссионной части авторы констатируют постоянное присутствие системного пика (отрицательного или положительного) на хроматограмме, которое объясняют выходом анионов элюента вместе с катионами пробы. Авторы используют колонки двух размеров – 50 см × 3 мм, наполненные сорбентом Vydac или XAD-1 емкостью 0.007 мэкв/г, и 1 м × 2 мм, наполненные сорбентом XAD-1 0.04 мэкв/г. Можно предположить, что использовали корпуса насадочных колонок для ГХ. Основные выводы из работы следующие: “колонка, содержащая анионообменную смолу очень низкой емкости, вместе с подходящим элюентом низкой концентрации и кондуктометрическим детектором способны обеспечить приемлемое и быстрое разделение смесей, содержащих несколько анионов. Простота метода позволяет сконструировать прибор, предназначенный для анализа проб определенного типа. ... Вероятно, можно разработать более эффективные сорбенты, чем используемые здесь, и они дадут лучшее разрешение компонентов смесей, содержащих несколько анионов”.

Статья [40], подготовленная в августе 1979 г., вышла из печати в начале 1980 г. Работа выполнена на двух колонках: колонке Vydac SC (Separations Group, США) анионообменник (30–44 мкм, емкость 0.1 мэкв/г) и колонке, подготовленной авторами на основе XAD-1 (250–325 меш, емкость 0.007 мэкв/г), в качестве элюентов использовали бензоат и фталат калия в основном при рН 6.5. Приведены несколько новых примеров разделений смесей анионов, список которых был расширен. Было показано, что, уменьшая концентрацию элюента при использовании анионита с очень низкой емкостью, можно повысить чувствительность обнаружения для работы в диа-

пазоне концентраций на уровне микрограмм на литр.

В 1980 г., когда Шмуклер уже уехала, Гьерде и Фриц решили воспроизвести такой же “одноколоночный” вариант для катионного разделения. Основной проблемой снова было отсутствие подходящих катионообменников низкой емкости, которые пришлось получать поверхностным сульфированием стирол-дивинилбензольного гелеобразного сополимера. Наиболее хорошие результаты показал сорбент, полученный от компании Benson Co., – полистирол-ДВБ марки BN-X4, 20 мкм. Сульфирование проводили согласно методике Смолла [1]. Кроме того, использовали коммерческий катионообменник Vydac SC (Separations Group, США) 30–44 мкм, емкость 0.1 мэкв/г. На последнем было достигнуто полное разделение всех катионов щелочных металлов плюс аммоний за < 10 мин с высокой чувствительностью (1 мкг/л каждый) благодаря большой разнице в эквивалентных проводимостях элюента H^+ и катионов [41]. Было обнаружено, что элюирующей силы азотной кислоты недостаточно для двухзарядных катионов, для этого использовали нитрат этилендиаммония. Таким образом, для щелочных металлов и аммония применяли одни условия разделения, для щелочноземельных металлов – другие. В публикации приводятся примеры использования сорбентов и подобранных условий разделения для анализа различных объемов – природной воды, реактивов. В заключении авторы отмечают, что предложен очень простой метод, позволяющий добиться превосходного разделения катионов металлов. Несомненно, так же можно разделить катионы различных аминов. Предварительные результаты показывают, что ионы кадмия(II), меди(II), никеля(II) и других металлов могут быть элюированы и, возможно, разделены в описанной хроматографической системе. Анализ щелочных металлов с помощью катионной хроматографии соперничает с анализом атомной спектрометрией по скорости и удобству. Преимущество хроматографии состоит в том, что можно одновременно определять ион аммония.

Поскольку Фриц, как отмечено выше, сотрудничал с лабораторией Министерства энергетики США, одной из проблем, над которыми он работал, было определение следов хлорида и сульфата в водных средах энергетических установок. Для решения этой проблемы требовалось существенное повышение чувствительности ионохроматографического определения. В 1980 г. по результатам работ в этом направлении вышла публикация [42], в которой описана хроматографическая система, где вместо петли-дозатора в инъекционный кран установили концентрирующую колонку. Было показано, что этот подход позволяет

определять хлорид и сульфат в концентрации менее 1 мкг/л.

Таким образом, в 1978–1980 гг. Гьерде и Фриц разработали вариант ионохроматографического разделения для обычных анионов и катионов, при котором использовали колонки с ионообменниками низкой емкости, напрямую соединенные с кондуктометрическим детектором. Основную роль в этом техническом решении сыграли полученные авторами ионообменники низкой емкости. Это сделало, в свою очередь, возможным использование очень разбавленного элюента (обычно 0.5 мМ бензоат натрия или фталат калия для анионов и 1.5–1.0 мМ азотная кислота или нитрат этилендиаммония для катионов). За счет разницы в электропроводности элюента и целевых анионов и катионов достигалась приемлемая чувствительность определения. Техническое решение, предложенное Фрицем и коллегами, позволило применять ионную хроматографию, пользуясь не только коммерческими ионными хроматографами, но также имеющимися ВЭЖХ, что, безусловно, способствовало популяризации метода.

Будучи профессором университета, Фриц, по-видимому, осознавал необходимость подготовки книги о ионной хроматографии, которая могла бы не только закрепить авторитет его разработок, но также могла бы служить учебным и практическим пособием для химиков-аналитиков. Так, в 1982 г. вышла первая монография Фрица, написанная совместно с Гьерде [43]. В ней было предложено определение ионной хроматографии как высокоэффективного хроматографического метода разделения анионов или катионов с любой формой детектирования. Это было обосновано тем, что применять термин “ионная хроматография” только к ионообменному разделению и кондуктометрическому детектированию с подавлением фонового сигнала “представляется излишне ограниченным”. Авторы считали, что в случае использования кондуктометрического детектора термины “одноколоночная ионная хроматография” и “двухколоночная ионная хроматография” являются более точными. В книге достаточно подробно описываются спектрофотометрические и электрохимические детекторы и их применение в ионной хроматографии. Подробно, с хроматограммами и детальным описанием, даны все известные на тот момент примеры применения метода в различных отраслях и для различных объектов анализа. К безусловным заслугам монографии в области развития терминологии отнесем сделанную впервые формулировку: “современная ионная хроматография включает ионообменную, ион-парную, ион-эксклюзионную и хроматографию ионных органических комплексов”. Такое расширенное толкование метода имеется также в обзорной статье Фрица о состоянии метода [44]. В 1984 г. монографию издали на русском языке [22].

Последнее, существенно дополненное и переработанное четвертое издание монографии Фрица и Гьерде, вышло в 2009 г. [45]. В предисловии авторы пишут, что глава о детекторах была расширена и полностью переписана, включены разделы о ион-парной хроматографии, капиллярном электрофорезе, РНК- и ДНК-анализе. Отдельная глава посвящена разработке методик, статистической оценке данных, валидации и контролю аналитических процедур. Авторы видят свою цель в том, чтобы описать материалы, принципы и методы ионной хроматографии в ясной и сжатой форме. Поскольку коммерческие продукты постоянно меняются, оборудование для ионной хроматографии описывается в несколько общем виде. Основная задача монографии – объяснить основы, а также предоставить более подробную информацию в виде рисунков и таблиц. В целом это издание можно назвать настольной книгой, всеобъемлющим пособием для пользователя для всех случаев хроматографии веществ ионного характера.

Джеймс Фриц – автор или соавтор более 325 статей и нескольких книг и учебных пособий. Из них отметим следующие: “Количественная аналитическая химия” (5 изданий), “Ионная хроматография” (4 издания) и “Аналитическая твердофазная экстракция” (1999). Фриц получил множество наград, в том числе премии Американского химического общества в области хроматографии (1976) и в области аналитической химии (1985), премию Первого международного хроматографического форума (1988). Фриц прочитал множество лекций в различных странах, воспитал ряд ученых, внесших существенный вклад в разработку аппаратуры и методологии ионной хроматографии. Джеймс Фриц скончался 10 декабря 2012 г. на 89 году жизни.

Таким образом, нами показано, что истоками ионной хроматографии служили разработки в области “неорганической хроматографии” (1930–1950 гг.), развитие хроматографической техники (1950-е гг.–начало 1970-х гг.), а также технологии поверхностно пористых сорбентов (сначала для ГХ, затем для ВЭЖХ в 1960-е гг.). Ключом к созданию и последующему интенсивному развитию ионной хроматографии послужило, в первую очередь, создание способов синтеза ионообменников низкой емкости (сначала Смоллом, затем Фрицем), а также глубокое понимание процессов, происходящих на сорбентах. И Смолл, и Фриц в своих воспоминаниях о ранней истории метода отмечают, что успеху метода способствовала быстрая коммерциализация разработанных ими технологий, а также активное участие множества пользователей, развивающих метод в раз-

личных отраслях и в применении к самым разнообразным объектам исследований. По мнению коллеги Смолла Ривелло, “изобретение [ионной хроматографии] и коммерциализация технологии – одна из величайших историй успеха в аналитической химии 20-го века” [31].

Автор выражает глубокую признательность академику Ю.А. Золотову за правки и ценные замечания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Small H., Stevens T.S., Bauman W.O.* Novel ion exchange chromatographic method using conductimetric detection // *Anal. Chem.* 1975. V. 47. № 11. P. 1801.
2. Рыбакова Е.В. Создание первых ионообменников и начало их широкого применения // Сорбционные и хроматографические процессы. 2018. Т. 18. № 3. С. 443.
3. Рыбакова Е.В. История создания ионообменной хроматографии как метода аналитической химии // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 9. С. 48.
4. Рыбакова Е.В. Развитие ионообменной хроматографии как метода аналитической химии // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 9. С. 57.
5. *Schwab G.-M., Jochers K.* Anorganische Chromatographie // *Naturwissenschaften.* 1937. V. 25. № 2. P. 44.
6. *Schwab G.-M.* Chromatographie / Physikalische Methoden in der analytischen Chemie. V. III. Ed. *Böttger W.*, 1938. S. 61.
7. *Zechmeister L., Chohnoky L.* Die Chromatographische Adsorbtionsmethode. Grundlagen. Methodik. Anwendungen. 2. Wien: J. Springer, 1938. 354 s.
8. *Zechmeister L., Chohnoky L.* Principles and Practice of Chromatography. London: Capman and Hall, 1941. 362 p.
9. *Jacobs P.W.M., Tompkins F.C.* Inorganic chromatography // *Transactions of the Faraday Society.* 1945. V. 41. P. 388-394.
10. Рыбакова Е.В. История возрождения хроматографии. Работы Лазло Цехмейстера и его роль в развитии хроматографии // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 6. С. 561.
11. *Wheaton R.M., Bauman W.C.* Ion exclusion. A unit operation utilizing ion exchange materials // *J. Ind. Eng. Chem.* 1953. V. 45. P. 228.
12. *Smith O.C.* Inorganic Chromatography. N.Y.: D. Van Nostrand, 1952. P. 117.
13. *Stein W.H., Moore S.* Chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins // *J. Biol. Chem.* 1951. T. 192. P. 663.
14. *Verdier C.H., Sjöberg C.I.* An automatic conductivity bridge for chromatographic analyses // *Acta Chem. Scand.* 1954. V. 8. № 7. P. 1161.
15. *Martin A.J.P., Synge R.L.M.* A new form of chromatogram employing two liquid phases. 1. A theory of chromatography. 2. Application to the micro-determination of the higher monoamino-acids in proteins // *Biochem. J.* 1941. V. 35. P. 1358.
16. *Hamilton P.B.* Ion-exchange chromatography of amino acids. Study of effects of high pressures and fast flow rates // *Anal. Chem.* 1960. V. 32. P. 1779.
17. *Hamilton P.B.* Ion-exchange chromatography of amino acids – A single column, high resolving, fully automatic procedure // *Anal. Chem.* 1963. T. 35. P. 2055.
18. *Ettre L.S.* Csaba Horváth and the development of the first modern high performance liquid chromatograph // *LC-GC North America.* 2005. V. 23. № 5. P. 486.
19. *Striegel A.M.* Hamish Small: Experimenter extraordinaire // *LCGC North America.* 2015. V. 33. № 10. P. 776.
20. *McDonald P.D.* James Waters and his liquid chromatography people: A personal perspective / *The Chromatographic Society Golden Jubilee Book.* United Kingdom, 2006. P. 20.
21. *Small H.* A personal history of the conception and early development of ion chromatography / *The History and Preservation of Chemical Instrumentation. Series “Chemists and Chemistry”.* Dordrecht, Holland: D. Reidel Publishing Company, 1986. P. 97.
22. Фритц Дж., Герде Д., Поланд К. Ионная хроматография: Пер. с англ. М.: Мир, 1984. 224 с.
23. *Chromatography: A Century of Discovery 1900–2000 /* Eds. Gehrke Ch.W., Wixom R.L., Bayer E. Amsterdam: Elsevier Science B.V, 2001. 709 p.
24. *Christian G.D., Dasgupta P.K., Schug K.A.* Analytical Chemistry. 7th Ed. N.Y.: Wiley, 2014. P. 693.
25. Dionex Corporation – Company Profile, Information, Business Description, History, Background Information on Dionex Corporation. URL://<http://www.referenceforbusiness.com/history2/41/Dionex-Corporation.html#ixzz2chkWisGA/> (дата обращения – 15.01.2023).
26. *Small H.* Ion Chromatography. NY: Plenum Press, 1989. 276 p.
27. *Stevens T.S., Davis J.C., Small H.* Hollow fiber ion-exchange suppressor for ion chromatography // *Anal. Chem.* 1981. V. 53. P. 1488.
28. *Small H., Miller T.E.* Indirect photometric chromatography // *Anal. Chem.* 1982. V. 54. P. 462.
29. *Small H.* Modern inorganic chromatography // *Anal. Chem.* 1983. V. 55. № 2. P. 235A.
30. *Small H.* Half a century in separation science / *A Century of Separation Science /* Ed. Issaq H.J. N.Y.: CRC Press, 2001. P. 283.
31. *Riviello J.M.* Water, electricity and ion exchange; how Hamish Small sustained the evolution of ion chromatography. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07495>
32. *Small H., Riviello J.* Electrically polarized ion-exchange beds in ion chromatography: Ion reflux // *Anal. Chem.* 1998. V. 70. P. 2205.
33. *Elkin K.* Applications of ion chromatography in field based instrumentation / Доклад на конференции ACS Fall 2020, 17-20.08.2020 г. URL://<https://www.morressier.com/o/event/5f510f8733e12ddac138e635/article/5f511d216fdcf687198a3b0/> (дата обращения – 15.01.2023).

34. *Fritz J.S.* Applications of chromatography in the analysis of inorganic materials // *Pure Appl. Chem.* 1977. V. 49. P. 1547.
35. *Fritz J.S., Gjerde D.T.* Discovery and Early Development of Non-Suppressed Ion Chromatography // *J. Chromatogr. Sci.* 2010. V. 48. P. 525–532.
36. *Fritz J.S., Story J.N.* Chromatographic separation of metal ions on low capacity macroreticular resins // *Anal. Chem.* 1974. V. 46. P. 825.
37. *Gjerde D.T., Fritz J.S.* Chromatographic separation of metal ions on macroreticular anion exchange resins of a low capacity // *J. Chromatogr.* 1980. V. 188. P. 391.
38. *Gjerde D.T., Fritz J.S.* Effect of capacity on the behavior of anion-exchange resins // *J. Chromatogr.* 1979. V. 176. P. 199.
39. *Gjerde D.T., Fritz J.S., Schmuckler G.* Anion chromatography with low-conductivity eluents // *J. Chromatogr.* 1979. V. 186. P. 509.
40. *Gjerde D.T., Schmuckler G., Fritz J.S.* Anion chromatography with low-conductivity eluents II // *J. Chromatogr.* 1980. V. 187. P. 35.
41. *Fritz J.S., Gjerde D.T., Becker R.M.* Cation chromatography with a conductivity detector // *Anal. Chem.* 1980. V. 52. P. 1519.
42. *Roberts K., Gjerde D.T., Fritz J.S.* Single-column ion chromatography for the determination of chloride and sulfate in steam condensate and boiler feed water // *Anal. Chem.* 1980. V. 53. P. 1691.
43. *Fritz J.S., Gjerde D.T.* *Ion Chromatography.* 1st Ed., Heidelberg, N.Y.: Heuthig Verlag, 1982.
44. *Fritz J.S.* A look at contemporary ion chromatography // *J. Chromatogr.* 1988. V. 439. P. 3.
45. *Fritz J.S., Gjerde D.T.* *Ion Chromatography.* 4th Ed. 2009. Wiley-VCH. 377 p.

НОВЫЕ КНИГИ ИЗДАТЕЛЬСТВА JOHN WILEY & SONS, LTD.

DOI: 10.31857/S0044450223080133, EDN: SHKVPA

1. *Jutten C., Tomazeli Duarte L., Moussaoui S.* Source Separation in Physical-Chemical Sensing. Wiley, 2023. 400 p.
2. *Chang Y.-T., Kang N.-Y.* Sensors and Probes for Bioimaging. Wiley, 2023. 300 p.
3. Point-of-Care Biosensors for Infectious Diseases. Eds. Dave S., Das J. Wiley, 2023. 380 p.
4. Mossbauer Spectroscopy: Applications in Chemistry and Materials Science. Eds. Garcia Y., Wang J., Zhang T. Wiley, 2023. 320 p.
5. *Sasanuma Y.* Conformational Analysis of Polymers: Methods and Techniques for Structure-Property Relationships and Molecular Design. Wiley, 2023. 496 p.
6. Chiral Separations and Stereochemical Elucidation: Fundamentals, Methods, and Applications. Eds. Cass Q.B., Tiritan M.E., Batista J.M. Junior, Barreiro J. C. Wiley, 2023. 640 p.
7. *Tao F. (F.)* Application of Ambient Pressure X-ray Photoelectron Spectroscopy to Catalysis. Wiley, 2023. 272 p.
8. *Hermann C.K.F., Morrill T.C., Shriner R.L., Fuson R.C.* The Systematic Identification of Organic Compounds, 9th Ed. Wiley, 2023. 704 p.
9. Microbiological Identification using MALDI-TOF and Tandem Mass Spectrometry: Industrial and Environmental Applications. Eds. Shah H. N., Gharbia S.E., Shah A.J., Tranfield E.Y., Thompson K.C. Wiley, 2023. 560 p.
10. *Ledur Kist T.B.* Fluorescent Dye Labels and Stains: A Database of Photophysical Properties. Wiley, 2023. 496 p.
11. Chiral Separations and Stereochemical Elucidation: Fundamentals, Methods, and Applications. Eds. Cass Q.B., Tiritan M.E., Batista J.M. Junior, Barreiro J. C. Wiley, 2023. 640 p.
12. *Sasanuma Y.* Conformational Analysis of Polymers: Methods and Techniques for Structure-Property Relationships and Molecular Design. Wiley, 2023. 496 p.
13. *Voigtman E.* Limits of Detection in Chemical Analysis. Wiley, 2023. 368 p.
14. Biomedical Photonic Technologies. Eds. Zhang Z., Jiang S., Li B. Wiley, 2023. 304 p.
15. *Tissue B.M.* Basics of Analytical Chemistry and Chemical Equilibria: A Quantitative Approach, 2nd Ed. Wiley, 2023. 496 p.
16. *Wang J.* Analytical Electrochemistry, 4th Ed. Wiley, 2023. 240 p.
17. *Richards S.A., Hollerton J.C.* Essential Practical NMR for Organic Chemistry, 2nd Ed. Wiley, 2023. 268 p.
18. Chemometrics and Numerical Methods in LIBS. Ed. Palleschi V. Wiley, 2023. 384 p.
19. Cyber Investigations. Ed. Årnes A. Wiley, 2023. 272 p.
20. Capillary Electrophoresis – Mass Spectrometry for Proteomics and Metabolomics: Principles and Applications. Eds. Ramautar R., Chen D. D. Y. Wiley, 2023. 400 p.
21. Mass Spectrometry for Lipidomics: Methods and Applications. Eds. Holcapek M., Ekroos K. Wiley, 2023. 752 p.
22. *Kościelniak P.* Calibration in Analytical Science: Methods and Procedures. Wiley, 2023. 384 p.
23. Anthropology of Violent Death: Theoretical Foundations for Forensic Humanitarian Action. Eds. Parra R.C., Ubelaker D.H. Wiley, 2023. 432 p.
24. Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS): Concepts, Instrumentation, Data Analysis and Applications, 2 Volume Set. Eds. Singh V.K., Tripathi D.K., Deguchi Y., Wang Z. Wiley, 2023. 1008 p.
25. *Hermann C.K.F., Morrill T.C., Shriner R.L., Fuson R.C.* The Systematic Identification of Organic Compounds, Student Solutions Manual, 9th Ed. Wiley, 2023. 256 p.
26. *Schwedt G.* Taschenatlas der Analytik, 4 Auflage. Wiley, 2023. 288 p.
27. Analytical Techniques for the Elucidation of Protein Function. Eds. Suetake I., Sharma R. K., Hojo H. Wiley, 2023. 240 p.
28. Spectroscopy and Computation of Hydrogen-Bonded Systems. Eds. Wójcik M.J., Ozaki Y. Wiley, 2022. 544 p.
29. *Fleischhauer I.* Einführung in die Gute Laborpraxis: Ein praxisorientiertes Handbuch. Wiley, 2022. 224 p.
30. Leading Edge Techniques in Forensic Trace Evidence Analysis: More New Trace Analysis Methods. Ed. Blackledge R.D. Wiley, 2022. 368 p.

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

ЮБИЛЕЙ И.В. КУБРАКОВОЙ

DOI: 10.31857/S0044450223080182, EDN: SIFTCE



7 августа 2023 г. – юбилей Ирины Витальевны Кубраковой, доктора химических наук, заведующей лабораторией геохимии и аналитической химии благородных металлов Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН (ГЕОХИ).

И.В. Кубракова – выпускница химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. В 1976 г. она пришла на работу в ГЕОХИ и прошла путь от стажера-исследователя до заведующего лабораторией. Ирина Витальевна принимала участие в решении фундаментальных и прикладных геохимических задач, связанных с формированием крупнейших золоторудных и платинометалльных месторождений, в работах по экологической оценке техногенного загрязнения в зонах их разработки, изучении вещественного состава уникальных внеземных объектов. Ею разработаны комбинированные схемы определения следовых количеств элементов в

сложных природных и технологических объектах, предложены новые материалы для экоаналитических и биомедицинских исследований.

В конце 1980-х гг. И.В. Кубраковой были начаты исследования воздействия микроволнового излучения на физико-химические процессы в растворах и гетерогенных системах, выявлены особенности протекания химических реакций под действием излучения и развиты методы микроволновой пробоподготовки, обеспечивающие существенное повышение эффективности инструментальных методов. Полученные результаты были представлены в докторской диссертации “Микроволновое излучение в неорганическом анализе” (1999 г.).

С 2004 г. И.В. Кубракова заведует лабораторией. Под ее руководством проводятся исследования состава благороднометалльных объектов и геохимического поведения этих металлов в различных природных и природно-техногенных об-

становках. В рамках экспериментального моделирования поведения индивидуальных форм платиновых металлов и золота при контакте с природными сорбентами изучены закономерности переноса; предложена качественная модель накопления платины в океанических условиях; выявлено преобладание подвижности палладия по сравнению с платиной в ходе низкотемпературного преобразования пород.

В лаборатории развиваются методы анализа сложных объектов с применением различных вариантов микроволновой пробоподготовки в сочетании с современным инструментальным определением (АЭС-ИСП, МС-ИСП, ЭТААС, ВЭЖХ). Большое внимание при разработке новых схем следового анализа уделяется сочетанию опреде-

ления с современными методами концентрирования; новым направлением работы лаборатории стал микроволновый синтез наноразмерных сорбционных материалов с магнитными свойствами, их исследование и использование в анализе природных объектов, а также при решении технологических и биомедицинских задач.

И.В. Кубракова – автор более 150 научных статей и патентов, член Научного совета РАН по аналитической химии и ученого совета института, член бюро Научного совета по аналитическим методам ФНМЦ ВИМС.

Коллеги и друзья поздравляют Ирину Витальевну с юбилеем, желают ей крепкого здоровья и успехов в дальнейшей работе.