

ISSN 0044-4502

Том 78, Номер 9

Сентябрь 2023



ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ



www.sciencejournals.ru



СОДЕРЖАНИЕ

Том 78, номер 9, 2023

**Номер посвящен тематике IV Всероссийской конференции
по аналитической спектроскопии
Редактор-составитель – З.А. Темердашев**

ОБЗОРЫ

Выделение наночастиц из почвы и пыли и их исследование методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой в режиме анализа единичных частиц
М. С. Ермолин, П. С. Федотов 771

Однозарядные аргидные ионы AgM^+ в методе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой
А. А. Пупышев 783

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Селективные сорбенты на основе импринтированной глюкооксидазы
П. С. Пиденко, К. Ю. Пресняков, Д. Д. Дрозд, Н. А. Бурмистрова 807

Колориметрическое экспресс-определение биологически активных органических аналитов
Т. А. Соколова, И. В. Косырева, С. Ю. Доронин 813

Извлечение ПАУ из почв и донных отложений различного состава по технике QuEChERS с последующим хроматографическим определением
З. А. Темердашев, С. К. Овсян, Т. Н. Мусорина, Л. В. Васильева, А. М. Васильев, И. Г. Корпакова 821

Сравнительный анализ химического состава экстрактов из образцов растений рода *Mentha* L. после гидродистилляции и субкритической экстракции методом газовой хромато-масс-спектрометрии
Д. В. Назарова, З. А. Темердашев, Е. А. Виноцкая, Н. В. Киселева, М. В. Нагалецкий 837

Влияние сопутствующих заболеваний на профиль летучих органических соединений, входящих в состав выдыхаемого воздуха пациентов с раком легких
Э. М. Гашимова, А. З. Темердашев, В. А. Порханов, И. С. Поляков, Д. В. Перунов 848

Определение умифеновира и его метаболитов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с комбинированным масс-спектрометрическим детектированием
С. А. Сыпалов, Н. В. Ульяновский, Д. С. Косяков, А. Т. Лебедев 856

ВЫДЕЛЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ ИЗ ПОЧВЫ И ПЫЛИ И ИХ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ В РЕЖИМЕ АНАЛИЗА ЕДИНИЧНЫХ ЧАСТИЦ

© 2023 г. М. С. Ермолин^а, *, П. С. Федотов^а

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

*e-mail: ermolin@geokhi.ru

Поступила в редакцию 18.04.2023 г.

После доработки 21.04.2023 г.

Принята к публикации 24.04.2023 г.

Исследование природных и антропогенных наночастиц пыли и почвы является актуальной задачей аналитической химии и биогеохимии, решение которой требует применения взаимодополняющих методов разделения и анализа. В настоящей работе обобщены существующие подходы к выделению наночастиц из природных полидисперсных образцов. Рассмотрены методы экстрагирования наночастиц водными растворами, возможности интенсификации процесса извлечения наночастиц ультразвуковым полем, методы экстрагирования в точке помутнения, а также методы очистки выделяемых фракций наночастиц от примесей микрочастиц. Оценены преимущества и недостатки указанных методов. Отмечено, что успех исследования наночастиц почвы и пыли зависит от грамотного выбора комплекса методов выделения наночастиц из полидисперсных образцов и их очистки от примесей микрочастиц, а также методов характеристики и элементного анализа наночастиц. Особое внимание уделено масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой в режиме анализа единичных частиц как перспективному методу определения концентрации, размерного распределения и элементного состава наночастиц.

Ключевые слова: масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, анализ единичных частиц, наночастицы, пыль, почва, выделение.

DOI: 10.31857/S0044450223090049, EDN: ZWSFSJ

Наночастицы окружающей среды в зависимости от источника их происхождения можно разделить на две большие группы: природные и антропогенные [1]. К антропогенным наночастицам, в свою очередь, можно отнести синтетические и случайные (или техногенные) [1]. Синтетические наночастицы намеренно созданы человеком для тех или иных целей, в настоящее время они находят широкое применение в научных исследованиях, медицине, а также в промышленности при производстве косметики, красок, катализаторов, оптики, электроники, композиционных материалов и текстиля, что неизбежно приводит к их попаданию в окружающую среду [2]. По оценкам 2010 г. ежегодно в окружающую среду поступает порядка 0.3 млн тонн наночастиц TiO₂, Ag, Fe, Fe_xO_y, ZnO, Cu, CuO, Al₂O₃, CeO₂, SiO₂, наноглин и углеродных нанотрубок. Помимо свалок (около 0.2 млн тонн в год), основным резервуаром для выбрасываемых в окружающую среду синтетических наноча-

стиц являются почвы (около 0.08 млн тонн в год) [2].

В отличие от синтетических наночастиц, техногенные наночастицы являются побочным продуктом жизнедеятельности человека [1, 3]. Промышленные выбросы, добыча полезных ископаемых, износ деталей автомашин и авиационных двигателей, использование ископаемого топлива в тепловых электростанциях и многие другие антропогенные процессы являются источниками образования техногенных наночастиц [1]. Следует отметить, что в городской среде техногенные наночастицы в основном образуются в результате промышленной и строительной деятельности, износа и коррозии деталей автотранспорта и различных строительных сооружений, а также в результате утилизации и переработки отходов. Ежегодный выброс техногенных наночастиц по оценкам может достигать до 10 млн тонн [1].

Природные наночастицы существуют на нашей планете испокон веков и входят в состав поч-

вы, пыли и вулканического пепла. Вулканические извержения являются одним из основных источников природных наночастиц в окружающей среде. По последним оценкам, ежегодный вклад извержений вулканов в общее количество природных наночастиц составляет около 22 млн тонн [1]. Во время извержения наночастицы вулканического пепла могут быть выброшены на высоту десятков километров и достигать стратосферы, где затем распространяются вокруг всего Земного шара, годами воздействуя на различные его регионы [4]. Известно, что природные наночастицы могут играть важную роль в природных процессах [1]. Например, сделано предположение, что наноминеральные поверхности принимали участие в процессах самосборки протоклеток и ранней эволюции стенок клеток бактерий [5, 6]. Показано, что железосодержащие наночастицы как источник питательных элементов способны увеличивать биопродуктивность фитопланктона [7–9], влиять на геохимический цикл углерода [10, 11] и, следовательно, на изменение климата [1]. Установлено также, что периоды активного вулканизма на нашей планете совпадают с ее глобальным охлаждением [12], к которому приводит поглощение и рассеяние солнечной радиации частицами вулканического пепла в атмосфере [13].

Огромное количество природных и антропогенных наночастиц, попадающих в окружающую среду, может оказывать неблагоприятное воздействие на здоровье человека [3, 14–16]. Например, наночастицы могут легко проникать через альвеолярные мембраны легких и попадать в кровоток, концентрируясь в жизненно важных органах [17]. Важную роль в этом играет размер частиц; более мелкие наночастицы показали большую транслокацию и накопление [18]. Например, техногенные наночастицы магнетита размером порядка 10–150 нм обнаружены в ткани головного мозга человека [19].

Таким образом, как природные, так и антропогенные наночастицы повсеместно встречаются в окружающей среде и являются неотъемлемой составляющей Земных экосистем [1]. Определение и изучение свойств и элементного состава наночастиц окружающей среды имеет фундаментальное значение для геохимии и биогеохимии, оно также необходимо при оценке потенциальных рисков для экосистем и здоровья человека. Однако изучение наночастиц окружающей среды осложнено рядом особенностей как самих наночастиц, так и анализируемых образцов. К ним относятся:

- разнообразие размеров наночастиц окружающей среды;
- низкая концентрация наночастиц в природных образцах, таких как почва, пыль, вода;
- процессы агрегации природных и антропогенных наночастиц;

– возможные химические превращения наночастиц в условиях окружающей среды (например, растворение).

Данные особенности обуславливают ряд требований как к методам пробоподготовки природных образцов, так и к методам анализа наночастиц. Настоящая статья посвящена обзору существующих подходов к выделению наночастиц из природных полидисперсных образцов, таких как почва и пыль, и их исследованию перспективным и востребованным на сегодняшний день методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой в режиме анализа единичных частиц (МС-ИСП-ЕЧ).

ВЫДЕЛЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ ИЗ ПОЧВЫ И ПЫЛИ

При определении наночастиц окружающей среды в таких сложных полидисперсных образцах, как почва и пыль, важнейшим этапом является их экстрагирование (выделение) в водную фазу, пригодную, в частности, для дальнейшего анализа методом МС-ИСП-ЕЧ. Основным требованием к методам является полнота выделения наночастиц из почвы и пыли.

Экстрагирование водными растворами. Наиболее популярным подходом к выделению наночастиц из почвы и пыли является их экстрагирование в водную фазу. Для этой цели используют обычную деионизованную воду и растворы солей, кислот и щелочей.

Метод экстрагирования водными растворами довольно часто используют для выделения наночастиц из сложных полидисперсных образцов, таких как почва и донные отложения [20–22]. В ряде случаев методики предусматривают предварительное промывание образца почвы 0.1 М раствором NaCl для замещения двухвалентных катионов, затем перемешивание, центрифугирование и декантацию промывного раствора. После этого проводят экстрагирование деионизованной водой, при этом повторно диспергируют осадок, обрабатывают в ультразвуковой ванне и перемешивают в течение 24 ч. Затем образцы центрифугируют и отбирают супернатант, содержащий экстрагированные наночастицы. Данную методику применяли для выделения и анализа наночастиц донных отложений [20], а также наночастиц CuO [21] и CeO₂ [22] в почвах. Методика экстрагирования деионизованной водой показала 100%-ную эффективность при выделении наночастиц платины из донных отложений [23].

Однако не всегда экстрагирование наночастиц деионизованной водой имеет высокую эффективность. Так, например, низкая степень извлечения наночастиц серебра водой из почв отмечена в работе [24]; для песчаной почвы максимальная степень извлечения наночастиц серебра составила

44%, а для глинистой почвы – 42%. Максимальная степень извлечения в данном случае была достигнута для предварительно смоченной в течение 24 ч почвы, в которую затем еще добавляли воду, обрабатывали в ультразвуковой ванне, перемешивали, декантировали супернатант после 3-часовой седиментации и фильтровали через мембрану 5 мкм [24]. Несмотря на низкую степень извлечения наночастиц, авторы отмечают хорошую воспроизводимость результатов МС-ИСП-ЕЧ-анализа и возможность применения методики для экотоксикологических исследований [24].

Экстрагирование водными растворами также применяют для извлечения синтетических (CeO_2), техногенных (Pt и Pd) и природных металлосодержащих наночастиц из пыли, почвы и вулканического пепла [25–27]. Несмотря на относительно низкую эффективность выделения наночастиц, экстрагирование водой позволяет оценить транспорт наночастиц в условиях, приближенных к природным.

В работе [28] исследована эффективность выделения природных наночастиц из почвы с использованием шести различных методик и экстрагентов:

- 1) экстрагирование деионизованной водой;
- 2) предварительная промывание 0.1 М раствором NaCl для замещения катионов (прежде всего, двухвалентных) и последующее экстрагирование водой;
- 3) предварительная промывание 1 М CH_3COOH для удаления карбонатов, второе промывание 0.1 М раствором NaCl и последующее экстрагирование водой;
- 4) экстрагирование 2 мМ раствором пирофосфата натрия ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$);
- 5) предварительное промывание 0.1 М раствором NaCl и последующее экстрагирование 2 мМ раствором $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$;
- 6) экстрагирование 0.1 М раствором Na_2CO_3 .

Для предварительного промывания брали 4 г почвы, добавляли 40 мл раствора NaCl или CH_3COOH , перемешивали в течение 8 ч, затем центрифугировали, декантировали промывной раствор, добавляли основной экстрагент, опять перемешивали, центрифугировали и декантировали содержащий природные наночастицы супернатант для последующего анализа [28]. Для методик без предварительного промывания просто добавляли экстрагент, перемешивали в течение ночи, обрабатывали в ультразвуковой ванне, центрифугировали и декантировали содержащий природные наночастицы супернатант для последующего анализа [28]. В результате показано, что эффективность выделения природных наночастиц различными экстрагентами увеличивается в следующем порядке: CH_3COOH –NaCl–вода <

< вода \approx NaCl–вода < Na_2CO_3 < $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ < NaCl– $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$. Вода, растворы CH_3COOH и NaCl показали себя достаточно слабыми экстрагентами, которые можно использовать для экстрагирования только потенциально подвижных природных наночастиц [29]. NaCl используют для замещения многовалентных катионов в почвенных микроагрегатах [21], он способствует частичному разрушению агрегатов природных наночастиц, однако не приводит к значительному улучшению их экстрагирования по сравнению с деионизованной водой. $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ позволяет эффективно экстрагировать природные наночастицы из почвы. Это связано с тем, что, во-первых, пирофосфат-анион способен замещать адсорбированное органическое вещество на поверхности наночастиц [30], что приводит к увеличению абсолютного дзета-потенциала наночастиц и таким образом их стабилизации. Во-вторых, пирофосфат способен связывать свободные двух- и трехвалентные катионы (Ca^{2+} , Al^{3+} и Fe^{3+}), которые вызывают агрегацию наночастиц, снижающую эффективность экстрагирования.

Несмотря на высокую эффективность экстрагирования природных наночастиц растворами $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, в работе [31] большее количество природных наночастиц получали при их выделении в воду. Авторы связывают это явление как раз с высокой степенью диспергирования агрегатов частиц в суспензиях, экстрагированных $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ [28], что приводит к выделению наночастиц малого размера, которые не удается определить методом МС-ИСП-ЕЧ, в результате они зарегистрированы как растворимые (ионные) формы элементов [31].

В работе [32] также сравнивали эффективность воды и растворов NaNO_3 , KNO_3 , $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ для экстрагирования наночастиц серебра из почвы. В результате продемонстрирована наибольшая эффективность пирофосфата натрия по сравнению с другими экстрагентами; эффективность экстрагентов увеличивалась в следующем порядке $\text{KNO}_3 \approx \text{NaNO}_3 < \text{вода} < \text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ [32]. Выявлено, что оптимальная концентрация $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ в растворе составляет 2.5 мМ; при более низких концентрациях (0.25 мМ) наблюдали частичное растворение наночастиц серебра, тогда как более высокие концентрации (25 мМ) приводили к нестабильным результатам измерений методом МС-ИСП-ЕЧ, вероятно, вследствие связанных с натрием интерференций [32]. При использовании ультразвуковой обработки для диспергирования и седиментации при отделении микрочастиц максимальная эффективность выделения наночастиц серебра составила 84.1% [32]. В качестве экстрагента также использовали раствор гидроксида тетраметил-аммония, который показал сопоставимую с 2.5 мМ раствором $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ эффективность экстрагирования наночастиц серебра, однако воспроизводи-

мость результатов МС-ИСП-ЕЧ-анализа оказалась более низкой [32]. Авторы также отметили преимущество седиментации перед фильтрацией при отделении микронных частиц, поскольку фильтрация приводит к значительному удерживанию (и потере) наночастиц серебра [32].

Оценены эффективности растворов Na_2CO_3 , $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ и оксалата натрия ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) для экстрагирования природных наночастиц из почвы в зависимости от концентрации экстрагентов (2, 10 и 100 мМ) и рН (8, 9 и 10) [33]. Показано, что эффективность экстрагентов увеличивается в следующем порядке: $\text{Na}_2\text{CO}_3 < \text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4 < \text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$. Раствор пиррофосфата натрия показал в 2–12 раз более высокую степень извлечения природных наночастиц из почв по сравнению с другими экстрагентами. Кроме этого, извлеченные раствором $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ наночастицы имели узкое распределение по размерам с меньшим модалным размером по сравнению с наночастицами, выделенными другими экстрагентами. Установлено, что эффективность экстрагирования увеличивается с увеличением концентрации экстрагента и рН (за исключением концентрации 100 мМ, поскольку при такой высокой ионной силе раствора, наоборот, происходит агрегация наночастиц). Данный подход также применяли для экстрагирования наночастиц TiO_2 , CeO_2 и Fe_2O_3 [34].

Влияние концентрации пиррофосфата натрия на степень извлечения наночастиц из почвы также изучали на примере наночастиц CeO_2 . Показано, что при концентрации пиррофосфата натрия 1 мМ степень извлечения наночастиц CeO_2 из почвы составила 96.4%, а при увеличении концентрации пиррофосфата до 2.5 и 10 мМ степень извлечения возросла до 99.5% [35].

Интенсификация процесса экстрагирования в ультразвуковом поле. Извлечение наночастиц в водную фазу без добавления солей является наиболее привлекательным, поскольку позволяет избежать мешающего влияния посторонних ионов и интерференций, в частности, при использовании МС-ИСП-ЕЧ для дальнейшего анализа суспензий. Повысить эффективность воды как экстрагента в ряде случаев помогает ультразвуковое поле. Следует отметить, что ультразвуковую обработку суспензий часто применяют при экстрагировании в водную фазу для диспергирования образцов, однако при этом, как правило, в качестве источника ультразвука используют ультразвуковую ванну, обладающую низкой мощностью излучения. Для интенсификации процесса экстрагирования наночастиц из почвы и пыли с помощью воды применяют ультразвуковое излучение более высокой мощности. В работе [32] проведено сравнение степени извлечения наночастиц серебра из почвы без ультразвуковой обработки, с обработкой в ультразвуковой ванне и с использованием ультразвукового диспергатора (60 Вт). Установлено, что

использование ультразвукового диспергатора приводит к экстрагированию в 2–5 раз большего количества наночастиц по сравнению с извлечением в ультразвуковой ванне.

Метод ультразвукового диспергирования довольно широко используют для извлечения наночастиц из почвы [32, 36, 37]. Несомненным преимуществом использования ультразвукового поля при экстрагировании наночастиц в “чистую” воду является отсутствие возможных интерференций при последующем МС-ИСП-ЕЧ-анализе, связанных с добавлением солей, щелочей и кислот.

Параметры ультразвуковой обработки могут заметно влиять на результаты выделения наночастиц. В работе [38] изучено влияние мощности ультразвука, времени и температуры на экстрагирование синтетических наночастиц Ag и Au, а также Ti- и Zn-содержащих наночастиц из почвы и дорожной пыли в воду. Показано, что мощность ультразвукового излучения значительно влияет на экстрагирование наночастиц; максимальное извлечение наночастиц Ag, Au и Ti-содержащих наночастиц достигается при мощности ультразвука 285 Вт, тогда как в случае Zn-содержащих наночастиц для максимального извлечения достаточно 95 Вт. Выделение Zn-содержащих наночастиц при более низкой мощности ультразвука авторы связывают с их меньшим размером, что облегчает их отделение от матрицы [37]. Степень извлечения наночастиц Au и Ag при мощности ультразвука 285 Вт составила порядка 90%.

Время обработки ультразвуком также влияет на степень извлечения наночастиц. Например, для извлечения наночастиц Ag, Au и Ti-содержащих наночастиц достаточно 20 мин при мощности 285 Вт [38]. Для Zn-содержащих наночастиц максимальное извлечение достигалось при 15-минутной обработке, дальнейшая обработка ультразвуком приводит к снижению степени извлечения, что связано с частичным растворением Zn-содержащих наночастиц [38].

Температура дисперсионной среды также влияет на эффективность извлечения наночастиц водой при ультразвуковой обработке. Установлено, что максимальная степень извлечения наночастиц Ag, Au и Ti-содержащих наночастиц из почвы и пыли достигается при 15–25°C. Более высокие температуры, вероятно, способствуют агрегации наночастиц и снижению степени извлечения [38]. Для Zn-содержащих наночастиц наблюдали небольшое повышение степени извлечения и при температуре выше 15–25°C [38].

Авторы работы [38] также исследовали оптимальное соотношение твердой и жидкой фазы при экстрагировании водой. Очевидно, что чем выше концентрация частиц, тем выше вероятность их столкновения и агрегирования, поэтому оптимально использовать достаточно низкие соотношения

твердой и жидкой фаз. В работе [38] для наночастиц Ag, Au и Ti- и Zn-содержащих частиц найдена оптимальная концентрация суспензии для экстрагирования – 0.4 мг/мл. В работе [36] по извлечению наночастиц серебра из почвы найдена оптимальная концентрация суспензии для экстрагирования в ультразвуковом поле, которая составила 12 мг/мл.

В работе [39] использовали экстрагирование в ультразвуковом поле при изучении наночастиц платины в дорожной пыли. Авторы использовали ультразвуковое излучение мощностью 80 Вт при 40°C в течение 30 мин; для экстрагирования использовали суспензию пыли с концентрацией 50 мг/мл [39]. В работе [40] авторы использовали относительно небольшую мощность ультразвуковой обработки (в диапазоне 28–42 Вт) для экстрагирования наночастиц платины из дорожной пыли. Показано, что оптимальная для выделения мощность ультразвуковой обработки составляет 28 Вт, а более высокая мощность излучения способствует образованию большого количества кавитационных пузырьков, которые препятствуют передаче энергии и таким образом приводят к уменьшению степени извлечения наночастиц [40]. Авторы также оценили оптимальное соотношение дорожной пыли и воды при экстрагировании наночастиц платины, которое составило 40 мг/мл [40], что сопоставимо с результатами исследования [39].

Органическое вещество в почве и пыли существенно влияет на эффективность экстрагирования наночастиц водой в ультразвуковом поле. Например, в работе [38] установлено, что органическое вещество снижает степень извлечения наночастиц. Степень извлечения наночастиц золота из почвы с общим содержанием органического углерода 2.45% составила 83.3%, а из почвы с общим содержанием органического углерода 10.54% – всего 65.9%. Схожие результаты получены в работе [37]. Для образцов почвы и пыли с повышенным содержанием органического вещества (более 5%) рекомендуется использовать высокую мощность ультразвука (например, 475 Вт), увеличить время обработки (до 30 мин) и/или повысить температуру среды при обработке (до 25–35°C), что может повысить эффективность экстрагирования наночастиц [38].

На примере извлечения наночастиц серебра из почвы с низким содержанием органического вещества можно провести сравнение эффективности экстрагирования водой в ультразвуковом поле и экстрагирования водными растворами солей без ультразвуковой обработки. Степень извлечения при экстрагировании водой в ультразвуковом поле составила 44–68% [38], что выше, чем при экстрагировании раствором NaCl (44%) [24], но ниже, чем при использовании 2.5 мМ пирофос-

фата натрия (84.1% [32] и 53.4–100% [36]), который способствует диспергированию наночастиц.

Экстрагирование в точке помутнения. Экстрагирование в точке помутнения является достаточно простым и эффективным способом выделения и концентрирования наночастиц. Оно подразумевает добавление к водной пробе неионогенного поверхностно-активного вещества (ПАВ), часто ТХ-114, в концентрации, превышающей критическую концентрацию мицеллообразования. Полученную смесь нагревают до температуры выше точки помутнения (23°C для ТХ-114). Во время этого процесса водный образец становится мутным из-за образования мицелл (ПАВ), которые захватывают присутствующие в образце наночастицы. Мицеллы, содержащие наночастицы, плотнее воды, поэтому они осаждаются и концентрируются в небольшом объеме ПАВ, который можно отделить центрифугированием. Экстрагирование в точке помутнения используют для выделения и концентрирования синтетических наночастиц (например, Ag, Au, CuO, оксидов железа) из модельных растворов и природных вод [41–44].

Экстрагирование в точке помутнения также применяют при исследовании наночастиц твердых полидисперсных образцов, таких как почва и пыль. Важно отметить, что перед экстрагированием ПАВ всегда проводят экстрагирование водными растворами, чтобы перевести наночастицы из твердого образца в суспензию. В работе [45] изучена эффективность экстрагирования в точке помутнения наночастиц золота из почвенных вытяжек с использованием ТХ-114. Авторы показали, что метод позволяет эффективно выделять и концентрировать наночастицы золота с высоким выходом (более 90%) и сохранением исходного размерного распределения наночастиц. Также изучено выделение и концентрирование наночастиц серебра из почвенных вытяжек в присутствии ионов серебра [46]. Показано, что экстрагирование в точке помутнения не влияет на размер определяемых наночастиц серебра.

Преимуществом метода экстрагирования в точке помутнения является разделение наноразмерных и ионных форм определяемых элементов. В результате экстрагирования получают две фазы: одна фаза, обогащенная наночастицами, и вторая фаза, обогащенная водорастворимыми формами. Разделение наноразмерных и водорастворимых форм очень важно для последующего МС-ИСП-ЕЧ-анализа, поскольку водорастворимые формы могут искажать результаты определения наночастиц [46].

Необходимо отметить, что эффективность экстрагирования в точке помутнения зависит от pH среды [47], при этом максимальная эффективность экстрагирования достигается в точке нулевого заряда частиц. В работе [46] максимальная

степень экстрагирования наночастиц серебра, покрытых поливинилпирролидоном, наблюдали при рН 3.5.

Метод экстрагирования в точке помутнения применен для извлечения синтетических (Au и Pt) и техногенных наночастиц из дорожной пыли [48]. Авторы отметили увеличение размеров наночастиц Au и Pt (не более, чем на 8–9%) после экстрагирования. Степень извлечения зависит от размера и концентрации наночастиц, для наночастиц Au (30–200 нм) и Pt (30 и 50 нм) при их концентрации в пыли 200 и 160 нг/г соответственно она составила около 50%. При увеличении размера наночастиц платины до 70 нм эффективность выделения достигает 80%. Помимо извлечения синтетических наночастиц из пыли, в работе про-

вели экстрагирование и МС-ИСП-ЕЧ-анализ техногенных Cu-, Zn-, Zr-, Ce-, Pb-, Cd-, и Pt-содержащих наночастиц.

Методы выделения наночастиц из почвы и пыли обобщены в табл. 1.

Очистка выделяемых фракций наночастиц от примесей микрочастиц. При экстрагировании наночастиц описанными выше методами в выделяемые фракции, как правило, попадают и микрочастицы, которые нужно отделить перед последующим МС-ИСП-ЕЧ-анализом. Для этой цели седиментация и центрифугирование являются более привлекательными, чем мембранная фильтрация [23, 28, 31–33], поскольку вследствие адсорбции наночастиц на мембранах эффективность их выделения

Таблица 1. Методы выделения наночастиц из почвы и пыли

Экстрагент	Метод анализа	Образец	Анализируемые наночастицы	Литература
Экстрагирование водными растворами				
NaCl, H ₂ O	Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ	Почва	CuO	[21]
NaCl, H ₂ O	Времяпролетная МС-ИСП-ЕЧ	Почва	CeO ₂	[22]
NaCl, H ₂ O	Времяпролетная МС-ИСП-ЕЧ	Донные отложения	Pt	[23]
H ₂ O, додецилсульфат натрия	Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ	Почва	Ag	[24]
H ₂ O	Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ	Вулканический пепел	Ni, Zn, Ag, Cd, Tl, As, Pb, Bi, Te, Hg-содержащие наночастицы	[26]
H ₂ O	Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ	Пыль	Pt, Pd	[27]
H ₂ O, Na ₄ P ₂ O ₇	Времяпролетная МС-ИСП-ЕЧ	Почва	Природные наночастицы	[31]
H ₂ O, NaNO ₃ , KNO ₃ , Na ₄ P ₂ O ₇ , гидроксид тетраметиламмония	Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ	Почва	Ag	[32]
NaOH, Na ₂ CO ₃ , Na ₂ C ₂ O ₄ , Na ₄ P ₂ O ₇	Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ	Почва	Природные наночастицы	[33]
Na ₄ P ₂ O ₇	Времяпролетная МС-ИСП-ЕЧ	Почва	TiO ₂ , CeO ₂ , Fe ₂ O ₃	[34]
Na ₄ P ₂ O ₇	Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ	Почва	CeO ₂	[35]
H ₂ O	Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ (определение 2 элементов)	Почва	Каолинит, гетит	[69]
H ₂ O (УЗ-обработка)	Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ	Пыль, почва, донные отложения	Ag, Au; Ti-, Zn-содержащие наночастицы	[38]
H ₂ O (УЗ-обработка)	Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ	Пыль	Pt	[39]
H ₂ O (УЗ-обработка)	Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ	Пыль	Pt	[40]
Экстрагирование в точке помутнения				
TX-114, TX-100	Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ	Почва	Au	[45]
TX-114	Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ	Почва	Ag	[46]
TX-114	Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ	Пыль	Au, Pt; Cu-, Zn-, Zr-, Ce-, Pb-, Cd-, Pt-содержащие наночастицы	[48]

может существенно снижаться. Для расчета времени и скорости седиментации или центрифугирования при осаждении частиц заданного размера обычно используют хорошо известный закон Стокса:

$$v = \frac{2}{9} \times \frac{(\rho_p - \rho_f)}{\mu} g R^2,$$

где v – скорость седиментации частицы, м/с; ρ_p и ρ_f – плотности частицы и дисперсионной среды, кг/м³; μ – динамическая вязкость жидкости, Па · с; g – ускорение свободного падения, м/с²; R – радиус частицы.

Для оценки скорости осаждения почвенных наночастиц их среднюю плотность считают равной 2.5–2.65 г/см³ [21, 28, 31, 45]. На эффективность извлечения наночастиц влияет скорость вращения центрифуги. Исследования показывают, что при увеличении скорости вращения может снижаться степень извлечения наночастиц [40]. Авторы связывают данный эффект с соосаждением и агрегированием наночастиц с более крупными частицами [32, 40].

Альтернативой обычному центрифугированию является метод проточного фракционирования частиц во вращающейся спиральной колонке [50, 51]. Данный метод позволяет выделять фракции нано- и субмикрочастиц из почвы, пыли и вулканического пепла [25, 52, 53]. Показано, что метод проточного фракционирования частиц во вращающейся спиральной колонке обладает большей эффективностью выделения наночастиц из пыли по сравнению с обычным центрифугированием и мембранной фильтрацией [54].

ОСНОВЫ МЕТОДА МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ В РЕЖИМЕ АНАЛИЗА ЕДИНИЧНЫХ ЧАСТИЦ

В основе методов МС-ИСП-ЕЧ лежат различные виды МС-ИСП: квадрупольная, времяпролетная и мультиколлекторная. Данная группа методов предусматривает анализ сильноразбавленных суспензий наночастиц, которые при вводе в ИСП ионизируются, а затем попадают в масс-анализатор для детектирования. В результате “облако” ионов от каждой наночастицы дает сигнал в виде отдельного пика.

Методы МС-ИСП-ЕЧ позволяют получить важную информацию о наночастицах. Так, например, могут быть определены массы отдельных частиц (m_p), количественная (c_N) и массовая (c_m) концентрации частиц, а также распределение частиц по размерам (d_p):

$$c_N = \frac{N_p}{\eta q} \times 10^3,$$

где c_N – количественная концентрация частиц, частиц/л; N_p – количество обнаруженных частиц, частиц/мин; η – эффективность распыления и q – скорость подачи образца, мл/мин.

$$m_p = I_p \frac{\eta q t_d c_{\text{ion}}}{I_{\text{ion}}} \frac{M_p}{M_a} \times \frac{1}{60},$$

где m_p – масса отдельной частицы, нг; I_p и I_{ion} – интенсивности сигналов частиц и ионного стандарта соответственно, имп/с; t_d – время интегрирования сигнала “dwell time”, с; c_{ion} – концентрация ионного стандарта, мг/л; M_p и M_a – молярные массы вещества наночастицы и определяемого элемента соответственно, г/моль.

$$c_m = \frac{\sum m_p}{\eta q T} \times 10^3,$$

где c_m – массовая концентрация частиц, нг/л и T – общее время сбора данных, мин.

$$d_p = \sqrt[3]{\frac{6m_p}{\pi \rho_p}} \times 10^4,$$

где d_p – сферический эквивалентный диаметр частицы, нм; ρ_p – плотность частиц, г/см³.

Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ. МС-ИСП-ЕЧ – это относительно новый режим традиционной квадрупольной МС-ИСП. Он был первоначально предложен для анализа аэрозольных частиц [55] и спустя десять лет впервые применен для анализа суспензий [56–60]. Метод МС-ИСП-ЕЧ предполагает регистрацию сигнала с высокой частотой (10⁴–10⁵ Гц или при времени интегрирования сигнала порядка 10–100 мкс). Благодаря такой системе быстрого сбора данных, можно получить подробную информацию о сигнале, создаваемом каждой наночастицей [61]. Основное предположение, лежащее в основе МС-ИСП-ЕЧ, заключается в том, что каждый зарегистрированный импульс представляет собой одну наночастицу, а устойчивый сигнал между импульсами связан с растворенными формами элементов. В свою очередь, частота импульсов напрямую связана с количественной концентрацией наночастиц. Интенсивность каждого импульса пропорциональна количеству (массе) элемента в каждой обнаруженной наночастице [62].

В квадрупольных масс-анализаторах невозможно одновременное определение нескольких элементов/изотопов, поскольку переключение между различными значениями m/z требует определенного времени для стабилизации квадруполя (settling time). Время интегрирования сигнала (dwell time) и время стабилизации квадруполя (settling time) являются важными инструментальными параметрами для многоэлементного/изотопного определения [63]. Как правило, продолжительность сиг-

нала от одной наночастицы составляет несколько сотен микросекунд [63], поэтому при времени интегрирования и стабилизации квадрупольного порядка 100 мкс квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ позволяет последовательно определить не более двух элементов/изотопов в одной частице [63]. Однако в период стабилизации квадрупольного происхождения происходит значительная потеря ионов, образующихся из наночастиц, что может искажать результаты анализа. Чтобы повысить точность, необходимо иметь больше точек, соответствующих сигналу каждой частицы, для более полной реконструкции событий [63]. В недавнем исследовании эта цель была достигнута за счет дополнительного использования кислорода для увеличения продолжительности сигнала частицы до 1500–2000 мкс, что позволило одновременно определить два изотопа ^{107}Ag и ^{109}Ag в наночастицах серебра с помощью квадрупольной МС-ИСП-ЕЧ [64].

Помимо МС-ИСП-ЕЧ-анализа водных суспензий стоит упомянуть новый подход к анализу единичных частиц в твердых образцах, основанный на квадрупольной МС-ИСП с лазерной абляцией [65]. Идея квадрупольной МС-ИСП-ЕЧ с лазерной абляцией состоит в том, что при неплотном нанесении частиц почвы на подложку она вместе с “нетронутыми” синтетическими наночастицами может быть количественно перенесена в МС-ИСП. Данный подход к анализу единичных частиц в твердых полидисперсных образцах не требует стадии пробоподготовки, которая, помимо временных затрат, может вносить дополнительные погрешности в результаты анализа [65].

Мультиколлекторная МС-ИСП-ЕЧ. Мультиколлекторная МС-ИСП с магнитным анализатором и несколькими коллекторами ионов позволяет одновременно обнаруживать несколько элементов/изотопов. Ионы с разными m/z движутся с разными радиусами в однородном магнитном поле под действием силы Лоренца, далее ионы перемещаются к разным коллекторам [63]. Мультиколлекторная МС-ИСП обладает большими возможностями при определении нескольких изотопов в единичной частице. Из ограничений метода мультиколлекторной МС-ИСП-ЕЧ следует отметить необходимость близости масс определяемых изотопов, отсутствие специального программного обеспечения для обработки результатов анализа, стандартных методик работы, а также огромные размеры и высокую стоимость прибора, что значительно ограничивает широкое применение метода [63].

Времяпролетная МС-ИСП-ЕЧ является современным методом многоэлементного/изотопного анализа наночастиц [63, 66]. Во времяпролетном МС-ИСП-спектрометре ионы, образующиеся после ионизации частиц в ИСП, попадают во времяпролетный масс-анализатор, где далее ускоряются импульсным ускоряющим напряжением. Скорость

дрейфа ионов во времяпролетном масс-анализаторе зависит от их массы, в результате ионы достигают детектора в порядке увеличения их массы. Как правило, во времяпролетном анализаторе время, необходимое для достижения детектора самыми тяжелыми ионами, составляет десятки микросекунд, поэтому полные масс-спектры (m/z от 6 до 270) можно регистрировать через промежутки времени менее сотни микросекунд [66]. Благодаря высокой частоте сбора данных и короткому времени отклика времяпролетная МС-ИСП-ЕЧ обладает отличными характеристиками обнаружения многоэлементных/изотопных частиц [63]. Как и мультиколлекторная МС-ИСП-ЕЧ, времяпролетная МС-ИСП-ЕЧ позволяет одновременно определять несколько элементов/изотопов в отдельной наночастице, тогда как квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ не обладает такими возможностями [63].

Особенности МС-ИСП-ЕЧ-анализа. Следует подчеркнуть, что метод МС-ИСП-ЕЧ предполагает анализ сильноразбавленных суспензий наночастиц, поэтому важным этапом может быть разбавление суспензий экстрагированных наночастиц [22, 24, 31]. Высокое содержание наночастиц может приводить к наложению сигналов единичных частиц, что искажает результаты определения размера частиц, а также их концентрации. Кроме этого, разбавление анализируемой суспензии позволяет не только снизить концентрацию определяемых наночастиц, но и снизить концентрацию растворимых форм элементов и обусловленные ими возможные интерференции. Помимо этого, при повышенных концентрациях ионных форм элементов повышается предел обнаружения наночастиц. Важно отметить, что необходимость разбавления анализируемых суспензий зависит от концентрации наночастиц в исследуемых образцах, что, в свою очередь, зависит от соотношения образца и экстрагента.

Для корректного определения размера и концентрации наночастиц необходимо правильно определять базовую линию и порог обнаружения частиц, поскольку сигнал наночастиц может приводить к их завышению и, таким образом, к занижению концентрации наночастиц [26]. Для решения данной проблемы можно использовать контрольные образцы, например фильтраты анализируемых суспензий, в которых концентрация водорастворимых фракций такая же, как в суспензиях, но при этом отсутствуют наночастицы [26, 67].

ПРИМЕНЕНИЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ В РЕЖИМЕ АНАЛИЗА ЕДИНИЧНЫХ ЧАСТИЦ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ НАНОЧАСТИЦ ПОЧВЫ И ПЫЛИ

Как отмечено выше, синтетические наночастицы достаточно широко распространены в окружа-

ющей среде. Важной задачей является оценка степени загрязнения почв, пыли и донных отложений синтетическими наночастицами (например, TiO_2 , CeO_2 , Ag , Au , CuO). Для решения данной задачи прекрасно подходит метод квадрупольной МС-ИСП-ЕЧ, поскольку элементный состав синтетических наночастиц известен, что упрощает оценку их размерного распределения [21, 24, 28, 32, 35, 38, 45, 47]. Квадрупольная МС-ИСП-ЕЧ позволяет оценить не только концентрацию и размерное распределение наночастиц, но и содержание водорастворимых фракций элементов, что важно при изучении поведения и “старения” (в том числе растворения) наночастиц в условиях окружающей среды [35]. Метод квадрупольной МС-ИСП-ЕЧ можно успешно применять для идентификации и исследования металлсодержащих нано- и субмикронных частиц пыли. Так, например, в дорожной пыли определены концентрации содержащих тяжелые металлы (Cu , Zn , Zr , Ce , Pb , Cd , Pt) техногенных наночастиц, характерных для выбросов автотранспорта [48]. Также в дорожной пыли изучены техногенные наночастицы Pt и Pd из автомобильных катализаторов [27, 39, 40]. Следует особо отметить, что с помощью метода квадрупольной МС-ИСП-ЕЧ определены нанофазы ряда токсичных и потенциально токсичных элементов (Ni , Zn , Ag , Cd , Tl , As , Pb , Bi , Te , Hg) в образцах вулканического пепла [26], что имеет фундаментальное значение для геохимии. Вообще, говоря о геохимии, нужно также упомянуть об актуальной задаче определения нановключений в породах, которую можно решать с использованием квадрупольной МС-ИСП-ЕЧ.

Метод квадрупольной МС-ИСП-ЕЧ с лазерной абляцией имеет значительный потенциал при количественной оценке размерного распределения синтетических и природных наночастиц в почве [65]. Так, успешно разработан метод прямого определения наночастиц в почвенной матрице [65]. На примере наночастиц золота (60, 100 и 250 нм) показана линейная зависимость между количественной концентрацией наночастиц и частотой зарегистрированных сигналов. Степень извлечения наночастиц золота из почвы при лазерной абляции варьировалась от 15 до 60% и росла с размером частиц. Степень извлечения удалось увеличить до 70–85% при использовании толстой непрозрачной подложки, что свидетельствует о том, что материал подложки играет важную роль в поглощении избыточной лазерной энергии, тем самым увеличивая степень извлечения.

Использование времяпролетной МС-ИСП-ЕЧ значительно расширяет возможности МС-ИСП-ЕЧ, поскольку позволяет одновременно определять целый ряд элементов в одной наночастице [63]. Таким образом, метод дает возможность более подробно изучать элементный состав наночастиц и использовать полученные данные для

идентификации источников наночастиц в окружающей среде по принципу “отпечатков пальцев”. Например, метод времяпролетной МС-ИСП-ЕЧ позволяет отличить синтетические наночастицы CeO_2 от природных Ce -содержащих наночастиц вследствие их разного элементного состава [22]. Таких результатов невозможно добиться при помощи квадрупольной МС-ИСП-ЕЧ, поскольку данным методом можно определить одновременно лишь один–два элемента/изотопа. В работе [31] методом времяпролетной МС-ИСП-ЕЧ изучали элементный состав природных наночастиц, ассоциирование различных элементов и их соотношения для дифференцирования синтетических и природных наночастиц в объектах окружающей среды. Подобные исследования проводили и для наночастиц платины в дорожной пыли [23]. Многоэлементный анализ единичных наночастиц может быть также сильно востребован в геохимических исследованиях при изучении состава наночастиц и нановключений.

Высокая точность метода мультиколлекторной МС-ИСП-ЕЧ делает его одним из самых передовых при определении нескольких изотопов в отдельной наночастице [63]. Например, возможно одновременное определение ^{192}Pt , ^{194}Pt , ^{195}Pt , ^{196}Pt в наночастицах платины, несмотря на низкую концентрацию ^{192}Pt (0.8%) [68]. В работе [69] авторы определяли размер наночастиц серебра и соотношение в них $^{109}Ag/^{107}Ag$. Отмечено, что варибельность измеренного отношения $^{109}Ag/^{107}Ag$ зависит от размера наночастиц серебра: 12% для 40 нм, 4.9% для 60 нм, 1.9% для 80 нм, 1.2% для 100 нм и 0.26% для 200 нм [69].

В заключение следует отметить, что успех исследования природных и антропогенных наночастиц почвы и пыли зависит от грамотного выбора комплекса методов выделения наночастиц из полидисперсных образцов и их очистки от примесей микрочастиц, а также методов характеристики и элементного анализа наночастиц. При выборе методов следует принимать во внимание особенности образцов почвы и пыли – содержание наночастиц, их состав, свойства и размерное распределение.

Подбор, обобщение и анализ литературных данных по выделению наночастиц городской пыли выполнены при поддержке гранта РФФ № 23–14–00084. Работа соответствует тематике исследований ГЕОХИ РАН № FMMZ–2019–0010.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hochella M.F., Mogk D.W., Ranville J., Allen I.C., Luther G.W., Marr L.C., McGrail B.P., Murayama M., Qafoku N.P., Rosso K.M., Sahai N., Schroeder P.A., Vikesland P., Westerhoff P., Yang Y. Natural, incidental,

- and engineered nanomaterials and their impacts on the Earth system // *Science*. 2019. V. 363. Article eaau8299.
2. Keller A.A., McFerran S., Lazareva A., Suh S. Global life cycle releases of engineered nanomaterials // *J. Nanopart. Res.* 2013. V. 15. P. 1692.
 3. Jeevanandam J., Barhoum A., Chan Y.S., Dufresne A., Danquah M.K. Review on nanoparticles and nanostructured materials: History, sources, toxicity and regulations // *Beilstein J. Nanotechnol.* 2018. V. 9. P. 1050.
 4. Taylor D.A. Dust in the wind // *Environ. Health Perspect.* 2002. V. 110. P. A80.
 5. Sahai N., Kaddour H., Dalai P., Wang Z., Bass G., Gao M. Mineral surface chemistry and nanoparticle-aggregation control membrane self-assembly // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 1.
 6. Xu J., Campbell J.M., Zhang N., Hickey W.J., Sahai N. Did mineral surface chemistry and toxicity contribute to evolution of microbial extracellular polymeric substances? // *Astrobiology*. 2012. V. 12. P. 785.
 7. Lindenthal A., Langmann B., Pätzsch J., Lorkowski I., Hort M. The ocean response to volcanic iron fertilisation after the eruption of Kasatochi volcano: A regional-scale biogeochemical ocean model study // *Biogeosciences*. 2013. V. 10. P. 3715.
 8. Maters E.C., Delmelle P., Bonneville S. Atmospheric processing of volcanic glass: Effects on iron solubility and redox speciation // *Environ. Sci. Technol.* 2016. V. 50. P. 5033.
 9. Olgun N., Duggen S., Andronico D., Kutterolf S., Croot P.L., Giammanco S., Censi P., Randazzo L. Possible impacts of volcanic ash emissions of Mount Etna on the primary productivity in the oligotrophic Mediterranean Sea: Results from nutrient-release experiments in seawater // *Mar. Chem.* 2013. V. 152. P. 32.
 10. Bains S., Norris R.D., Corfield R.M., Faul K.L. Termination of global warmth at the Palaeocene/Eocene boundary through productivity feedback // *Nature*. 2000. V. 407. P. 171.
 11. Sigman D.M., Boyle E.A. Glacial/interglacial variations in atmospheric carbon dioxide // *Nature*. 2000. V. 407. P. 859.
 12. Cather S.M., Dunbar N.W., McDowell F.W., McIntosh W.C., Scholte P.A. Climate forcing by iron fertilization from repeated ignimbrite eruptions: The icehouse-silicic large igneous province (SLIP) hypothesis // *Geosphere*. 2009. V. 5. P. 315.
 13. Houghton J. Global warming // *Rep. Prog. Phys.* 2005. V. 68. P. 1343.
 14. Buzea C., Pacheco I.I., Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity // *Biointerphases*. 2007. V. 2. P. MR17.
 15. Ernst W.G. Overview of naturally occurring Earth materials and human health concerns // *J. Asian Earth Sci.* 2012. V. 59. P. 108.
 16. Trovato M.C., Andronico D., Sciacchitano S., Ruggeri R.M., Picerno I., Di Pietro A., Visalli G. Nanostructures: Between natural environment and medical practice // *Rev. Environ. Health*. 2018. V. 33. P. 295.
 17. Geiser M., Kreyling W.G. Deposition and biokinetics of inhaled nanoparticles // *Part. Fibre Toxicol.* 2010. V. 7. P. 2.
 18. Miller M.R., Raftis J.B., Langrish J.P., McLean S.G., Samutrtai P., Connell S.P., Wilson S., Vesey A.T., Fokkens P.H.B., Boere A.J.F., Krystek P., Campbell C.J., Hadoke P.W.F., Donaldson K., Cassee F.R., Newby D.E., Duffin R., Mills N.L. Inhaled nanoparticles accumulate at sites of vascular disease // *ACS Nano*. 2017. V. 11. P. 4542.
 19. Maher B.A., Ahmed I.A.M., Karloukovski V., MacLaren D.A., Foulds P.G., Allsop D., Mann D.M.A., Torres-Jardón R., Calderon-Garciduenas L. Magnetite pollution nanoparticles in the human brain // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2016. V. 113. P. 10797.
 20. Plathe K.L., von der Kammer F., Hassellöv M., Moore J., Murayama M., Hofmann T., Hochella M.F. Using FIFFF and aTEM to determine trace metal-nanoparticle associations in riverbed sediment // *Environ. Chem.* 2010. V. 7. P. 82.
 21. Navratilova J., Praetorius A., Gondikas A., Fabienke W., von der Kammer F., Hofmann T. Detection of engineered copper nanoparticles in soil using single particle ICP-MS // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2015. V. 12. P. 15756.
 22. Praetorius A., Gundlach-Graham A., Goldberg E., Fabienke W., Navratilova J., Gondikas A., Kaegi R., Günther D., Hofmann T., von der Kammer F. Single-particle multi-element fingerprinting (spMEF) using inductively-coupled plasma time-of-flight mass spectrometry (ICP-TOFMS) to identify engineered nanoparticles against the elevated natural background in soils // *Environ. Sci. Nano*. 2017. V. 4. P. 307.
 23. Taskula S., Stetten L., von der Kammer F., Hofmann T. Platinum nanoparticle extraction, quantification, and characterization in sediments by single-particle inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometry // *Nanomaterials*. 2022. V. 12. P. 3307.
 24. Mahdi K.N.M., Peters R.J.B., Klumpp E., Bohme S., van der Ploeg M., Ritsema C., Geissen V. Silver nanoparticles in soil: Aqueous extraction combined with single-particle ICP-MS for detection and characterization // *Environ. Nanotechnol. Monit. Manag.* 2017. V. 7. P. 24.
 25. Ермолин М.С., Федюнина Н.Н., Карандашев В.К., Федотов П.С. Изучение подвижности наночастиц оксида церия в почвах с использованием динамического экстрагирования в микроколонке и вращающейся спиральной колонке // *Журн. аналит. химии*. 2019. Т. 74. С. 624. (Ermolin M.S., Fedyunina N.N., Karandashev V.K., Fedotov P.S. Study of the mobility of cerium oxide nanoparticles in soil using dynamic extraction in a microcolumn and a rotating coiled column // *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. P. 825.)
 26. Ermolin M.S., Ivaneev A.I., Fedyunina N.N., Fedotov P.S. Nanospeciation of metals and metalloids in volcanic ash using single particle inductively coupled plasma mass spectrometry // *Chemosphere*. 2021. V. 281. Article 130950.
 27. Ermolin M.S., Ivaneev A.I., Brzhezinskiy A.S., Fedyunina N.N., Karandashev V.K., Fedotov P.S. Distribution of platinum and palladium between dissolved, nanoparticulate, and microparticulate fractions of road dust // *Molecules*. 2022. V. 27. P. 6107.
 28. Yi Z., Loosli F., Wang J., Berti D., Baalousha M. How to distinguish natural versus engineered nanomaterials: insights from the analysis of TiO₂ and CeO₂ in soils // *Environ. Chem. Lett.* 2020. V. 18. P. 215.

29. *Kretzschmar R., Sticher H.* Transport of humic-coated iron oxide colloids in a sandy soil: Influence of Ca^{2+} and trace metals // *Environ. Sci. Technol.* 1997. V. 31. P. 3497.
30. *Regelink I.C., Weng L., Koopmans G.F., van Riemsdijk W.H.* Asymmetric flow field-flow fractionation as a new approach to analyse iron-(hydr)oxide nanoparticles in soil extracts // *Geoderma.* 2013. V. 202–203. P. 134.
31. *Baalousha M., Wang J., Erfani M., Goharian E.* Elemental fingerprints in natural nanomaterials determined using SP-ICP-TOF-MS and clustering analysis // *Sci. Total Environ.* 2021. V. 792. Article 148426.
32. *Schwertfeger D.M., Velicogna J.R., Jesmer A.H., Saatioglu S., McShane H., Scroggins R.P., Princz J.I.* Extracting metallic nanoparticles from soils for quantitative analysis: Method development using engineered silver nanoparticles and SP-ICP-MS // *Anal. Chem.* 2017. V. 89. P. 2505.
33. *Loosli F., Yi Z., Wang J., Baalousha M.* Improved extraction efficiency of natural nanomaterials in soils to facilitate their characterization using a multimethod approach // *Sci. Total Environ.* 2019. V. 677. P. 34.
34. *Meili-Borovinskaya O., Meier F., Drexel R., Baalousha M., Flamigni L., Hegetschweiler A., Kraus T.* Analysis of complex particle mixtures by asymmetrical flow field-flow fractionation coupled to inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1641. Article 461981.
35. *Liu W., Shi H., Liu K., Liu X., Sahle-Demessie E., Stephan C.* A sensitive single particle-ICP-MS method for CeO_2 nanoparticles analysis in soil during aging process // *J. Agric. Food Chem.* 2021. V. 69. P. 1115.
36. *Li L., Wang Q., Yang Y., Luo L., Ding R., Yang Z.G., Li H.P.* Extraction method development for quantitative detection of silver nanoparticles in environmental soils and sediments by single particle inductively coupled plasma mass spectrometry // *Anal. Chem.* 2019. V. 91. P. 9442.
37. *Gao Y.P., Yang Y., Li L., Wei W.J., Xu H., Wang Q., Qiu Y.Q.* Quantitative detection of gold nanoparticles in soil and sediment // *Anal. Chim. Acta.* 2020. V. 1110. P. 72.
38. *Tou F., Niu Z., Fu J., Wu J., Liu M., Yang Y.* Simple method for the extraction and determination of Ti-, Zn-, Ag-, and Au-containing nanoparticles in sediments using single-particle inductively coupled plasma mass spectrometry // *Environ. Sci. Technol.* 2021. V. 55. P. 10354.
39. *Folens K., van Acker T., Bolea-Fernandez E., Cornelis G., Vanhaecke F., Du Laing G., Rauch S.* Identification of platinum nanoparticles in road dust leachate by single particle inductively coupled plasma-mass spectrometry // *Sci. Total Environ.* 2018. V. 615. P. 849.
40. *Sánchez-Cachero A., Fariñas N.R., Jiménez-Moreno M., Martín-Doimeadios R.C.R.* Quantitative analysis and characterization of PtNPs in road dust based on ultrasonic probe assisted extraction and single particle inductively coupled plasma mass spectrometry // *Spectrochim. Acta B: At. Spectrosc.* 2023. V. 203. Article 106665.
41. *Hartmann G., Schuster M.* Species selective preconcentration and quantification of gold nanoparticles using cloud point extraction and electrothermal atomic absorption spectrometry // *Anal. Chim. Acta.* 2013. V. 761. P. 27.
42. *Hartmann G., Baumgartner T., Schuster M.* Influence of particle coating and matrix constituents on the cloud point extraction efficiency of silver nanoparticles (Ag-NPs) and application for monitoring the formation of Ag-NPs from Ag^+ // *Anal. Chem.* 2014. V. 86. P. 790.
43. *Li L., Hartmann G., Döblinger M., Schuster M.* Quantification of nanoscale silver particles removal and release from municipal wastewater treatment plants in Germany // *Environ. Sci. Technol.* 2013. V. 47. P. 7317.
44. *Tsogas G.Z., Giokas D.L., Vlessidis A.G.* Ultratrace determination of silver, gold, and iron oxide nanoparticles by micelle mediated preconcentration/selective back-extraction coupled with flow injection chemiluminescence detection // *Anal. Chem.* 2014. V. 86. P. 3484.
45. *El Hadri H., Hackley V.A.* Investigation of cloud point extraction for the analysis of metallic nanoparticles in a soil matrix // *Environ. Sci. Nano.* 2017. V. 4. V. 105.
46. *Torrent L., Laborda F., Marguí E., Hidalgo M., Iglesias M.* Combination of cloud point extraction with single particle inductively coupled plasma mass spectrometry to characterize silver nanoparticles in soil leachates // *Anal. Bioanal. Chem.* 2019. V. 411. P. 5317.
47. *Torrent L., Iglesias M., Hidalgo M., Marguí E.* Determination of silver nanoparticles in complex aqueous matrices by total reflection X-ray fluorescence spectrometry combined with cloud point extraction // *J. Anal. At. Spectrom.* 2018. V. 33. P. 383.
48. *Baur S., Reemtsma T., Stärk H.J., Wagner S.* Surfactant assisted extraction of incidental nanoparticles from road runoff sediment and their characterization by single particle-ICP-MS // *Chemosphere.* 2020. V. 246. Article 125765.
49. *Ding K., Liang S., Xie C., Wan Q., Jin C., Wang S., Tang Y.T., Zhang M., Qiu R.* Discrimination and quantification of soil nanoparticles by dual-analyte single particle ICP-QMS // *Anal. Chem.* 2022. V. 94. P. 10745.
50. *Иванеев А.И., Ермолин М.С., Федотов П.С.* Разделение, характеристика и анализ нано- и микрочастиц окружающей среды: современные методы и подходы // *Журн. аналит. химии.* 2021. Т. 76. С. 291. (*Ivaneev A.I., Ermolin M.S., Fedotov P.S.* Separation, characterization, and analysis of environmental nano- and microparticles: state-of-the-art methods and approaches // *J. Anal. Chem.* 2021. V. 76. P. 413.)
51. *Ivaneev A.I., Ermolin M.S., Fedotov P.S., Faucher S., Lespes G.* Sedimentation field-flow fractionation in thin channels and rotating coiled columns: From analytical to preparative scale separations // *Sep. Purif. Rev.* 2020. P. 363.
52. *Ермолин М.С., Федотов П.С., Карандашев В.К., Шкинев В.М.* Методология выделения и элементного анализа наночастиц вулканического пепла // *Журн. аналит. химии.* 2017. Т. 72. С. 462. (*Ermolin M.S., Fedotov P.S., Karandashev V.K., Shkinev V.M.* Methodology for separation and elemental analysis of volcanic ash nanoparticles // *J. Anal. Chem.* 2017. V. 72. P. 533.)
53. *Ермолин М.С., Федотов П.С., Иванеев А.И., Карандашев В.К., Федюнина Н.Н., Еськина В.В.* Выделение и количественный анализ наночастиц дорожной пыли // *Журн. аналит. химии.* 2017. Т. 72. С. 448. (*Ermolin M.S., Fedotov P.S., Ivaneev A.I., Karandashev V.K., Fedyunina N.N., Eskina V.V.* Isolation and

- quantitative analysis of road dust nanoparticles // *J. Anal. Chem.* 2017. V. 72. P. 520.)
54. *Ivaneev A. I., Faucher S., Ermolin M.S., Karandashev V.K., Fedotov P.S., Lespes G.* Separation of nanoparticles from polydisperse environmental samples: comparative study of filtration, sedimentation, and coiled tube field-flow fractionation // *Anal. Bioanal. Chem.* 2019. V. 411. P. 8011.
 55. *Nomizu T., Kaneco S., Tanaka T., Yamamoto T., Kawaguchi H.* Determination of femto-gram amounts of zinc and lead in individual airborne particles by inductively coupled plasma mass spectrometry with direct air-sample introduction // *Anal. Sci.* 1993. V. 9. P. 843.
 56. *Degueldre C., Favarger P.Y.* Colloid analysis by single particle inductively coupled plasma-mass spectroscopy: A feasibility study // *Colloids Surf. A.* 2003. V. 217. P. 137.
 57. *Degueldre C., Favarger P.Y.* Thorium colloid analysis by single particle inductively coupled plasma-mass spectrometry // *Talanta.* 2004. V. 62. P. 1051.
 58. *Degueldre C., Favarger P.Y., Wold S.* Gold colloid analysis by inductively coupled plasma-mass spectrometry in a single particle mode // *Anal. Chim. Acta.* 2006. V. 555. P. 263.
 59. *Degueldre C., Favarger P.Y., Bitea C.* Zirconia colloid analysis by single particle inductively coupled plasma-mass spectrometry // *Anal. Chim. Acta.* 2004. V. 518. P. 137.
 60. *Degueldre C., Favarger P.Y., Rossé R., Wold S.* Uranium colloid analysis by single particle inductively coupled plasma-mass spectrometry // *Talanta.* 2006. V. 68. P. 623.
 61. *Laborda F., Bolea E., Jiménez-Lamana J.* Single particle inductively coupled plasma mass spectrometry for the analysis of inorganic engineered nanoparticles in environmental samples // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2016. V. 9. P. 15.
 62. *Laborda F., Bolea E., Jiménez-Lamana J.* Single particle inductively coupled plasma mass spectrometry: A powerful tool for nanoanalysis // *Anal. Chem.* 2014. V. 86. P. 2270.
 63. *Tian X., Jiang H., Hu L., Wang M., Cui W., Shi J., Liu G., Yin Y., Cai Y., Jiang G.* Simultaneous multi-element and multi-isotope detection in single-particle ICP-MS analysis: Principles and applications // *Trends Anal. Chem.* 2022. V. 157. Article 116746.
 64. *Chun K.H., Lum J.T.S., Leung K.S.Y.* Dual-elemental analysis of single particles using quadrupole-based inductively coupled plasma-mass spectrometry // *Anal. Chim. Acta.* 2022. V. 1192. Article 339389.
 65. *Tuoriniemi J., Holbrook T.R., Cornelis G., Schmitt M., Stärk H.J., Wagner, S.* Measurement of number concentrations and sizes of Au nanoparticles spiked into soil by laser ablation single particle ICPMS // *J. Anal. At. Spectrom.* 2020. V. 35. P. 1678.
 66. *Gundlach-Graham A.* Multiplexed and multi-metal single-particle characterization with ICP-TOFMS // *Compr. Anal. Chem.* 2021. V. 93. P. 69.
 67. *Goodman A.J., Gundlach-Graham A., Bevers S.G., Ranville J.F.* Characterization of nano-scale mineral dust aerosols in snow by single particle inductively coupled plasma mass spectrometry // *Environ. Sci. Nano.* 2022. V. 9. P. 2638.
 68. *Yamashita S., Ishida M., Suzuki T., Nakazato M., Hirata T.* Isotopic analysis of platinum from single nanoparticles using a high-time resolution multiple collector inductively coupled plasma – mass spectroscopy // *Spectrochim. Acta B: At. Spectrosc.* 2020. V. 169. Article 105881.
 69. *Yamashita S., Yamamoto K., Takahashi H., Hirata T.* Size and isotopic ratio measurements of individual nanoparticles by a continuous ion-monitoring method using Faraday detectors equipped on a multi-collector-ICP-mass spectrometer // *J. Anal. At. Spectrom.* 2022. V. 37. P. 178.

УДК 543.51

ОДНОЗАРЯДНЫЕ АРГИДНЫЕ ИОНЫ AgM^+ В МЕТОДЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ

© 2023 г. А. А. Пупышев*

Уральский федеральный университет
ул. Мира, 19, Екатеринбург, 620066 Россия

*e-mail: pupyshev@gmail.com

Поступила в редакцию 18.04.2023 г.

После доработки 24.04.2023 г.

Принята к публикации 24.04.2023 г.

Рассмотрено проявление в методе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП) однозарядных аргидных ионов AgM^+ , которые могут создавать значимые спектральные помехи при определении всех элементов Периодической системы с атомным номером выше 40 и измерении их изотопного состава. Приведены примеры таких характерных помех, указаны рекомендуемые и используемые таблицы помех для различных элементов. Обобщены опубликованные данные по определению энергий диссоциации аргидных ионов AgM^+ экспериментальными и теоретическими методами. Обсуждена связь энергий диссоциации аргидных ионов с их интенсивностями в масс-спектре. Рассмотрено экспериментальное определение численных значений уровня помех AgM^+/M^+ в МС-ИСП и влияние различных приборных и операционных факторов на это отношение. Указаны основные пути учета, снижения интенсивности AgM^+ в масс-спектрах или полного удаления помех аргидных ионов. Сделаны заключение и рекомендации по рассмотренным публикациям.

Ключевые слова: масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, аргидные ионы, энергии диссоциации ионов, операционные параметры приборов, эффективность образования аргидных ионов в индуктивно связанной плазме, дискриминация ионов по массе.

DOI: 10.31857/S0044450223090116, EDN: ZYAANP

В факеле аргоновой индуктивно связанной плазмы (ИСП), реализуемой при атмосферном давлении, в условиях высоких температур происходит взаимодействие атомов и ионов инертного газа аргона с вводимыми в разряд компонентами плазмообразующего газа, растворителя и матрицы образца, что приводит к образованию достаточно устойчивых однократно заряженных двухатомных аргидных ионов AgM^+ , где M – элементы Периодической системы, проявляющие металлические и неметаллические свойства [1]. Данные ионы наблюдаются, конечно, одновременно для всех изотопов аргона в полном соответствии с его естественным изотопным составом. Такое возникновение двухатомных ионов с аргоном в методе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП) хорошо известно [2] и к настоящему времени изучено экспериментально в большом числе аналитических работ. Интерес к данным ионам связан с тем, что возможность наличия их спектральных помех необходимо обязательно проверять и при необходимости учитывать при высокочувствительном определении многих элементов и измерении их изотопного состава.

В последние годы также получены результаты по наблюдению в МС-ИСП дважды заряженных двухатомных аргидных ионов AgM^{2+} [3–5], стабильность которых предсказана несколько десятилетий назад. Предполагается, что эти молекулярные ионы образуются в результате реакции двухзарядных атомных ионов элементов M^{2+} (другое применяемое обозначение M^{++}) с нейтральными атомами аргона Ar^0 внутри ионного источника. Распространенность данных ионов, обычно оцениваемая по соотношению интенсивностей ионных пиков AgM^{2+}/M^{2+} в масс-спектре, на три-четыре порядка выше, чем распространенность однозарядных аргидных ионов AgM^+/M^+ этих же элементов [4]. При этом необходимо помнить, что степень двукратной ионизации (образование M^{2+}) в МС-ИСП значима только для элементов с самыми низкими вторыми потенциалами ионизации атомов [1]. Для самого “опасного” с точки зрения проявления спектральных помех двухзарядных атомных ионов элемента бария (второй потенциал ионизации атомов бария составляет 10.00 эВ) при температуре ИСП 7500 К расчетное отношение $M^{2+}/M^+ = 0.124$. Все остальные элемен-

ты Периодической системы имеют более высокие значения второго потенциала ионизации атомов и, следовательно, меньшие отношения M^{2+}/M^+ .

Оба типа ионов (ArM^+ и ArM^{2+}) в МС-ИСП можно наблюдать одновременно. Ионы ArM^{2+} обладают половинными номинальными массами ($m/2z$) и создают в масс-спектре изобарные помехи измеряемым изотопам аналитов в случае, когда данные частицы образованы изотопами элементов M с четными массами (все изотопы аргона являются четными). Изотопы элементов M с нечетными массами также образуют ионы ArM^{2+} , но в полном соответствии с их значениями $m/2z$ они не производят в масс-спектре прямых изобарных помех атомным ионам изотопов аналитов и разрешаются даже квадрупольными приборами МС-ИСП. По-видимому, по этой причине в литературе проявление в МС-ИСП таких аргидных ионов пока не обсуждается. Опубликована первая таблица спектральных помех наиболее распространенных в МС-ИСП ионов ArM^{2+} с четными массами изотопов M [5]. Однако имеющейся информации по ионам ArM^{2+} пока недостаточно для изучения основных закономерностей их проявления в МС-ИСП. В данной работе далее обсуждаются только однозарядные аргидные ионы ArM^+ .

Тип связи в молекулярных (полиатомных) ионных соединениях ArM^+ обычно ближе к ковалентному, чем ван-дер-ваальсовскому [1]. Неметаллические аргидные ионы в МС-ИСП наблюдаются чаще, чем металлические. Аргидные ионы ArM^+ с основными элементами воды и воздуха ($M - H, C, N$ и O), поступающими в факел ИСП при анализе растворов, обычно классифицируют как фоновые ионы. К ним также относят димерные ионы аргона Ar_2^+ . Интенсивные фоновые ионы всегда присутствуют в любом масс-спектре аналитической зоны ИСП при введении водного ("влажного") аэрозоля [1]. При анализе проб с достаточно высокими содержаниями элементов M (матричные компоненты) в регистрируемом масс-спектре можно наблюдать появление ионов ArM^+ практически для всех этих элементов.

Внимание аналитиков к аргидным ионам ArM^+ вызвано, в первую очередь, тем, что они создают спектральные изобарные помехи при определении малых и ультрамалых концентраций элементов, обычно измеряемые в МС-ИСП изотопы которых совпадают с аргидными ионами по соотношению массы к заряду m/z . Возможность проявления спектральных изобарных помех ArM^+ нужно обязательно также учитывать при проведении изотопного анализа элементов. Это отражено в обзорных таблицах спектральных помех для метода МС-ИСП [6–10]. Таблицы основных спектральных наложений аргидных ионов, наряду с другими типами полиатомных ионов, имеются в

программном обеспечении всех современных приборов МС-ИСП. В работе [11] в диапазоне 60–70 а.е.м. приведена таблица всех аргидных ионов ArM^+ , мешающих определению Ni, Cu, Zn и Ga . Список спектральных помех аргидных ионов ArM^+ от основных компонентов атмосферы графитовой печи ($M - C, N, O$ и Ar) и компонентов применяемых матричных химических модификаторов ($M - Na, Ni, Pd, Mg$ и Cl) при электротермическом испарении проб в МС-ИСП представлен в работе [12].

В литературе описано много случаев проявления сильных спектральных помех для конкретных аналитов и видов проб. Например, приведена [13] таблица, классифицирующая по категориям мешающие проведению изотопного анализа ионы, где из аргонсодержащих ионов особо выделены $^{40}Ar^{12}C^+$ (помехи определению $^{52}Cr^+$), $^{40}Ar^{16}O^+$ ($^{56}Fe^+$), $^{40}Ar^{23}Na^+$ (сильнейшие спектральные помехи для $^{63}Cu^+$ при анализе проб морской воды), $^{40}Ar^{35}Cl^+$ ($^{75}As^+$), $^{40}Ar_2^+$ ($^{80}Se^+$). Особенно трудно определять указанные аналиты, когда используют масс-анализаторы с низкой разрешающей способностью по массе, такие как квадруполь.

С целью улучшения пределов обнаружения и точности элементных и изотопных определений в методе МС-ИСП необходимо знать возможные проявления и уровень помех аргидных ионов ArM^+ в масс-спектрах, влияние приборных и операционных параметров на их интенсивность, основные пути учета, снижения и устранения данных спектральных помех. Рассмотрению этих вопросов и посвящен настоящий обзор.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛЕННЫХ ЗНАЧЕНИЙ ArM^+/M^+

Для экспериментального получения точных численных значений ArM^+/M^+ необходимо в конкретных операционных условиях работы прибора МС-ИСП, определяющих кинетическую энергию ионов в факеле плазмы, предварительно получить кривую дискриминации ионов по массе (mass bias). Данную кривую в масс-спектрометрии иногда называют относительной чувствительностью измерений: зависимость интенсивности ионных токов (импульс/с) измеренных изотопов элементов от соотношения m/z [14]. Выбранные элементы для построения данной кривой должны иметь достаточно низкий первый потенциал ионизации атомов (обычно менее 8 эВ), чтобы их ионизация в ИСП была близка к 100% [1]. Элементы необходимо вводить в один калибровочный раствор в одинаковых низких концентрациях на уровне ppm (менее 10 ppm суммарно [15]) для предотвращения матричных ионизационных помех в плазме разряда. По измеренным значениям интенсивности изотопных

пиков рассчитывают молярную чувствительность (импульс/с)/(моль/л) каждого элемента, корректируя ее на его изотопную распространенность. В результате получается кривая дискриминации ионов по массе [14], необходимая для введения дальнейших поправок в экспериментальные результаты измерения отношений интенсивностей AgM^+/M^+ . Обычно данная зависимость от m/z в диапазоне масс до 100–115 а.е.м. может быть аппроксимирована прямой линией. Наклон прямой дискриминации по массе в этом диапазоне m/z является довольно значительным. Пренебрежение такой поправкой может привести к существенным погрешностям при определении численных значений AgM^+/M^+ . Поэтому экспериментально полученные при этих же операционных условиях анализа ионные отношения AgM^+/M^+ затем корректируют с помощью данной зависимости относительной чувствительности [15].

В табл. 1 найденные в литературе экспериментальные результаты измерений отношений AgM^+/M^+ , выполненные с учетом дискриминации ионов по массе в приборах МС-ИСП, помечены (*). В общем случае приведенные в этой таблице отношения AgM^+/M^+ для различных элементов М составляют очень большой диапазон значений: от $n \times 10^{-7}$ до $n \times 10^{-2}$ и более. Поэтому значения AgM^+/M^+ удобнее представлять в ppm (для этого реальное численное значение AgM^+/M^+ умножено на 10^6) [26, 28], что и выполнено в табл. 1.

В этой же таблице приведены основные приборные факторы и операционные условия наблюдения аргидных ионов AgM^+ , влияющие, по мнению авторов конкретных опубликованных работ, в той или иной мере на уровень AgM^+/M^+ : конструкция прибора (марка прибора МС-ИСП), вкладываемая в разряд высокочастотная мощность, наличие или отсутствие защиты факела плазмы от вторичного разряда на пробоотборный конус интерфейса (сэмплер), способ ввода пробы (лазерная абляция или распыление раствора, тип распылителя и распылительной камеры, скорость распыления пробы (мл/мин), наличие десольвататора аэрозоля), скорость потока и вид транспортирующего аэрозоль газа, параметры конусов интерфейса (сэмплера и скиммера), давление в некоторых областях ионопровода.

В работе [3] подчеркивается, что систематическое изучение образования молекулярных ионов методом МС-ИСП и другими различными методами плазменной масс-спектрометрии может использоваться для оценки помех ионам аналита в определении микроэлементов и ультрамикрорэлементов в неорганических материалах. Особенно это значимо при работе с приборами МС-ИСП среднего разрешения. Здесь особо необходимо отметить диссертационные работы [10, 23], пол-

ностью посвященные изучению аргидных помех в МС-ИСП. В работе [23] исследован весь спектральный диапазон до 220 а.е.м. и зарегистрировано возможное проявление аргидных ионов очень большого числа элементов. Наиболее надежными сам автор считает данные, подтвержденные изотопным распределением элементов М разноизотопных сигналов их аргидных ионов AgM^+ для Be, C, Na, P, V, Cr, Mn, Ni, Co, Cu, Ga, Nb, Ru, Rh, Pd, Ag, Cd, Te, Ho, Lu, Ta, Pt при концентрации элементов 10 ppm в одноэлементных растворах [23] (табл. 1, № 15). В работе [10], где исследовано проявление аргидных ионов 75 элементов, неизученными остались только следующие элементы М: Н, Не и другие инертные газы, Тс и другие искусственно полученные элементы, Lu, Hf, W, Re, Tl, Pb, Bi и актиноиды.

В общем случае ионы AgM^+ обладают, по мнению авторов [4], достаточно малой распространенностью в ИСП и наличие их спектральных помех не имеет большого значения в обычном элементном анализе методом МС-ИСП, если только их значения m/z не перекрываются с массовыми числами малораспространенных изотопов элементов. Но спектральные помехи аргидных ионов приобретают для аналитика решающее значение, когда в анализе необходимы точные количественные измерения элементного состава и изотопных отношений методом МС-ИСП. При этом, например, для высокоточных измерений изотопных отношений элементов, когда необходимо установить различие в вариации изотопного состава на уровне 10^{-4} – 10^{-5} , проблема усугубляется тем, что даже небольшая интенсивность спектральной помехи может изменить измеренное изотопное отношение более чем на неопределенность измерения [5]. Это приводит к тому, что полученное соотношение изотопов элемента может быть смещенным пропорционально отношению концентраций (интенсивностей в масс-спектре) мешающего аргидного иона и аналита.

Особенно такие проблемы при проведении анализа возникают в области легких элементов (низкие значения m/z), где спектральные помехи являются наиболее серьезными. Многоколлекторные приборы МС-ИСП с двойной фокусировкой позволяют существенно повысить точность измерений изотопных отношений за счет плоской формы вершины ионного пика и одновременного измерения сигналов при разных значениях m/z , но даже низкая интенсивность полиатомных аргидных ионов может вносить значительную погрешность в измеренные соотношения изотопов. Знание точной поправки на наличие этих потенциальных помех очень важно для технических и научных приложений высокоточного изотопного анализа [4] (в первую очередь, для геологии и геохимии).

Таблица 1. Приборные условия наблюдения и изучения масс-спектров аргидных ионов ArM^+ (M – химический элемент) в методе МС-ИСП (расположены по году публикации). Результаты измерения ArM^+/M^+ приведены с учетом (*) и без учета дискриминации ионов по массе

№ п/п	Аналитический прибор	Операционные условия анализа	ArM^+/M^+ , ppm	Литература
1	ELAN 5000 (PerkinElmer Sciex)	1000 Вт, электротермический испаритель HGA-600MS, транспортирующий поток аргона $V_{\text{Ar}} = 0.9$ л/мин		[12]
2	SPQ-8000A (Seiko Instrument Inc.)	1200 Вт, система защиты для факела горелки, стандартный распылитель, охлаждаемая распылительная камера, $V_{\text{Ar}} = 0.9$ л/мин		[16]
3	PMS2000 (Yokogawa Analytical System)	Варьирование высокочастотной мощности и V_{Ar} , система ShieldTorch для факела горелки, концентрический пневматический распылитель, охлаждаемая распылительная камера двойного прохождения		[17]
4	Element (Finnigan-MAT)	1200 Вт, распылитель Мейнхарда, $V_{\text{Ar}} = 1.0$ л/мин	H – 4.4×10^6 , N – 35, O – 1110, Ar – 3000, Ga – 40, As – 40; Li, Be, Na, Mg, Al, Si, Sc, V, Mn, Co, Ni, Cu и Ag – от 0.36 (Na) до 260 (Ni); PЗЭ – от 0.02 (Yb) до 40 (La)	[18]
5	Elan 5000 (PerkinElmer Sciex)	1050 Вт, лазерная абляция (ЛА), $V_{\text{Ar}} = 0.8$ л/мин	O – 25, N – 6.9, Ar – 3000, Ga – 40, As – 40	[18]
6	МС-ИСП с двойной фокусировкой	1200 Вт, распылитель Мейнхарда $V_{\text{Ar}} = 1$ л/мин	Na, Mg, V, Co, Ni, Cu, Zn, Hg – от 0.2 до ~3000; Li, Be, B, Na, Mg, Al – 0.1–1.0; Si, P – 1–10; C, S – 10–100; N, Cl – 100–1000; H, O, F – 1000–3000	[2, 3]
7	Квадрупольный МС-ИСП	1050 Вт, ЛА МС-ИСП, $V_{\text{Ar}} = 0.8$ л/мин		[2, 3]
8	PlasmaQuad 3 (VG Elemental)	1350 Вт и 700 Вт, распылитель Мейнхарда, двухпроходная распылительная камера (12.5°C), $V_{\text{Ar}} = 1.0$ л/мин, защита факела горелки в режиме холодной плазмы		[19]
9	Прибор лабораторного изготовления (home-made)	1250 Вт, ультразвуковой распылитель с десольвататором, $V_{\text{Ar}} = 0.78$ л/мин		[15]
10	Elan 6100 DRC (PerkinElmer Sciex)	1450 Вт, концентрический микропоточковый распылитель (160 мкл/мин) с циклонной распылительной камерой, варьирование V_{Ar}	Cr – (15–95)	[20]
11	PQ3 (VG Elemental)	1350 Вт, $V_{\text{Ar}} = 0.89$ л/мин		[21]
12	PQ II Plus (Fisons VG)	1350 Вт, ЛА, транспортирующий поток газа 1.19 л/мин (Ar) или 1.05 л/мин (Ne)		[22]

Таблица 1. Продолжение

№ п/п	Аналитический прибор	Операционные условия анализа	ArM ⁺ /M ⁺ , ppm	Литература
13	VG Axiom	1250 Вт, микроконцентрический распылитель, десольватирующая система Aridus, $V_{Ar} = 0.75-0.95$ л/мин		[11]
14	Micromass IsoProbe	1336 Вт, микроконцентрический распылитель, десольватирующая система Aridus, $V_{Ar} = 0.69-0.80$ л/мин		[11]
15	ELAN 6100 DRC (PerkinElmer Sciex)	1100–1200 Вт, концентрический распылитель Мейнхарда TQ-30-A3 – 1 мл/мин, $V_{Ar} = 0.8-1.0$ л/мин, циклонная распылительная камера		[23]
16	Agilent 7500a, (Agilent Technologies)	1000–1600 Вт, ЛА New Wave UP193 SS, конус сэмплера – Pt 1 мм, конус скиммера – Pt 0.4 мм, давление в интерфейсе 330 ± 20 Па, $V_{Ar} = 0.7-1.05$ л/мин	Co, Ni, Cu, Zn – 40–90*	[24]
17	Agilent 7500cs (Agilent Technologies)	1300 Вт, ЛА Resonetics M50 ArF excimer, конус сэмплера – Pt 1 мм, конус скиммера – Pt 0.4 мм, давление в интерфейсе 410 ± 30 Па, $V_{Ar} = 0.7-1.05$ л/мин	Co, Ni, Cu, Zn – 10.5– 30*	[24]
18	Agilent 7500ce (Agilent Technologies)	1300 Вт, ЛА Resonetics M50 ArF excimer, конус сэмплера – Pt 1 мм, конус скиммера – Pt 0.4 мм, давление в интерфейсе 410 ± 30 Па, $V_{Ar} = 0.7-1.05$ л/мин	Co, Ni, Cu, Zn – 5–11*	[24]
19	Agilent 7500s (Agilent Technologies)	1300 Вт, ЛА New Wave UP213, конус сэмплера – Pt 1 мм, конус скиммера – Pt 0.4 мм, давление в интерфейсе 360 ± 20 Па, $V_{Ar} = 0.7-1.05$ л/мин	Co, Ni, Cu, Zn – 9–20*	[24]
20	Agilent 7700x (Agilent Technologies)	1300 Вт, ЛА New Wave UP213, конус сэмплера – Pt 1 мм, конус скиммера – Pt 0.4 мм, давление в интерфейсе 360 ± 20 Па, $V_{Ar} = 0.7-1.05$ л/мин	Co, Ni, Cu, Zn – 2–4.5*	[24]
21	Elan 6100 DRC (PerkinElmer Sciex)	1500 Вт, ЛА Geolas ArF excimer, конус сэмплера – Al 0.9 мм, конус скиммера – Ni 0.9 мм, давление в интерфейсе ~530 Па, $V_{Ar} = 0.7-1.05$ л/мин	Co, Ni, Cu, Zn – 40–80*	[24]
22	Thermo XSeries II (Thermo Electron Corporation's)	1200 Вт, ЛА New Wave UP213, конус сэмплера – Ni 1 мм, конус скиммера – Ni 0.4 мм, давление в интерфейсе 220 Па, $V_{Ar} = 0.7-1.05$ л/мин	Co, Ni, Cu, Zn – 10.5–20*	[24]
23	820 MS (Varian)	“Холодная” плазма, глубина пробоотбора 5.5–11.5 мм, $V_{Ar} = 0.95$ л/мин, распылитель Seaspray, распылительная камера двойного прохождения		[25]
24	XSeries II (Thermo Electron Corporation's)	1400 Вт, ЛА LSX-500, $V_{Ar} = 1.0$ л/мин	Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn – 0.54 (Fe) до 12.5 (Ni)*	[26, 27]

Таблица 1. Окончание

№ п/п	Аналитический прибор	Операционные условия анализа	ArM ⁺ /M ⁺ , ppm	Литература
25	XSeries II (Thermo Electron Corporation's)	1400 Вт, V _{Ar} = 0.9 л/мин, десольватация аэрозоля, скорость ввода раствора в плазму 0.12 мкл/мин, защитный электрод факела с большим зазором, сменные конуса скиммера	Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn – 0.31 (Fe) до 8.12 (Ni)*	[28]
26	Nu Plasma HR (Nu Instruments)	1300 Вт, микроконцентрический распылитель MicroMIST (100 мкл/мин), циклонная распылительная камера с охлаждением Пельтье или мембранный десольвататор DSN 100, варьирование V _{Ar}	Mg – 16, Ca – 3.2, Sr – 1.6, Ba – 0.8	[4]
27	Nu Plasma HR (Nu Instruments)	1300 Вт, микроконцентрический распылитель MicroMIST (100 мкл/мин), циклонная распылительная камера с охлаждением Пельтье или мембранный десольвататор DSN 100, варьирование V _{Ar}	Ba – n·0.1–n·1.0	[5]
28	Neptune MC (Thermo Electron Corporation's)	600 Вт, пневматический распылитель, мембранная десольватация, V _{Ar} = 0.57 л/мин		[29]
29	Elan 6000 (PerkinElmer Sciex)	1200 Вт, концентрический распылитель Мейнхарда – 1 мл/мин, циклонная распылительная камера, V _{Ar} = 0.8–1.0 л/мин	Rb, Sr, Cs, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Yb, Ta – менее 0.1; Ti, Y, Nb, In, Sb, I, Os, Ir – 0.1–1.0; Na, Mg, Al, S, Sc, V, Mn, Fe, Ga, Ge, Zr, Mo, Cd, Pt, Hg – (1–10); Li, Si, Cr, Co, Ni, As, Br, Ru, Rh, Pd, Ag, Au – (10–100); B, P, Cl, Cu – (100–1000); C – (1000–5000)	[10]

ЭНЕРГИИ ДИССОЦИАЦИИ АРГИДНЫХ ИОНОВ ArM⁺

Уровень содержания аргидных ионов ArM⁺/M⁺ в МС-ИСП (не рассматривая пока физических условий, реализуемых в плазме разряда, и особенностей влияния приборных факторов), в первую очередь, определяется, по сложившемуся общему мнению, энергией диссоциации D₀(ArM⁺) (энергией разрыва связи) частиц ArM⁺. По нашему мнению, влияние на уровень ArM⁺/M⁺ также оказывают, только в существенно меньшей степени, концентрация в факеле плазмы и энергия ионизации молекул (радикалов), которые являются прекурсорами (ArM), а также первый потенциал ионизации атомов M.

Обычно считается, что высокой прочности связи в аргидном ионе D₀(ArM⁺) соответствует боль-

шая интенсивность сигнала иона ArM⁺ в методе МС-ИСП [1]. Согласно накопленным к настоящему времени достаточно обширным экспериментальным и теоретическим данным по D₀(ArM⁺) большинства элементов Периодической системы (табл. 2), прочность связи для аргидных ионов неметаллов (ArH⁺, ArC⁺, ArN⁺, ArO⁺, ArF⁺, ArSi⁺, ArP⁺, ArS⁺, ArCl⁺, Ar₂⁺) существенно превышает значения энергии диссоциации аргидных ионов металлов (металлоаргидные ионы) [1]. Поэтому более высокую интенсивность в МС-ИСП аргидных ионов неметаллов по сравнению с металлоаргидными ионами можно интерпретировать как более высокую устойчивость первых ионов [18].

Это мнение авторы работы [15] сформировали после сравнительного изучения полученных с помощью двух разных приборов МС-ИСП и способов ввода проб (распыление растворов и лазерная

Таблица 2. Опубликованные теоретические и экспериментальные (*) значения энергий диссоциации аргидных ионов $D(\text{ArM}^+)$ (кДж/моль, ккал/моль и см^{-1} пересчитаны в эВ по данным справочника [30])

Ион	Диапазон энергий, эВ	Опубликованные значения энергий диссоциации аргидных ионов, эВ
ArH ⁺	2.48–6.16	2.48–4.3 [31*], 2.65 [32*], 3.58 [33], 3.65–4.14 [31], 3.82 [34*], 3.83 [35], 3.89 [36], 3.97 ± 0.21 [16], 4.02 [37], 4.02 ± 0.03 [38*], 4.03 [19], 4.035 [16], 4.04 [39], 6.0 [40*], 6.16 [15]
ArHe ⁺	0.025–0.040	0.025–0.040 [41], 0.03 ± 0.009 [40*]
ArLi ⁺	0.229–0.59	0.229 [42], 0.238 [43], 0.246–0.33 [41], 0.253 [44], 0.276–0.550 [43*], 0.293 [34*, 35], 0.303–0.312 [42*], 0.342–0.59 [40*]
ArBe ⁺	0.450–0.55	0.450 [42], 0.472–0.568 [41], 0.487–0.527 [45], 0.506 [42*], 0.507 ± 0.026 [40*], 0.509 ± 0.002 [46*], 0.548 [34*], 0.55 [35]
ArB ⁺	0.05–0.338	0.05–0.269 [47], 0.234 [42], 0.242–0.311 [41], 0.295 [34*], 0.299 [42*], 0.312 [48*], 0.338 [40*]
ArC ⁺	0.424–0.935	0.424–0.933 [47], 0.749 [16], 0.749–0.974 [40*], 0.75 [39], 0.874 [42], 0.88 [19], 0.891–0.917 [41], 0.90 ± 0.03 [16], 0.935 [42*]
ArN ⁺	1.21–2.29	1.21–2.16 [40*, 47], 1.866 [15, 16], 1.87 [16, 39], 1.94 [19], 2.078 [42], 2.108–2.147 [41], 2.16 ± 0.1 [49*], 2.29 [42*]
ArO ⁺	0.312–0.68	0.312 [15, 16], 0.35–0.68 [40*], 0.415 [42], 0.42 [19], 0.433–0.678 [41], 0.56 ± 0.20 [16], 0.6 [50], 0.62 [39], 0.68 [42*], 0.68 ± 0.02 [51*]
ArF ⁺	0.693–3.03	0.693–2.08 [42], 1.67 [32*], 1.68 [40*], 1.996–2.15 [41], 2.121 ± 0.12 [52], 3.03 [53]
ArNe ⁺	0.069–0.078	0.069 [42], 0.077 [40*], 0.078 [41]
ArNa ⁺	0.119–0.251	0.119–0.211 [43*], 0.120 [43], 0.127 [44], 0.143 [54], 0.157–0.179 [41], 0.165 [34*, 35], 0.186–0.251 [40*]
ArMg ⁺	0.117–0.199	0.117–0.199 [40*], 0.127 [43], 0.129–0.154 [45], 0.133 [44], 0.141 [54], 0.153 [55], 0.156 ± 0.002 [46*], 0.158 [56*], 0.159 [57*], 0.159–0.190 [4], 0.160 [35], 0.161 [34*, 35]
ArAl ⁺	0.122–0.219	0.122 [58*], 0.129 [34*], 0.160 [40*], 0.219 [41]
ArSi ⁺		6.44 [41]
ArP ⁺		4.54 [41]
ArS ⁺		3.87 [41]
ArCl ⁺	1.75–2.2	1.75 [41], 1.75–1.88 [40*], 2.2 [50]
ArAr ⁺	0.068–1.85	0.068–1.35 [40*], 1.049 [32], 1.05 [19], 1.2 [15], 1.3 [50, 59], 1.33–1.85 [41], 1.38 [53]
ArK ⁺	0.061–0.164	0.061 [43], 0.064–0.14 [43*], 0.106 [34*, 35], 0.143–0.164 [57*]
ArCa ⁺	0.080–0.147	0.08–0.103 [60], 0.0912 [46*], 0.092 [34*, 35], 0.110 ± 0.01 [56*], 0.114 [4], 0.125–0.147 [40*]
ArSc ⁺		0.149 [54]
ArTi ⁺	0.150–0.31	0.150–0.218 [54], 0.31 [26–28]
ArV ⁺	0.169–0.407	0.169 [61*], 0.260–0.407 [40*], 0.291 [26, 27, 43], 0.299 [44], 0.313 [54], 0.368 [56*], 0.369 [26*, 27*, 28*, 43*, 54*], 0.38 [62*], 0.383 [63*]
ArCr ⁺	0.110–0.328	0.110 [64], 0.238 [54], 0.239 [26, 27], 0.29 [26*, 27*, 28*, 54*], 0.290 ± 0.004 [56*, 63*, 65*, 66], 0.322–0.328 [40*]
ArMn ⁺	0.131–0.32	0.131 [54], 0.149 [26–28, 64], 0.32 [3*]
ArFe ⁺	0.11–0.532	0.11 [27*, 27, 28*], 0.11 ± 0.08 [67*], 0.140–0.331 [43], 0.145–0.308 [44], 0.147–0.532 [40*], 0.151 [64], 0.151–0.493 [68], 0.175–0.332 [54], 0.331 [69], 0.493 [26, 27, 69]
ArCo ⁺	0.131–0.571	0.131–0.392 [43], 0.185 [64], 0.185–0.533 [68], 0.188–0.429 [54], 0.392 [44, 69], 0.508 [28*, 43*, 54*, 63*, 69*, 70*], 0.509 ± 0.0006 [56*, 71*], 0.51 [26*, 27], 0.533 [26, 27, 69], 0.545–0.571 [40*]
ArNi ⁺	0.231–0.589	0.231 [64], 0.231–0.550 [68], 0.338–0.450 [43], 0.348–0.464 [44], 0.45 [69, 72], 0.520 [26, 27, 69], 0.549 [63*], 0.55 [26*, 27*, 28*, 43*, 54*, 64*, 69*, 73*], 0.558–0.589 [40*], 0.567 [56*]

Таблица 2. Окончание

Ион	Диапазон энергий, эВ	Опубликованные значения энергий диссоциации аргидных ионов, эВ
ArCu ⁺	0.194–0.567	0.194–0.460 [64], 0.194–0.530 [68], 0.379 [43, 69], 0.392 [44], 0.405 [54], 0.509 [74], 0.521 [34*], 0.523 [35], 0.53 [26–28, 69], 0.536–0.567 [40*]
ArZn ⁺	0.25–0.359	0.25 [26*, 27*, 28*], 0.294–0.359 [40*], 0.322 [26, 27, 68, 69]
ArGa ⁺		0.132 [34*, 35]
ArBr ⁺	0.034–0.058	0.034–0.058 [40*]
ArKr ⁺	0.056–0.627	0.056–0.627 [40*]
ArRb ⁺	0.089–0.160	0.089 [34*, 35], 0.126–0.160 [40*]
ArSr ⁺	0.069–0.138	0.069–0.079 [4], 0.077–0.099 [60], 0.080 [34*, 35], 0.1025 ± 0.033 [46*], 0.138 ± 0.030 [40*]
ArZr ⁺	0.335–0.374	0.335 [56*], 0.335 ± 0.002 [75*], 0.374 ± 0.003 [40*]
ArNb ⁺	0.383–0.423	0.383 [63*], 0.385 [56*], 0.423 ± 0.001 [40*]
ArAg ⁺	0.25–0.322	0.25 [18*], 0.314 [74], 0.322 [34*, 35]
ArCd ⁺		0.31 [3*]
ArIn ⁺		0.110 [34*, 35]
ArXe ⁺	0.065–0.247	0.065–0.247 [57*]
ArCs ⁺	0.077–0.138	0.077 [34*, 35], 0.099–0.138 [57*]
ArBa ⁺	0.065–0.123	0.065–0.086 [4], 0.082 [76], 0.084 [46*], 0.085 [34*], 0.086 [35], 0.123 [57*]
ArPt ⁺		0.376 ± 0.091 [40*]
ArAu ⁺	0.41–0.497	0.41 [35], 0.497 [34*]
ArHg ⁺	0.203–0.221	0.203–0.219 [40*], 0.221 [53]
ArTl ⁺		0.114 [34*]
ArFr ⁺		0.074 [34*, 35]
ArRa ⁺	0.058–0.06	0.058 [60], 0.06 [34*, 35]
ArU ⁺		0.056 [34*]

Примечание: в некоторых публикациях приведены одновременно данные по $D(\text{ArM}^+)$, полученные теоретически и экспериментально.

абляция) экспериментальных значений ArM^+/M^+ молекулярных ионов аргона ArH^+ , ArO^+ , ArN^+ , Ar_2^+ и ArM^+ , где М – атом металла (табл. 1, №№ 4 и 5). Разная интенсивность аргидных ионов и большая устойчивость неметаллических молекулярных ионов аргидов объясняются, по мнению авторов работы [18], различиями в типе и энергии химической связи. Аргидные ионы металлов ArM^+ имеют энергию диссоциации частиц на уровне $n \times 0.1$ эВ, тогда как неметаллические молекулярные ионы аргона прочно связаны с энергией порядка обычных значений энергии химической связи – несколько электронвольт (см. табл. 2). Энергии связи $D_0(\text{ArM}^+)$ в металлоаргидных ионах имеют низкие значения в начале периода и возрастают с ростом атомного номера элемента [18] (табл. 2).

В работе [3] сопоставлением справочных значений энергий связи большой группы (табл. 1, № 6)

аргидных ионов со значениями ArM^+/M^+ в МС-ИСП показано, что, по мнению авторов, в МС-ИСП экспериментально получены более низкие, чем теоретические значения интенсивности аргидных ионов, за исключением ArO^+ и ArF^+ , а для Ar_2^+ – значительно более высокая интенсивность. Однако конкретные данные по такому сопоставлению в работе [3] отсутствуют.

В работе [18] приведено характерное поэлементное распределение экспериментальных уровней ArM^+/M^+ для всей группы редкоземельных элементов (РЗЭ) в МС-ИСП (табл. 1, № 4). В общем случае значения ArM^+/M^+ для разных РЗЭ меняются от 0.02 ppm (Yb) до 40 ppm (La), а ход распределения достаточно строго коррелирует с уровнем содержания оксидных ионов OM^+/M^+ (или по другому обозначению – MO^+/M^+) для РЗЭ в МС-ИСП, т.е., по-видимому, с энергией связи

оксидных ионов OM^+ (MO^+), но эффективность образования ионов OM^+ (т.е. OM^+/M^+) более чем на три порядка выше, чем AgM^+ . Экспериментальные или расчетные данные по энергиям связи аргидных ионов РЗЭ в работе [18] отсутствуют.

В общем случае значения $D_0(AgM^+)$ (табл. 2) намного ниже, чем энергии образования оксидных ионов OM^+ (MO^+) для всех элементов Периодической таблицы, поэтому эффективность образования в ИСП аргидных ионов существенно ниже, чем оксидных ионов [1]. Однако из-за высокой концентрации аргона и продуктов диссоциации аргидных ионов в ИСП ($n(Ar) \approx 10^{24} \text{ м}^{-3}$, $n(Ag^+) \approx 10^{21} \text{ м}^{-3}$ и $n(O^-) \approx 10^{20} \text{ м}^{-3}$ [77, 78]), в то время как концентрация атомов даже матричных элементов при их содержании в анализируемом растворе до 100 мг/л обычно $n(M) < 10^{17} \text{ м}^{-3}$ [77]), интенсивность в масс-спектре аргидного иона AgO^+ существенно выше, чем ионов AgM^+ и MO^+ .

В литературе (табл. 2) имеются данные о том, что в низкотемпературной плазме, а следовательно, и в ИСП также образуются аргидные ионы с атомами других инертных газов ($ArHe^+$, $ArNe^+$, $ArKr^+$ и $ArXe^+$). Но паспортные содержания этих примесных инертных газов в используемом для аналитической работы аргоне очень низкие, а их аргидные ионы имеют очень маленькие значения $D_0(AgM^+)$ (табл. 2). Поэтому указанные аргидные ионы в традиционном методе МС-ИСП практически не наблюдаются.

Необходимо отметить, что наиболее часто авторы определяли значения $D_0(AgM^+)$ для элементов I–III групп и 1–4 периодов Периодической таблицы элементов (табл. 2). В литературе полностью отсутствуют такие справочные данные для аргидных ионов лантаноидов и актиноидов (кроме урана). Наибольшее число сопоставительных данных по $D_0(AgM^+)$ ряда элементов приведено в монографиях [34, 40]. Нужно также сказать, что в литературе отсутствуют крайне необходимые работы по критическому сравнению значений $D_0(AgM^+)$, установленных теоретически или экспериментально для максимально большого круга элементов Периодической системы.

Необходимость последнего нашего замечания вытекает из следующего. Анализируя опубликованные справочные данные табл. 2, к которым мы будем далее еще обращаться, необходимо заметить, что значения $D_0(AgM^+)$ различные авторы определяли неоднократно, используя разные теоретические и экспериментальные методы и способы. Для многих приведенных в литературе значений $D_0(AgM^+)$ авторами указаны даже погрешности измерений (см. табл. 2), обычно достаточно низкие по сравнению с измеряемым значением прочности связи. Но в большинстве случаев опубликованные значения $D_0(AgM^+)$ ионов аргидов практически любого элемента Периодической системы существенно различаются между собой в разных публикациях. Поэтому в табл. 2 для быстрого сопоставления данных приведена отдельная колонка диапазона энергий опубликованных значений прочности связи изученных аргидных ионов. А разброс найденных значений $D_0(AgM^+)$ элементов, стоящих рядом в Периодической таблице, не позволяет, по нашему мнению, сделать однозначное заключение о том, энергия диссоциации какого аргидного иона AgM^+ из этих элементов будет больше или меньше.

Зарегистрированный в работе [18] (табл. 1, № 4) уровень металлоаргидных ионов (Li, Be, Na, Mg, Al, Si, Sc, V, Co, Mn, Ni, Cu и Ag) в МС-ИСП составлял от 0.36 ppm ($ArNa^+$) до 260 ppm ($ArNi^+$), т.е. варьировал в диапазоне почти трех порядков величины. При этом авторами установлено, что соотношения полученных экспериментальных значений AgM^+/M^+ обнаруживают хорошую линейную корреляцию с рассчитанными энергиями связи элементов группы металлоаргидных ионов [44]. Однако в данной корреляции авторы [18] учитывали только металлоаргидные ионы Na, Mg, Fe (при этом численные данные по $FeAg^+$ в работе [18] не представлены), Li, Cu, Co, Ni (расположены в порядке возрастания приведенных в работе [11] значений $D_0(AgM^+)$ от 0.253 до 0.451 эВ). Но этом авторы работы [3] не указывают, по каким критериям отобраны для этого графика значения $D_0(AgM^+)$ для указанных выше семи элементов, хотя опубликованные энергии связи аргидных ионов этой группы элементов имеют достаточно большие диапазоны значений (табл. 2). Тем не менее, используя найденную корреляцию и экспериментально определенные значения $AgAg^+/Ag^+$, авторы оценили энергию диссоциации $D_0(AgAg^+) \approx 0.25$ эВ.

В последующих работах [2, 3], выполненных с участием некоторых авторов работы [18], изучено образование кластеров и молекулярных ионов в плазменной масс-спектрометрии. При введении растворов в МС-ИСП (табл. 1, № 6) для легких элементов H, Li, Be, B, C, N, O, F, Na, Mg, Al, Si, P, S и Cl, имеющих энергию связи $D_0(AgM^+)$ от 0.2 до 4 эВ [18], значения AgM^+/M^+ меняются от 0.2 до ~3000 ppm, причем их периодичность коррелирует, по мнению авторов, с ходом энергии связи аргидных ионов этих элементов. Здесь же для Na, Mg, V, Hg, Zn, Cu, Ni и Co, т.е. для несколько другой, в отличие от работы [18], группы элементов (перечисленные элементы вновь расположены в порядке возрастания экспериментальных AgM^+/M^+ и справочных значений $D_0(AgM^+)$) также установлена линейная связь между измеренными значениями AgM^+/M^+ и известной энергией диссоциации

этих частиц $D_0(\text{ArM}^+)$ с высоким значением коэффициента корреляции. Это позволило авторам по измеренным значениям ArM^+/M^+ в этом случае оценить значения энергий диссоциации аргидных ионов марганца (0.32 эВ) и кадмия (0.31 эВ). Однако при этом вновь не указано, по каким критериям отбирали для этого графика приведенные в литературе значения $D_0(\text{ArM}^+)$, в то время как согласно табл. 2 опубликованные энергии связи аргидных ионов этой группы элементов также имеют достаточно большие диапазоны значений.

Авторы работ [3, 18] отмечают, что в общем случае энергии связи и, следовательно, интенсивности ионов аргидов металлов, содержащих атомы переходных металлов (например, ArCo^+ , ArNi^+ , ArCu^+), выше, чем в случаях, когда атом металла имеет низкий первый ионизационный потенциал атома (например, ArMg^+ , ArNa^+).

Экспериментально и теоретически определенные энергии диссоциации ионов ArM^+ с переходными металлами составляют не выше 0.55 эВ, что иллюстрирует, по мнению авторов работы [26], слабосвязанную природу этих ионов (см. табл. 2). Несмотря на это, абсолютное обилие помех ArM^+ в масс-спектре МС-ИСП все еще может оказать значительное влияние на обнаружение микроэлементов, когда М представляет матричный элемент [26].

В работе [67] измеренные отношения сигналов ArM^+/M^+ щелочноземельных элементов Mg, Ca, Sr и Ba (табл. 1, № 26) находились на уровне ppm. По мнению авторов, полученные значения ArM^+/M^+ коррелируют с энергиями связи данных ионов, и такая корреляция для этой малой группы из четырех элементов действительно существует (табл. 2).

В работе [10] (табл. 1, № 29) автор отмечает, что прослеживается (на примере восьми элементов) тенденция увеличения ArM^+/M^+ с ростом энергии диссоциации аргидных ионов (в статье значения $D_0(\text{ArM}^+)$ взяты из работы [44]). Однако и в этом случае вывод сделан на основании изучения корреляции только для небольшой группы элементов и в коротком диапазоне изменения энергий диссоциации аргидных ионов: от 0.12 до 0.47 эВ. Оцененный нами по приведенному в работе [10] графику для этих результатов коэффициент корреляции составляет ~0.8–0.9, что не позволяет использовать подобные корреляции для точных количественных оценок.

Всего автором работы [10], как отмечено выше, систематически определены уровни содержания аргидных ионов 75 элементов (табл. 1, № 29). Полученные значения ArM^+/M^+ для элементов с $m/z < 80$ в основном меньше или равны значениям, найденным в работе [18], а для больших атомных масс, особенно редкоземельных элементов, отношения ArM^+/M^+ в работе [18] постоянно вы-

ше в 50–1000 раз. Анализируя эти данные, можно заключить, что соотношение экспериментальных значений ArM^+/M^+ , полученных в работах [18] и [10], составляет от 0.003 (Be) до 871 (La), т.е. наблюдается огромный разброс результатов определения эффективности образования аргидных ионов. По мнению автора работы [70], это может быть связано с различием используемых приборов и операционных параметров, а также зависимостей дискриминации масс (в работах [10] и [18] относительную чувствительность измерений не учитывали). Тем не менее автор работы [10] заключает, что экспериментальные отношения MAr^+/M^+ могут, если известна интенсивность иона M^+ , служить полезным пособием для оценки в масс-спектре интенсивности сигналов аргидных ионов ArM^+ , имеющих возможность перекрываться с измеряемыми элементарными ионами при том же значении m/z . По этим данным также можно наблюдать периодическую природу многоатомных ионов аргона в плазме и лучше понимать процессы образования ионов.

В работе [26] (табл. 1, № 24), выполненной с лазерной абляцией проб, измеренные значения ArM^+/M^+ линейно коррелируют с энергиями диссоциации для небольшой группы элементов (Fe, Mn, Zn, Cr, Ti, V, Co, Cu, Ni) и составляют от 0.54 ppm (Fe) до 12.5 ppm (Ni). По мнению авторов, это согласуется с данными работ [18, 24]. Выбор для корреляции энергий диссоциации аргидных ионов в работе [26] также отсутствует.

Опубликованы и противоположные результаты. Так, например, при изучении в работе [24] аргидных ионов в приборах МС-ИСП также с лазерной абляцией установлено, что из четырех протестированных аргидных ионов (Co, Ni, Cu и Zn) (табл. 1, №№ 16–22) наиболее распространенным в масс-спектре является NiAr^+ , а наименее распространенным — CoAr^+ . Измеренные уровни аргидных ионов не коррелируют, по мнению авторов работы, с уровнями оксидных ионов и с уровнями производства и передачи многоатомных ионных соединений, не содержащих аргон. Необходимо также отметить, что это также не согласуется с энергиями $D_0(\text{ArM}^+)$ данных ионов в табл. 2.

ВЛИЯНИЕ ПРИБОРНЫХ И ОПЕРАЦИОННЫХ ФАКТОРОВ НА УРОВЕНЬ ArM^+/M^+

Изучение опубликованных работ по наблюдению аргидных ионов в МС-ИСП и сопоставление уровней ArM^+/M^+ , полученных в разных экспериментальных условиях с использованием приборов разнообразных марок различных коммерческих фирм (табл. 1), позволяет сделать некоторые обобщения по влиянию приборных и операцион-

ных факторов на регистрируемый уровень аргидных ионов AgM^+ . Последовательность нашего рассмотрения соответствует ходу превращений компонентов пробы на этапах получения “влажного” или “сухого” аэрозоля, преобразования аэрозоля в факеле плазмы до атомно-молекулярного и ионного вида, их попадания в интерфейс прибора МС-ИСП, а затем транспортировки ионов в первую высоковакуумную область, расположенную между скиммером и первой экстракционной линзой. В совокупности на всем этом пути, согласно опубликованным работам, прослеживается получение или разрушение однозарядных аргидных ионов AgM^+ .

Ввод “влажного” или “сухого” аэрозоля проб. Использование распылителя с мембранной десольватацией (“сухой” аэрозоль) в температурных условиях нормальной плазмы эффективно удаляет спектральные помехи фоновых оксидных ионов OM^+ [29] (табл. 1, № 27), что вполне закономерно, так как уменьшается количество кислорода в факеле плазмы. Но это ведет одновременно к некоторому увеличению интенсивности сигналов другого фонового иона $^{40}Ag^{14}N^+$ и для его подавления требуется использование условий “холодной” плазмы. По данным работы [79], введение в плазму “сухого” аэрозоля при использовании десольватации снижает помехи фоновых аргидных ионов более чем на 99%.

Эксперименты, проведенные на двух приборах МС-ИСП (табл. 1, №№ 13 и 14) показали, что интенсивность аргидных ионов AgM^+ при переходе от “влажного” к “сухому” аэрозолю возрастает в 1.5–2.0 раза [11]. По мнению авторов, это может отражать усиление вторичного разряда в области интерфейса. Разряд плазмы на заземленный металлический конус пробоотборника появляется из-за возникновения высокого постоянного потенциала в факеле плазмы и контролирует образование аргидных ионов, в то время как наблюдаемое увеличение интенсивности пиков атомных ионов элементов согласуется с повышением температуры и, следовательно, эффективности ионизации элементов при вводе “сухого” аэрозоля.

При вводе в МС-ИСП “влажного” аэрозоля растворов и “сухого” аэрозоля лазерной абляции (ЛА) (метод ЛА МС-ИСП) [18] экспериментально получены одинаковые интенсивности ионов AgM^+ ($M - Ga, As, Be$ или V) и димерных ионов аргона (Ar_2^+) (табл. 1, №№ 4 и 5). Авторы работы [15] объяснили это тем, что процессы формирования ионного потока в ИСП для обоих способов ввода проб одинаковы. К такому же заключению пришли авторы этой группы в последующих работах [2, 3] (табл. 1, №№ 6 и 7) на основании измерений большого числа элементов с использованием “влажного” и “сухого” аэрозоля.

Исследования для метода ЛА ИСП-МС в [24] с семью различными приборами (табл. 1, №№ 16–22), разными приставками для лазерной абляции и достаточно близкими операционными параметрами измерений показали, что уровни содержания одних и тех же аргидных ионов в регистрируемых масс-спектрах различаются до 30 раз, в то время как различие в интенсивностях других полиатомных помех, например оксидных ионов, различается менее чем в три раза. Это можно объяснить (см. ниже) некоторым различием в конструкциях приборов МС-ИСП.

Измерения аргидных ионов при лазерной абляции в работе [24] (табл. 1, № 22) выполнены на той же модели прибора (XSeries 2), что и в работе [26] (табл. 1, № 24), но полученные в работе [24] значения AgM^+/Me^+ в 5–8 раз превышают данные [26]. По мнению авторов [26], это обусловлено использованием двух разных способов коррекции дискриминации по массе и применением гелия в качестве транспортирующего потока газа в работе [24] (в работе [26] – аргон).

Транспортирующий аэрозоль поток газа. Для “влажного” аэрозоля с увеличением скорости транспортирующего потока газа наблюдали (табл. 1, № 27) рост соотношения $AgBa^+/Ba^+$ с достижением максимума в два раза при 1.1 л/мин (уровень $n \times 0.1$ ppm) [5]. Для “сухого” аэрозоля зарегистрировано непрерывное повышение отношения $AgBa^+/Ba^+$ (уровень $n \times 1$ ppm) с возрастанием скорости транспортирующего потока газа от 1.75 до 1.95 л/мин.

Измерение уровня аргидных ионов в работе [20] для условий нормальной плазмы (табл. 1, № 10) показало, что увеличение скорости транспортирующего потока аргона с 0.85 до 1.1 л/мин приводит к возрастанию интенсивности ионного пика $m/z = 92$ ($^{54}Cr^{38}Ag^+$) в 3.3 раза, в то время как интенсивность иона $^{54}Cr^+$ проходит через небольшой максимум. В результате отношение $AgCr^+/Ag^+$ увеличивается более чем в шесть раз.

Аргидные ионы кобальта, меди и никеля создают сильные спектральные помехи при определении легких элементов платиновой группы: Ru, Rh, Pd [21]. Проведенные эксперименты (табл. 1, № 11) показали, что при увеличении скорости транспортирующего потока газа от 0.75 до 1.0 л/мин сигнал аргидного иона никеля возрастает в 5–6 раз, а меди – до 20 раз.

Обычно в качестве транспортирующего аэрозоля газа в МС-ИСП используют, как и для плазмообразования, самый дешевый инертный газ аргон. Добавка метана в транспортирующий поток аргона позволяет существенно снизить интенсивность аргидного иона AgO^+ и устранить появление $AgCl^+$ [80]. Это вполне согласуется с представлением о том, что основные термохимические процессы

преобразования компонентов аэрозоля пробы в атомные и молекулярные соединения элементов, а затем и в ионы происходят именно в части факела плазмы, образованной транспортирующим потоком аргона [1].

Для ввода в факел плазмы “сухого” аэрозоля лазерной абляции часто используют гелий или смеси аргона с гелием. В этом случае действительно уменьшается уровень аргидных ионов в масс-спектре. В серии статей, затем обобщенных в монографии [81], описано устройство прибора МС-ИСП, техника работы с ним и результаты спектроаналитических исследований при полной замене аргона гелием во всех потоках горелки. Естественно, что в таком приборе практически устраняются помехи аргидных ионов AgM^+ . Спектральные помехи молекулярных ионов с гелием HeM^+ , конечно, присутствуют в масс-спектре этого прибора, но они проявляются менее интенсивно и, кроме того, имеют совершенно другие значения m/z , чем AgM^+ . Однако высокая стоимость гелия по сравнению с аргоном, трудности транспортировки аэрозоля до факела плазмы, проблемы с вторичным разрядом и необходимость изменения конструкции интерфейса не привлекают производителей приборов МС-ИСП к таким разработкам, а аналитиков к их применению.

В работе [22] изучены возможности ЛА МС-ИСП с применением неона в качестве рабочего газа (табл. 1, № 12). В этом случае можно использовать для такой замены стандартный прибор МС-ИСП без каких-либо преобразований конструкции. Отмечено значительное снижение помех аргидных ионов AgH^+ , возникающих только за счет примесей аргона в неоне. Наглядно продемонстрировано уменьшение уровня спектральных помех аргидных ионов Ni и Cu при определении легких элементов платиновой группы. Авторы отмечают, что из-за более высоких расходов на эксплуатацию, чем для приборов МС-ИСП с аргоном, можно использовать неон только в качестве транспортирующего аэрозоль газа, что не полностью устраняет помехи аргидных ионов, но делает их существенно менее значимыми.

Режим работы индуктивно связанной плазмы. Интенсивность аргидных ионов AgM^+ РЗЭ в МС-ИСП, по данным [18] (табл. 1, №№ 4 и 5), является функцией высокочастотной мощности разряда, скорости потока газа через распылитель и при некоторых их сочетаниях проходит через максимум. Например, максимальный сигнал ионов $AgPr^+$ при вводе “влажного” аэрозоля зарегистрирован при мощности 1250 Вт и скорости транспортирующего потока газа 1.1 л/мин. При дальнейшем охлаждении плазмы происходит ослабление интенсивности иона $AgPr^+$. Авторы заключают, что режим “холодной” плазмы (низкая высокочастотная мощность или высокая скорость транспортирующего

потока газа) приводит к повышению соотношения $AgPr^+/Pr^+$. Похожее поведение, по данным авторов, установлено для всех оксидных ионов РЗЭ.

В режиме нормальной плазмы без защиты факела от вторичного разряда (табл. 1, № 2) авторы наблюдали повышение интенсивности ионов AgH^+ и AgO^+ с увеличением скорости транспортирующего потока аргона. Кинетическая энергия для этих частиц составляла 15–30 эВ. При экранировании факела защитным чехлом, когда устранен вторичный разряд, сигналы AgH^+ и AgO^+ значительно уменьшились, а кинетические энергии ионов в этом случае составляли 2–5 эВ. Снижение интенсивности ионов AgO^+ позволило в условиях нормальной плазмы определять железо на уровне ppm. Сигналы аргидных ионов коррелировали с плотностью электронов внутри интерфейса при экранировании или без экранирования факела, что, по мнению авторов, указывает на то, что образованию AgH^+ и AgO^+ может способствовать вторичный разряд факела плазмы на заземленный конус интерфейса. Ионы AgM^+ образуются, по-видимому, в результате реакции Ag с M^+ , а не в результате ионизации нейтральных частиц AgM . Авторы заключают, что, поскольку экранирование факела ИСП снижает разность электрических потенциалов в нем и результирующие значения концентрации электронов, образование частиц AgM^+ можно подавить.

В стандартной конфигурации прибора МС-ИСП (табл. 1, № 28) условия “холодной” плазмы могут эффективно подавлять сигналы ионов $^{40}Ag^{16}O^+$ и $^{40}Ag^{14}N^+$, но не $^{40}Ag^{16}O^{1}H^+$ [29]. Но, по данным [6] (табл. 1, № 10), в “холодной” плазме одновременно со снижением интенсивности аргидных ионов AgM^+ происходит существенное и нежелательное повышение содержания термостойких оксидных частиц элементов и их ионов.

Заметный вторичный разряд наблюдали в работе [19] на кончике пробоотборного конуса при 1350 и 700 Вт, особенно при увеличении глубины отбора пробы (приближение индуктора к носику пробоотборного конуса) (табл. 1, № 8). Этот разряд способствует образованию аргидных ионов. Защитный экран на факеле горелки в режиме “холодной” плазмы резко снижает уровень аргидных ионов даже в случае большой глубины пробоотбора. Положение горелки относительно конуса сэмплера, по мнению авторов работы [21], влияет на значение сигнала аргидных ионов.

Возрастание степени ионизации атомов аргона с увеличением высокочастотной мощности плазмы сопровождается снижением уровня аргидных ионов в масс-спектре ЛА МС-ИСП, что, по мнению авторов работы [24] (табл. 1, №№ 16–22), ясно показывает, что повышенная ионизация аргона не является критическим параметром

для образования аргидных ионов. При понижении вкладываемой в разряд высокочастотной мощности и увеличении скорости транспортирующего потока газа (приближение к режиму “холодной” плазмы) количество неионизированных атомов аргона, проходящих через отверстие сэмплера, увеличивается, что приводит к возрастанию давления в интерфейсе, повышению уровня аргидных и оксидных ионов. Авторы [24] заключают, что условия плазмы не является доминирующим фактором для уровней аргидных ионов в масс-спектре МС-ИСП.

Эффект образования полиатомных помех $^{40}\text{Ar}^{23}\text{Na}^+$ и $^{40}\text{Ar}^{25}\text{Mg}^+$, мешающих высокочувствительному определению меди, изучен в работе [25] в условиях “холодной” плазмы (табл. 1, № 23) при варьировании высокочастотной мощности, глубины пробоотбора и скорости транспортирующего потока аргона. Ионизация аргона снижается при уменьшении вкладываемой в плазму мощности, что, по мнению авторов, в результате приводит к существенному снижению интенсивности помех ArMg^+ (в 9 раз) и ArNa^+ (в 20 раз). Меньшее снижение фонового сигнала ArMg^+ авторы объясняют различием первых потенциалов ионизации атомов Na (5.14 эВ) и Mg (7.65 эВ).

В работе [17] изучена возможность снижения спектральных помех полиатомных ионов в масс-спектре МС-ИСП подбором операционных параметров прибора и использованием защиты факела горелки (ShieldTorch system) (табл. 1, №) от возникновения высокого потенциала плазмы. При варьировании скорости транспортирующего потока аргона от 0.76 до 1.13 л/мин (1400 Вт, без системы ShieldTorch) происходит снижение в два раза интенсивности ионов ArH^+ и Ar_2^+ , в то время как интенсивность ArO^+ при расходе 1.03 л/мин проходит через максимум. С использованием системы ShieldTorch аналогичное возрастание скорости транспортирующего потока газа при мощности 900 Вт приводит к практически полному подавлению спектральных помех ArH^+ , Ar_2^+ и ArO^+ . В этом варианте операционных условий увеличение мощности до 1400 Вт (транспортирующий поток аргона 1.18 л/мин) резко повышает интенсивность данных фоновых ионов.

По мнению авторов работы [15] (табл. 1, № 9), ионы ArM^+ диссоциируют при высоком потенциале плазмы (без защиты факела горелки) или создаются при столкновениях в пространстве между сэмплером и скиммером при низком потенциале (с защитой факела горелки), что увеличивает интенсивность ионов ArO^+ в 8 раз, а ArN^+ — в 6 раз. Уровень аргидных ионов ArH^+ и Ar_2^+ при этом мало меняется и соответствует высокой плотности этих ионов в плазме.

Авторы работы [18] считают, что нет однозначного ответа на вопрос о месте образования полиатомных ионов: в плазме или в процессе экстракции плазменного потока в интерфейс. Ответ зависит, по их мнению, от рассматриваемого иона и от условий ионной экстракции. Последние условия варьируют от прибора к прибору и зависят от таких факторов, как геометрическая форма и состояние сэмплера и скиммера, присутствие или отсутствие нарушений типа вторичного разряда или ударной волны внутри скиммера. В некоторых приборах слабосвязанные ионы ArO^+ и ArN^+ действительно могут фрагментировать в процессе экстракции ионов, особенно если потенциал плазмы значителен. Ионы Ar_2^+ , по-видимому, невосприимчивы к этому механизму потерь. При устранении плазменного потенциала факела в условиях нормальной плазмы содержание ионов Ar_2^+ согласуется с их образованием при значениях газовой температуры плазмы.

Использование микрограммовых количеств различных химических модификаторов в методе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и электротермическим испарением проб (ЭТИ ИСП-МС, ETV-ICP-MS) приводит к появлению в масс-спектре только значимых помех оксидных и аргидных ионов [12] (табл. 1, № 1). По мнению авторов, при этом известно, что выбор условий образования плазмы и некоторых операционных параметров квадрупольных масс-спектрометров может влиять на степень образования данных ионов. Поэтому подбором операционных параметров приборов ИСП-МС можно снизить (или увеличить) степень проявления данных спектральных помех.

Процессы в интерфейсе. Вероятность образования аргидных ионов, по мнению авторов работы [24], снижается из-за низкого давления в интерфейсе, когда происходит уменьшение числа столкновений между нейтральными атомами аргона и ионами металла. В обычных аналитических условиях атомы металлов ионизированы до высокой степени, в то время как аргон преимущественно находится в атомарном состоянии Ar^0 (расчетная степень однократной ионизации атома аргона при температуре 7500 К составляет всего 0.065% [1]).

По мнению авторов работы [28], вероятным механизмом потерь ионов ArM^+ в приборах ИСП-МС являются их столкновения в потоке плазмы, отобранной интерфейсом из плазменного факела, где преобладают частицы нейтрального аргона. Увеличением потенциала плазмы (и тем самым повышением кинетической энергии ионов) за счет применения в приборе защитного электрода-факела с большим зазором можно повысить диссоциацию ионов MAr^+ . В приборе XSeries 2 также существует возможность применения конуса

скиммера с различной эффективностью пропускания легких ионов. Тогда за счет столкновений в ударной волне на носике или в горловине конуса скиммера можно регулировать эффективность регистрации ионов AgM^+ . В области первой экстракционной линзы, где существует область низкого давления газа, изменений в AgM^+/M^+ , по мнению авторов работы [28], практически не происходит, даже в условиях широкого варьирования потенциала на линзе.

Процессы в первой высоковакуумной области. По мнению авторов работы [24], фрагментация аргидных ионов за скиммером сильнее влияет на измеренный уровень аргидов, чем их образование между конусами пробоотборника и скиммера, так как давление в области между скиммером и экстракционными линзами является ключевым параметром, определяющим малую скорость образования аргидных ионов. Самые низкие уровни аргидных ионов наблюдали для прибора Agilent 7700x, тогда как самые высокие уровни измеряли на Agilent 7500a и Elan 6100 DRC. Отмечается, что в приборе Agilent 7700x реализовано относительно высокое давление в этой вакуумной области за скиммером из-за ограниченного потока газа и небольшого объема пространства. В результате такое давление в этой области определяет большее количество столкновений между частицами и это приводит к разрыву слабосвязанных аргидных ионов [24].

По мнению авторов работы [13], два основных процесса влияют на измеряемый уровень аргидных ионов:

1. Образование аргидных ионов, вероятно, происходит между конусами сэмплера и скиммера, которое зависит от давления аргона в интерфейсе и контролирует вероятность столкновения M^+ и Ar^0 ;

2. Фрагментация слабосвязанных полиатомных ионов между конусом скиммера и первой экстракционной линзой, где частицы Ar^0 и AgM^+ летят с одинаковой относительной скоростью в одном направлении. Конструкция конуса скиммера и экстракционной линзы оказывают здесь основное влияние на концентрацию аргидных ионов в этом вакуумном пространстве. В случае его большого объема, низкого газоплазменного потока, малого давления в этой области и отсутствия ограничения его распространения концентрация аргидных ионов будет выше (Agilent 7500a и Elan 6100 DRC). При небольшом объеме пространства между скиммером и первой экстракционной линзой, сильном ограничении распространения потока и повышенном давлении в этой области больше аргидных ионов будет сталкиваться с нейтральными атомами Ar^0 и фрагментировать до M^+ и двух атомов Ar^0 (Agilent 7500x).

ОСНОВНЫЕ ПРИЕМЫ УЧЕТА, ОСЛАБЛЕНИЯ И УДАЛЕНИЯ СПЕКТРАЛЬНЫХ ПОМЕХ АРГИДНЫХ ИОНОВ ArH^+ В МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ

К основным приемам коррекции, снижения или устранения помех аргидных ионов в масс-спектрах, по нашему мнению и мнению авторов работ [4, 8, 10, 19, 82], необходимо отнести следующие:

- выбор подходящего изотопного иона аналита;
- повышение концентрации аналита в растворе пробы;
- подбор операционных параметров МС-ИСП;
- вычитание фонового спектра;
- математическая коррекция;
- десольватация аэрозоля;
- использование альтернативных газов;
- применение химического разделения элементов;
- использование реакционно-столкновительных ячеек и тандемных приборов;
- применение масс-спектрометров высокого разрешения.

Ниже рассмотрим эти приемы несколько подробнее. Необходимо сразу заметить, что нет универсального приема борьбы со спектральными помехами аргидных ионов. Конкретный оптимальный прием должен найти и подобрать аналитик, исходя из определяемого аналита и матрицы пробы, имеющегося в его распоряжении прибора МС-ИСП, приведенных в этом обзоре закономерностей проявления помех и рекомендаций, требуемых метрологических, временных и экономических показателей анализа.

Выбор подходящего изотопного иона аналита. Для определения элементов с несколькими природными изотопами можно выбрать измеряемый изотоп, который не имеет спектральных помех или испытывает их меньшее влияние. Выбор такого изотопа, который может обеспечить лучшую точность измерений, а также самые низкие пределы обнаружения, может зависеть от концентрации аналита и концентрации других элементов в образце [10].

Повышение концентрации аналита в растворе пробы. В этом случае вклад спектральной помехи AgM^+ в сигнал аналита при данном значении m/z пропорционально снижается. Этот прием применим при проведении изотопного анализа [83] или элементного анализа с изотопным разбавлением [84]. Однако реализовать его на практике возможно главным образом только при отделении аналита от основных компонентов пробы.

Подбор операционных параметров МС-ИСП. Снижение соотношения AgM^+/M^+ может быть достигнуто экспериментальным подбором вкладываемой в разряд высокочастотной мощности,

скорости транспортирующего потока аргона и глубиной пробоотбора (если позволяет конструкция прибора). Условия работы нормальной плазмы (высокочастотная мощность обычно выше 1000 Вт и расход транспортирующего потока газа до 1 л/мин) могут быть изменены до условий “теплой” или даже “холодной” плазмы (мощность менее 700 Вт и более высокие потоки газа-носителя). В режиме “холодной” плазмы нет значительной ионизации атомов аргона, что минимизирует наличие фоновых полиатомных помех аргонсодержащих ионов, имеющих высокие энергии диссоциации. При этом большая эффективность ионизации сохраняется только для элементов с низким первым потенциалом ионизации атомов. Это используется для определения Са, К, V, Сг и Fe в веществах высокой чистоты. Применение условий “холодной” плазмы для многоэлементного анализа существенно ограничено и, кроме того, в случае “теплой” (промежуточные температурные условия между нормальной и “холодной” плазмой) и особенно “холодной” плазмы наблюдаются сильные неспектральные ионизационные помехи матричных элементов. Использование защитных экранов на факел плазмы позволяет устранить вторичный разряд высокого потенциала плазмы на носик конуса пробоотборника и значительно снизить уровень аргидных ионов AgH^+ в масс-спектре.

Вычитание фонового спектра. Если концентрация элементов в контрольном (“холостом”) растворе и образце, вызывающем определенные спектральные помехи, одинакова, а также если спектральные помехи обусловлены компонентами плазмы или растворителя пробы, то для повышения точности анализа можно вычесть сигнал помехи контрольного образца из сигнала пробы. Например, можно вычесть сигнал аргидного иона $^{38}Ar^{40}Ar^+$ из измеренного сигнала при $m/z = 78$, чтобы рассчитать чистый сигнал $^{78}Se^+$. Это дает положительный результат, если концентрация Se в пробе достаточно высока, чтобы сигнал $^{38}Ar^{40}Ar^+$ не был значительно больше сигнала селена. В противном случае результирующий сигнал иона аналита $^{78}Se^+$ будет иметь большую неопределенность [10].

Вычитание фонового спектра также может быть эффективным для ионов, образованных элементом в образце, если контрольный образец содержит ту же концентрацию элемента, что и изучаемый образец. Например, если все анализируемые образцы содержали одинаковую концентрацию натрия и эта же концентрация натрия была добавлена к контрольной пробе, то можно использовать вычитание сигнала контрольной пробы для коррекции сигнала от $AgNa^+$ при $m/z = 63$, чтобы рассчитать чистый сигнал изотопа $^{63}Cu^+$. При этом необходимо помнить, что возможные примесные содержания меди в натрии, добавленном к кон-

трольному раствору, могут привести к чрезмерной коррекции [10]. Кроме того, данный прием не будет давать удовлетворительной коррекции спектральной помехи, если образцы содержат переменные концентрации натрия. В противном случае для каждого анализируемого образца должна быть подготовлена своя контрольная проба.

Математическая коррекция. Математическая коррекция измеренных интенсивностей сигналов аналитов в общем случае позволяет повысить точность определений, но не улучшает пределов обнаружения элементов. Математические поправки для спектральных помех многоатомных ионов обычно основаны на экспериментально определенном соотношении сигнала многоатомного иона $I(ArM^+)$ к сигналу от элементарного иона $I(M^+)$ элемента M, который ограничивает образование многоатомного иона. Сигнал иона аналита A в этом случае определяется следующим образом:

$$I(xA^+) = [I(xA^+) + I(xAr^yM^+)]_{\text{образец}} - I(yM^+)_{\text{образец}} I(xAr^yM^+) / I(yM^+)_{\text{раствор M}},$$

где $x = m/z$ для определяемого иона A; y – изотопная масса элемента M; раствор M – раствор, содержащий только один элемент M и растворитель. Для введения математической коррекции в этом случае требуется дополнительный раствор, содержащий элемент M, чтобы измерить отношение сигнала от многоатомного иона $I(xAr^yM^+)$ при $m/z = x$ к сигналу от элементарного иона $I(yM^+)$ при $m/z = y$. Предполагая, что это отношение в образце такое же, что и в дополнительном растворе, данное соотношение и измеренная интенсивность сигнала для $I(yM^+)_{\text{образец}}$ используются для расчета интенсивности чистого сигнала, обусловленного ионом аналита xM^+ [10].

Математические поправки чаще базируются на том, что большинство элементов Периодической системы являются не моноизотопными, а полиатомные ионы проявляются одновременно на всех изотопах мешающих элементов. Относительную естественную распространенность изотопов, за небольшим исключением (Li, B, Pb и U [1]), можно считать постоянной при погрешностях, обычно достигаемых в последовательных масс-спектрометрах. Следовательно, можно рассчитать чистый ионный сигнал для данного изотопа, используя сигнал другого изотопа данного элемента, его табличное значение естественной распространенности и сигнал полиатомной помехи данного элемента. Однако этот подход надежен только тогда, когда сигнал помехи мал по сравнению с чистым сигналом измеряемого изотопа. Тем не менее, по мнению автора работы [10], можно ожидать значительного улучшения точности результатов анализа с использованием этого подхода при наличии компьютер-

ной программы распознавания и коррекции помех.

В работе [9] описан способ коррекции наложения аргидного иона $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ на $^{75}\text{As}^+$, применяемый при проведении элементного анализа с учетом изобарных наложений другого изотопа элемента. В этом случае поправка вводится по измеренной интенсивности аргидного иона $^{40}\text{Ar}^{37}\text{Cl}^+$ и учитывается соотношение изотопов $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl} = 75.77/24.23$ в естественном составе данного элемента. В работе [83] применен способ математической коррекции при определении селена техникой гидридов в условиях проявления сильных спектральных помех разных изотопов ионов аргона Ar_2^+ . Более сложные подходы к проведению математической коррекции использовали для корректировки поправочных уравнений в реальном времени [85], применения спектральной аппроксимации [86] и многокомпонентного анализа [87].

Десольватация аэрозоля. Системы десольватации аэрозоля могут снизить количество атомов O, H и C (в случае органических растворителей), попадающих в ИСП, и уменьшить в 10–1000 раз (в зависимости от используемой системы десольватации) [10] величину сигнала аргидных ионов ArH^+ , ArC^+ и ArO^+ , имеющих те же номинальные массы, что и ионы K, Sr и Fe. Системы десольватации уменьшают сигналы только от многоатомных ионов, содержащих элементы из растворителя пробы. Некоторое количество O, H, N и C все равно попадет в плазму из-за захвата факелом воздуха, окружающего ИСП, при входе в интерфейс. Эксплуатация систем десольватации аэрозоля создает дополнительные сложности при работе и, прежде всего, увеличивает время промывки системы подачи проб.

Использование альтернативных газов. Замена аргона гелием или неоном, как сказано выше, дает возможность, если позволяет аппаратура и финансовые возможности, резко снизить или даже удалить помехи аргидных ионов ArM^+ в МС-ИСП. Более практичным для такого способа коррекции спектральных помех ArM^+ является применение других газов в приборах МС-ИСП для транспортировки “влажного” и “сухого” аэрозоля. Например, добавление в транспортирующий поток молекулярных газов N_2 или CH_4 неоднократно встречается в практике МС-ИСП для улучшения некоторых соотношений ArM^+/M^+ .

Применение физического и химического разделения элементов. На стадии пробоподготовки можно предварительно отделить мешающие элементы M (чаще всего это матричные элементы) от аналита для частичного или полного устранения спектральных помех ArM^+ . В этом случае достаточно успешно можно использовать традиционные аналитические техники осаждения и сооса-

ждения ([21] – отделение Fe и Ni, создающих помехи аргидных ионов при определении Ru, Rh, Pd), электролиза, дистилляции, экстракции ([84] – выделение железа из морской воды), ионного обмена ([88] – устранение спектральных помех аргидных ионов меди при определении Pd и Rh, [89] – спектральные помехи при определении железа).

Все варианты разделения элементов усложняют и удорожают методики анализа. На стадии ввода проб в факел плазмы хорошие результаты разделения элементов дает техника образования гидридов или других легколетучих веществ.

Использование реакционно-столкновительных ячеек и тандемных приборов. Многие современные квадрупольные приборы МС-ИСП включают в себя реакционно-столкновительные ячейки, размещаемые между ионной оптикой и масс-анализатором. Такие ячейки предназначены именно для снижения спектральных помех полиатомных ионов, включая ArM^+ .

В ряде случаев в таких ячейках осуществляют поток с низкой скоростью реакционных нейтральных газов (NH_3 , CH_4 , CO и др.). Когда между ионом спектральной помехи и нейтральным молекулярным газом происходит реакция переноса заряда, сигнал помехи может быть ослаблен в предельном случае до восьми порядков. Здесь можно говорить о том, что такой успешный результат достигается за счет так называемого “химического разрешения” в реакционно-столкновительной ячейке. При этом происходит лишь слабое ослабление сигнала иона аналита или он вообще не изменяется. В качестве альтернативы в ячейке можно использовать реакции присоединения атомов (чаще всего с использованием в ячейке кислорода или водорода). В этом случае аналит образует многоатомный ион с более высоким значением m/z , чем элементарный ион аналита, и в масс-спектре разделяется с ионом ArM^+ . Если ион спектральной помехи ArM^+ не подвергается такой же реакции присоединения атома O или H и нет других ионов с m/z полученного в ячейке многоатомного иона аналита, то спектральные помехи можно уверенно устранить.

Например, $^{75}\text{As}^+$ испытывает спектральные помехи ArCl^+ при $m/z = 75$. С помощью реакционного газа кислорода (O_2) $^{75}\text{As}^+$ в ячейке может быть преобразован в $^{75}\text{AsO}^+$ с $m/z = 91$, в то время как ArCl^+ не образует в условиях ячейки ион ArClO^+ . В результате $^{75}\text{As}^+$ может быть измерен в форме $^{75}\text{As}^{16}\text{O}^+$ с $m/z = 91$ без спектральной помехи от ArCl^+ [10]. Устранение спектральных помех $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ при $m/z = 56$ для определения железа возможно за счет “химического разрешения” при использовании реакционно-столкновительной ячейки с NH_3 или CO [13, 23, 90].

Для выбора реакционного газа ячейки необходимо обязательно знать природу происхождения спектральной помехи. Константы скоростей реакций иона полиатомной ионной спектральной помехи и иона аналита с газом-реагентом также должны быть заранее известны или определены экспериментально. Оптимальную скорость подачи газа в ячейку подбирают экспериментально. Расход газа для реакционно-столкновительной ячейки небольшой, но газ обязательно должен быть высокой чистоты.

Другим направлением использования реакционно-столкновительных ячеек является диссоциация мешающих полиатомных ионов, индуцированная столкновениями. Мешающие многоатомные ионы со слабыми энергиями связи могут быть разбиты на более мелкие фрагменты, если этим частицам будет сообщена достаточная внутренняя энергия в результате неупругого столкновения с нейтральным атомом или молекулой газа в ячейке. Например, сигналы от ArO^+ , ArC^+ , Ar_2^+ и ArCl^+ можно уменьшить в 100–1000 раз, используя Ar в ячейке для реализации реакций столкновения [91, 92], чтобы при измерении $^{56}\text{Fe}^+$, $^{52}\text{Cr}^+$, $^{80}\text{Se}^+$ и $^{75}\text{As}^+$ повысить точность определений, а также понизить пределы обнаружения. Как правило, столкновительный режим в ячейках менее эффективен, чем реакции с переносом заряда ионов и нейтральных молекул, и его можно применять только тогда, когда энергия связи мешающего многоатомного иона достаточно низка и когда масса иона аналита больше, чем атомная или молекулярная масса газа столкновения [10].

Ионы с высоким сечением столкновения претерпевают больше взаимодействий с атомами нейтрального газа при прохождении через реакционно-столкновительную ячейку, чем ионы с меньшим сечением столкновения. Каждое столкновение приводит к потере кинетической энергии иона, т.е. ион замедляется. Приложением более положительного постоянного напряжения смещения к высокочастотному квадруполью и квадрупольному фильтру масс, чем к ячейке, можно создать на пути ионов потенциальный барьер. Ионы, обладающие достаточно высокой кинетической энергией, т.е. быстродвигающиеся, могут преодолеть этот потенциальный барьер и войти в квадруполь масс-анализатора [93, 94]. Полиатомные ионы, которые обладают большим сечением столкновений, чем элементарный ион, имеют меньшую вероятность прохождения через потенциальный барьер и попадания в квадрупольный масс-фильтр. Этот режим работы реакционно-столкновительной ячейки называют дискриминацией кинетической энергии (Kinetic Energy Discrimination – KED) ионов. В результате такой дискриминации отношение сигнала элементарного иона аналита A^+ к сигналу многоатомного иона ArM^+ может

быть улучшено. Но это удается достичь только в случае, когда сечение столкновения многоатомных ионов достаточно больше, чем сечение элементарных ионов аналита. Как правило, при использовании дискриминации кинетической энергии несколько теряется чувствительность измерений к ионам аналита. Улучшение в подавлении спектральной помехи полиатомного иона обычно не такое значительное, как в случае ионно-молекулярных реакций с переносом заряда.

Дальнейшим приборным развитием этого подхода является разработка и выпуск тандемных (трехквадрупольных) приборов МС-ИСП [95], в которых пассивная ячейка (квадруполь/октополь) помещается между двумя квадрупольными масс-анализаторами. В режиме тройного квадрупольа эти два крайних квадрупольа работают как фильтры единичной массы. Первый квадруполь обеспечивает выбор аналитической массы перед ячейкой и отбрасывает все другие ионы с отличающимися массами. Это дает дальнейший лучший контроль над ионно-молекулярными реакциями, протекающими затем в ячейке, удаляя, например, материнские ионы. Из первого квадрупольа очищенный ионный поток попадает в реакционно-столкновительную ячейку, где за счет ионно-молекулярных реакций ионы аналита отделяются от ионов спектральных помех за счет различия m/z . Далее ионы из ячейки входят во второй квадруполь, настроенный на выделение заданной аналитической массы и отделение сопутствующих ионов с другими массами. В целом такая конструкция последовательности квадрупольей (тандемная схема) позволяет управляемо отбрасывать все сопутствующие и мешающие аналиту ионы, улучшать разрешение прибора и получать высокоточные измерения. Недостатком конструкции является то, что за счет повышения спектрального разрешения происходят потери сигнала аналитического иона на 10–50%. Такие приборы, уже используемые в органической масс-спектрометрии, пока только внедряются в аналитическую практику неорганического анализа, но следует ожидать их применения и для удаления помех аргидных ионов.

Выбор между ионно-молекулярными реакциями и дискриминацией кинетической энергии зависит от типа спектральной помехи, интенсивности ее сигнала и сигнала иона аналита. Для успешного прогнозирования действия реакционно-столкновительной ячейки необходимо пользоваться базой данных полиатомных ионов и их относительных интенсивностей [6–10], базой данных относительных скоростей столкновительных реакций для различных пар многоатомный ион/элементарный ион аналита [96–98 и др.], опубликованными или собственными экспериментальными данными по относительным скоростям ионно-молекулярных реакций для различных потенциальных реакционных газов в зависимости от скорости потока реак-

ционного газа, а также рекомендациями фирм, производящих приборы МС-ИСП [99, 100].

Высокоэффективный прием снижения спектральных помех аргидных ионов ArM^+ за счет реакционно-столкновительных ячеек и tandemных приборов к сожалению обладает фундаментальным недостатком. Это связано с тем, что выбранный газ для ячейки и экспериментально подобранные операционные условия анализа применимы только для конкретного сочетания аналита и спектральной помехи. В этом случае многоэлементный метод МС-ИСП превращается в одноэлементный метод анализа.

Использование масс-спектрометров высокого разрешения. Согласно сложной кривой зависимости необходимого для отделения измеряемых изотопов элементов от помех аргидных ионов разрешения масс-спектрометра R от массы иона, аргидные ионы $H, Li, Be, C, O, Al, Si, Cl, Ca, Sc, Ti, V$ (нужно максимальное значение $R = 130000$), $Cr, Fe, Ni, Ge, As, Se, Zn, Mo, Cd, Sn, Ce, Gd$ требуются приборы с $R > 1000$ [18].

Многие, но не все многоатомные ионы можно отделить от элементарных ионов той же номинальной массы с помощью масс-спектрометра с разрешающей способностью 10000 [10, 101]. Имеющиеся в продаже масс-спектрометры с секторным магнитным полем и двойной фокусировкой могут обеспечить такое разрешение (выбираемая пользователем разрешающая способность от 300 до 10000) с хорошей чувствительностью и селективностью. Однако такие приборы намного дороже, чем квадрупольные приборы МС-ИСП и требуют более высоких затрат на техническое обслуживание. Тем не менее разрешения $R = 10000$ оказывается недостаточным для отделения от спектральных помех большого числа аргидных ионов [18].

Например, аргидные ионы элементов из группы переходных металлов представляют особый интерес для аналитиков, потому что по значениям m/z эти полиатомные ионы во многих случаях слишком близки к элементным ионам, что вызывает существенные спектральные помехи и не позволяет их разрешить с использованием традиционных приборов МС-ИСП [20]. Например, такими парами аналит–помеха аргидного иона являются $^{90}Zr^+ / ^{40}Ar^{50}Cr^+$, $^{93}Nb^+ / ^{40}Ar^{53}Cr^+$, $^{103}Rh^+ / ^{40}Ar^{63}Cu^+$ и $^{105}Pd^+ / ^{40}Ar^{65}Cu^+$, что требует разрешения по массам на уровне 10000 и выше для отделения аналитического иона. В этом случае, например, для прямого определения Nb и Zr в присутствии высоких концентраций хрома необходимо разрешение по массам 24000 для отделения $^{90}Zr^+$ от $^{40}Ar^{50}Cr^+$ и 27800 для отделения $^{93}Nb^+$ от $^{40}Ar^{53}Cr^+$. Это не позволяет прямо использовать обычные квадрупольные приборы и даже масс-анализаторы с двойной фокусировкой, а требует разделения эле-

ментов или использования в спектрометрах реакционно-столкновительных ячеек.

Почти все спектральные помехи можно устранить с помощью приборов с очень высокой разрешающей способностью $R = 80000–200000$: масс-спектрометров ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье (FTIR) и масс-спектрометров с орбитальной ловушкой [10], которые могут быть состыкованы с ИСП. Однако чувствительность измерений и способность определять очень маленькие концентрации аналита в присутствии очень больших концентрации другого элемента у данных приборов ниже по сравнению с имеющимися в настоящее время коммерческими приборами МС-ИСП. Кроме того, стоимость таких приборов сверхвысокого разрешения очень высока и серийно для МС-ИСП их не производят. На практике оказывается более удобным и дешевым использовать для этих целей реакционно-столкновительные ячейки и мультиквадрупольные приборы.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОЦЕНКИ УРОВНЯ MAr^+ В ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМЕ

В работе [102] методом равновесного термодинамического моделирования (минимизация энергии Гиббса термодинамической системы) выполнен расчет химического состава аргоновой плазмы при введении в нее H_2O, HDO и D_2O . Расчет проведен при атмосферном давлении и мольном соотношении компонентов $H_2O : D_2O : Ar = 0.9 : 0.1 : 150$ (экспериментально использована скорость ввода в ИСП 20 л/мин аргона, т.е. это суммарное содержание трех потоков в горелке, и 130 мкл/мин воды). Согласно расчету при возрастании температуры плазмы от 5000 до 10000 К должно происходить возрастание мольной доли ионов ArH^+ и ArD^+ в плазме разряда практически на порядок. Необходимо заметить, что расчетная модель, по нашему мнению, принята авторами неправильно, так как учитывается суммарно три потока аргона в горелке, в то время как в создании ионного потока, поступающего в интерфейс прибора МС-ИСП, принимает участие практически только транспортирующий поток аргона, т.е. меньше в ~20 раз [1]. Ионы ArO^+, ArN^+ и Ar_2^+ авторы не учитывали в расчетах [102], по-видимому, из-за отсутствия необходимого для термодинамического моделирования набора термодинамических свойств этих индивидуальных веществ. В настоящее время такая информация по этим аргидным ионам уже опубликована [103–105], и ее можно использовать в подобных расчетах.

В теоретической работе [106], впервые посвященной расчету термодинамических свойств металлоаргидных ионов ванадия ArV^+ и кобальта $ArCo^+$, использован известный прием, когда в

равновесных условиях можно определить концентрации индивидуальных веществ в плазме через известную константу равновесия. Так, например, соотношение концентраций AgM^+ и M^+ при тепловом равновесии можно рассчитать, умножая табличные значения константы равновесия реакции на давление аргона в термодинамической системе (реакция $\text{M}^+ + \text{Ar} = \text{AgM}^+$). Если предположить, что тепловое равновесие достигается на оси ИСП в масс-спектрометре (что, по мнению авторов работы [106], весьма сомнительно), соотношение концентраций AgV^+/V^+ при расчетной температуре 6000 К составит 68 ppm, а $\text{AgCo}^+/\text{Co}^+ - 93$ ppm. Это в два-три раза больше значений 31.2 и 31.5 ppm, полученных в работе [26]. Авторы работы [106] заключают, что термодинамические свойства аргидных ионов металлов полезны для понимания процессов, происходящих в плазменной масс-спектрометрии.

Нужно отметить, что полученные в работе [106] наборы термодинамических свойств металлоаргидных ионов ванадия и кобальта сейчас можно использовать для термодинамического моделирования термохимических процессов в ИСП с учетом присутствия в плазме большинства возможных в равновесии нейтральных и ионизированных атомных и полиатомных индивидуальных веществ с целью выявления влияния операционных параметров, состава плазмообразующего газа и состава вводимых проб на поведение аргидных ионов AgM^+ .

В работе [28] сопоставлены рассчитанные авторами для температуры 6000 К и измеренные экспериментально (табл. 1, № 25) значения AgM^+/M^+ . Для всех исследованных металлов (Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu и Zn) измеренные значения AgM^+/M^+ существенно ниже, чем рассчитанные с использованием констант равновесия (от нескольких раз до двух порядков и более). По мнению авторов, вероятным механизмом потерь AgM^+ являются столкновения в потоке плазмы, отобранной из плазменного факела.

ПРИМЕНЕНИЕ АРГИДНЫХ ИОНОВ AgM^+

В работе [107] рассмотрена возможность применения аргидных, димерных и двухзарядных ионов металлов для определения элементов в масс-спектрометрии тлеющего разряда. Эти заряженные частицы ведут себя подобно ионам металла M^+ , что проявляется при изменении основных операционных параметров разряда: вкладываемой в разряд мощности и давления в разрядной ячейке. Как известно [108], для инертного газа данного сорта в тлеющем разряде постоянного тока такие операционные параметры, как давление газа в разрядной ячейке, напряжение и ток разряда явля-

ются взаимосвязанными: установка значений двух из указанных параметров определяет значение третьего. Оценка, проведенная с помощью нескольких стандартных образцов NIST в работе [107], показала, что количественного элементный анализ с помощью ионов AgM^+ , M_2^+ и M^{++} возможен с погрешностью менее 15% для элементов с концентрацией 0.1 мас. % и выше в образце. Это позволяет существенно снизить погрешности количественного анализа по ионам металлов M^+ , возникающие за счет полиатомных помех. По нашему мнению, данная схема количественного анализа применима при необходимости и в методе МС-ИСП с использованием аргидных ионов AgM^+ .

Распространенность ионов AgM^+ можно использовать для оценки физических условий (в первую очередь, температуры), реализуемых в плазме внутри факела ИСП, во время экстракции плазмы через вакуумный интерфейс и/или при транспортировке ионов до масс-анализатора [16, 27, 78].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Аргидные ионы AgM^+ в индуктивно связанной плазме могут образовывать практически все элементы Периодической системы. Такие ионы возникают при взаимодействии аргона с компонентами плазмообразующего газа и растворителя (фоновые ионы), а также составляющими пробы.

2. Наиболее устойчивыми и интенсивными в условиях МС-ИСП являются аргидные ионы металлоидов, обладающие самыми высокими энергиями связи.

3. Гораздо меньшую интенсивность в МС-ИСП проявляют аргидные ионы металлов, обладающие на порядок меньшими энергиями связи.

4. Все определяемые в МС-ИСП элементы Периодической системы с массовыми числами более 40 могут испытывать спектральные помехи аргидных ионов других элементов.

5. Помехи аргидных ионов очень широко проявляются в практической работе с приборами МС-ИСП и могут влиять на пределы обнаружения элементов, точность элементного и изотопного анализа, особенно в области малых и ультрамалых концентраций этих элементов в пробах.

6. Уровень аргидных ионов в МС-ИСП обычно оценивают по соотношению AgM^+/M^+ и он, помимо энергии диссоциации ионов AgM^+ и первого потенциала ионизации M^+ , зависит от множества экспериментальных факторов: вида производимого аэрозоля пробы ("влажный" или "сухой"), вида и скорости потока транспортирующего аэрозоль газа, вкладываемой в ИСП мощности высокочастотного генератора, применения защиты факела плазмы от вторичного разряда, глубины

пробоотбора плазмы, конструкции интерфейса, конструкции и давления в первой высоковакуумной области прибора.

7. При устранении в системе вторичного разряда потенциала плазмы на заземленный пробоотборный конус решающее влияние на регистрируемый уровень аргидных ионов ArM^+/M^+ оказывают такие операционные параметры, как высокочастотная мощность разряда и скорость транспортирующего потока газа (они определяют температуру ИСП и могут быть изменены аналитиком), а также конструкция и параметры эксплуатации первой высоковакуумной области между скиммером и экстракционной линзой (характеристики каждого конкретного прибора МС-ИСП).

8. В случае нормальной (“горячей”) ИСП наибольшую интенсивность проявляют аргидные ионы металлоидов. При переходе к режиму “холодной” плазмы интенсивность аргидных ионов металлоидов ослабевает, но происходит увеличение интенсивности аргидных ионов металлов.

9. По причинам, изложенным выше (п. 6), экспериментально измеренные различными авторами уровни ArM^+/M^+ одних и тех же элементов могут различаться на порядки, причем даже в разные стороны. Отсюда следует, что поведение в МС-ИСП и, возможно, в других плазменных источниках ионов для масс-спектропии точных экспериментальных измерений ArM^+/M^+ (с набором соответствующей статистики, учетом возможных спектральных помех и обязательным учетом дискриминации ионов по массе) практического смысла уже не имеет. Полезным является изучение поведения конкретных аргидных ионов в зависимости от операционных параметров плазмы и прибора МС-ИСП при решении реальной аналитической задачи.

10. К настоящему времени разработана серия аналитических приемов и методов для учета, снижения и полного подавления уровня аргидных помех в МС-ИСП. Конкретный прием должен подобрать сам аналитик в зависимости от реальной аналитической задачи (аналит – спектральная помеха аргидных ионов), изложенных выше основных положений о проявлении аргидных ионов в МС-ИСП, метрологических, финансовых и временных требований к проведению анализа.

11. Опубликованные значения энергий диссоциации аргидных ионов практически любого элемента Периодической системы существенно различаются между собой в разных работах. Это не позволяет давать точных количественных оценок влияния $D_0(ArM^+)$ на уровень аргидных помех ArM^+/M^+ в МС-ИСП и других плазменных источниках для масс-спектрометрии. Необходимы работы по критическому сопоставлению опубликованных экспериментальных и теоретических

данных по определению $D_0(ArM^+)$ для большинства элементов Периодической системы.

12. К настоящему времени создана база термодинамических данных для изучения методом термодинамического моделирования, учитывающего максимально возможное число потенциально возможных в равновесии индивидуальных веществ, а также поведение помех аргидных ионов в МС-ИСП при вариации параметров плазмы и состава пробы.

13. Существует возможность применения аргидных ионов для количественного анализа и оценки физических условий в факеле ИСП.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пупышев А.А., Суриков В.Т. Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой. Образование ионов. Екатеринбург: Изд-во УрО РАН, 2006. 276 с.
2. Becker J.S. Inorganic Mass Spectrometry. Principles and Applications. John Wiley & Sons Ltd., 2007. 519 p.
3. Becker J.S., Dietze H.-J. Investigations on cluster and molecular ion formation by plasma mass spectrometry // Fresenius J. Anal. Chem. 1997. V. 359. P. 338. <https://doi.org/10.1007/s002160050583>
4. Hattendorf B., Gusmini B., Dorta L., Houk R.S., Gunther D. Mass spectrometric observation of doubly charged alkaline-earth argon ions // Chem. Phys. Chem. 2016. V. 17. P. 1. <https://doi.org/10.1002/cphc.201600441>
5. Hattendorf B., Gusmini B., Dorta L., Houk R.S., Gunther D. Abundance and impact of doubly charged polyatomic argon interferences in ICPMS spectra // Anal. Chem. 2016. V. 88. P. 7281. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b01614>
6. Пупышев А.А., Энова Е.Н. Спектральные помехи полиатомных ионов в методе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой // Аналитика и контроль. 2001. Т. 5. № 4. С. 335.
7. May T.W., Wiedmeyer R.H. A Table of polyatomic interferences in ICP-MS // Atom. Spectrosc. 1998. V. 19. № 5. P. 150. <https://doi.org/10.46770/AS.1998.05.002>
8. Hattendorf B. Ion molecule reactions for the suppression of spectral interferences in elemental analysis by inductively coupled plasma mass spectrometry. Thesis ... doctor of natural sciences. Zürich: Eidgenössische Technische Hochschule, 2002. 169 p.
9. Taylor H.E. Inductively Coupled Plasma Mass-spectrometry. Practices and Techniques. Academic Press, 2001. 291 p.
10. Fang Liu. Building a database with background equivalent concentrations to predict spectral overlaps in ICP-MS. Diss. ... doctor of philosophy. Ohio, USA: The Ohio State University, 2017. 342 p.
11. Mason T.F.D., Weiss D.J., Horstwood M., Parrish R.R., Russell S.S., Mullane E., Coles B.J. High-precision Cu and Zn isotope analysis by plasma source mass spectrometry. Part 1. Spectral interferences and their correction // J. Anal. Atom. Spectrom. 2004. V. 19. P. 209. <https://doi.org/10.1039/B306958C>

12. *Gregoire D.C., Sturgeon R.E.* Background spectral features in electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry: Molecular ions resulting from the use of chemical modifiers // *Spectrochim. Acta B: Atom. Spectrosc.* 1993. V. 48. № 11. P. 1347. [https://doi.org/10.1016/0584-8547\(93\)80123-c](https://doi.org/10.1016/0584-8547(93)80123-c)
13. *Vanhaecke F.* Single-collector inductively coupled plasma mass spectrometry / *Isotopic Analysis. Fundamentals and Applications Using ICP-MS* / Ed. Vanhaecke Frank, Degryse Patrick. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2012. P. 31.
14. *Путьшев А.А., Сермягин Б.А.* Дискриминация ионов по массе при изотопном анализа в методе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Екатеринбург: ГОУ ВПО УГТУ-УПИ, 2006. 132 с.
15. *Houk R.S., Praphairaksit Narong.* Dissociation of polyatomic ions in the inductively coupled plasma // *Spectrochim. Acta B: Atom. Spectrosc.* 2001. V. 56. P. 1069. [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(01\)00236-1](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(01)00236-1)
16. *Nonose N.S., Matsuda N., Fudagawa N., Kubota M.* Some characteristics of polyatomic ion spectra in inductively coupled plasma mass spectrometry // *Spectrochim. Acta B: Atom. Spectrosc.* 1994. V. 49. № 10. P. 955. [https://doi.org/10.1016/0584-8547\(94\)80084-7](https://doi.org/10.1016/0584-8547(94)80084-7)
17. *Sakata K., Kawabata K.* Reduction of fundamental polyatomic ions in inductively coupled plasma mass spectrometry // *Spectrochim. Acta B: Atom. Spectrosc.* 1994. V. 49. № 10. P. 1027. [https://doi.org/10.1016/0584-8547\(94\)80088-X](https://doi.org/10.1016/0584-8547(94)80088-X)
18. *Becker J.S., Seifert G., Saprykin A.I., Dietze H.-J.* Mass spectrometric and theoretical investigations into the formation of argon molecular ions in plasma mass spectrometry // *J. Anal. Atom. Spectrom.* 1996. V. 11. P. 643. <https://doi.org/10.1039/JA9961100643>
19. *Rowley L.K.* Fundamental studies of interferences in ICP-MS. Thesis ... doctor of philosophy. Plymouth: University of Plymouth, 2000. 246 p.
20. *Hattendorf B., Gunther D., Schonbachler M., Halliday A.* Simultaneous ultratrace determination of Zr and Nb in chromium matrixes with ICP-dynamic reaction cell MS // *Anal. Chem.* 2001. V. 73. P. 5494. <https://doi.org/10.1021/ac015549a>
21. *Mei-Fu Zhou, John Malpas, Min Sun, Ying Liu, Xiao Fu.* A new method to correct Ni- and Cu-argide interference in the determination of the platinum-group elements, Ru, Rh, and Pd, by ICP-MS // *Geochem. J.* 2001. V. 35. P. 413. <https://doi.org/10.2343/geochemj.35.413>
22. *Petibon C.M., Longerich H.P., Horn I., Tubrett M.N.* Neon inductively coupled plasma for laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry // *Appl. Spectrosc.* 2002. V. 56. № 5. P. 658. <https://doi.org/10.1366/0003702021955231>
23. *Jones D.M.R.* A study of ion-molecule reactions in a dynamic reaction cell to improve elemental analysis with inductively coupled plasma-mass spectrometry. Diss. ... doctor of philosophy. Ohio, USA: The Ohio State University, 2007. 629 p.
24. *Guillong M., Danyushevsky L., Walleb M., Raveggic M.* The effect of quadrupole ICPMS interface and ion lens design on argide formation. Implications for LA-ICPMS analysis of PGE's in geological samples // *J. Anal. Atom. Spectrom.* 2011. V. 26. P. 1401. <https://doi.org/10.1039/c1ja10035a>
25. *Fialho L.L., Pereira C.D., Nóbrega J.A.* Combination of cool plasma and collision-reaction interface for correction of polyatomic interferences on copper signals in inductively coupled plasma quadrupole mass spectrometry // *Spectrochim. Acta B: Atom. Spectrosc.* 2011. V. 66. P. 389. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2011.04.001>
26. *Witte T.M., Houk R.S.* Metal argide (M⁺Ar⁺) ions are lost during ion extraction in laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry // *Spectrochim. Acta B: Atom. Spectrosc.* 2012. V. 69. P. 25. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2012.02.008>
27. *Witte T.M.* Laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry: Examinations of the origins of polyatomic ions and advances in the sampling of particulates. Diss. ... doctor of philosophy. Ames, Iowa: Iowa State University, 2011. 192 p.
28. *Ebert C.H., Witte T.M., Houk R.S.* Investigation into the behavior of metal-argon polyatomic ions (M⁺Ar⁺) in the extraction region of inductively coupled plasma-mass spectrometry // *Spectrochim. Acta B: Atom. Spectrosc.* 2012. V. 76. P. 119. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2012.06.046>
29. *Chernonozhkin S.M., Costas-Rodriguez M., Claeys P., Vanhaecke F.* Evaluation of the use of cold plasma conditions for Fe isotopic analysis via multi-collector ICP-mass spectrometry: Effect on spectral interferences and instrumental mass discrimination // *J. Anal. Atom. Spectrom.* 2017. V. 32. P. 538. <https://doi.org/10.1039/C6JA00428H>
30. *Радицг А.А., Смирнов Б.М.* Параметры атомов и атомных ионов: Справочник. Москва: Энергоатомиздат, 1986. 344 с.
31. *Giantureo F.A., Niedner G., Noll M., Semprini E., Stefani F., Toennies J.P.* Potential energy curves for the (ArH)⁺ and (NeH)⁺ systems from the interplay of theory and experiments // *Z. Phys. D: Atoms, Molecules and Clusters.* 1987. V. 7. P. 281. <https://doi.org/10.1007/BF01384995>
32. *Хьюбер К.П., Герцберг Г.* Константы двухатомных молекул. Часть 1. Молекулы Ag₂-MoO. Москва: Мир, 1984. 408 с. (*Huber K.P., Herzberg G.* *Molecular Spectra and Molecular Structure. IV. Constants of Diatomic Molecules.* New York et al.: Van Nostrand Reinhold Company, 1979. 716 p.)
33. *Pettitt B.M., Jacobson K., Matcha R.L.* Collinear reaction surface for He and ArH⁺ // *The J. Chem. Phys.* 1980. V. 72. P. 2892. <https://doi.org/10.1063/1.439398>
34. *Grandinetti F.* Noble Gas Chemistry Structure, Bonding, and Gas-phase Chemistry. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2018. 345 p.
35. *Grandinetti F.* Gas-phase ion chemistry of the noble gases: Recent advances and future perspectives // *Eur. J. Mass Spectrom.* 2011. V. 17. P. 423. <https://doi.org/10.1255/ejms.1151>
36. *Rosmus P.* Molecular constants for the ¹Σ⁺ ground state of the ArH⁺ ion // *Theoret. Chim. Acta (Berl.).* 1979. V. 51. P. 359. <https://doi.org/10.1007/BF00548944>

37. *Schutte C.J.H.* An ab initio molecular orbital study of the argon hydride molecule-ions, ArH^+ and ArD^+ , at the MP4(SDQ)/6-311++G(3df, 3dp) level. III: A study of some physical properties of ArH^+ , compared with those of HeH^+ , NeH^+ and KrH^+ and the diatomic Van der Waals molecules He_2 , Ne_2 , Ar_2 and Kr_2 // *Chem. Phys. Lett.* 2002. V. 353. № 5–6. P. 389. [https://doi.org/10.1016/S0009-2614\(01\)00919-8](https://doi.org/10.1016/S0009-2614(01)00919-8)
38. *Lorenzen J., Hotop H., Ruf M.-W., Morgner H.* Rovibronic structure in the electron energy spectrum for associative ionization: $\text{Ne}(^3\text{P}_2)$, $\text{Ar}(^3\text{P}_2)+\text{H}$ // *Z. Phys. A: Atoms and Nuclei.* 1980. V. 297. P. 19. <https://doi.org/10.1007/BF01414240>
39. *Nonose N.* Formation of interfering polyatomic ion species in inductively coupled plasma mass spectrometer // *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.* 1997. V. 45. № 1. P. 77. <https://doi.org/10.5702/massspec.45.77>
40. *Luo Yu-Ran.* Comprehensive Handbook of Chemical Bond Energies. Boca Raton: CRC Press, 2007. 1686 p. <https://doi.org/10.1201/9781420007282>
41. *Ruette F., Sanchez M., Anez R., Bermudez A., Sierraalta A.* Diatomic molecule data for parametric methods. I // *J. Mol. Struct.: THEOCHEM.* 2005. V. 729. P. 19. <https://doi.org/10.1016/j.theochem.2005.04.024>
42. *Frenking G., Koch W., Cremer D., Gauss J., Liebman J.F.* Neon and argon bonding in first-row cations NeX^+ and ArX^+ ($\text{X} = \text{Li} - \text{Ne}$) // *J. Phys. Chem.* 1989. V. 93. P. 3410. <https://doi.org/10.1021/j100346a008>
43. *Bauschlicher C.W., Jr., Partridge H., Langhoff S.R.* Theoretical study of metal noble gas positive ions // *J. Chem. Phys.* 1989. V. 91. P. 4733. <https://doi.org/10.1063/1.456762>
44. *Bauschlicher C. Jr., Partridge H., Langhoff S.R.* Comparison of the bonding between ML^+ and ML ($\text{M} = \text{Metal}$, $\text{L} = \text{Noble Gas}$) // *Chem. Phys. Lett.* 1990. V. 165. P. 272. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(90\)85441-E](https://doi.org/10.1016/0009-2614(90)85441-E)
45. *Gardner A.M., Withers C.D., Graneek J.B., Wright T.G., Viehland L.A., Breckenridge W.H.* Theoretical study of M^+ -RG and M^{2+} -RG complexes and transport of M^+ through RG ($\text{M} = \text{Be}$ and Mg , $\text{RG} = \text{He} - \text{Rn}$) // *J. Phys. Chem A.* 2010. V. 114. P. 7631. <https://doi.org/10.1021/jp4075652>
46. *Lüder Ch., Velegakis M.* Photofragmentation spectrum of the Sr^+Ar complex // *J. Chem. Phys.* 1996. V. 105. P. 2167. <https://doi.org/10.1063/1.472090>
47. *Wong M.W., Radom L.* Multiply bonded argon-containing ions: Structures and stabilities of XAr^+ cations ($\text{X} = \text{B}$, C , N ; $n = 1 - 3$) // *J. Phys. Chem.* 1989. V. 93. P. 6303. <https://doi.org/10.1021/j100354a009>
48. *Koskinen J.T., Cooks R.G.* Novel rare gas ions BXe^+ , BKr^+ , and BAr^+ formed in a halogen/rare gas exchange reaction // *J. Phys. Chem. A.* 1999. V. 103. № 48. P. 9565. <https://doi.org/10.1021/jp993091z>
49. *Broström L., Larsson M., Mannervik S., Sonnek D.* The visible photoabsorption spectrum and potential curves of ArN^+ // *J. Chem. Phys.* 1991. V. 94. P. 2734. <https://doi.org/10.1063/1.459850>
50. Technical overview and performance capability of the Agilent 7900s ICP-MS for semiconductor applications. Agilent Technologies, Inc., 2020. 6 p. DE.0433912037
51. *Karlau D.J., Weise J.* The potential of $\text{Ar}-\text{O}^+(^4\text{X}^-)$ // *Chem. Phys. Lett.* 1977. V. 45. № 1. P. 92.
52. *Frenking G., Koch W., Deakne C.A., Liebman A., Bartlett B.* The ArF^+ cation. Is it stable enough to be isolated in a salt? // *J. Am. Chem. Soc.* 1989. V. 111. № 1. P. 31. <https://doi.org/10.1021/ja00183a005>
53. *Гурвич Л.В., Карачевцев Г.В., Кондратьев В.Н., Лебедев Ю.А., Медведев В.А., Потапов В.К., Ходеев Ю.С.* Энергии разрыва химических связей. Потенциалы ионизации и сродство к электрону. Москва: Наука, 1974. 354 с.
54. *Partridge H., Bauschlicher C.W., Jr., Langhoff S.R.* Theoretical study of metal ions bound to He, Ne, and Ar // *J. Phys. Chem.* 1992. V. 96. P. 5350. <https://doi.org/10.1021/j100192a032>
55. *Gaied W., Habli H., Oujia B., Gadea F.X.* Theoretical study of the MgAr molecule and its ion Mg^+Ar : potential energy curves and spectroscopic constants // *Eur. Phys. J. D.* 2011. V. 62. P. 371. <https://doi.org/10.1140/epjd/e2011-10572-y>
56. *Buthlezi T., Bellert D., Hayes T., Brucat P.J.* The adiabatic binding energy of NbAr^+ // *Chem. Phys. Lett.* 1996. V. 262. P. 303. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(96\)01095-0](https://doi.org/10.1016/0009-2614(96)01095-0)
57. *Pilgrim J.S., Yeh C.S., Berry K.R., Duncan M.A.* Photodissociation spectroscopy of Mg^+ -rare gas complexes // *J. Chem. Phys.* 1994. V. 100. P. 7945. <https://doi.org/10.1063/1.466840>
58. *Heidecke S.A., Fu Z., Colt J.R., Morse M.D.* Spectroscopy of AlAr and AlKr from 31000 cm^{-1} to the ionization limit // *The J. Chem. Phys.* 1992. V. 97. P. 1692. <https://doi.org/10.1063/1.463157>
59. *Cleland T.J., Meeks F.R.* Statistical mechanics of the Ar_2^+ in an inductively coupled plasma // *Spectrochim. Acta B: Atom. Spectrom.* 1996. V. 51. P. 1487. [https://doi.org/10.1016/0584-8547\(96\)01530-3](https://doi.org/10.1016/0584-8547(96)01530-3)
60. *Gardner A.M., Withers C.D., Wright T.G., Kaplan K.I., Chivone Y.N., Chapman C.Y.N., Viehland L.A., Lee E.P.F., Breckenridge W.H.* Theoretical study of the bonding in Mn^+ -RG complexes and the transport of Mn^+ through rare gas ($\text{M} = \text{Ca}$, Sr , and Ra ; $n = 1$ and 2 ; and $\text{RG} = \text{He} - \text{Rn}$) // *J. Chem. Phys.* 2010. V. 132. Article 054302. <https://doi.org/10.1063/1.3297891>
61. *Hayes T., Bellert D., Buthelezi T., Brucat P.J.* The bond length of VAr^+ // *Chem. Phys. Lett.* 1998. V. 287. P. 22. [https://doi.org/10.1016/S0009-2614\(98\)00129-8](https://doi.org/10.1016/S0009-2614(98)00129-8)
62. *Lessen D., Brucat P.J.* Characterization of transition metal-raregas cations: VAr^+ and VKr^+ // *J. Chem. Phys.* 1989. V. 91. P. 4522. <https://doi.org/10.1063/1.456790>
63. *Grills D.C., George M.W.* Transition metal-noble gas complexes // *Adv. Inorg. Chem.* 2001. V. 52. P. 113. [https://doi.org/10.1016/S0898-8838\(05\)52002-6](https://doi.org/10.1016/S0898-8838(05)52002-6)

64. *Hammond B.L., Lester W.A., Jr., Braga M., Taft C.A.* Theoretical study of the interaction of ionized transition metals (Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu) with argon // *Phys. Rev B.* 1990-II. V. 41. № 15. P. 10447. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.41.10447>
65. *Lessen D.E., Asher R.L., Brucat P.J.* Spectroscopically determined binding energies of CrAr^+ and $\text{Cr}(\text{N}_2)^+$ // *Chem. Phys. Lett.* 1991. V. 17. № 4–5. P. 380. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(91\)85069-9](https://doi.org/10.1016/0009-2614(91)85069-9)
66. *Hoshino H., Yamakita Y., Okutsu K., Suzuki Y., Saito M., Koyasu K., Ohshimo K., Misaizu F.* Photofragment imaging from mass-selected ions using a reflectron mass spectrometer. I. Development of an apparatus and application to Mg^+-Ar complex // *Chem. Phys. Lett.* 2015. V. 630. P. 111. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2015.04.033>
67. *Tjelte I B.L., Walter D., Armentrout P.B.* Determination of weak Fe–L bond energies (L = Ar, Kr, Xe, N_2 , and CO_2) by ligand exchange reactions and collision induced dissociation // *Int. J. Mass Spectrom.* 2001. V. 204. P. 7. [https://doi.org/10.1016/S1387-3806\(00\)00342-0](https://doi.org/10.1016/S1387-3806(00)00342-0)
68. *Bastug T., Sepp W.-D., Fricke B., Johnson E., Barshick C.M.* All-electron relativistic Dirac-Fock-Slater self-consistent-field calculations of the singly charged diatomic transition-metal-(Fe, Co, Ni, Cu, Zn) argon molecules // *Phys. Rev A.* 1995. V. 52. № 4. P. 2734. <https://doi.org/10.1103/PhysRevA.52.2734>
69. *Barshick C.M., Smith D.H., Johnson E., King F.L., Bastug T., Fricke B.* Periodic nature of metal-noble gas adduct ions in glow discharge mass spectrometry // *Appl. Spectrosc.* 1995. V. 49. № 7. P. 885. <https://doi.org/10.1366/0003702953964840>
70. *Lessen D., Brucat P.J.* Resonant photodissociation of CoAr^+ and CoKr^+ : Analysis of vibrational structure // *J. Chem. Phys.* 1989. V. 90. P. 6296. <https://doi.org/10.1063/1.456346>
71. *Asher R.L., Bellert D., Buthelezi T., Brucat P.J.* The ground state of CoAr^+ // *Chem. Phys. Lett.* 1994. V. 227. P. 277. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(94\)00828-0](https://doi.org/10.1016/0009-2614(94)00828-0)
72. *Bauschlicher C.W., Jr., Langhoff S.R.* Theoretical study of NiAr^+ // *Chem. Phys. Lett.* 1989. V. 158. № 5. P. 409. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(89\)87361-0](https://doi.org/10.1016/0009-2614(89)87361-0)
73. *Lessen D., Brucat P.J.* On the nature of NiAr^+ // *Chem. Phys. Lett.* 1988. V. 152. № 6. P. 473. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(88\)80444-5](https://doi.org/10.1016/0009-2614(88)80444-5)
74. *Yousef A., Shrestha S., Viehland L.A., Lee E.P.F., Gray B.R., Ayles V.L., Wright T.G., Breckenridge W.H.* Interaction potentials and transport properties of coinage metal cations in rare gases // *J. Chem. Phys.* 2007. V. 127. Article 154309. <https://doi.org/10.1063/1.2774977>
75. *Asher R.L., Bellert D., Buthelezi T., Lessen D., Brucat P.J.* The bond length of ZrAr^+ // *Chem. Phys. Lett.* 1995. V. 234. P. 119. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(95\)00006-P](https://doi.org/10.1016/0009-2614(95)00006-P)
76. *McGuirk M.F., Viehland L.A., Lee E.P.F., Breckenridge W.H., Withers C.D., Gardner A.M., Plowright R.J., Wright T.G.* Theoretical study of $\text{Ba}^{n+}-\text{RG}$ (RG = rare gas) complexes and transport of Ba^{n+} through RG ($n = 1, 2$; RG = He–Rn) // *J. Chem. Phys.* 2009. V. 130. Article 194305. <https://doi.org/10.1063/1.3132543>
77. *Музгин В.Н., Емельянова Н.И., Пупышев А.А.* Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой – новый метод в аналитической химии // *Аналитика и контроль.* 1998. Т. 2. № 3–4. С. 3.
78. *Niu Hongsen, Houk R.S.* Fundamental aspects of ion extraction in inductively coupled plasma mass spectrometry // *Spectrochim Acta B: Atom. Spectrosc.* 1996. V. 51. P. 779. [https://doi.org/10.1016/0584-8547\(96\)01506-6](https://doi.org/10.1016/0584-8547(96)01506-6)
79. *De Jong J., Schoemann V., Tison J.-L., Becquevort S., Masson F., Lannuzel D., Petit J., Chou L., Weis D., Mattielli N.* Precise measurement of Fe isotopes in marine samples by multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry (MC-ICP-MS) // *Anal. Chim. Acta.* 2007. V. 589. P. 105. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.02.055>
80. *Hill S.J., Ford M.J., Ebdon L.* Investigations into the application of methane addition to the nebulizer gas in inductively coupled plasma mass spectrometry for the removal of polyatomic interferences // *J. Anal. Atom. Spectrom.* 1992. V. 7. P. 1157. <https://doi.org/10.1039/JA9920701157>
81. *Montaser A., Zhung A.* Mass spectrometry with mixed gas and helium / *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry.* New York et al.: Wiley-VCH Inc., 1998. P. 809.
82. *De Jong J., Schoemann V., Tison J.-L., Becquevort S., Masson F., Lannuzel D., Petit J., Chou L., Weis D., Mattielli N.* Precise measurement of Fe isotopes in marine samples by multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry (MC-ICP-MS) // *Anal. Chim. Acta.* 2007. V. 589. P. 105. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.02.055>
83. *Pons M.L., Millet M.-A., Nowell G.N., Misra S., Williams H.M.* Precise measurement of selenium isotopes by HG-MC-ICPMS using a 76–78 double-spike // *J. Anal. At. Spectrom.* 2020. V. 35. P. 320. <https://doi.org/10.1039/c9ja00331b>
84. *De Jong J., Schoemann V., Lannuzel D., Tison J.-L., Mattielli N.* High-accuracy determination of iron in seawater by isotope dilution multiple collector inductively coupled plasma mass spectrometry (ID-MC-ICP-MS) using nitrilotriacetic acid chelating resin for pre-concentration and matrix separation // *Anal. Chim. Acta.* 2008. V. 623. P. 126. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.06.013>
85. *De Boer J.L.M.* Real-time adjustment of ICP-MS elemental equations // *J. Anal. Atom. Spectrom.* 2000. V. 15. P. 1157. <https://doi.org/10.1039/b001101k>
86. *De Boer J.L.M.* Possibilities and limitations of spectral fitting to reduce polyatomic ion interferences in inductively coupled plasma quadrupole mass spectrometry in the mass range 51–88 // *Spectrochim. Acta B: Atom. Spectrosc.* 1997. V. 52. P. 389. [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(96\)01604-7](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(96)01604-7)
87. *Van Veen E.H., Bosch S., Loos-Vollebrecht T.C.* Spectral interpretation and interference correction in inductively coupled plasma mass spectrometry // *Spectrochim. Acta B: Atom. Spectrosc.* 1994. V. 49. P. 1347. [https://doi.org/10.1016/0584-8547\(94\)80114-2](https://doi.org/10.1016/0584-8547(94)80114-2)

88. *Whiteley J.D., Murray F.* Determination of platinum group elements (PGE) in environmental samples by ICP-MS: A critical assessment of matrix separation for the mitigation of interferences // *Geochem.: Explor., Environ., Anal.* 2005. V. 5. P. 3. <https://doi.org/10.1144/1467-7873/03-0>
89. *Segura M., Madrid Y., Camara C.* Elimination of calcium and argon interferences in iron determination by ICP-MS using desferrioxamine chelating agent immobilized in sol-gel and cold plasma conditions // *J. Anal. Atom. Spectrom.* 2003. V. 18. P. 1103. <https://doi.org/10.1039/b301719m>
90. *Vanhaecke F., Balcaen L., Wannemacker G.D., Moens L.* Capabilities of inductively coupled plasma mass spectrometry for the measurement of Fe isotope ratios // *J. Anal. Atom. Spectrom.* 2002. V. 17. P. 933. <https://doi.org/10.1039/B202409H>
91. *Gray P.J.* Nanoparticle characterization, fundamental studies and computer simulations of dynamic reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry. Diss. ... doctor of philosophy. Ohio, USA: The Ohio State University, 2011. 447 p.
92. *McShane W.J., Pappas R.S., Paschal D.* Analysis of total arsenic, total selenium and total chromium in urine by inductively coupled plasma-dynamic reaction cell-mass spectrometry // *J. Anal. Atom. Spectrom.* 2007. V. 22. P. 630. <https://doi.org/10.1039/B613884E>
93. *Tanner S.D., Baranov V.I., Bandura D.R.* Reaction cells and collision cells for ICP-MS: A tutorial review // *Spectrochim. Acta B: Atom. Spectrosc.* 2002. V. 57. P. 1361. [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(02\)00069-1](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(02)00069-1)
94. *Yamada N., Takahashi J., Sakata K.* The effects of cell-gas impurities and kinetic energy discrimination in an octopole collision cell ICP-MS under non-thermalized conditions // *J. Anal. Atom. Spectrom.* 2002. V. 17. P. 1213. <https://doi.org/10.1039/b205416g>
95. *Balaram V.* Strategies to overcome interferences in elemental and isotopic geochemical analysis by quadrupole inductively coupled plasma mass spectrometry: A critical evaluation of the recent developments // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2021. V. 35. Article e9065. <https://doi.org/10.1002/rcm.9065>
96. *Anicich V.G., Huntress W.T., Jr.* A survey of bimolecular ion-molecule reactions for use in modeling the chemistry of planetary atmospheres, cometary comae, and interstellar clouds // *The Astrophys. J. Suppl. Ser.* 1986. V. 62. P. 553. <https://doi.org/10.1086/191151>
97. *Lias S.G., Bartmess J.E., Liebman J.F., Holmes J.L., Levin R.D., Mallard W.G.* Gas-phase ion and neutral thermochemistry // *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 1988. V. 17. Supplement № 1. 880 p.
98. *Anicich V.G.* An Index of the Literature for Bimolecular Gas Phase Cation-Molecule Reaction Kinetics. JPL Publication 03-19. Pasadena: NASA, 2003. 1194 p.
99. *Naoki Sugiyama, Kazumi Nakano.* Reaction data for 70 elements using O₂, NH₃ and H₂ gases with the Agilent 8800 Triple Quadrupole ICP-MS. Technical note. Publication number: 5991-4585EN Agilent Technologies, Japan, 2014. 14 p.
100. *Agilent 8800 Triple Quadrupole ICP-MS: Understanding oxygen reaction mode in ICP-MS/MS.* Agilent 8800 ICP-QQQ. Technical Overview. Agilent Technologies, Inc., 2012. 8 p.
101. *Yu L.L., Vocke R.D., Murphy K.E., Beck C.M. II.* Determination of As, Cd, Cr, and Hg in SRM 2584 (Trace elements in indoor dust) by high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometry // *Fresenius J. Anal. Chem.* 2001. V. 370. P. 834. <https://doi.org/10.1007/s002160100888>
102. *Galbacs G., Keri A., Kalomista I., Kovacs-Szeles E., Gornushkin I.B.* Deuterium analysis by inductively coupled plasma mass spectrometry using polyatomic species: An experimental study supported by plasma chemistry modeling // *Anal. Chim. Acta.* 2020. V. 1104. P. 28. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.01.011>
103. *Мальцев М.А., Морозов И.В., Осина Е.Л.* Термодинамические функции ArO и ArO⁺ // *Теплофизика высоких температур.* 2020. Т. 58. № 2. С. 202. <https://doi.org/10.31857/S0040364420020131> (*Maltsev A., Morozov I.V., Osina E.L.* Thermodynamic functions of ArO and ArO⁺ // *High Temperature.* 2020. V. 58. № 2. P. 184.) <https://doi.org/10.31857/S0040364420020131>
104. *Мальцев М.А., Морозов И.В., Осина Е.Л.* Термодинамические свойства димеров аргона и Ar₂⁺ // *Теплофизика высоких температур.* 2019. Т. 57. № 1. С. 42. <https://doi.org/10.1134/S0040364419010174> (*Maltsev A., Morozov I.V., Osina E.L.* Thermodynamic properties of Ar₂⁺ and Ar₂ argon dimers // *High Temperature.* 2019. V. 57. № 1. P. 37.) <https://doi.org/10.1134/S0040364419010174>
105. *Maltsev M.A., Aksenova S.A., Morozov I.V., Minenkov Y., Osina E.L.* Ab initio calculations of the interaction potentials and thermodynamic functions for ArN and ArN⁺ // *Comput. Chem.* 2023. V. 44. № 12. P. 1189. <https://doi.org/10.1002/jcc.27078>
106. *Maltsev M.A., Kulikov A.N., Morozov I.V.* Thermodynamic properties of vanadium and cobalt argide ions, VAr⁺ and CoAr⁺ // *J. Phys.: Conf. Ser.* 2016. V. 774. Article 012023. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/774/1/012023>
107. *Goodner K.L., Eyler J.R., Barshick C.M., Smith D.H.* Elemental quantification based on argides, dimers charged glow discharge ions // *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* 1995. V. 146/147. P. 65. [https://doi.org/10.1016/0168-1176\(95\)04204-X](https://doi.org/10.1016/0168-1176(95)04204-X)
108. *Пупышев А.А.* Тлеющий разряд по Гримму. Физические основы, исследование и применение в атомно-эмиссионном спектральном анализе / *Пупышев А.А., Данилова Д.А.* Атомно-эмиссионный спектральный анализ с индуктивно связанной плазмой и тлеющим разрядом по Гримму. Екатеринбург: ГОУ ВПО УГТУ-УПИ, 2002. С. 3.

УДК 543.054/.645

СЕЛЕКТИВНЫЕ СОРБЕНТЫ НА ОСНОВЕ ИМПРИНТИРОВАННОЙ ГЛЮКООКСИДАЗЫ

© 2023 г. П. С. Пиденко^а, К. Ю. Пресняков^а, Д. Д. Дрозд^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 05.04.2023 г.

После доработки 27.04.2023 г.

Принята к публикации 27.04.2023 г.

Разработана методика синтеза высокоселективного сорбента на основе импринтированного белка (ИБ) – глюкооксидазы (ГО) – и коммерчески доступных микрочастиц SiO₂ для сорбции микотоксина зеараленона, продуцируемого грибами вида *Fusarium*. Впервые предложено использование 3D флуоресцентной спектроскопии для контроля процесса очистки ИБ. Оценена возможность замены молекулы зеараленона в качестве молекулы шаблона на структурные аналоги, обладающие более низкой токсичностью. Определены аналитические характеристики определения зеараленона с использованием импринтированной ГО в качестве рецепторного элемента в иммуоферментном анализе: предел обнаружения – 5 нг/мл, линейный диапазон определяемых концентраций – 11–112 нг/мл. Показаны высокие сорбционные характеристики синтезированного сорбента на основе ИБ (сорбционная емкость – 7.6 мкг/мг сорбента, импринтинг фактор – 2.5).

Ключевые слова: молекулярный импринтинг, импринтированные белки, глюкозооксидаза, зеараленон, флуоресценция, 3D флуоресцентная спектроскопия.

DOI: 10.31857/S0044450223090104, EDN: ZXCIFY

Микотоксины – вторичные метаболиты, продуцируемые грибами, принадлежащими к родам *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* [1]. В настоящее время зарегистрировано более 500 микотоксинов, среди которых наибольшую опасность для сельского хозяйства, здоровья человека и животных представляют группы афлатоксинов, охратоксинов, фумонизинов, а также патулин, vomitоксин и зеараленон (ЗЕА) [2]. Зеараленон – нестероидный эстрогенный микотоксин, продуцируемый несколькими видами грибов *Fusarium*, преимущественно известный как патоген зерновых культур [3]. Структура ЗЕА аналогична природным эстрогенам, что обуславливает высокое сродство связывания с сайтами эстрогенных рецепторов клеток и, как результат, приводит к снижению уровня прогестерона и сывороточного тестостерона в кровотоке. Это является причиной многочисленных клеточных изменений, бесплодия, снижения частоты беременностей у животных (свиней, овец, свиней и крупного рогатого скота), а также гиперактивных эстрогенных нарушений у человека [2, 4].

На территории РФ контроль уровней микотоксинов проводится в зерне, используемом в пищевых и кормовых целях [5], и продуктах питания [6]. Предельно допустимое содержание ЗЕА в

зерне злаковых (пшеница, ячмень, кукуруза), применяемых в пищевых целях, составляет 1 мг/кг, для зернобобовых и масличных культур предельные значения не установлены. Для всех видов зерна кормовых культур предельно допустимое содержание ЗЕА установлено на уровне 1 мг/кг. Согласно нормам [6], предельно допустимые уровни ЗЕА для ферментных препаратов грибного происхождения и продуктов, содержащих пшеничную, ячменную и кукурузную муку, составляют не более 5 мкг/кг; в крупе, толокне, хлопьях, муке, макаронных изделиях, хлебе и хлебобулочных изделиях пшеничного, ячменного и кукурузного происхождения – 0.2 мг/кг. Предельно допустимые уровни содержания ЗЕА в кормовых культурах, установленные Европейской комиссией [7], составляют 2 мг/кг, за исключением кукурузы (не более 3 мг/кг), а в продуктах питания аналогичны требованиям законодательства РФ.

Негативное воздействие ЗЕА и его производных на здоровье человека и животных, проявляющееся в различных иммунотоксических и генотоксических эффектах, обуславливает необходимость разработки эффективных методов концентрирования, определения и инактивации ЗЕА в природных матрицах [8, 9]. По сравнению с химическими и физическими подходами биологические методы

детоксикации и инактивации, предусматривающие биотрансформацию микотоксинов в менее токсичные метаболиты, как правило, являются более продуктивными [2]. В работах [2, 10] рассмотрены различные методы разложения и биodeградации микотоксинов, в том числе ЗЕА, с использованием ферментов микробного происхождения. Среди этих методов наибольшее распространение получил метод, основанный на расщеплении лактонового кольца, катализируемом ферментами гидролазами. Разрушение структуры ЗЕА приводит к нарушению эстрогенной активности и устранению воздействия на клетки живых организмов. Другим путем инактивации ЗЕА является использование высокоселективных сорбентов на основе молекулярно импринтированных полимеров (МИП), позволяющих эффективно выделять микотоксины из биологических матриц [11]. В этом плане определенный интерес представляют импринтированные белки (ИБ), обладающие большей биосовместимостью по сравнению с МИП на основе органических полимеров. К преимуществам ИБ следует также отнести высокую селективность к молекулам-шаблонам [12–15] и возможность использования доступных реагентов – белковых молекул и сшивающих мономеров [16].

Авторами работ [13, 14, 17] показана возможность создания ИБ, специфичных к ЗЕА, на основе альбумина из белка куриных яиц (овальбумина) и бычьего сывороточного альбумина, характеризующихся достаточно высоким значением импринтинг фактора (ИФ) 2.2. Возможным путем повышения сорбционной емкости ИБ является использование матричной белковой молекулы с большой площадью поверхности, например глюкозооксидазы (ГО) [15]. Альтернативным способом стабилизации ИБ и расширении области их практического применения может являться их иммобилизация на поверхности носителей, в частности неорганических наночастиц [17–21].

В настоящей работе изучены свойства ИБ, специфичных к ЗЕА (анти-ЗЕА ИБ), на основе ГО, синтезированных с использованием в качестве молекулы шаблона ЗЕА и его структурных аналогов (4-гидроксикумарин, кумарин), проявляющих более низкую токсичность. Оценена возможность иммобилизации анти-ЗЕА ИБ на поверхности наночастиц SiO₂, модифицированных полианилином (ПАНИ), и их использования в качестве селективного к ЗЕА сорбента.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы. Использовали ГО из *Aspergillus niger*, (Тип 7, 1000 У/мг), ЗЕА, 4-гидроксикумарин (4-ГК, 98%), кумарин (98%), глутаровый альдегид (ГА, 25% водн.), анилина гидрохлорид и пероксидсульфат аммония (Merck KGaA, Германия), ультрафильтрационные пробирки 30000 MWCO (JET Bio-Filtration Co. Ltd., Китай), диализные

мешки 10000 MWCO (Thermo Scientific Inc., США). В качестве носителя использовали наночастицы Аэросил™ 200 (SiO₂, Evonik GmbH, Германия). Для приготовления буферных растворов использовали NaH₂PO₄·2H₂O и Na₂HPO₄·12H₂O (ООО “РеаХим”, Россия). Для приготовления всех растворов использовали бидистиллированную воду (БД) с удельным сопротивлением ~18 МОм/см.

Спектры флуоресценции растворов регистрировали на флуориметре Cary Eclipse (Agilent Technologies Inc., США), спектры поглощения – на спектрофотометре UV–1800 (Shimadzu Co., Япония). pH растворов измеряли с помощью pH-метра AB33PH (Ohaus Co., США) с применением электрода ST310.

Ферментативную активность ИБ и неимпринтированных ИБ (нИБ) оценивали по тушению люминесцентного субстрата, состоящего из коллоидного раствора квантовых точек, стабилизированных дигидролипоевой кислотой (CdZnSeS/ZnS@ДЛК), в глюкозе (1 мг/мл в БД) [22]. Измерение скорости ($t = 60$ мин) изменения интенсивности люминесценции квантовых точек (КТ) ($\lambda_{исп} = 530$ нм) проводили в микропланшетном ридере Synergy H1 (BioTek Instruments, США).

Аналитические характеристики синтезированных ИБ определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с заменой анти-ЗЕА антител на анти-ЗЕА ИБ согласно методике [13]. Для иммобилизации использовали растворы ИБ с концентрацией 20 мкг/мл и конъюгата зеараленон-пероксидаза хрена (ЗЕА-ПХ, 1/100000) в фосфатном буферном растворе (ФСБ) с pH 7.4, (0.1 М).

Сорбционные свойства анти-ЗЕА ИБ, иммобилизованных на поверхности частиц SiO₂ (анти-ЗЕА ИБ@SiO₂), и частиц SiO₂, модифицированных ПАНИ (анти-ЗЕА ИБ@ПАНИ@SiO₂), оценивали методом ВЭЖХ с УФ-детектором (LC–20AD Shimadzu, Япония) на колонке Waters Spherisorb ODS2 C18 Column (150 мм × 4.6 мм, 5 мкм) в режиме термостатирования (25°C) со скоростью потока 1.0 мл/мин. В качестве подвижной фазы использовали 0.1%-ный водный раствор H₃PO₄ и ацетонитрил в соотношении 60 : 40 (по объему), элюирование осуществляли в изократическом режиме.

Для математических расчетов использовали программное обеспечение OriginPro 2022 (Origin-Lab Co., США).

Синтез и очистка анти-ЗЕА ИБ. Синтез антиЗЕА ИБ проводили по известной методике [12, 14] с незначительными изменениями. В водный раствор ГО (1 мг/мл, 15 мкМ) вносили 0.1 М HCl до pH 3.0, перемешивали в течение 10 мин и добавляли 0.1 мл 640 мкМ раствора молекулы шаблона (ЗЕА, 4-ГК, кумарин). Реакционную смесь перемешивали в течение 10 мин, добавляли 0.1 М раствор NaOH до pH 9.0 и вносили 0.1 мл 1%-ного водного раствора ГА. Полученный раствор перемешивали в течение 30 мин и выдер-

живали 12 ч при 4°C. нИБ синтезировали по аналогичной методике, но вместо раствора молекулы шаблона вносили равный объем этанола.

Синтезированные анти-ЗЕА ИБ и нИБ очищали методом диализа против ФСБ с рН 6.5 (0.1 М) в течение 6 ч с заменой диализата каждые 60 мин, затем против ФСБ с рН 7.4 (0.1 М) в течение 18 ч.

Растворы ИБ и нИБ концентрировали центрифугированием в ультрафильтрационных пробирках (30000 MWCO) при 3000 г и 4°C в течение 7 мин. Полученные образцы хранили в стеклянных флаконах из темного стекла при 4°C.

Синтез анти-ЗЕА ИБ@ПАНИ@SiO₂. Наночастицы SiO₂ (50 мг) диспергировали в 10 мл 0.01 М раствора анилина гидрохлорида в HCl (рН 4) с использованием ультразвуковой обработки в течение 10 мин. В полученный раствор при постоянном перемешивании в течение 4 ч при 0°C по каплям вносили 0.2 мл 0.05 М раствора пероксидисульфата аммония, раствор выдерживали 12 ч. Модифицированные частицы ПАНИ@SiO₂ осаждали центрифугированием при 5000 г в течение 15 мин, промыли БД для удаления непрореагировавших компонентов, сушили в вакууме при 50°C в течение 24 ч. ИБ иммобилизовали на поверхности частиц массой 5 мг SiO₂ и ПАНИ@SiO₂ методом физической адсорбции по известным методикам [23–25]. Частицы, модифицированные ИБ, осаждали центрифугированием при 5000 г в течение 5 мин и после удаления надосадочной жидкости использовали для изучения их сорбционных свойств.

Изучение сорбционных свойств анти-ЗЕА ИБ@SiO₂ и анти-ЗЕА ИБ@ПАНИ@SiO₂. Полученные частицы вносили в 1 мл раствора ЗЕА с концентрацией 50 мкг/мл в 0.1 М ФСБ с рН 7.4 и перемешивали на орбитальном шейкере в течение 30 мин (50 об/мин). Концентрацию ЗЕА в надосадочной жидкости определяли методом ВЭЖХ-УФ после осаждения частиц центрифугированием при 5000 г в течение 5 мин. ИФ находили как соотношение площадей хроматографических пиков надосадочной жидкости, после сорбции на ИБ и нИБ: ИФ = $\frac{S_{\text{нИБ}}}{S_{\text{ИБ}}}$ [26].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор сорбционной системы. Методика синтеза ИБ основана на предложенном в работе [16] способе синтеза импринтированного овальбумина для придания белку ферментативных свойств глутатионпероксидазы, успешно примененном при создании сенсорных систем для определения микотоксинов в модельных и реальных объектах с ИФ ~2.4 [12–14]. Дальнейшие исследования [27] показали, что наибольший ИФ (~3.1) достигается при использовании иммуноглобулинов G в качестве матричного белка. В то же время при создании рецепторного элемента на основе ГО, специ-

фичного к высокомолекулярной молекуле-шаблону (овальбумину), достигнут ИФ ~4. Эти факты свидетельствуют о возможности повышения сорбционных свойств ИБ при использовании матричной белковой молекулы с большой площадью поверхности, что и обусловило выбор ГО для наших исследований.

Для стабилизации ИБ использовали их иммобилизацию на поверхности наночастиц SiO₂. Выбор наночастиц SiO₂ обусловлен следующими факторами: (1) высокими эксплуатационными характеристиками материала, в том числе соответствие требованиям “зеленой” химии; (2) наличием различных протоколов модификации поверхности SiO₂, в том числе ПАНИ [28]; (3) возможностью физической адсорбции молекул ГО на поверхности SiO₂ до и после модификации. Немаловажным фактором является и возможность снижения стоимости сорбента при использовании коммерчески доступного продукта.

Применение 3D флуоресцентной спектроскопии для контроля процесса очистки импринтированного белка. Одной из важных стадий синтеза ИБ является очистка матричной белковой молекулы от молекул шаблонов. В случае низкомолекулярных молекул шаблонов для этого применяют диализ [12, 13, 16]. Однако влияние времени и количества диализных циклов на процесс очистки ИБ ранее не изучали. Нами показана возможность контроля процесса очистки ИБ в процессе диализа путем регистрации флуоресценции ГО и ЗЕА в растворе при разных $\lambda_{\text{возб}}$ (3D флуоресцентная спектроскопия). Результаты представлены на рис. 1.

Установлено, что через 5 ч после начала диализа в ФСБ с рН 6.5 достигается стабилизация интенсивности сигнала флуоресценции ГО, что может быть обусловлено удалением из раствора аминокислотных остатков, образовавшихся на стадии денатурации ГО при синтезе ИБ. В то же время полное удаление молекул шаблона наблюдается только после смены диализата (ФСБ с рН 7.4) и дополнительного диализа в течение 18 ч.

Аналитические характеристики импринтированного белка. Синтезированные ИБ использовали для определения ЗЕА конкурентным ИФА (ИБ-ИФА). Градуировочные зависимости для определения ЗЕА при использовании ИБ, синтезированных с ЗЕА (анти-ЗЕА ИБ) и его структурными аналогами 4-ГК (анти-4-ГК ИБ) и кумарином (анти-кумарин ИБ) в качестве молекул-шаблонов, представлены на рис. 2. Линейные диапазоны определяемых содержаний и пределы обнаружения (c_{min}) ЗЕА при использовании анти-ЗЕА ИБ, анти-4-ГК ИБ и анти-кумарин ИБ составляют 11–112 нг/мл ($c_{\text{min}} = 5$ нг/мл, 100 мкг/кг), 30–142 нг/мл ($c_{\text{min}} = 12$ нг/мл, 240 мкг/кг) и 54–183 нг/мл ($c_{\text{min}} = 25$ нг/мл, 500 мкг/кг) соответственно. Таким образом, аналитические характеристики анти-ЗЕА ИБ показывают их перспективность для определения

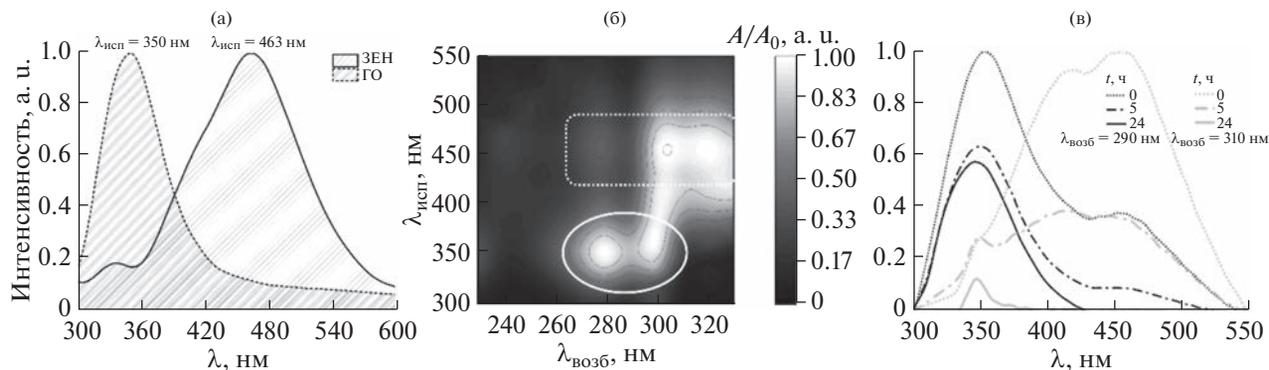


Рис. 1. (а): Спектры флуоресценции глюкооксидазы и зеараленона, (б): результаты 3D флуоресцентной спектроскопии до очистки (области локализации сигнала глюкооксидазы и зеараленона выделены линией и пунктиром соответственно), (в): спектры флуоресценции раствора импринтированного белка во время диализа.

ЗЕА в зерне различного назначения и продуктах питания, а анти-4-ГК ИБ и анти-кумарин ИБ – в зерне, предназначенном для кормовых и пищевых целей на уровнях, рекомендуемых в РФ.

Ферментативные свойства импринтированного белка. Стадии синтеза ИБ предполагают существенное изменение кислотности среды, что может приводить к снижению ферментативной активности ГО из-за изменения конформационной структуры белка как на вторичном, так и на третичном уровнях [29]. В связи с этим изучали влияние синтеза ИБ на ферментативную активность ГО, которое оценивали по тушению КТ на основе твердых растворов [30].

Ферментативную активность ГО, ИБ и нИБ (50 мкг/мл) определяли в 0.01 М ФСБ с рН 6.5, что соответствовало оптимальным условиям проявления активности фермента [31]. На рис. 3 представлены кинетические кривые тушения люминесценции субстрата КТ ($\lambda_{\text{исп}} = 530$ нм) в присутствии

нативной и импринтированной ГО. Согласно полученным данным, ферментативная активность ИБ составила 1081 U/мг, а нИБ, 1177 U/мг, что на 8.1 и 17.7% выше, чем у исходной ГО. Это подтверждает тот факт, что белковая структура ГО не разрушается в процессе синтеза и очистки ИБ, при этом увеличение ферментативной активности, скорее всего, обусловлено увеличением степени очистки ГО вследствие многостадийного процесса очистки и концентрирования фермента при синтезе ИБ.

Иммобилизация импринтированного белка на поверхности наночастиц. Физическая сорбция является самым простым методом иммобилизации фермента на SiO_2 [24, 32]. Сорбция ГО на SiO_2 обусловлена слабыми Ван-дер-Ваальсовыми взаимодействиями, образованием водородных связей, а также электростатическими взаимодействиями между молекулами фермента и силанольными группами на поверхности наночастиц [24]. Син-

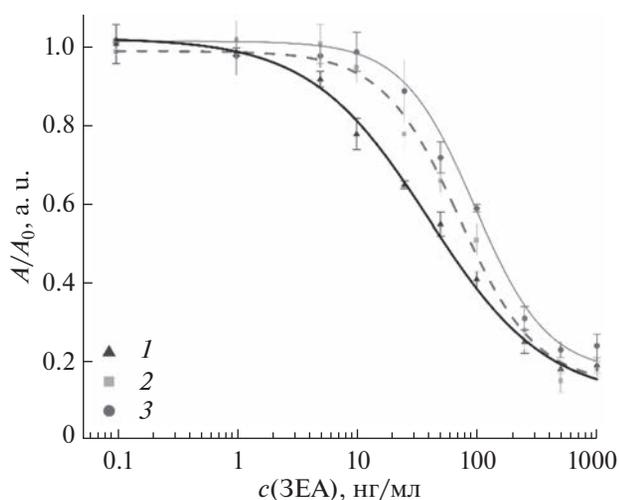


Рис. 2. Градуировочные зависимости для определения зеараленона методом ИБ-ИФА для анти-ЗЕА ИБ (1), анти-4-ГК ИБ (2), анти-кумарин ИБ (3).

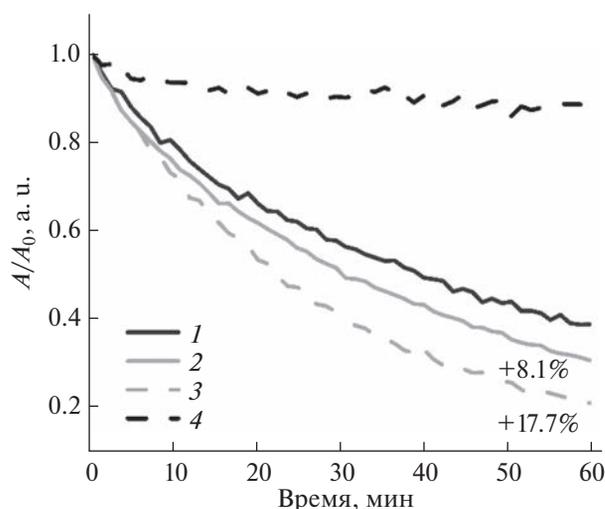


Рис. 3. Кинетические зависимости интенсивности люминесценции субстрата КТ в присутствии глюкооксидазы (1), импринтированного белка (2), неимпринтированного белка (3) и в отсутствие фермента (4).

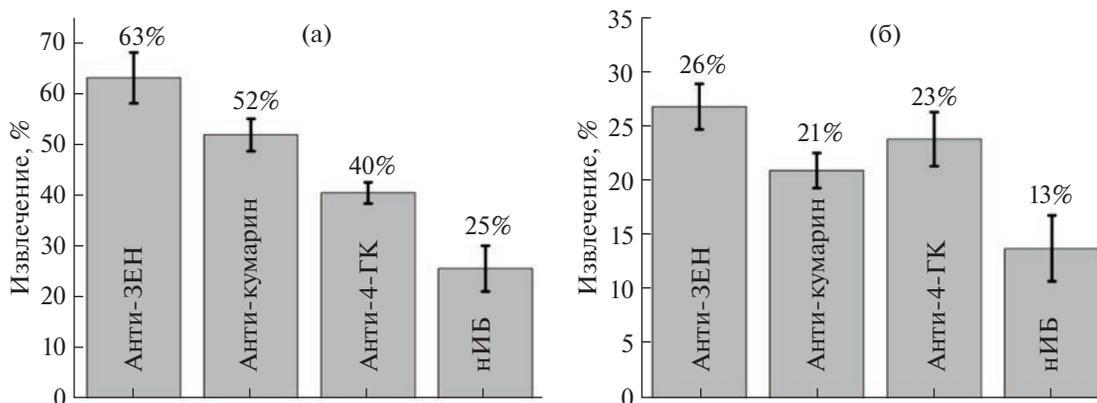


Рис. 4. Степень извлечения зearаленона при использовании импринтированного белка, иммобилизованного на ПАНИ@SiO₂ (а), SiO₂ (б).

тез ПАНИ на поверхности SiO₂ позволяет увеличить эффективность сорбции носителя за счет высококоразвитой заряженной поверхности.

Иммобилизацию ИБ и нИБ проводили в течение 3 ч при 20°C в 0.01 М ФСБ с рН 5.5 и 7.4 на поверхности наночастиц SiO₂ и ПАНИ@SiO₂ соответственно [23, 25]. Степень иммобилизации ИБ и нИБ на поверхности носителя оценивали по изменению интенсивности флуоресценции растворов до и после иммобилизации. Для ПАНИ@SiO₂ и SiO₂ степень иммобилизации составила ~85 и 75% соответственно.

Сорбция зearаленона из модельных растворов. Сравнили сорбционные свойства наночастиц SiO₂ и ПАНИ@SiO₂, модифицированных ИБ и нИБ (рис. 4). Эффективность сорбентов оценивали по изменению площади хроматографического пика ЗЕА в модельных растворах до и после сорбции. Установили, что степень извлечения на сорбентах на основе ПАНИ@SiO₂ больше по сравнению с SiO₂. В зависимости от молекулы-шаблона при синтезе ИБ степень извлечения возрастает в ряду анти-кумарин, анти-4-ГК, анти-ЗЕА ИБ. При этом рассчитанный ИФ составил 1.5, 2.0 и 2.4 для анти-кумарин, анти-4-ГК и анти-ЗЕА ИБ соответственно. Иммобилизации ИБ на поверхности носителей позволяет значительно повысить сорбционную емкость ИБ (до 7.6 мкг/мг) по сравнению с известными данными [14].

Синтезирована импринтированная ГО, специфичная к ЗЕА, изучена возможность замены ЗЕА на менее токсичные структурные аналоги при синтезе ИБ. Проведено сравнение ферментативной активности нативной и импринтированной ГО и показано, что импринтинг существенно не влияет на активность фермента. Синтезированные ИБ успешно применены для аналитического определения ЗЕА методом ИБ-ИФА. Полученные аналитические характеристики позволя-

ют рассматривать возможность использования ИБ для определения ЗЕА в зерне и продуктах питания. Предложена схема создания селективных сорбентов на основе наночастиц SiO₂ и ИБ, иммобилизованных на их поверхности.

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грант № 22–16–00102). П.С. Пуденко благодарит Совет по грантам Президента РФ (стипендия № СП-1690.2022.4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mahato D.K., Devi S., Pandhi S., Sharma B., Maurya K.K., Mishra S., Dhawan K., Selvakumar R., Kamle M., Mishra A.K., Kumar P. Occurrence, impact on agriculture, human health, and management strategies of zearalenone in food and feed: A review // *Toxins*. 2021. V. 13. № 2. P. 92. <https://doi.org/10.3390/toxins13020092>
2. Haque M.A., Wang Y., Shen Z., Li X., Saleemi M.K., He C. Mycotoxin contamination and control strategy in human, domestic animal and poultry: A review // *Microb. Pathog.* 2020. V. 142. Article 104095. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104095>
3. Gupta R.C., Mostrom M.S., Evans T.J. Zearalenone / *Veterinary Toxicology*. Elsevier, 2018. P. 1055. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811410-0.00076-3>
4. Taranu I., Braicu C., Marin D.E., Pistol G.C., Motiu M., Balacescu L., Beridan Neagoe I., Burlacu R. Exposure to zearalenone mycotoxin alters in vitro porcine intestinal epithelial cells by differential gene expression // *Toxicol. Lett.* 2015. V. 232. № 1. P. 310. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.10.022>
5. Технический регламент таможенного союза “О безопасности зерна” (ТР ТС 015/2011). clck.ru/33utzE (дата обращения 30.03.2023).
6. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю). clck.ru/33uu2q (дата обращения 30.03.2023).
7. E. U. Commission Regulation (EC) No 1126/2007 of 28 September 2007 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards Fusarium toxins in maize

- and maize products, 2007. clck.ru/33vPwZ (дата обращения 30.03.2023).
8. *Fleck S.C., Hildebrand A.A., Müller E., Pfeiffer E., Metzler M.* Genotoxicity and inactivation of catechol metabolites of the mycotoxin zearalenone // *Mycotoxin Res.* 2012. V. 28. № 4. P. 267. <https://doi.org/10.1007/s12550-012-0143-x>
 9. *Moreau M., Lescure G., Agoulon A., Svinareff P., Orange N., Feuilloley M.* Application of the pulsed light technology to mycotoxin degradation and inactivation: Destruction of mycotoxins by pulsed light // *J. Appl. Toxicol.* 2013. V. 33. № 5. P. 357. <https://doi.org/10.1002/jat.1749>
 10. *Loi M., Fanelli F., Liuzzi V., Logrieco A., Mulè G.* Mycotoxin biotransformation by native and commercial enzymes: Present and future perspectives // *Toxins.* 2017. V. 9. № 4. P. 111. <https://doi.org/10.3390/toxins9040111>
 11. *Lucci P., David S., Conchione C., Milani A., Moret S., Pacetti D., Conte, L.* Molecularly imprinted polymer as selective sorbent for the extraction of zearalenone in edible vegetable oils // *Foods.* 2020. V. 9. № 10. P. 1439. <https://doi.org/10.3390/foods9101439>
 12. *Gutierrez A.V.R., Hedström M., Mattiasson B.* Bioimprinting as a tool for the detection of aflatoxin B1 using a capacitive biosensor // *Biotechnol. Reports.* 2016. V. 11. P. 12. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.05.006>
 13. *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>
 14. *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>
 15. *Pidenko P., Presnyakov K., Beloglazova N., Burmistrova N.* Imprinted proteins for determination of ovalbumin // *Anal. Bioanal. Chem.* 2022. V. 414. № 18. P. 5609. <https://doi.org/10.1007/s00216-022-04009-3>
 16. *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)
 17. *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>
 18. *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>
 19. *Li B., Duan D., Wang J., Li H., Zhang X., Zhao B.* Improving phospholipase D activity and selectivity by bioimprinting-immobilization to produce phosphatidylglycerol // *J. Biotechnol.* 2018. V. 281. P. 67. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.06.343>
 20. *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>
 21. *Haskell A.K., Sulman A.M., Golikova E.P., Stein B.D., Pink M., Morgan D.G., Lakina N.V., Karpenkov A.Yu., Tkachenko O.P., Sulman E.M., Matveeva V.G., Bronstein L.M.* Glucose oxidase immobilized on magnetic zirconia: Controlling catalytic performance and stability // *ACS Omega.* 2020. V. 5. № 21. P. 12329. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01067>
 22. *Drozd D.D., Pidenko P.S., Presnyakov K.Y., Strokin P.D., Speranskaya E.S., Goryacheva I.Y.* Dihydrolipoic acid coated alloyed quantum dots / *Saratov Fall Meeting 2019: Optical and Nano-Technologies for Biology and Medicine* / Eds. Tuchin V.V., Genina E.A. 2020. V. 1145714. <https://doi.org/10.1117/12.2564393>
 23. *Mahdizadeh F., Eskandarian M.* Glucose oxidase and catalase co-immobilization on biosynthesized nanoporous SiO₂ for removal of dissolved oxygen in water: Corrosion controlling of boilers // *J. Ind. Eng. Chem.* 2014. V. 20. № 4. P. 2378. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.10.016>
 24. *Zhou G., Fung K.K., Wong L.W., Chen Y., Renneberg R., Yang S.* Immobilization of glucose oxidase on rod-like and vesicle-like mesoporous silica for enhancing current responses of glucose biosensors // *Talanta.* 2011. V. 84. № 3. P. 659. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.01.058>
 25. *Tamer U., Seçkin A.İ., Temur E., Torul H.* Fabrication of biosensor based on polyaniline/gold nanorod composite // *Int. J. Electrochem.* 2011. V. 2011. P. 1. <https://doi.org/10.4061/2011/869742>
 26. *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>
 27. *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. P. 1064. <https://doi.org/10.3390/biom12081064>
 28. *Ayadi C., Anene A., Kalfat R., Chevalier Y., Hbaieb S.* Molecularly imprinted polyaniline on silica support for the selective adsorption of benzophenone-4 from aqueous media // *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects.* 2019. V. 567. P. 32. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.01.042>
 29. *Janati-Fard F., Housaindokht M.R., Monhemi H.* Investigation of structural stability and enzymatic activity of glucose oxidase and its subunits // *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 2016. V. 134. P. 16. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2016.09.008>
 30. *Drozd D.D., Byzova N.A., Pidenko P.S., Tsyupka D.V., Strokin P.D., Goryacheva O.A., Zherdev A.V., Goryacheva I.Yu., Dzantiev B.B.* Luminescent alloyed quantum dots for turn-off enzyme-based assay // *Anal. Bioanal. Chem.* 2022. V. 414. № 15. P. 4471. <https://doi.org/10.1007/s00216-022-04016-4>
 31. *Nakamura S., Fujiki S.* Comparative studies on the glucose oxidases of *Aspergillus Niger* and *Penicillium amagasakiense* // *J. Biochem.* 1968. V. 63. № 1. P. 51. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a128747>
 32. *Yiu H.H.P., Wright P.A.* Enzymes supported on ordered mesoporous solids: A special case of an inorganic-organic hybrid // *J. Mater. Chem.* 2005. V. 15. № 35-36. P. 3690. <https://doi.org/10.1039/b506090g>

УДК 543.068.8

КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ЭКСПРЕСС-ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ АНАЛИТОВ

© 2023 г. Т. А. Соколова^а, И. В. Косырева^а, С. Ю. Доронин^а, *

^аСаратовский национальный исследовательский государственный университет
им. Н.Г. Чернышевского

ул. Астраханская, 83, Саратов, 410012 Россия

*e-mail: doroninsu@mail.ru

Поступила в редакцию 03.04.2023 г.

После доработки 10.04.2023 г.

Принята к публикации 13.04.2023 г.

На примере биологически активных веществ (ароматических аминов, α -аминокислот, антибиотиков аминокликозидного и β -лактамного ряда, анионных поверхностно-активных веществ) предложены четыре типа реакций (азосочетания, протолитической и окислительной конденсации, ионной ассоциации), которые сопровождаются образованием гидрофобных окрашенных аналитических форм соответствующих органических аналитов. Показано, что в данных системах возможно повышение гидрофобности как исходных реактантов, например тетрафторборатов солей диазония, так и аналитических форм (азосоединений, оснований Шиффа, пурпура Руэманна, ионных ассоциатов с ПАВ). Рассмотрены возможности различных способов дериватизации органических аналитов с образованием окрашенных аналитических форм с повышенной гидрофобностью для наилучшего закрепления на твердых матрицах и разработки на их основе тест-систем, которые могут быть применены для контроля качества различных объектов с достаточно низкими метрологическими характеристиками.

Ключевые слова: колориметрия, цветометрия, дериватизация, биологически активные соединения, тест-системы, экспресс-анализ.

DOI: 10.31857/S004445022309013X, **EDN:** ZYGRPB

Биологически активные вещества (БАВ) – химические вещества, необходимые для поддержания жизнедеятельности живых организмов, обладающие высокой физиологической активностью при небольших концентрациях по отношению к определенным группам живых организмов или их клеткам, злокачественным опухолям, избирательно задерживая (или ускоряя) их рост или полностью подавляя их развитие.

В настоящее время промышленностью производится широкий ассортимент биологически активных веществ медицинского, пищевого, сельскохозяйственного назначения (антибиотики, вакцины, ферменты, полисахариды, гормоны, гликозиды, кормовые и пищевые добавки, белки, аминокислоты, витамины, алкалоиды, пестициды, дефолианты и др.) [1].

Для аналитического контроля ряда биологически активных органических аналитов применяют недорогие и надежные экспресс-методы, реализуемые как в лабораторных, так и во внелабораторных условиях. Соответствующие тест-системы должны быть компактными, простыми и относительно дешевыми. В их основу положены аналитические реакции, как правило, с органиче-

скими реагентами в условиях и формах, обеспечивающих формирование визуально наблюдаемого или легко измеряемого эффекта. Реакции должны быть селективными и высокочувствительными по отношению к органическим БАВ, иметь высокую контрастность и скорость цветового перехода, а также достаточную устойчивость аналитического эффекта [2].

Колориметрическое экспресс-определение органических аналитов, например различных по своему строению и воздействию на организм классов антибиотиков [3–7], обладающих антиоксидантными и дубильными свойствами соединений фенольной природы [8, 9], пестицидов [10, 11] и т.д. в разнообразных объектах (фармацевтических, медико-биологических, сельскохозяйственных, военных и криминалистических, объектах окружающей среды, пищевых продуктах) осуществляют с помощью тест-средств на основе индикаторных бумаг, силикагелей или микроэкстрактов с визуальной и/или цветометрической регистрацией и обработкой аналитического сигнала с помощью цифровой цветометрии [12–14].

Цель настоящего исследования состояла в дериватизации различных органических БАВ для

получения окрашенных аналитических форм с повышенной гидрофобностью с последующим их тест-определением.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Аналиты. *Ароматические амины (АА):* анилина гидрохлорид, $C_6H_5NH_2 \cdot HCl$ ч., *n*-хлоранилин, C_6H_6NCl х. ч., *o*-, *m*-, *p*-фенилендиамин, $C_6H_4(NH_2)_2$ ч.: исходные 0.1, 0.01 М растворы готовили растворением соответствующей навески в воде; *o*-аминофенол, C_6H_7ON х. ч., α -нафтиламин, $C_{10}H_9N$ ч. д. а., дифениламин, $C_6H_5NHC_6H_5$ ч. д. а.: исходные 0.1, 0.001 М растворы готовили растворением соответствующей навески в 0.1 М HCl ; *n*-аминобензойная кислота, $C_7H_7NO_2$ ч., *n*-нитроанилин, $C_6H_6N_2O_2$ ч.: исходные 0.01, 0.001 М растворы готовили растворением соответствующей навески в этаноле; бензокаин, $C_9H_{11}NO_2$, сульфатиазол, $C_9H_9N_3O_2S_2$, сульфаниламид, $C_6H_8N_2O_2S$, сульфациетамид, $C_8H_{10}N_2O_3S$, сульфадимидин, $C_{12}H_{14}N_4O_2S$, сульфадиметоксин, $C_{12}H_{14}N_4O_4S$, сульфакарбамид, $C_7H_9N_3O_3S$, фармацевтически чистые.

α -Аминокислоты: аланин, $C_3H_7NO_2$; валин, $C_5H_{11}NO_2$; изолейцин, $C_6H_{13}NO_2$, фармацевтически чистые.

Аминогликозидные и β -лактамы антибиотик: гентамицина сульфат, амоксициллин, цефалексин (Sigma-Aldrich, США) исходные $(2-6) \times 10^{-2}$ М растворы готовили растворением соответствующей навески в фосфатном буферном растворе.

Анионные поверхностно-активные вещества (АПAB): додецилсульфат натрия (ДДС), $C_{12}H_{25}SO_4Na$; додецилбензолсульфонат натрия, $C_{18}H_{29}SO_3Na$, содержание основного вещества 96–99%, исходные 1.0×10^{-3} М растворы готовили растворением соответствующей навески при слабом нагревании.

Реагенты. Тетрафторборат 4-хлорфенилдиазония (**4-ХФД ТФБ**), $C_6H_4N_2ClBF_4$, тетрафторборат 4-сульфофенилдиазония (**4-СФД ТФБ**), $C_6H_4N_2O_3SNaBF_4$: исходные 0.01 М растворы готовили растворением соответствующей навески в 0.1 М HCl ; *n*-диметиламинобензальдегид (ДМАКА), $C_{11}H_{13}NO$ ч. д. а.; ДДС, $C_{12}H_{25}SO_4Na$ ч.; нингидрин, $C_9H_6O_4$ ч. д. а.: исходный 6.0×10^{-3} –0.1 М раствор готовили растворением соответствующей навески препарата в воде или этаноле; 2,6-дифенил-4-(4-диметиламиностирил)пирилия (**RO**), $C_{27}H_{24}ClO$, 2,6-дифенил-4-(4-диметиламиностирил)тиопирилия (**RS**), $C_{27}H_{24}SO$: исходные $1.0 \times$

10^{-3} М растворы готовили растворением соответствующей навески в этаноле.

Реактивы и материалы. Сульфаниловая кислота, $C_6H_7NSO_3$ ч. д. а.; *n*-хлоранилин, C_6H_6NCl х. ч.; *n*-диметиламинобензальдегид, $C_9H_{11}NO$ ч. д. а.; 4-метил-2,6-дифенилпирилий (-тиопирилий) хлорид, $C_{18}H_{15}OCl$ ($C_{18}H_{15}SCl$); уксусный ангидрид, $C_4H_6O_3$ ч. д. а.; 3%-ный и 10%-ный растворы желатина; крахмал ч. д. а.

Неорганические кислоты, щелочи и соли: кислота хлороводородная, HCl х. ч.: 0.1 М раствор готовили разбавлением 8.3 мл конц. HCl дистиллированной водой в мерной колбе емк. 1 л; кислота борная, $H_3B_4O_7$ х. ч., фтороводородная кислота, HF х. ч., нитрит натрия, $NaNO_2$ ч. д. а., фосфорная кислота, H_3PO_4 х. ч.; хлорид цинка, $ZnCl_2$ х. ч.

В качестве матрицы для создания тест-средств применяли целлюлозную бумагу (фильтры обеззоленные “Черная лента”, “Синяя лента”, “Красная лента”, ТУ 6-09-1678-95). Для получения индикаторных бумаг (**ИБ**) фильтр “Красная лента” или “Синяя лента” обрабатывали водными или спиртовыми 6.0×10^{-3} –0.1 М растворами реагента (солями диазония или нингидрином) и высушивали при 20–25°C в течение 10 мин.

Оборудование и методы исследования. Электронные спектры поглощения и спектры диффузного отражения регистрировали на двухлучевом сканирующем спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Япония), диапазон измерения 200–800 нм.

Значения рН контролировали рН-метром рН-150МА со стеклянным индикаторным электродом и хлоридсеребряным электродом сравнения.

Бокс для фотографирования размером $22 \times 23 \times 24$ см с двумя полосками светодиодного освещения (5 V, 1 A), сушильный шкаф SNOL 58/350 (Литва), 48-мегапиксельная камера смартфона Redmi Note 9 Pro.

Методики. *Синтез солей диазония* (4-СФД ТФБ и 4-ХФД ТФБ) проводили по известной методике, основанной на взаимодействии первичных ароматических аминов (ПАА) с азотистой кислотой ($NaNO_2 + HCl$), в два этапа. На первом этапе готовили фтороборную кислоту (HBF_4) путем медленного растворения при охлаждении 20.95 г $H_3B_4O_7$ примерно в 60 мл 40–48%-ной HF . Реагенты смешивали в пластиковом стакане, температуру поддерживали не выше 5°C, для перемешивания использовали пластиковую палочку. На втором этапе синтезировали комплексную соль диазония: 9.55 г сульфаниловой кислоты (при синтезе 4-СФД ТФБ) или 7.03 г *n*-хлоранилина (при синтезе 4-ХФД ТФБ) в 41 мл 33.35%-ной HBF_4 охлаждали на ледяной бане. Затем при интенсивном перемешива-

нии медленно по каплям добавляли раствор 4.28 г NaNO_2 в 8.5 мл воды. Полученную соль диазония переносили в воронку Бюхнера, промывали дважды этиловым спиртом и дважды диизопропиловым эфиром (по 100 мл).

*Синтез пирилоцианиновых красителей (RO и RS) проводили конденсацией 0.23 г *n*-диметиламинобензальдегида и 0.31 г хлорида 4-метил-2,6-дифенилпирилия (-тиопирилия) в среде безводного уксусного ангидрида (3.8 мл) при нагревании ($\sim 110^\circ\text{C}$). Образовавшийся хлорид осаждали диэтиловым эфиром и очищали переосаждением эфиром из хлороформа. Продукты реакции – интенсивно окрашенные соединения, плохо растворимые в воде и достаточно хорошо растворимые в полярных органических растворителях.*

Визуально-колориметрическое определение. Готовили серию индикаторных бумаг, на которые наносили определяемый органический аналит с концентрацией 0.09–1300 мкг/мл, помещали на 10 мин в сушильный шкаф при температуре от 20 до 105°C . Далее тест-средство помещали в бокс и фотографировали камерой смартфона.

Цветометрическую обработку изображений тест-средств осуществляли в программе Adobe Photoshop®. Для этого часть изображения усредняли с

помощью фильтра “Average” и определяли интенсивность цветовых каналов моделей RGB и HSV.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Предварительные эксперименты показали, что тест-средства на основе целлюлозных бумаг дают плохо воспроизводимые результаты при образовании в их матрице гидрофильных аналитических форм широкого спектра органических БАВ.

На примере БАВ (АА, α -аминокислот, антибиотиков аминогликозидного и β -лактаманного ряда, анионных поверхностно-активных веществ) предложили четыре типа реакций (азосочетания, протолитической и окислительной конденсации, ионной ассоциации), которые сопровождаются образованием гидрофобных окрашенных аналитических форм органических аналитов. Рассмотрим более подробно каждый тип реакций.

I. Реакция азосочетания (электрофильное ароматическое замещение) рассмотрена на примере взаимодействия солей диазония – 4-СФД ТФБ и 4-ХФД ТФБ (диазосоставляющей) с АА (азосоставляющими), такими как анилин и его *o*-, *m*-, *n*-замещенные ($\text{R} = \text{OH}, \text{NH}_2, \text{Cl}$), α -нафтиламин, и дифениламин в слабокислой среде (рН 3–5) с образованием ярко окрашенных азосоединений (схема 1):

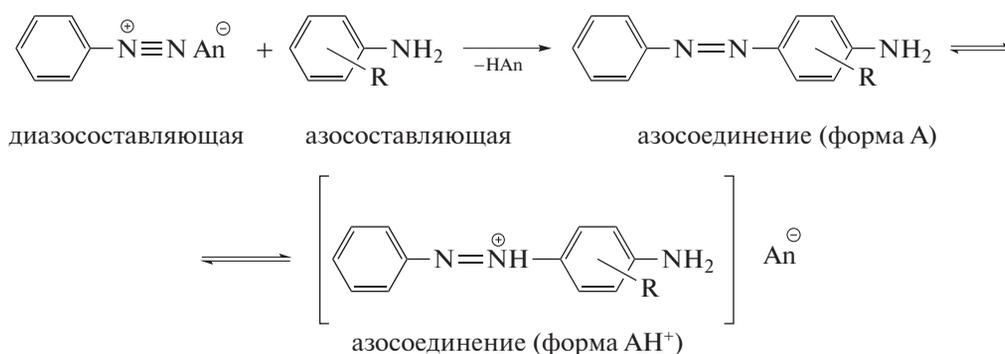


Схема 1. Реакция образования азосоединений.

Для этих реакций предложено повысить гидрофобность как диазокомпоненты, так и получаемых азосоединений. Соли диазония вследствие их неустойчивости редко выделяют из раствора в индивидуальном виде, однако их относительная стабильность в большей степени зависит от природы противоиона An^- . Введение более гидрофобных анионов, а именно тетрафторбората ($\text{An}^- = \text{BF}_4^-$), позволяет повысить гидрофобность диазокомпоненты, снижая ее растворимость, и тем самым повышая устойчивость при хранении в твердом

виде, в отличие от растворимых в воде галогенидов и сульфатов диазония. Повышение гидрофобности аналитической формы А преимущественно обусловлено наличием дополнительного фенильного фрагмента ($-\text{C}_6\text{H}_5$), а также усиливается за счет ионной ассоциации протонированной формы AH^+ противоионом BF_4^- .

Данную систему применили для получения ИБ с иммобилизованными реагентами 4-СФД ТФБ и 4-ХФД ТФБ для определения некоторых АА. Изучили влияние типа целлюлозных матриц при

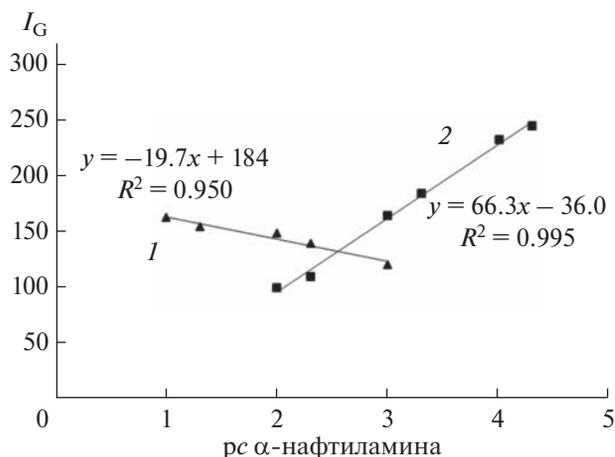


Рис. 1. Зависимости интенсивностей канала G от логарифма концентрации α -нафтиламина: 1 – 4-СФД ТФБ, 2 – 4-ХФД ТФБ.

варьировании размера их пор, а также pH анализируемого раствора в интервале 3–7, концентрации солей диазония.

Содержание АА определяли визуально по интенсивности окраски сравнением со стандартной цветовой шкалой. Для повышения точности результатов колориметрического определения окрашенные тест-средства обрабатывали цветометрически. На рис. 1 представлены примеры зависимостей оптимального параметра цвета от концентрации для различных солей диазония при взаимодействии с α -нафтиламином. Некоторые метрологические характеристики приведены в табл. 1.

Сравнительный анализ двух реагентов показал, что наибольшая контрастность и наименьшая нижняя граница определяемых содержаний (НГОС) ИБ при определении АА достигаются с иммобилизованным 4-ХФД ТФБ.

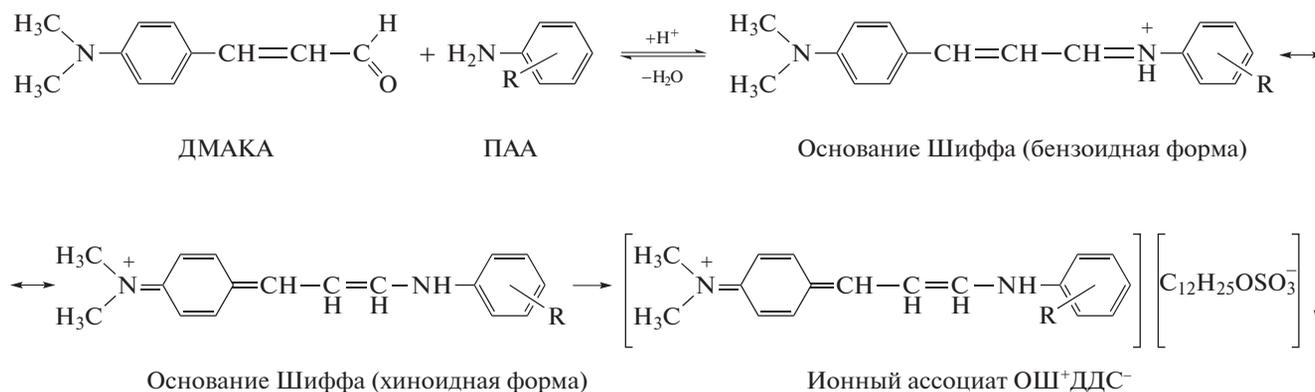
II. Реакция протолитической конденсации (нуклеофильное присоединение) рассмотрена на примере взаимодействия ПАА с ДМАКА в кислой среде (pH 3–4) с образованием окрашенных азометиннов – оснований Шиффа (ОШ), способных находиться в двух таутомерных формах – бензоеидной и хиноидной согласно схеме 2 [15]:

Таблица 1. Некоторые метрологические характеристики цветометрического тест-определения ариламинов при помощи индикаторных бумаг на основе 4-ХФД ТФБ (4-СФД ТФБ)

Аналит	Цвета ИБ на основе 4-СФД ТФБ	НГОС, мкг/мл	Цвета ИБ на основе 4-ХФД ТФБ	НГОС, мкг/мл	Зависимость $I_{RGB} - pc, r^2$
Анилина гидрохлорид	Желтый	1300	Желтый	650	$Y_G = 32.6x + 105$ $r^2 = 0.930$
<i>o</i> -Аминофенол	Красный	1100	Оранжевый	110	$Y_B = 26.5x + 86.4$ $r^2 = 0.893$
<i>n</i> -Хлоранилин	Розовый	1300	Фиолетовый	650	$Y_B = 11.6x + 149$ $r^2 = 0.920$
α -Нафтиламин	Розовый	7	Вишневый	1	$Y_G = 66.3x - 36.0$ $r^2 = 0.995$
<i>o</i> -Фенилендиамин	Коричневый	110	Оранжевый	50	$Y_B = 16.0x + 97.6$ $r^2 = 0.910$
<i>m</i> -Фенилендиамин	Розовый	5	Оранжевый	5	$Y_B = 39.4x + 2.03$ $r^2 = 0.973$
<i>n</i> -Фенилендиамин	—	—	Коричневый	5	$Y_B = 26.9x + 82.5$ $r^2 = 0.991$
Дифениламин	—	—	Фиолетовый	9	$Y_G = 41.0x + 25.2$ $r^2 = 0.942$

Таблица 2. Метрологические характеристики визуального тест-определения некоторых первичных ариламинов при помощи пресс-форм

Аналит	Цвет пресс-форм	ПрО, мкг/мл	ДОС, мкг/мл
Анилина гидрохлорид	Розовый	0.070	0.20–5.0
Бензокаин (анестезин)	Розовый	0.20	1.5–20
<i>n</i> -Аминобензойная кислота	Розовый	0.25	0.50–20
<i>n</i> -Нитроанилин	Синий	0.0050	0.50–60
Сульфатиазол (норсульфазол)	Розовый	0.25	0.50–25
Сульфаниламид (стрептоцид)	Розовый	0.25	0.50–10
Сульфацетамид (сульфацил натрия)	Розовый	0.25	0.50–30
Сульфадимидин (сульфадимезин)	Розовый	0.23	0.50–20
Сульфадиметоксин	Розовый	0.25	0.80–33
Сульфаркарбамид (уросульфам)	Розовый	0.23	0.50–5.0
<i>o</i> -Фенилендиамин	Сиреневая	0.20	0.40–4.0
<i>m</i> -Фенилендиамин	Сиреневая	0.20	0.30–0.40
<i>n</i> -Фенилендиамин	Синяя	0.050	0.40–4.5

**Схема 2.** Реакция образования оснований Шиффа.

Установили, что повышение гидрофобности в данной системе достигается не только за счет укрупнения аналитической формы ОШ, но и за счет образования малорастворимых ионных ассоциатов (ОШ⁺ДДС⁻) хиноидной протонированной формы с ионами ДДС, что приводит к смещению таутомерного равновесия в сторону увеличения концентрации хиноидной формы ОШ и обуславливает повышение стабильности этих форм в тест-средствах. Низкая растворимость таких ионных пар в домицеллярных средах ДДС делает их непригодными в фотометрии. Однако понижение растворимости обеспечивает стабильность хиноидной формы ОШ в твердых матрицах.

Предложены пресс-формы в виде таблеток на основе 3%-ного раствора желатина, к которому добавляли 0.0032 г ДМАКА и 0.17 г ДДС и растворяли при перемешивании на водяной бане. К полученному раствору порциями прибавляли 30 г крахмала до получения однородной массы. Полученную смесь высушивали при 105°C в сушиль-

ном шкафу в течение 2–3 ч. Далее помещали в форму для таблетирования и прессовали при давлении 120 атм. Для определения ПАА исследуемый раствор подкисляли HCl до pH 2–3, наносили каплю этого раствора на таблетированную пресс-форму и фиксировали изменение окраски. Содержание ПАА оценивали визуально по интенсивности окраски сравнением со стандартной цветовой шкалой в концентрационном интервале 0.20–60 мкг/мл. Некоторые метрологические характеристики приведены в табл. 2.

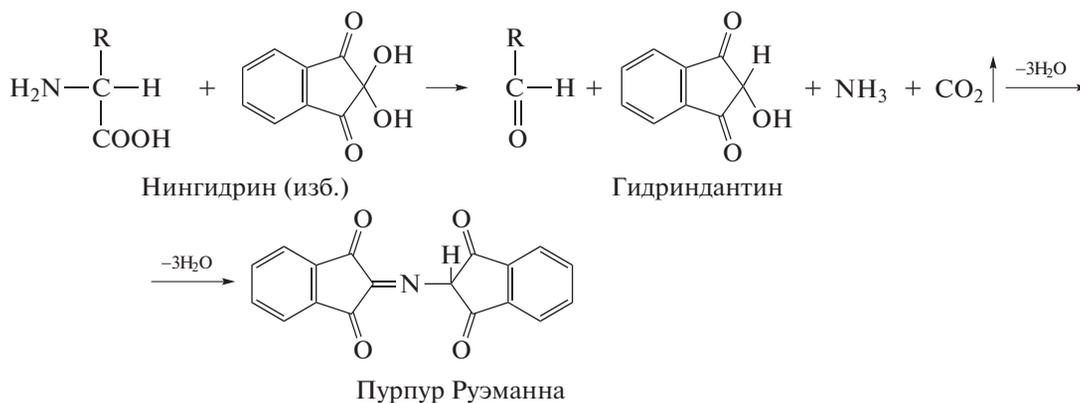
Наибольшая контрастность цветовых шкал и наименьший предел обнаружения (ПрО) пресс-форм достигаются для таких аналитов, как анилин, *n*-нитроанилин и *n*-фенилендиамин.

III. Реакцию окислительной конденсации рассматривали на примере взаимодействия нингидрина (трикетогидринденгидрата) с некоторыми α-аминокислотами и антибиотиками с образованием продукта сине-фиолетового цвета при pH > 5. Схема 3 реакции приведена для α-аминокислот:

Таблица 3. Метрологические характеристики тест-определения некоторых α -аминокислот и антибиотиков с помощью индикаторных бумаг на основе нингидрина

Аналит	НГОС, мкг/мл	Зависимости $I^*_п / \Delta I_п - \rho c, r^2$
α-Аминокислоты		
Аланин	0.090	$I_R = 15.5x + 161, r^2 = 0.981$
Изолейцин	0.13	$I_S = -5.80x + 34.0, r^2 = 0.931$
Валин	0.12	$I_S = -7.10x + 401, r^2 = 0.905$
Аминогликозидные антибиотики		
Гентамицин	250	$\Delta I_G = 48.3x + 140, r^2 = 0.992$
β-Лактамные антибиотики		
Амоксициллин	130	$\Delta I_G = -33.4x - 1.15, r^2 = 0.994$
Цефалексин	130	$\Delta I_G = 69.0x + 4.50, r^2 = 0.995$

* Интенсивность/изменение интенсивности цветовых каналов.

**Схема 3.** Реакция образования пурпура Руэмманна.

Повышение гидрофобности аналитической формы (пурпур Руэмманна) в данной системе достигается за счет присутствия конденсированного шести и пятичленного фрагмента, что способствует стабилизации аналитической формы в целлюлозной матрице.

Предложены ИБ на основе иммобилизованного нингидрина для определения α -аминокислот (аланин, валин и изолейцин), аминогликозидных (гентамицин) и β -лактамных (амоксициллин и цефалексин) антибиотиков. Последние также

вступают в реакцию III с образованием гидрофобного пурпура Руэмманна. Метрологические характеристики тест-определения α -аминокислот и антибиотиков приведены в табл. 3. Визуальную оценку содержания антибиотиков можно осуществлять в диапазоне концентраций 250–1600 мкг/мл, а цветометрическое определение α -аминокислот – с НГОС 0.09 мкг/мл, антибиотиков с НГОС 130 мкг/мл.

IV. Реакцию ионной ассоциации рассматривали на примере взаимодействия представителей халькогенпирилоцианиновых красителей (RO и RS)

Таблица 4. Некоторые метрологические характеристики визуального определения анионных поверхностно-активных веществ с 2,6-дифенил-4-(4-диметиламиностирил)пирилем (в пересчете на додецилсульфат натрия)

Тест- система	Переход окраски	НГОС, мкг/мл
ИБ 1	Бледно-синий–фиолетовый	50
ИБ 2	Бледно-синий–фиолетовый	50
ИБ 3	Бледно-зеленый–сине-фиолетовый	20
Индикаторный раствор	Бледно-зеленый–сине-фиолетовый	0.50

(X = O, S) с аПАВ, такими как ДДС и додецилбензолсульфонат натрия (R = C₁₂H₂₅O, C₁₈H₂₉) с обра-

зованием интенсивно окрашенных ионных ассоциатов (ИА) (схема 4):

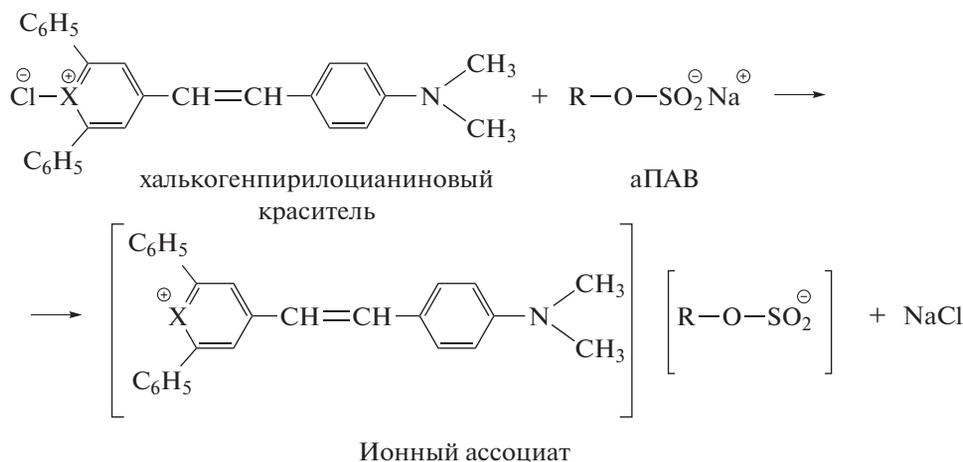


Схема 4. Реакция образования ионного ассоциата пирилоцианинового красителя с аПАВ.

Гидрофобные взаимодействия, обусловленные наличием углеводородных фрагментов в аПАВ и реагентах, играют важную роль в реакциях образования ассоциатов в водной среде. Основной вклад в устойчивость образующихся ассоциатов [RO⁺][аПАВ⁻] или [RS⁺][аПАВ⁻] вносят электростатические взаимодействия, которые реализуются посредством гидрофобного взаимодействия реагента с аПАВ с длиной углеводородного радикала ≥10. Таким образом, гидрофобное взаимодействие является необходимым условием, а электростатическое — определяющим образование устойчивых ассоциатов в водной среде, как и в реакции I типа, где реализованы аналогичные эффекты для получения стабильных аналитических форм.

В отличие от предыдущих типов реакций, для реакции IV типа получили различные тест-средства, в основу разработки которых положена высокая контрастность реакции образования ИА [RO⁺][аПАВ⁻]. Так, в первом варианте пропитывали бумагу (“Синяя лента”) насыщенным раствором реагента RO (ИБ 1). Во втором варианте предварительно обрабатывали бумагу (“Синяя лента”) раствором ZnCl₂ с концентрацией 3 г/л (ИБ 2) и высушивали в сушильном шкафу при 100°C в течение 30 мин. После сушки пропитывали раствором RO в течение 20 мин и высушивали на воздухе.

Наилучший результат получен с предварительной обработкой бумаги (“Синяя лента”) 10%-ным раствором желатина и 0.2 М фосфорной кислотой (ИБ 3) с последующей обработкой спиртовым раствором RO и высушиванием.

Для получения индикаторного раствора для обнаружения аПАВ подобрали оптимальный состав

раствора, в котором в качестве растворителя использовали смесь ацетонитрила с конц. HCl (10 : 2). Метрологические характеристики полученных тест-средств представлены в табл. 4.

Показаны возможности различных способов дериватизации органических аналитов с образованием окрашенных аналитических форм с повышенной гидрофобностью для наилучшего закрепления на твердых матрицах и разработки на их основе тест-систем, которые могут быть применены для контроля качества различных объектов с достаточно низкими метрологическими характеристиками.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, научный проект № 22-23-00420.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Громова Н.Ю., Косивцов Ю.Ю., Сульман Э.М. Технология синтеза и биосинтеза биологически активных веществ: Учебное пособие. Тверь: ТГТУ, 2006. 84 с.
2. Золотов Ю.А., Иванов В.М., Амелин В.Г. Химические тест-методы анализа. М.: Едиториал УРСС, 2002. 304 с.
3. Амелин В.Г., Шаока З.А.Ч., Большаков Д.С., Третьяков А.В. Цифровая цветометрия индикаторных тест-систем с использованием смартфона и хемометрического анализа при определении тетрациклинов в лекарственных препаратах // Известия высших учебных заведений. Химия и химическая технология. 2022. Т. 65. № 7. С. 17. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20226507.6568>
4. Амелин В.Г., Шаока З.А.Ч., Большаков Д.С., Третьяков А.В. Цифровая цветометрия индикаторных

- тест-систем с использованием смартфона и хеометрического анализа при определении хинолонов в лекарственных препаратах // Журн. прикл. спектроскопии. 2022. Т. 89. № 1. С. 84.
<https://doi.org/10.47612/0514-7506-2022-89-1-84-93>
5. *Tumskaya A.V., Loginov I.V., Tumskiy R.S., Kosyreva I.V.* Simple and rapid determination of cephalexin by digital colorimetry using a laboratory-developed smartphone application // *Instrum. Sci. Technol.* 2022. Т. 50. № 2. P. 190.
<https://doi.org/10.1080/10739149.2021.1980005>
 6. *Maroubo L.A., Melchert W.R.* Development of an environmentally friendly extraction method using smartphone-based digital images for the determination of total sulfonamides in meat samples // *J. Braz. Chem. Soc.* 2022. V. 33. P. 1.
<https://doi.org/10.21577/0103-5053.20220153>
 7. *Wu Y.Y., Huang P., Wu F.Y.* A label-free colorimetric aptasensor based on controllable aggregation of AuNPs for the detection of multiplex antibiotics // *Food Chem.* 2020. Т. 304. Article 125377.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125377>
 8. *Apyari V.V., Furletov A.A., Kalinin V.I., Dmitrienko S.G., Zolotov Yu.A.* A three-reagent “Green” paper-based analytical device for solid-phase spectrometric and colorimetric determination of dihydroquercetin // *Sensors.* 2022. Т. 22. № 8. P. 2893.
<https://doi.org/10.3390/s22082893>
 9. *Espino M., de los Angeles Fernandez M., Silva M.F., Gomez F.J.V.* Paper microzone plates integrating Natural Deep Eutectic Solvents: Total phenolic compounds and antioxidant capacity as performed by nature // *Microchem. J.* 2020. Т. 158. Article 105296.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105296>
 10. *Liu K., Jin Y., Wu Y., Liang J.* Simple and rapid colorimetric visualization of tetramethylthiuram disulfide (thiram) sensing based on anti-aggregation of gold nanoparticles // *Food Chem.* 2022. Т. 384. Article 132223.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132223>
 11. *Shrivastava K., Patel S., Thakur S.S., Shankar R.* Food safety monitoring of the pesticide phenthoate using a smartphone-assisted paper-based sensor with bimetallic Cu@Ag core-shell nanoparticles // *Lab Chip.* 2020. Т. 20. № 21. P. 3996.
<https://doi.org/10.1039/d0lc00515k>
 12. *Цыгулёва Э.И., Доронин С.Ю., Рудаков О.Б.* Определение α - и β -нафтолов в их смесях с предварительным мицеллярно-экстракционным концентрированием // Сорбционные и хроматографические процессы. 2022. Т. 22. № 1. С. 79.
<https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/9034>
 13. *Черноусова О.В., Рудаков О.Б.* Цифровые изображения в аналитической химии для количественного и качественного анализа // *Химия, физика и механика материалов.* 2019. № 2. С. 55.
 14. *Моногарова О.В., Осолок К.В., Аяри В.В.* Цветометрия в химическом анализе // *Журн. аналит. химии.* 2018. Т. 73. № 11. С. 857.
<https://doi.org/10.1134/S0044450218110063>
 15. *Чернова Р.К., Доронин С.Ю.* Определение органических аналитов в растворах ПАВ: ионные и мицеллярные эффекты. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2017. 200 с.

УДК 543.054

ИЗВЛЕЧЕНИЕ ПАУ ИЗ ПОЧВ И ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА ПО ТЕХНИКЕ QuEChERS С ПОСЛЕДУЮЩИМ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ ОПРЕДЕЛЕНИЕМ

© 2023 г. З. А. Темердашев^а, *, С. К. Овсепян^а, Т. Н. Мусорина^а,
Л. В. Васильева^а, А. М. Васильев^а, И. Г. Корпакова^а

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

*e-mail: TemZA@kubsu.ru

Поступила в редакцию 21.03.2023 г.

После доработки 12.04.2023 г.

Принята к публикации 12.04.2023 г.

Изучены особенности извлечения ПАУ с применением техники QuEChERS при подготовке проб почв и донных отложений различного состава с последующим их хромато-масс-спектрометрическим анализом. Объектами исследования были почвы песчаного, супесчаного, суглинистого, глинистого типов и донные отложения супесчаного типа. На основании изучения минералогического состава исследуемых образцов и установленного содержания в них органического вещества спрогнозирован характер удерживания ПАУ исследуемыми образцами почв и донных отложений, оценено влияние УЗ-воздействия на извлечение аналитов для последующего хроматографического определения. Показано, что при извлечении и определении всех ПАУ (до 100%) в почвах песчаного и супесчаного типов, а также низкомолекулярных ПАУ в исследуемых образцах проведение УЗ-обработки не требуется. Для извлечения и определения высокомолекулярных ПАУ в образцах почвы глинистого типа и донных отложениях супесчаного типа с техникой QuEChERS потребовалась 10-минутная УЗ-обработка, при этом степени извлечения аналитов составили более 87 и 90% соответственно. Наиболее трудно анализируемым объектом оказался образец почвы суглинистого типа с большим содержанием органического вещества. Для извлечения более 70% высокомолекулярных ПАУ из образца данного типа по технике QuEChERS использовали вместо общепринятого ацетонитрила бинарный экстрагент ацетонитрил–ацетон (1 : 1) и одновременное 15-минутное УЗ-воздействие.

Ключевые слова: накопление ПАУ, QuEChERS, почва, донные отложения, хроматографическое определение.

DOI: 10.31857/S0044450223090177, **EDN:** ZYKNQL

Основными экологическими объектами, депонирующими полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), являются почвы и донные отложения. Гидрофобность, липофильность, замедленная микробиологическая трансформация, наличие конденсированной многоядерной ароматической структуры способствуют устойчивости и агрегации данных соединений в почвах [1].

Интенсивность накопления ПАУ почвами и донными отложениями имеет многофакторную зависимость, значимое влияние при этом оказывают содержание в них органического вещества и минералогический состав матрицы. Органическое вещество почвы и донных отложений представляет собой многокомпонентную неоднородную смесь, в которой значительная доля приходится на гетерополимерные соединения и/или супрамолекулярные сочетания гуминовых веществ (фульвокислоты, гуминовые кислоты и гумины) [2]. Механизм

сорбции ПАУ органическим веществом основывается на их π – π и гидрофобных взаимодействиях [3, 4]. С увеличением доли органического углерода в почве и донных отложениях накопление ПАУ различного строения повышается [5, 6], а с уменьшением его содержания возрастает влияние других факторов, среди которых можно отметить минералогический состав матрицы [7–9]. Такие взаимодействия обусловлены силами Ван-дер-Ваальса, связями типа катион– π на поверхности глинистых минералов. Имобилизация ПАУ глинистой фракцией почвы и донных отложений зависит от удельной площади поверхности минерала и его катионообменной емкости. Для набухающих глинистых минералов – смектитов возможно образование квазикристаллов, способствующих физическому захвату полиаренов в межплоскостном пространстве [7, 8]. Накоплению низкомолекулярных

ПАУ могут способствовать также карбонаты в минералогическом составе объекта исследования [9].

Извлечение ПАУ из почв и донных отложений осуществляют различными экстракционными методами [10–13]. Многокомпонентность исследуемых образцов требует введения стадии очистки при подготовке проб к анализу, для этих целей часто применяют методы твердофазной экстракции, некоторые из них позволяют совмещать извлечение целевых и удаление мешающих компонентов матрицы объекта исследования [14]. К таковым относят матричное твердофазное диспергирование, в условиях которого проводится непосредственное смешивание образца с сорбентом [15]. Широкое применение для этих целей получил метод QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe), совмещающий жидкостную и дисперсионную твердофазную экстракцию (dSPE) [16, 17]. Введение стадии очистки при подготовке проб почв и донных отложений к анализу может также снижать матричную нагрузку объекта исследования на узлы аналитического оборудования, сохраняя чувствительность определения аналитов в течение длительного времени [18].

ПАУ преимущественно определяют хроматографическими методами, характеризующимися высокой разделяющей способностью, чувствительностью и селективностью. Наибольшее применение в экологическом мониторинге ПАУ в почвах и донных отложениях получили методы высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с флуориметрическим или ультрафиолетовым детектированием [19–21] и газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) [22]. Использование последнего в режиме селективного сканирования ионов позволяет нивелировать влияние сложной матрицы объекта, применение капиллярных колонок способствует эффективному разделению сходных по свойствам изомерных соединений, а наличие интегрированных библиотек масс-спектров обеспечивает достоверность идентификации аналитов.

При сочетании метода QuEChERS с хроматографическим определением ПАУ в почвах и донных отложениях возможно снижение влияния матричной основы анализируемого образца – органического вещества и минералогического состава. Разработка такого рода специфичных подходов, учитывающих особенности компонентного состава исследуемого образца при определении суперэко-токсикантов, позволит значительно улучшить методологические характеристики аналитических методов.

Цель данного исследования – изучение особенностей извлечения ПАУ по технике QuEChERS с последующим их хроматографическим определением в зависимости от природы почв и донных отложений с учетом содержания органического вещества и минералогического состава.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объекты исследований. Исследования проводили с использованием реальных воздушно-сухих образцов почв и донных отложений: почва сельхозугодий, хутор Октябрьский, Краснодар; образец с песчаного карьера, Краснодарский край; почва с Куликово-Курчанской группы лиманов, Темрюкский р-н; почва с Дагестанского глинистого месторождения; донные отложения с Таманского терминала навалочных грузов.

Материалы и реактивы. Для идентификации и определения ПАУ использовали индивидуальные стандартные образцы состава в виде раствора аналита в ацетонитриле – нафталин (СОП 0109-03), 2-метилнафталин (СОП 0101-03), аценафтилен (СОП 0104-03), бифенил (СОП 0107-03), аценафтен (СОП 0103-03), флуорен (СОП 0113-03), фенантрен (СОП 0111-03), антрацен (СОП 0102-03), флуорантен (СОП 0112-03), пирен (СОП 0110-03), бенз(б)флуорантен (СОП 0115-03), бенз(а)пирен (СОП 0106-03), бенз(к)флуорантен (СОП 0116-03), дибенз(а,һ)антрацен (СОП 0108-03) и бенз(ɡ,һ,і)перилен (СОП 0117-03) (Экрос, Россия). Также использовали аналитический стандарт индено(1,2,3-с, d)пирена (CAS 193-39-5) в циклогексане (CAS 217-59-4) (Sigma-Aldrich, США).

В экспериментальных исследованиях использовали ацетонитрил 99.9% для ВЭЖХ (Sigma-Aldrich, США), ацетон ос. ч. (Криохром, Россия), силикагель “Sorbfil”, фракция 5–50 мкм (Имид, Россия).

Подготовка проб к анализу. Навеску 0.50 г испытуемого образца помещали в центрифужную пробирку, добавляли 200 мг силикагеля. В качестве экстрагентов использовали по 1 мл ацетонитрила и его смесь с ацетоном в соотношении 1 : 1. Полученные смеси интенсивно встряхивали в течение 5 мин, затем центрифугировали в течение 10 мин при скорости ротора 12000 об/мин на центрифуге Mini Spin plus (Eppendorf, Германия). Полученные экстракты хроматографировали.

При изучении ультразвукового (УЗ) воздействия испытуемые пробы после встряхивания погружали в УЗ-ванну с частотой ультразвукового излучения 35 кГц (Сапфир, Россия) на 10–30 мин. Затем полученные смеси центрифугировали в течение 10 мин при скорости ротора 12000 об/мин, после чего экстракты анализировали.

Хромато-масс-спектрометрический анализ. Применяли хроматографическую систему, включающую газовый хроматограф GC-2010 Plus с кварцевой капиллярной колонкой Zebtron ZB-5MS (60 м × 0.25 мм × 0.25 мкм) и моноквадрольный масс-спектрометрический детектор GCMS-QP2020 (Shimadzu, Япония). Вещества идентифицировали с использованием интегрированных библиотек масс-спектров Wiley8 и NIST-17.1. Экстракты хроматографировали в оптимизированных усло-

Таблица 1. Условия хромато-масс-спектрометрического определения ПАУ в экстрактах почв и донных отложений

Параметр	Значение
Газохроматографическое разделение	
Объем вкола	2 мкл
Температура испарителя	280°C
Скорость потока	1.35 мл/мин
Режим ввода	Split
Коэффициент деления потока	1 : 5
Температурный режим	60°C/1 мин – нагрев 15°C/мин – до 170°C/3 мин – нагрев 10°C/мин – до 280°C/8 мин – нагрев 10°C/мин – до 290°C/25 мин
Масс-спектрометрическое детектирование	
Задержка работы детектора	7 мин
Способ ионизации	Электронная, 70 эВ
Температура ионного источника	200°C
Температура интерфейса	280°C
Режим сканирования	SIM

виях определения 20 ПАУ различного строения в почвах и донных отложениях [18, 23] (табл. 1).

Содержание аналитов в образцах определяли по градуировочным зависимостям, построенным по растворам индивидуальных ПАУ с концентрациями каждого 500, 250, 200, 150, 100, 50, 10, 5, 2.5, 2, 1.5, 1, 0.5, 0.2 и 0.1 нг/мл. Коэффициенты аппроксимации для каждого аналита составили не менее 0.99 при пяти параллельных измерениях и доверительной вероятности 0.95. Градуировочные зависимости для фенантрена, антрацена, флуорантена, пирена, бенз(б)флуорантена, бенз(к)флуорантена, бенз(а)пирена, индено(1,2,3-с,d)пирена, дибенз(а,h)антрацена и бенз(г,h,i)перилена линейны в диапазоне 1.0–500 нг/мл, для нафталина, 2-метилнафталина, аценафтилена, бифенила, аценафтена и флуорена – 2.0–500 нг/мл.

Определение массовой доли органического вещества в почве проводили методом Тюрина по ГОСТ 26213-2021 [24] окислением образца почвы раствором дихромата калия в серной кислоте с последующим фотометрическим определением трехвалентного хрома, содержание которого эквивалентно содержанию органического вещества. Аналит детектировали на спектрофотометре UV-2600 (Shimadzu, Япония) с использованием кюветы толщиной 10 мм при 590 нм.

Содержание органического вещества в исследуемых образцах составило, мас. %: почва сельскохозяйий, хутор Октябрьский, Краснодар – 1.06; песчаный карьер, Краснодарский край – 0.48; почва Куликово-Курчанской группы лиманов, Темрюкский р-н – 5.45; почва Дагестанского глинистого месторождения – 1.48; донные отложения Таманского терминала навалочных грузов – 1.57.

Определение гранулометрического состава почв и донных отложений. Гранулометрический состав образцов устанавливали ситовым и ареометрическим методами по ГОСТ 12536–2014 [25]. Фракционирование ситовым методом для всех образцов проводили с промывкой водой. При установлении гранулометрического состава ареометрическим методом учитывали влажность и плотность образцов [26].

Для каждого из исследуемых образцов определяли содержание (%) фракций с размерами в диапазонах: 2–1, 1–0.5, 0.5–0.25, 0.25–0.1, 0.1–0.05, 0.05–0.01, 0.01–0.002 и менее 0.002 мм. По данным гранулометрического состава установили тип каждого испытуемого образца.

Определение минералогического состава почв и донных отложений выполняли методами рентгенофлуоресцентного, рентгенофазового и термического анализа.

Элементный состав почв устанавливали рентгенофлуоресцентным анализом на энергодисперсионном спектрометре EDX-8000 (Shimadzu, Япония). Данные обрабатывали методом градуировочного графика по 10 стандартным образцам с применением программного обеспечения PCEDX-Pro, версия 2.0. Химический состав проб устанавливали с учетом требований ГОСТ 33850-2016 [27]. Установленный компонентный состав образцов с пересчетом на оксиды приведен в табл. 2.

Минералогический состав образцов устанавливали рентгенофазовым методом на дифрактометре XRD-7000 (Shimadzu, Япония). Фазы идентифицировали с использованием программного комплекса PDWin 4.0 и пакета Crystallographica Search-Match, интегрированных в программно-

Таблица 2. Оксидный состав исследуемых образцов

Образец	Содержание, мас. %						
	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	CaO	MgO	K ₂ O	Na ₂ O
Почва песчаного карьера	82.6	6.0	2.6	1.6	0.68	1.4	0.72
Почва сельхозугодий	68.6	7.4	3.6	8.6	0.70	1.3	0.51
Почва Куликово-Курчанской группы лиманов	59.2	13.0	5.6	2.7	1.7	2.5	0.84
Почва Дагестанского глинистого месторождения	50.4	10.3	4.2	16.6	1.7	2.8	1.2
Донные отложения Таманского терминала навалочных грузов	60.9	10.5	4.1	6.4	1.8	1.9	1.5

аппаратный комплекс прибора. Для установления минералогического состава осуществляли съемку образца нефракционированной почвы с размером частиц менее 20 мкм после прессования в кювете и ориентированных препаратов образцов, приготовленных из фракции <2 мкм. Подготовку и испытания ориентированных препаратов образцов проводили согласно ГОСТ 21216-2014 [28]. Дифрактограммы исследуемых образцов приведены на рис. 1.

Фазовый состав образцов уточняли по данным термического анализа, полученным на синхронном термоанализаторе STA-409 PC Luxx (Netzsch, Германия). Пробу фракции менее 20 мкм загружали в платиновый тигель и анализировали в диапазоне от 30 до 1000°C со скоростью 10°C/мин в атмосфере воздуха. Термограммы исследуемых образцов приведены на рис. 2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Тип исследуемых образцов. Типизацию образцов проводили по данным их гранулометрического состава. Для этого ситовым методом определяли количество частиц диаметром: 2–1, 1–0.5, 0.5–0.25, 0.25–0.1 и менее 0.1 мм. Измерение ареометром плотности суспензии в процессе ее отстаивания позволило установить содержание фракций размером: 0.1–0.05, 0.05–0.01, 0.01–0.002 и менее 0.002 мм, результаты интерпретировали с поправками на температуру и нулевое показание ареометра [25]. При установлении гранулометрического состава исследуемых образцов учитывали показатель влажности, который определяли высушиванием до постоянной массы при 105°C в течение не менее 3 ч, а также плотность частиц, которую измеряли пикнометрически. Результаты определения физических характеристик испытуемых образцов, ареометрического определения плотности суспензий и систематизированные данные о гранулометрическом составе приведены в табл. 3.

Наибольшее содержание физической глины (фракция менее 0.01 мм, 69%) содержал образец почвы Дагестанского глинистого месторождения.

Высокое содержание физического песка (фракция 0.01–1 мм, 68–91%) наблюдали в образцах почвы с сельхозугодий и Куликово-Курчанской группы лиманов, в образце с песчаного карьера и донных отложениях. По соотношениям фракций физического песка и физической глины установили типы исследуемых образцов по Качинскому [29], которые затем сопоставили с полученными по международной классификации результатами с использованием треугольника Ферре [30]. По полученным данным выявили, что почва с сельхозугодий и донные отложения с Таманского терминала навалочных грузов соответствуют супесчаному, образец с песчаного карьера – песчаному, почва с Куликово-Курчанской группы лиманов – суглинистому, а почва Дагестанского месторождения – глинистому типам.

Содержание органического вещества и минералогический состав испытуемых образцов. Наибольшее содержание органического вещества среди испытанных образцов выявили в почве суглинистого типа (5.5%), что должно способствовать повышенному накоплению ПАУ. В других испытуемых образцах этот показатель не превышал 1.6%. При содержании органического вещества в образце до 6% необходимо учитывать синергетическое влияние компонентного состава глинистых минералов на накопление ПАУ [31]. Для этого провели рентгенофазовый анализ нефракционированных проб и ориентированных препаратов каждого из исследуемых образцов почв и донных отложений. Ориентированный препарат представлял собой пленку частиц, ориентированных базальными сетками вдоль оси z параллельно плоскости подложки. Данная ось показывала изменение межплоскостных расстояний при насыщении образца этиленгликолем и его обжиге при 600°C, подтверждающее идентификацию глинистых минералов.

Присутствие в глинистых минералах смектитов подтверждается увеличением межплоскостного расстояния и смещением пика 14.17 Å в сторону малых углов – 17.03 Å при насыщении этиленгликолем, регистрируемых на дифрактограммах

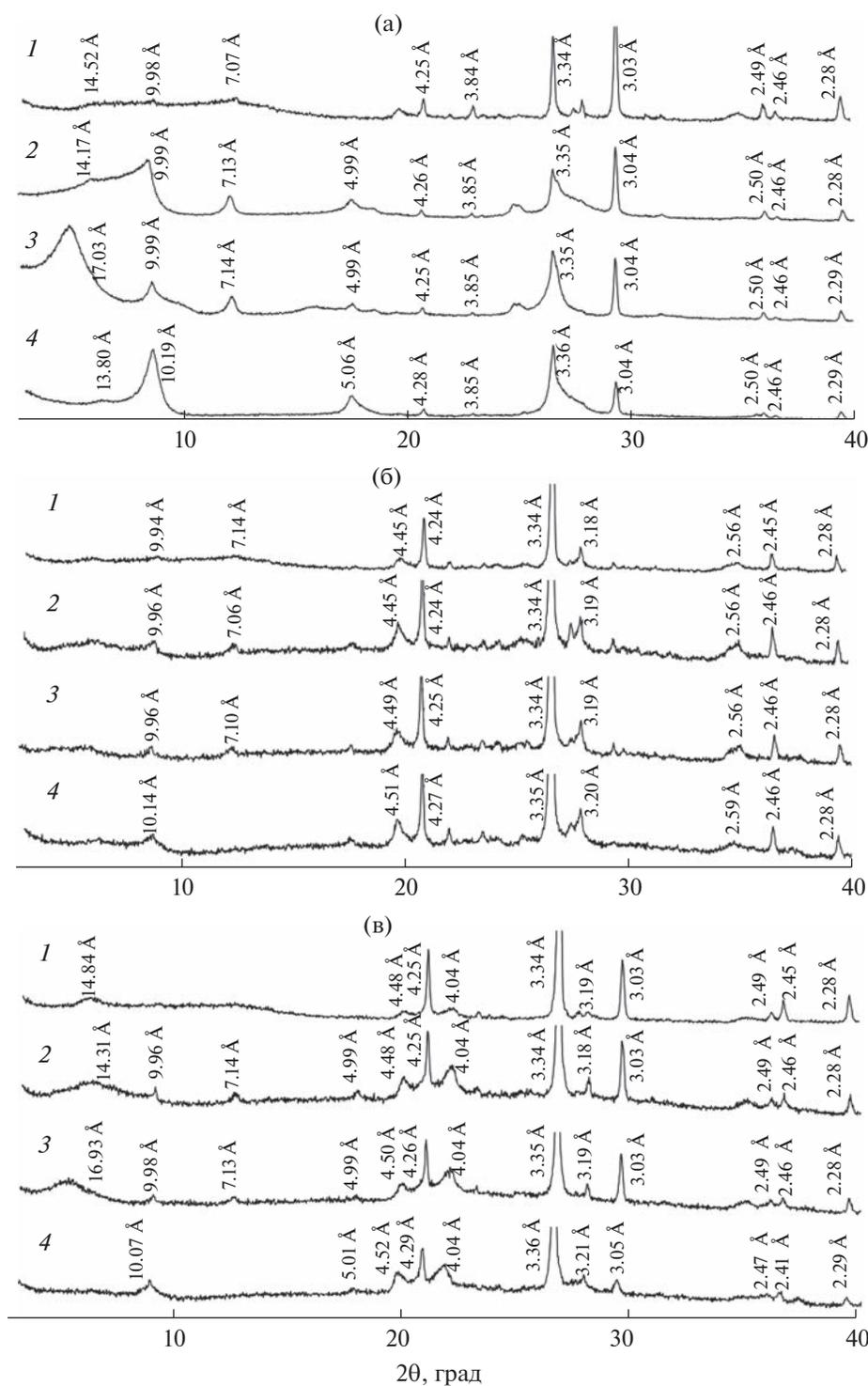


Рис. 1. Дифрактограммы почв глинистого (а), суглинистого (б), супесчаного (в), песчаного (г) типов и донных отложений супесчаного типа (д): 1 – нефракционированная проба, 2 – ориентированный препарат, 3 – насыщенный этиленгликолем ориентированный препарат, 4 – прокаленный при 600°C ориентированный препарат.

ориентированного и насыщенного ориентированного препаратов (рис. 1а). Содержание смектитов в образце составило при этом ~34%. На наличие глинистых минералов группы иллитов ~23%

указывает отсутствие изменений в кристаллических структурах с межплоскостными расстояниями 9.98, 5.0 и 3.35 Å после прокаливания и насыщения этиленгликолем ориентированного пре-

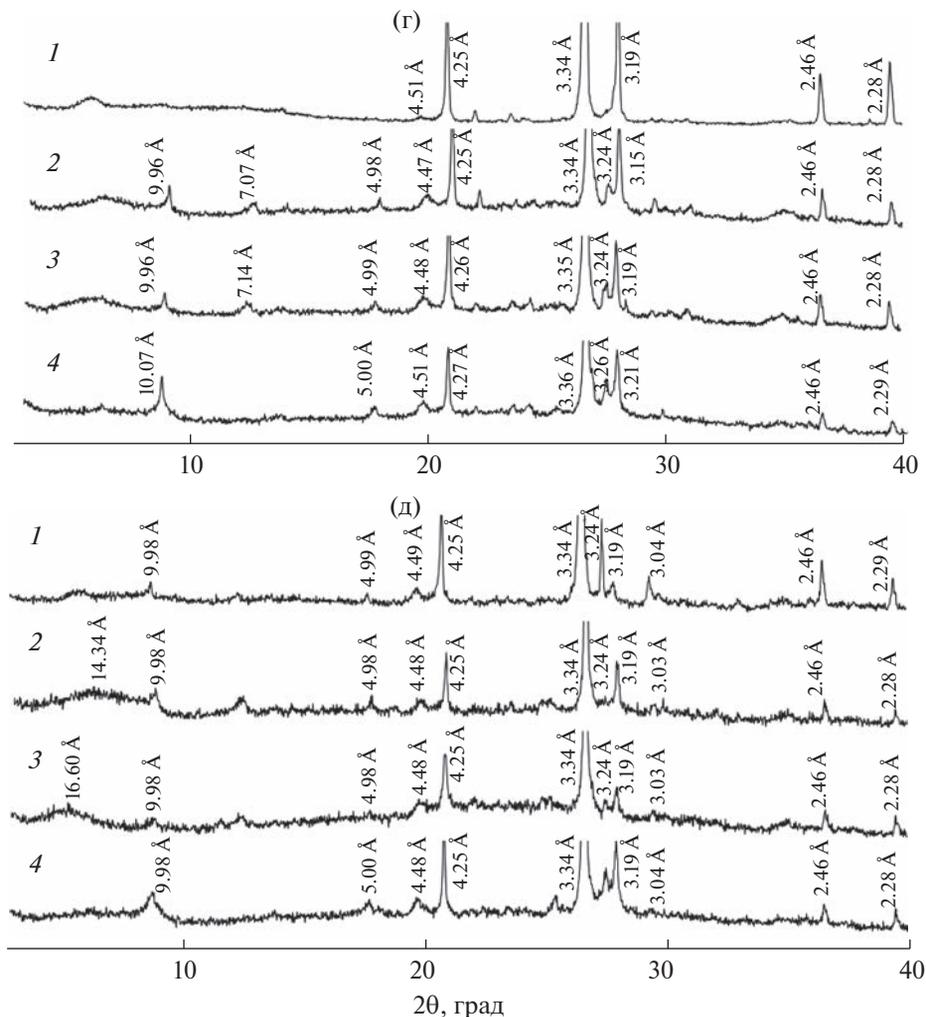


Рис. 1. Окончание.

парата. Около 8% глинистых минералов группы каолинитов также идентифицировали по дифрактограмме с межплоскостными расстояниями 7.13 и 3.57 Å, которые исчезали у образца ориентированного препарата, прокаленного при 600°C. Пики 3.84, 3.03, 2.49 и 2.28 Å на дифрактограмме нефракционированной пробы соответствовали кальциту, а 4.25, 3.34 и 2.46 Å – кварцу, доля кальцита в образце составляла ~30%, а кварца ~5%.

Наличие в исследуемых образцах идентифицированных выше глинистых минералов уточняли данными термического анализа (рис. 2а) и библиотеки термограмм [32]. На термограмме в диапазоне 30–143°C протекала дегидратация смектитов и иллитов, а при 409–588°C наблюдали дегидроксилирование каолинита, фазовый переход в аморфный метакаолинит и удаление конституционной воды иллитов и смектитов, которая представлена гидроксильной группой в составе соединений. При 588–812°C происходило разложение кальцита.

В образцах почвы суглинистого типа установили высокие содержания глинистых минералов: иллиты (~60%) и каолиниты (~7%). Ниже содержания в них неглинистого кальцита 1%, кварца ~6%, а также полевых шпатов ~18%. На термограмме почвы регистрировали эндоэффект в диапазоне 572–742°C с потерей массы 1.29%, соответствующий разложению брусита (рис. 2б). В интервале 200–500°C наблюдали два экзотермических максимума: первый при 336°C свидетельствует о поверхностном окислении магнетита, второй при 422°C – об окислении магнетита в объеме исследуемого образца, в этом же диапазоне происходит термическое разложение и выгорание органического вещества в атмосфере воздуха.

В образце почвы супесчаного типа идентифицировали ~15% смектитов, ~15% иллитов и ~7% каолинитов (рис. 1в). Установили высокое содержание кварца ~40%, а также кальцита ~13% и полевых шпатов ~8%. Экзотермический эффект на термограмме в диапазоне 200–400°C с максимумом

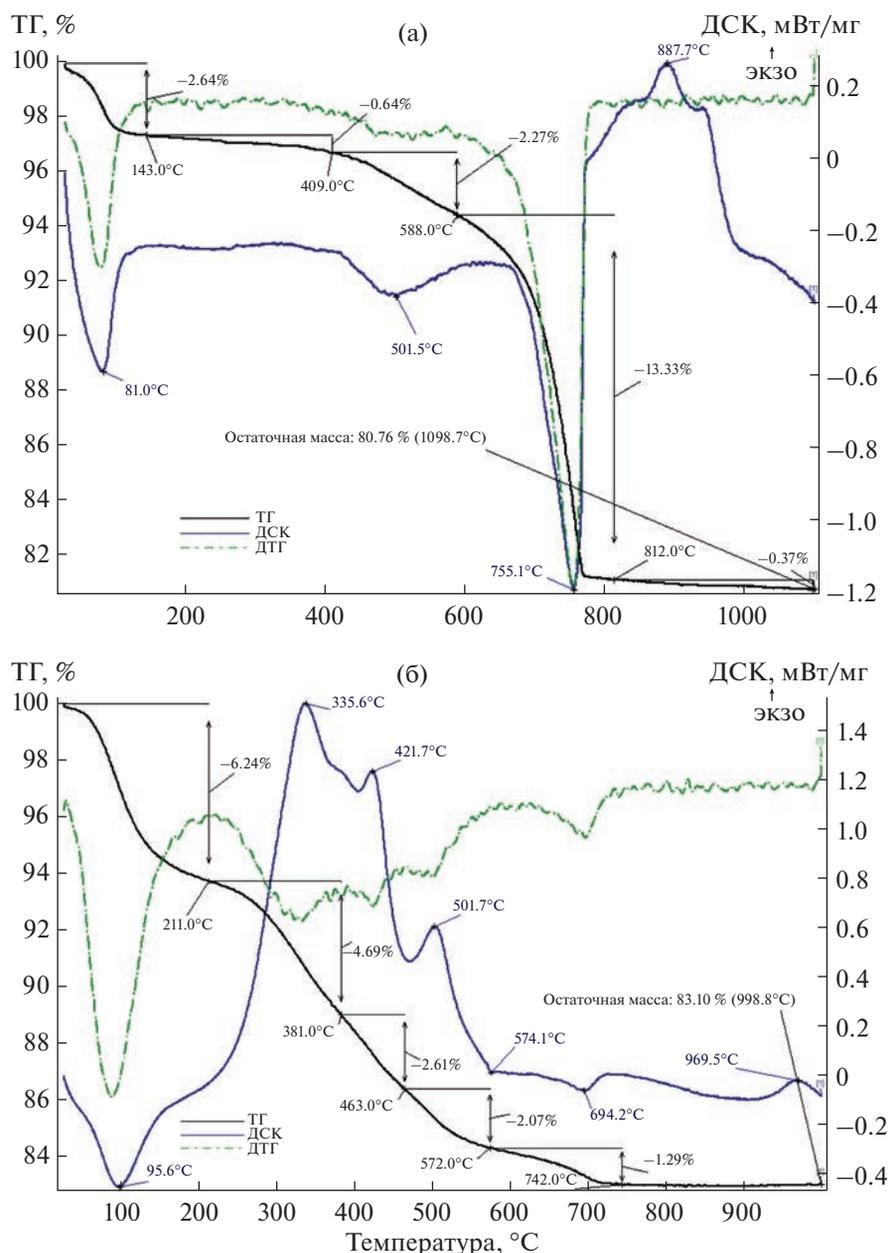


Рис. 2. Термограммы почв глинистого (а), суглинистого (б), супесчаного (в) и песчаного (г) типов, донных отложений супесчаного типа (д).

мом 327°C соответствует кристаллизации аморфного оксида железа в гематит, а эндоэффект при 574°C – фазовому $\alpha \rightarrow \beta$ переходу кварца (рис. 2в).

В образце почвы песчаного типа наблюдали высокое содержание неглинистых минералов (~76% кварца, ~10% полевых шпатов и карбонатов), при этом доля глинистых минералов суммарно не превышала 6%. Высокое содержание кварца подтверждается данными термического анализа (рис. 2г). При 574°C протекает фазовый $\alpha \rightarrow \beta$ переход кварца, а при 876°C – фазовый переход β -кварца в тридимит.

В составе донных отложений идентифицировали смектиты ~5% и иллиты ~8% при достаточно высоком содержании кварца ~46% и полевых шпатов ~19%. Интенсивный эндоэффект на термограмме при 620–736°C (рис. 2д) и данные рентгенофазового анализа подтверждают присутствие в донных отложениях супесчаного типа карбонатов кальция и магния (~13%).

Поведение ПАУ в объектах окружающей среды обусловлено их физико-химическими свойствами [33]. С учетом показателя давления паров над твердым веществом (P_s) [34] аналиты нами

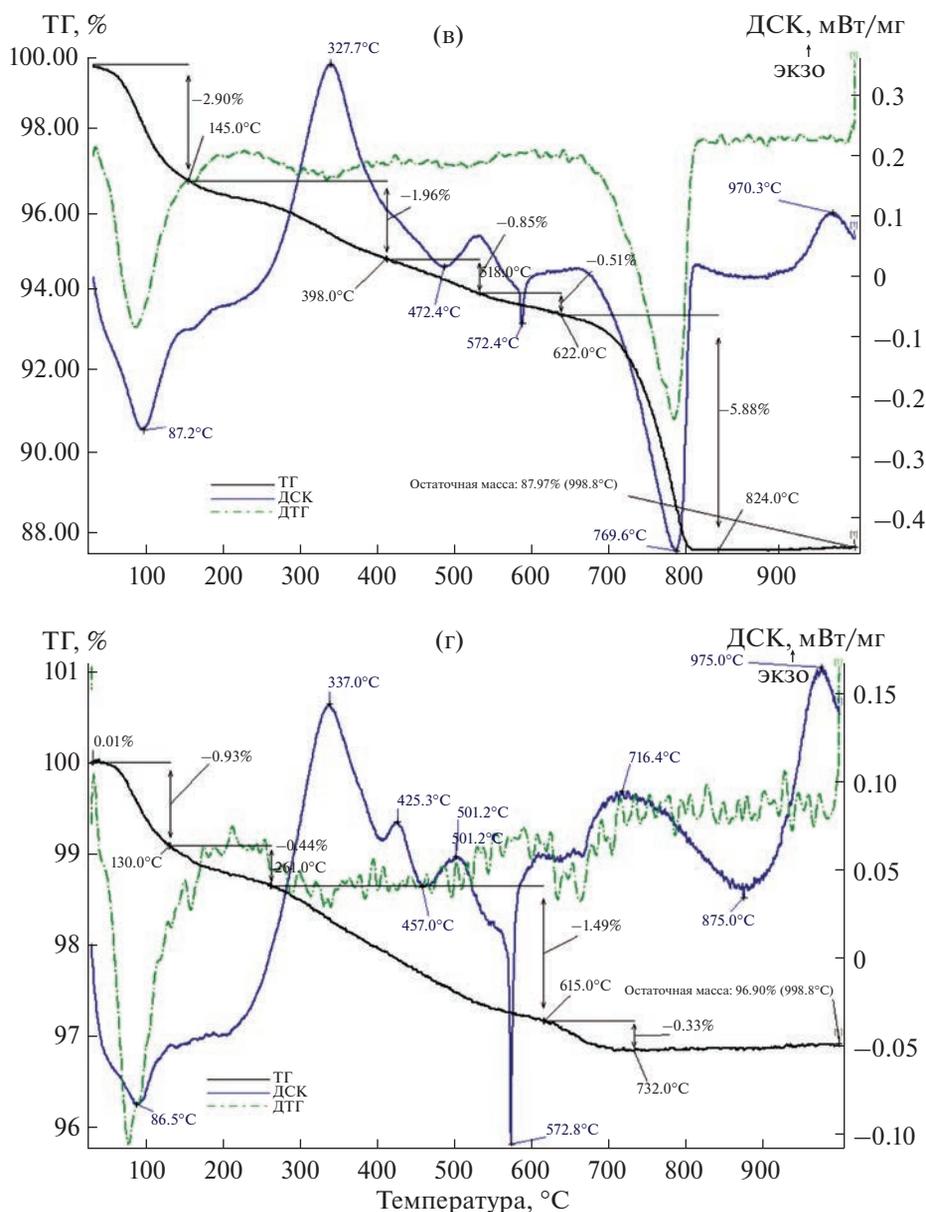


Рис. 2. Продолжение.

условно разделены на три группы по летучести: высокая – нафталин, 2-метилнафталин аценафтилен, бифенил, аценафтен, флуорен, фенантрен (2–3 ароматических кольца, $P_s = 0.01–11.96$ Па); средняя – антрацен, флуорантен, пирен (3–4 ароматических кольца, $P_s = 5.4 \times 10^{-4}–19.7 \times 10^{-4}$ Па); низкая – содержащие четыре и более ароматических колец высокомолекулярные бенз(б)флуорантен, бенз(к)флуорантен, бенз(а)пирен, индено(1,2,3-с,д)пирен, дибенз(а, h)антрацен, бенз(г, h, i)перилен ($P_s = 3.7 \times 10^{-10}–1.4 \times 10^{-6}$ Па). Анализируя данные по летучести аналитов можно полагать, что, попадая в окружающую среду, ПАУ с более низким показателем давления пара будут

преимущественно накапливаться в почвах и донных отложениях, а обладающие наибольшей и средней летучестью могут переходить в газовую фазу [35–37].

Еще одним показателем, характеризующим способность почв и донных отложений к накоплению и удерживанию ПАУ, является средство аналитов к органическому веществу. По значению коэффициента распределения органический углерод почвы/вода (K_{oc}), описывающего распределение химических веществ в системе и характеризующего относительную потенциальную подвижность аналитов в почвах, можно прогнозировать способность к их накоплению различными типами образ-

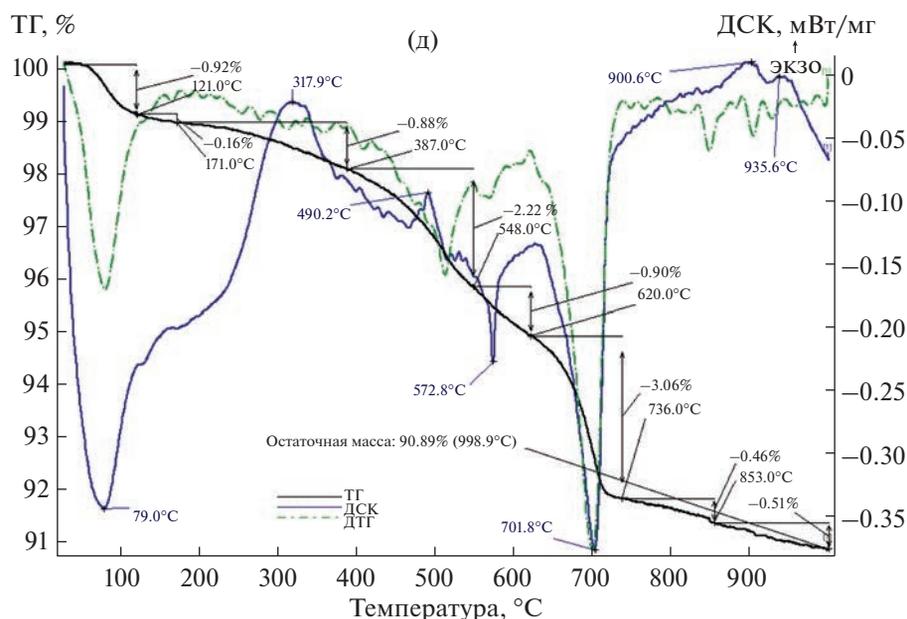


Рис. 2. Окончание.

цов [38]. В случае донных отложений с содержанием органического углерода $\geq 0.5\%$ показатель $\log K_{oc}$ для нафталина, фенантрена, пирена, бенз(а)пирена составляет 3.1, 4.3, 4.9 и 6.2 соответственно [39]. Рост значения этого показателя является подтверждением родства органического вещества в исследуемых образцах к ПАУ, которое возрастает с увеличением молекулярной массы аналитов.

С учетом данных рентгенофазового и термического анализа можно спрогнозировать характер удерживания ПАУ образцами почв и донных отложений различного состава. Способность образцов, содержащих смектиты, иллиты и каолиниты, к накоплению ПАУ с увеличением площади поверхности ($S_{пов}$) глинистого минерала растет. Наибольшей площадью поверхности характеризуются смектиты, они также обладают способностью к набуханию, что может привести к дополнительному удерживанию аналитов внутри кристаллита. Способность монтмориллонита группы смектитов ($S_{пов} = 750.65 \text{ м}^2/\text{г}$) к сорбции бенз(а)пирена оказалась вдвое выше, чем у каолинита ($S_{пов} = 16.60 \text{ м}^2/\text{г}$) [40]. Площадь поверхности иллитов может варьировать в интервале 30–70 $\text{м}^2/\text{г}$ [41]. С другой стороны, присутствие карбонатов в минеральной матрице исследуемых объектов больше будет способствовать накоплению некоторых низкомолекулярных ПАУ [9].

С учетом перечисленной выше градации ПАУ, их распределения по показателю родства к органическому веществу и фазовому составу образцов различных почв и донных отложений можно отметить, что в наибольшей степени ПАУ, преимуще-

ственно высокомолекулярные, будут накапливаться в почвах суглинистого типа, что обусловлено высоким содержанием в них органического вещества и наличием глинистых минералов. Почва глинистого типа и донные отложения будут иметь схожие параметры удерживания ПАУ за счет близких значений содержания органического вещества и наличия смектитов, иллитов и карбонатов в матрице проб. Для образца почвы супесчаного типа ввиду меньшего содержания органического вещества накопление аналитов характерно в меньшей степени. ПАУ в исследованных образцах в наименьшей степени будут накапливаться в почве песчаного типа с высоким содержанием кварца, имеющего низкое сродство к аналитам.

Извлечение ПАУ из почв и донных отложений различного типа по технике QuEChERS. Для чистоты эксперимента накопление ПАУ изучали на практически не содержащих аналиты образцах почв и донных отложений. Охарактеризованные выше образцы почвы сельхозугодий х. Октябрьского, песчаного карьера Краснодарского края, Куликово-Курчанской группы лиманов и Дагестанского глинистого месторождения, а также донные отложения Таманского терминала навалочных грузов отвечали этим требованиям. Особенности извлечения аналитов из образцов различного состава оценивали методом введено–найдено. Для этого в 0.5 г испытуемого образца вносили по 50 нг каждого из индивидуальных ПАУ, выдерживали в течение суток, после чего осуществляли экстракцию аналитов с использованием техники QuEChERS.

Степени извлечения низкомолекулярных ПАУ из испытуемых образцов составили более 90%, что

Таблица 3. Результаты определения гранулометрического состава исследуемых образцов

Образец	Влажность, %	Плотность грунта, г/см ³	Отсчет по ареометру в различное время измерения плотности суспензии			Содержание фракций (%) с размерами, мм							
			1 мин	30 мин	11 ч	2–1	1–0.5	0.5–0.25	0.25–0.1	0.1–0.05	0.05–0.01	0.01–0.002	<0.002
			3.9	2.7	1.5	10.5	4.7	16.5	29.7	17.3	6.6	6.7	8.1
Почва сельхозугодий	1.62	2.44	3.9	2.7	1.5	10.5	4.7	16.5	29.7	17.3	6.6	6.7	8.1
Почва песчаного карьера	0.60	2.60	1.8	1.7	1.5	0.05	0.42	14.4	56.5	18.9	0.55	1.1	8.2
Почва Куликово-Курчанской группы лиманов	1.76	2.51	11.8	5.7	1.8	19.4	3.8	5.0	4.3	13.9	27.7	17.8	8.2
Почва Дагестанского глинистого месторождения	1.97	2.68	2.5	2.4	1.8	–	–	–	0.30	13.5	16.8	12.5	56.9
Донные отложения Таманского терминала навалочных грузов	1.56	2.60	15.9	12.8	10.5	0.05	0.01	0.15	28.8	53.3	0.71	4.2	12.7

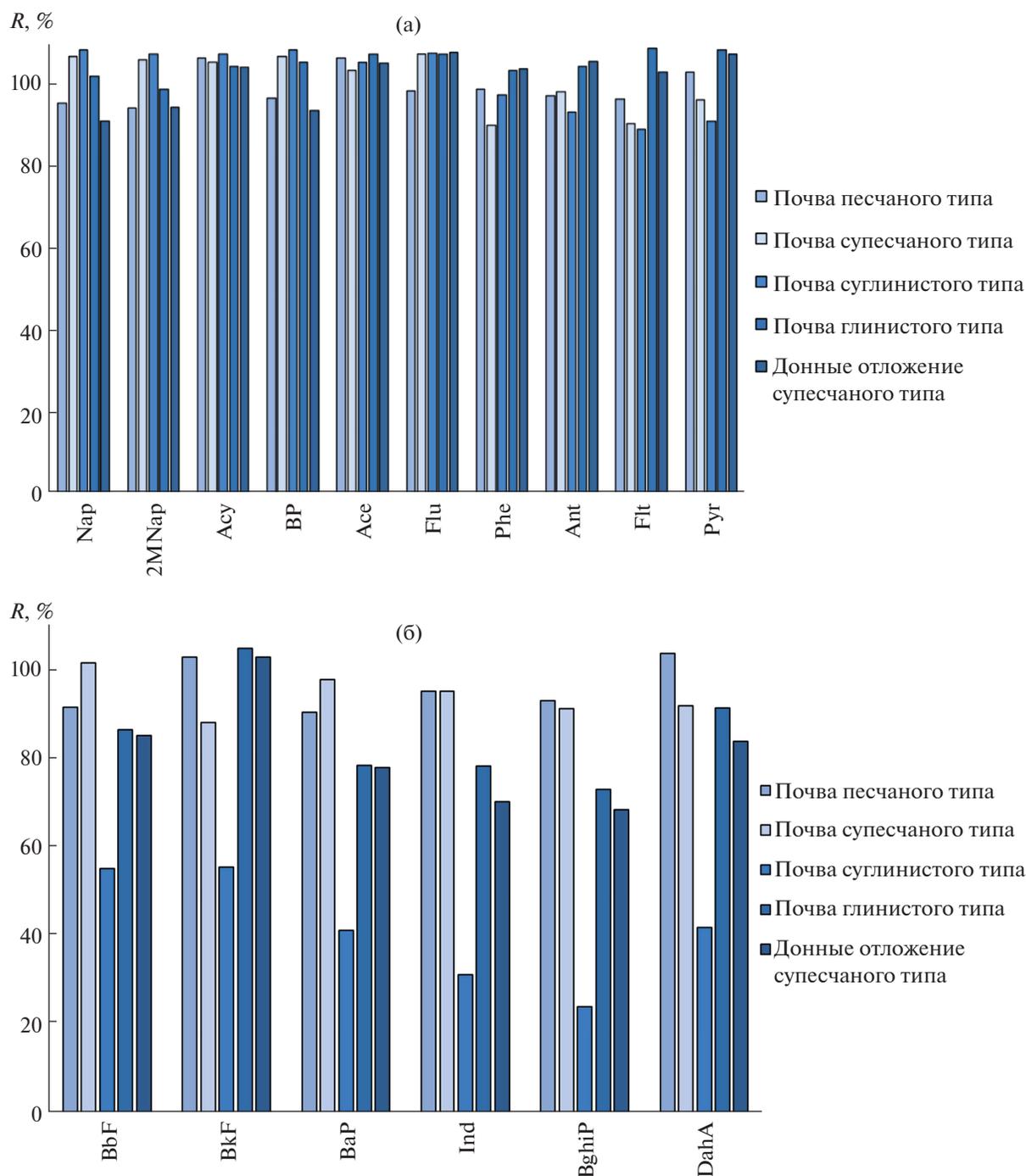


Рис. 3. Степени извлечения низкомолекулярных (а) и высокомолекулярных (б) ПАУ из почв и донных отложений различного типа. Нафталин – Nap, 2-метилнафталин – 2MNap, аценафтилен – Acy, бифенил – BP, аценафтен – Ace, флуорен – Flu, фенантрен – Phe, антрацен – Ant, флуорантен – Flt, пирен – Pyt, бенз(б)флуорантен – BbF, бенз(к)флуорантен – BkF, бенз(а)пирен – BaP, индено(1,2,3-с,д)пирен – Ind, бенз(г,х,и)перилен – BghiP, дибенз(а,х)антрацен – DahA.

объясняется их меньшим сродством к органическому веществу матриц по сравнению с высокомолекулярными (рис. 3а) и согласуется с данными [34]. Степени извлечения высокомолекулярных ПАУ из образца почвы суглинистого типа оказались невысокими и варьировали в интервале

от 24% (бенз(г,х,и)перилен) до 56% (бенз(к)флуорантен) (рис. 3б). Для образца почвы глинистого типа этот показатель по бенз(а)пирену, индено(1,2,3-с,д)пирену и бенз(г,х,и)перилену не превышал 79%. Аналогичную ситуацию наблюдали при экстракции ПАУ из образца донных отложе-

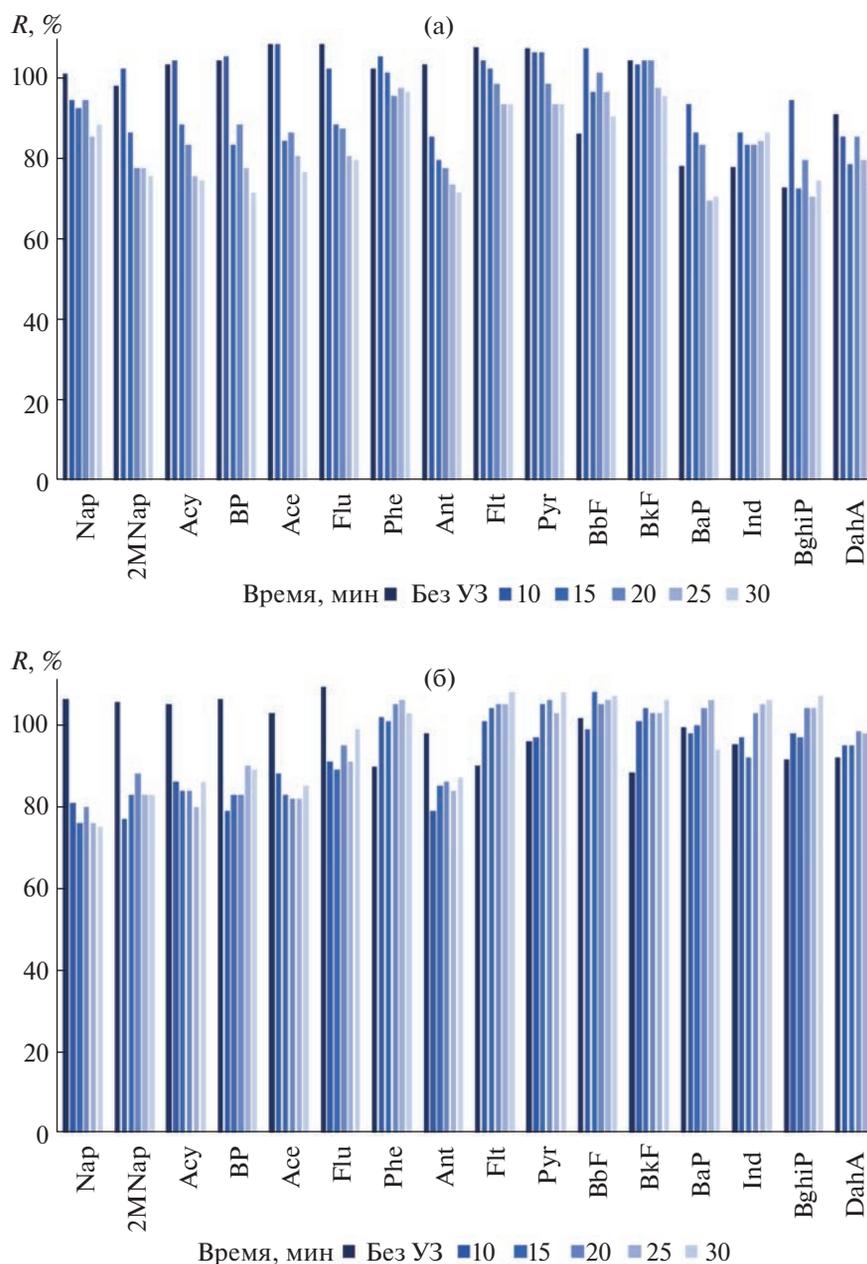


Рис. 4. Зависимость степени извлечения ПАУ от продолжительности УЗ-обработки образцов почвы глинистого (а), супесчаного (б), суглинистого (в) типов и донных отложений супесчаного типа (г).

ний, обусловленную их повышенным средством к анализам, что соответствует прогнозируемой модели их поведения. Наибольшие степени извлечения высокомолекулярных ПАУ наблюдали из почв песчаного (более 91%) и супесчаного (более 88%) типов, что можно объяснить слабыми накопительными свойствами кварца и малым содержанием в них органического вещества.

Использование ультразвукового поля на стадии пробоподготовки, как правило, приводит к кавитации при прохождении акустической волны с минимальной частотой 16 кГц через экстракци-

онную систему и повышению степени извлечения аналитов [42]. При этом избыточное воздействие УЗ-колебаний может привести к разрушению ПАУ, деструкции матричных компонентов образца с увеличением числа углеродсодержащих фрагментов и адсорбирующей ПАУ площади поверхности [43].

Изучали извлечение ПАУ из почв и донных отложений при УЗ-обработке с частотой 35 кГц в течение от 0 до 30 мин. Методом введено–найденно оценили эффективность УЗ-воздействия путем введения в испытуемые образцы смеси инди-

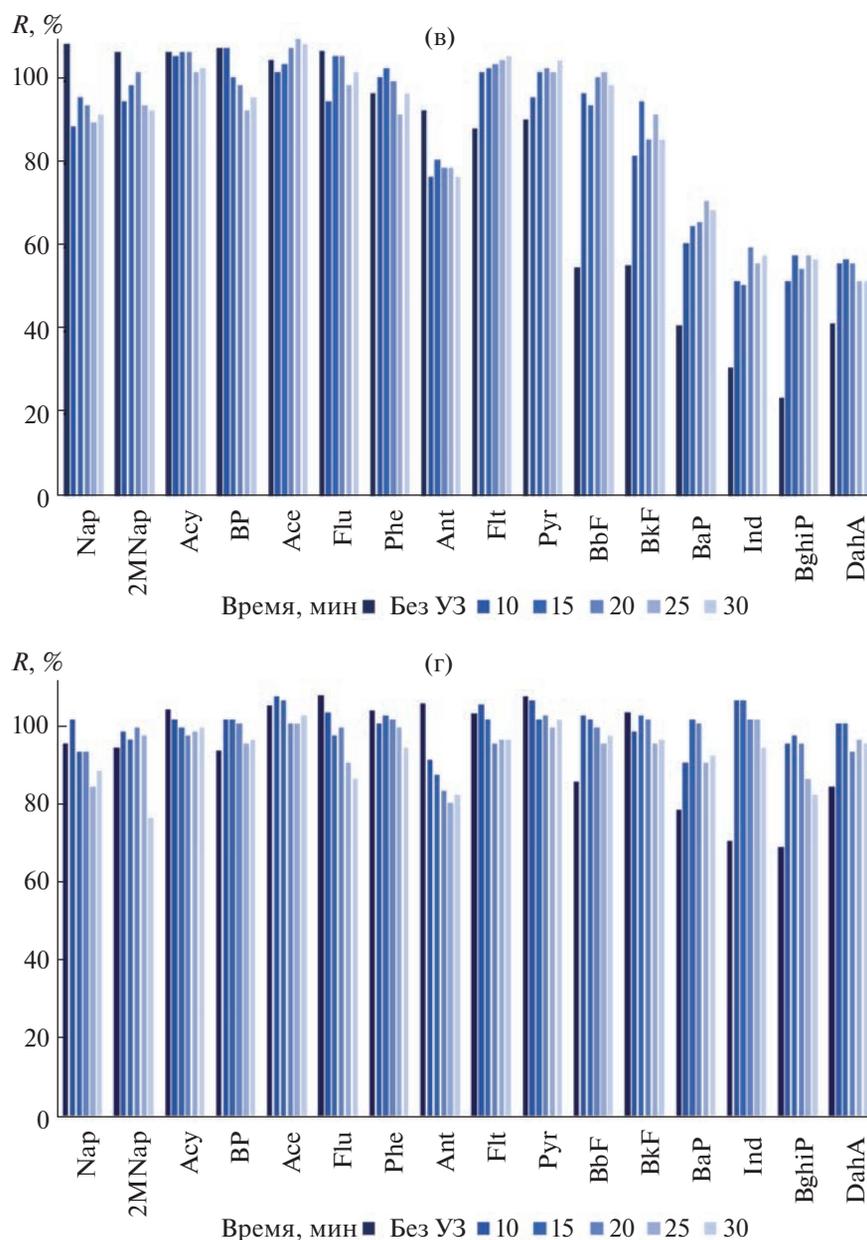


Рис. 4. Окончание.

видуальных ПАУ с концентрацией каждого на уровне от 0.5 ПДК по бенз(а)пирену до характерных для территорий с повышенной антропогенной нагрузкой их содержаний (10, 40 и 100 мкг/кг). Полученные параметры извлечения при УЗ-обработке образцов не зависели от концентраций внесенных ПАУ.

Анализ полученных данных показал, что УЗ-воздействие в целом способствует более интенсивной экстракции высокомолекулярных ПАУ из испытуемых образцов (рис. 4). Для низкомолекулярных ПАУ степени извлечения в некоторых случаях были ниже и обусловлены, по-видимому,

особенностями компонентного состава каждого из испытуемых объектов.

Установили, что для извлечения аналитов из почв песчаного типа (90–100%) УЗ-обработка не требуется. Степени извлечения большинства ПАУ из почвы глинистого типа и донных отложений супесчаного типа при УЗ-обработке в течение 10–15 мин повышались, при более длительном воздействии они снижались, что, возможно, связано с агрегацией частиц смектитов [44]. Снижение интенсивности извлечения низкомолекулярных ПАУ из почвы супесчаного типа при

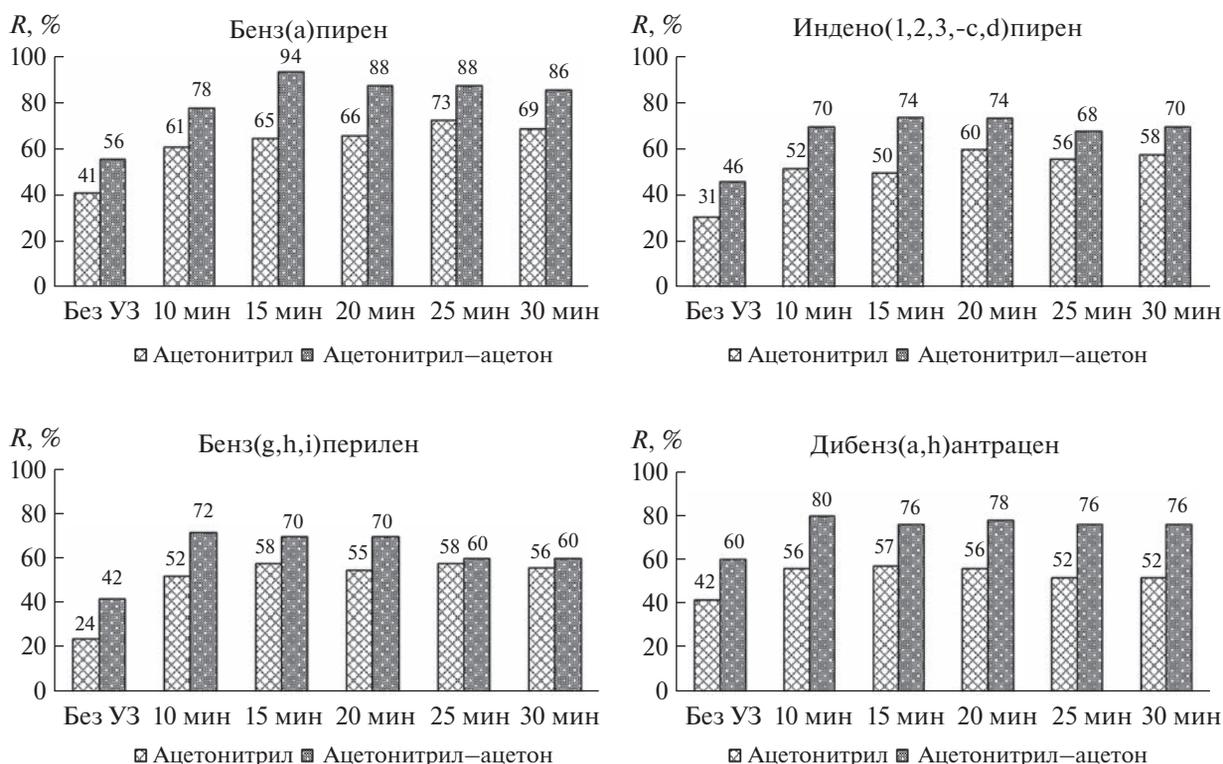


Рис. 5. Влияние состава экстрагента на эффективность извлечения индивидуальных ПАУ из образца почвы суглинистого типа.

УЗ-воздействию, по-видимому, также объясняется минеральным составом образца.

Сродство аналитов к почвам суглинистого типа с высоким содержанием органического вещества является мешающим фактором для количественного извлечения высокомолекулярных ПАУ ацетонитрилом с использованием техники QuEChERS при УЗ-воздействии. Для повышения степени извлечения аналитов из образцов с высоким содержанием органического вещества использовали в качестве экстрагента смесь ацетонитрил-ацетон (1 : 1, по объему). Использование техники QuEChERS с бинарным растворителем и УЗ-обработкой способствовало более эффективному извлечению высокомолекулярных ПАУ (рис. 5).

Таким образом, для количественного извлечения всех исследуемых ПАУ (90–100%) из образцов почв песчаного и супесчаного типов с использованием техники QuEChERS и последующего определения аналитов УЗ-обработка в процессе подготовки проб не требуется. При подготовке к анализу образцов почвы суглинистого, глинистого типов и донных отложений супесчаного типа извлечение низкомолекулярных ПАУ по технике QuEChERS без УЗ-обработки составляет более

90%, а ее воздействие приводит к снижению степени извлечения большинства из них. Применение техники QuEChERS с 10-минутной УЗ-обработкой при подготовке к ГХ-МС-анализу повысило степени извлечения высокомолекулярных ПАУ из образцов почвы глинистого типа и донных отложений супесчаного типа до более 87 и 90% соответственно. Без УЗ-воздействия этот показатель составил от 73% для почвы глинистого типа и 69% для донных отложений. Степени извлечения высокомолекулярных ПАУ ацетонитрилом по технике QuEChERS из образцов почвы суглинистого типа с большим содержанием органического вещества без ультразвуковой обработки лежат в диапазоне 24–56%. 10-минутная УЗ-обработка образцов повысила нижнее значение данного показателя до 52%, но увеличение продолжительности УЗ-воздействия на данный показатель значимого влияния не оказывает. Использование техники QuEChERS с бинарным экстрагентом ацетонитрил-ацетон (1 : 1) при 15-минутном УЗ-воздействии позволило извлечь из данного типа почв более 70% высокомолекулярных ПАУ.

Работа выполнена в рамках проекта Госзадания Минобрнауки РФ № FZEN-2023-0006 с использованием научного оборудования ЦКП “Эколого-аналитический центр” Кубанского госуниверситета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Johnsen A.R., Wick L.Y., Harms H.* Principles of microbial PAH-degradation in soil // *Environ. Pollut.* 2005. V.133. № 1. P. 71. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.04.015>
2. *Семенов В.М., Козум Б.М.* Почвенное органическое вещество. М.: ГЕОС, 2015. 233 с.
3. *Chefetz B., Xing B.*, Relative role of aliphatic and aromatic moieties as sorption domains for organic compounds: A review // *Environ. Sci. Technol.* 2009. V. 43. № 6. P. 1680. <https://doi.org/10.1021/es803149u>
4. *Chen W., Wang H., Gao Q., Chen Y., Li S., Yang Y., Werner D., Tao Sh., Wang X.*, Association of 16 priority polycyclic aromatic hydrocarbons with humic acid and humin fractions in a peat soil and implications for their long-term retention // *Environ. Pollut.* 2017. V. 230. P. 882. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.038>
5. *Lu Z., Zeng F., Xue N., Li F.* Occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in organomineral particles of alluvial sandy soil profiles at a petroleum-contaminated site // *Sci. Total Environ.* 2012. V. 433. P. 50. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.06.036>
6. *Saeedi M., Li L.Y., Grace J.R.* Effect of organic matter and selected heavy metals on sorption of acenaphthene, fluorene and fluoranthene onto various clays and clay minerals // *Environ. Earth Sci.* 2018. V. 77. № 305. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s12665-018-7489-0>
7. *Zhu D., Herbert B.E., Schlautman M.A., Carraway E.R., Hur J.* Cation- π Bonding: A new perspective on the sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons to mineral surfaces // *J. Environ. Qual.* 2004. V. 33. P. 1322. <https://doi.org/10.2134/jeq2004.1322>
8. *Müller S., Toische K.U., Kögel-Knabner I.* Sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons to mineral surfaces // *Eur. J. Soil Sci.* 2007. V. 58. № 4. P. 918. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2007.00930.x>
9. *Wang L., Niu J., Yang Z., Shen Z., Wang J.* Effects of carbonate and organic matter on sorption and desorption behavior of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments from Yangtze River // *J. Hazard. Mater.* 2008. V. 154. P. 811. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.10.096>
10. *Lau E.V., Gan S., Ng H.K.* Extraction techniques for polycyclic aromatic hydrocarbons in soils // *Int. J. Anal. Chem.* 2010. V. 2010. № 398381. <https://doi.org/10.1155/2010/398381>
11. *Hawthorne S.B., Grabanski C.B., Martin E., Miller D.J.* Comparisons of Soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: Recovery, selectivity and effects on sample matrix // *J. Chromatogr. A.* 2000. V. 892. P. 421. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00091-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00091-1)
12. *Ling W., Rui S., Yongxin L., Sun C.* Sample preparation and analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2019. V. 24. № e00074. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2019.e00074>
13. *Темердашев З.А., Мусорина Т.Н., Червонная Т.А., Арутюнян Ж.В.* Возможности и ограничения методов твердофазной и жидкостной экстракции при определении полициклических ароматических углеводородов в объектах окружающей среды // *Журн. аналит. химии.* 2021. Т. 76. № 12. С. 1059. <https://doi.org/10.31857/S0044450221120136> (*Temerdashev Z.A., Musorina T.N., Chervonnaya T.A., Arutyunyan Z.V.* Possibilities and limitations of solid-phase and liquid extraction for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples // *J. Anal. Chem.* 2021. V. 76. № 12. P. 1357.) <https://doi.org/10.31857/S0044450221120136>
14. *Федотов П.С., Малофеева Г.И., Савонина Е.Ю., Спиваков Б.Я.* Твердофазная экстракция органических веществ: нетрадиционные методы и подходы // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74. № 3. С. 163. <https://doi.org/10.1134/S0044450219030046> (*Fedotov P.S., Malofeeva G.I., Savonina E.Y., Spivakov B.Y.* Solid-phase extraction of organic substances: Unconventional methods and approaches // *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. № 3. P. 205.) <https://doi.org/10.1134/S1061934819030043>
15. *Portet-Koltalo F., Tian Y., Berger-Brito I., Benamar A., Boulang'e-Lecomte C., Machour N.* Determination of multi-class polyaromatic compounds in sediments by a simple modified matrix solid phase dispersive extraction // *Talanta.* 2021. V. 221. № 121601. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121601>
16. *Santana-Mayor A., Socas-Rodríguez B., Herrera-Herrera A.V., Rodríguez-Delgado M.A.* Current trends in QuEChERS method. A versatile procedure for food, environmental and biological analysis // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 116. P. 214. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.018>
17. *Perestrelo R., Silva P., Porto-Figueira P., Pereira J.A.M., Silva C., Medina S., Câmara J.S.* QuEChERS – fundamentals, relevant improvements, applications and future trends // *Anal. Chim. Acta.* 2019. V. 1070. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.02.036>
18. *Темердашев З.А., Мусорина Т.Н., Овсепян С.К., Корпакова И.Г.* Хромато-масс-спектрометрическое определение полициклических ароматических углеводородов в почвах и донных отложениях с пробоподготовкой по технике QuEChERS // *Журн. аналит. химии.* 2022. Т. 77. № 5. С. 462. <https://doi.org/10.31857/s0044450222050164> (*Temerdashev Z.A., Musorina T.N., Ovsepyan S.K., Korpakova I.G.* Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils and bottom sediments by gas chromatography–mass spectrometry with QuEChERS sample preparation // *J. Anal. Chem.* 2022. V. 77. № 5. P. 595.) <https://doi.org/10.31857/s0044450222050164>
19. *Huang Y., Wei J., Song J., Chen M., Luo Y.* Determination of low levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by high performance liquid chromatography with tandem fluorescence and diode-array detectors // *Chemosphere.* 2013. V. 92. P. 1010. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.03.035>
20. *Manousi N., Zachariadis G.A.* Recent advances in the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental samples // *Molecules.* 2020. V. 25. № 2182. <https://doi.org/10.3390/molecules25092182>
21. *Gimeno R.A., Altelaar A.F.M., Marcé R.M., Borrull F.* Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons

- and polycyclic aromatic sulfur heterocycles by high-performance liquid chromatography with fluorescence and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry detection in seawater and sediment samples // *J. Chromatogr. A*. 2002. V. 958. P. 141.
[https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(02\)00386-2](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(02)00386-2)
22. Yamada T.M., Souza D.A., Morais C.R., Mozeto A.A. Validation of a method for the analysis of PAHs in bulk lake sediments using GC-MS // *J. Chromatogr. Sci.* 2009. V. 47. № 9. P. 794.
<https://doi.org/10.1093/chromsci/47.9.794>
23. Тимердашев З.А., Мусорина Т.Н., Червонная Т.А. Хромато-масс-спектрометрическое определение полициклических ароматических углеводородов в почвах и донных отложениях с применением техники дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции // *Журн. аналит. химии*. 2020. Т. 75. С. 702.
<https://doi.org/10.31857/s0044450220080150> (Тимердашев З.А., Мусорина Т.Н., Червонная Т.А. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil and bottom sediments by gas chromatography–mass spectrometry using dispersive liquid–liquid microextraction // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 8. P. 1000.)
<https://doi.org/10.31857/s0044450220080150>
24. ГОСТ 26213–2021 Почвы. Методы определения органического вещества. М.: ФГБУ “РСТ”, 2021. 11 с.
25. ГОСТ 12536–2014 Грунты. Методы лабораторного определения гранулометрического (зернового) и микроагрегатного состава. М.: Стандартинформ, 2019. 19 с.
26. ГОСТ 5180–2015 Грунты. Методы лабораторного определения физических характеристик. М.: Стандартинформ, 2016. 21 с.
27. ГОСТ 33850–2016 Почвы. Определение химического состава методом рентгенофлуоресцентной спектроскопии. М.: Стандартинформ, 2019. 16 с.
28. ГОСТ 21216–2014 Сырье глинистое. Методы испытаний. М.: Стандартинформ, 2015. 43 с.
29. Белицина Г.Д., Васильевская В.Д., Гришина Л.А. Почвоведение. Ч. 1. Почва и почвообразование. М.: Высшая школа, 1988. 400 с.
30. *USS Working Group WRB: World Reference Base for Soil Resources 2014, update 2015. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports. FAO, Rome, 2015. 203 p.*
31. Hwang S., Ramirez N., Cutright T.J., Ju L.-K. The role of soil properties in pyrene sorption and desorption // *Water Air Soil Pollut.* 2003. V. 143. P. 65.
<https://doi.org/10.1023/A:1022863015709>
32. Földvári M. Handbook of Thermogravimetric System of Minerals and Its Use in Geological Practice. Budapest, 2011. 180 p.
33. Neilson A.H. The Handbook of Environmental Chemistry V. 3 Part I. PAHs and Related Compounds. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1998. 385 p.
34. Mackay D., Shiu W.Y., Ma K.C., Lee. S.C. Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals. CRC Press, 2006. 840 p.
35. Kim K.-H., Jahan S.A., Kabir E., Brown R.J.C. A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects // *Environ. Int.* 2013. V. 60. P. 71.
36. Baek S.O., Field R.A., Goldstone M.E., Kirk P.W., Lester J.N., Perry R. A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Sources, fate and behavior // *Water Air Soil Pollut.* 1991. V. 60. P. 279.
<https://doi.org/10.1007/BF00282628>
37. Purcaro G., Moret S., Conte L.S. Polycyclic aromatic hydrocarbons / *Encyclopedia of Food and Health* / Eds. Caballero B., Finglas P., Toldrá F. Elsevier Ltd., 2016. P. 406.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384947-2.00550-x>
38. Voutsas E. Estimation of the Volatilization of Organic Chemicals from Soil. Thermodynamics, Solubility and Environmental Issues. Elsevier B.V., 2007. P. 205.
<https://doi.org/10.1016/b978-044452707-3/50013-6>
39. Delle Site A. Factors affecting sorption of organic compounds in natural sorbent/water systems and sorption coefficients for selected pollutants. A review // *J. Phys. Chem. Ref.* 2001. V. 30. № 1. P. 187.
<https://doi.org/10.1063/1.1347984>
40. Nanuam J., Zuddas P., Sawangwong P., Pachana K. Modeling of PAHs adsorption on Thai clay minerals under seawater solution conditions // *Procedia Earth Planet. Sci.* 2013. V. 7. P. 607.
<https://doi.org/10.1016/j.proeps.2013.03.004>
41. Zemanek J. Low-resistivity hydrocarbon-bearing sand reservoirs // *SPE Form Eval.* 1989. V. 4. P. 515.
<https://doi.org/10.2118/15713-pa>
42. Пиковский Ю.И., Коротков Л.А., Смирнова М.А., Ковач Р.Г. Лабораторно-аналитические методы при определении углеводородного состояния почв (обзор) // *Почвоведение*. 2017. № 10. С. 1165.
<https://doi.org/10.7868/S0032180X17100070>
43. Lau E.V., Gan S., Ng H.K. Extraction techniques for polycyclic aromatic hydrocarbons in soils // *Int. J. Anal. Chem.* 2010. V. 2010. № 398381.
<https://doi.org/10.1155/2010/398381>
44. Чекмарев А.С., Скворцов А.В., Сулейманова А.З., Хацринов А.И., Байгузин Ф.А., Петухова Е.А. Ультразвуковая обработка глинистого сырья // *Вестн. Казанского технолог. ун-та*. 2010. № 8. С. 277.

УДК 543.0;54543.544.3

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЭКСТРАКТОВ ИЗ ОБРАЗЦОВ РАСТЕНИЙ РОДА *MENTHA* L. ПОСЛЕ ГИДРОДИСТИЛЛЯЦИИ И СУБКРИТИЧЕСКОЙ ЭКСТРАКЦИИ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

© 2023 г. Д. В. Назарова^а*, З. А. Темердашев^а**,
Е. А. Виноцкая^б, Н. В. Киселева^а, М. В. Нагалецкий^а

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

^бФедеральный исследовательский центр “Субтропический научный центр
Российской академии наук”

ул. Яна Фабрициуса, 2/28, Сочи, 354002 Россия

*e-mail: nazarovadv1999@gmail.com

**e-mail: TemZA@kubsu.ru

Поступила в редакцию 21.03.2023 г.

После доработки 30.03.2023 г.

Принята к публикации 30.03.2023 г.

Обсуждаются результаты исследования состава эфирного масла и экстрактов, полученных гидроdistилляцией и субкритической экстракцией из растений рода *Mentha* L. Объекты исследований — мята перечная (*Mentha piperita* L.) и мята длиннолистная (*Mentha longifolia* L.). Идентификацию и сравнение компонентного состава эфирных масел и экстрактов растений рода *Mentha* L. проводили методом газовой хромато-масс-спектрометрии. Состав эфирного масла мяты длиннолистной отличается от эфирного масла мяты перечной высоким содержанием линалоола и отсутствием пулегона и пиперитона. Изучили компонентный состав экстрактов мяты перечной и мяты длиннолистной, полученных в условиях субкритической экстракции водой и ацетоном. При переходе от эфирного масла к ацетоновому субкритическому экстракту обоих видов мяты повышается содержание монотерпенов, сесквитерпенов и сложных эфиров. В водном экстракте мяты перечной практически отсутствуют сесквитерпеноиды и сложные эфиры, прослеживается общее снижение выхода всех компонентов по сравнению с эфирным маслом и ацетоновым экстрактом.

Ключевые слова: мята перечная (*Mentha piperita* L.), мята длиннолистная (*Mentha longifolia* L.), эфирно-масличные компоненты, эфирное масло, экстракция, субкритическая экстракция, ГХ-МС.

DOI: 10.31857/S0044450223090098, EDN: ZXCEBN

В фармацевтической и пищевой промышленности широко применяют мяту перечную (*Mentha piperita* L.), являющуюся гибридом и полученную скрещиванием мяты водной (*Mentha aquatica* L.) и мяты колосистой (*Mentha spicata* L.) [1]. Мята перечная (*Mentha piperita* L.) широко применяется в основном из-за высокого содержания в составе эфирного масла ценного для промышленности ментола [2]. Ментол применяется в качестве ароматизатора, противоотечного средства и востребован в пищевой, табачной и фармацевтической промышленности [3]. В частности, он входит в состав многих комплексных препаратов — корвалла, валокордина, валосердина, является основной составляющей рефлекторного сосудорасширяющего средства — валидола. Находят практическое применение и другие виды мяты, например

мята длиннолистная (*Mentha longifolia* L.), обладающая значительной антимикробной, антиоксидантной и спазмолитической активностью за счет оксигенированных монотерпенов, входящих в состав эфирного масла, — ментола, ментона, пулегона, 1,8-цинеола [4]. Разнообразный набор биологически активных веществ в составе того или иного вида мяты определяет целесообразность его применения, что обуславливает важность и необходимость установления признаков видового различия.

Эфирные масла и эфирно-масличные компоненты (ЭМК) из мяты извлекают различными способами [5, 6], наиболее общепринятым и традиционным является гидроdistилляция [6]. Согласно рекомендациям Фармакопеи РФ, эфирное масло получают гидроdistилляцией с помощью приемника Гинзберга или в аппарате Кле-

венджера [7]. Несмотря на возможность получения эфирного масла в чистом виде, данный способ не лишен недостатков. При экстракции масла возможна деструкция термолабильных соединений под воздействием высоких температур, не исключен процесс окисления компонентов кислородом воздуха. Недостатком является также малая скорость извлечения ЭМК. Активно развивающийся альтернативный подход к извлечению эфирного масла – гидродистилляция под действием микроволнового излучения (МВГД) позволяет сократить время экстракции эфирного масла в несколько раз. Воздействие микроволнового излучения вызывает нагрев растительной матрицы, приводящий к повышению внутриклеточного давления и разрыву клеточных стенок растения, обеспечивая таким образом экстракцию содержащихся в них веществ [5, 6, 8]. С другой стороны, данный способ может привести к увеличению содержания кислородсодержащих компонентов по сравнению с обычной гидродистилляцией [5, 8]. Альтернативными способами извлечения ЭМК также являются экстракция различными растворителями под действием ультразвукового и микроволнового излучения [5, 6], субкритическая [9] и сверхкритическая флюидная экстракция [5, 10], а также экстракция в аппарате Сокслета. Эти способы преимущественно используют для извлечения таких соединений, как флавоноиды и фенольные кислоты.

Весьма привлекательной для извлечения соединений различной природы из растительного сырья представляется субкритическая экстракция [11, 12]. Высокая температура способствует интенсификации экстракции, а при повышении давления в системе растворитель остается в жидком состоянии, происходит механическое разрушение клеточных стенок растительного материала, что позволяет растворителю проникать в мелкие поры и повышает эффективность извлечения компонентов [12]. Эффективность экстракции в субкритических условиях объясняется не только увеличением растворимости органических веществ с повышением температуры и высоким градиентом концентраций, но и изменением физико-химических свойств растворителей и исследуемых матриц. С увеличением температуры происходит снижение вязкости, поверхностного натяжения и диэлектрической проницаемости жидкостей. В качестве экстрагента для субкритической экстракции ЭМК из растительного сырья используют воду и этанол [9, 13, 14], данные о применении других экстрагентов для этих целей отсутствуют.

Для анализа полученных различными способами экстрактов ЭМК используют различные методы. Установление структуры компонентов проводят спектрометрическими методами анализа – УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопией [15], но для этого целевое соединение необходимо выделить в

индивидуальном виде. Наиболее предпочтительными являются хроматографические методы анализа с различными вариантами детектирования, так как эфирные масла представляют собой многокомпонентные смеси родственных друг другу соединений, гомологов, а также оптических изомеров, присутствующих в широком диапазоне концентраций. Тонкослойная хроматография является экспрессным и простым в реализации методом, но подразумевает наличие стандартов веществ [16–18]. Наиболее подходящим для этих целей считается газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием, позволяющая применять библиотеки масс-спектров для идентификации компонентов [15].

Установление видового различия растений является актуальной задачей, поскольку существуют множество факторов, влияющих на их компонентный состав даже в пределах одного вида, например, место произрастания, климатические условия, стадии вегетации и технологии извлечения компонентов для анализа [19, 20]. Тем не менее в литературе представлен достаточно ограниченный список идентифицируемых веществ, используемых для сравнения различных видов растительного сырья.

Целью данной работы является сравнительный анализ методом газовой хромато-масс-спектрометрии компонентного состава экстрактов мяты перечной (*Mentha piperita* L.) и мяты длиннолистной (*Mentha longifolia* L.), полученных гидродистилляцией и субкритической экстракцией.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Растительный материал. Объекты исследования – образцы растений рода *Mentha* L., а именно: мяты длиннолистной (*Mentha longifolia* L.) были собраны на территории биологической станции “Камышанова поляна” им. В.Я. Нагалева (Краснодарский край, Апшеронский район), мяты перечной (*Mentha piperita* L.) – приобретены у компании “Травы Кавказа” (Краснодарский край, г. Горячий Ключ). Перед экстракцией ЭМК исходное растительное сырье сушили воздушно-теньевым способом, затем измельчали, и просеивали с учетом рекомендаций Фармакопеи РФ [7].

Реактивы и стандартные образцы. Использовали ацетон (ЭКОС-1, Россия), гексан ос. ч. (Криохром, Россия) и безводный сульфат натрия х. ч. (Вектон, Россия). Деионизованную воду с удельным сопротивлением 18.2 МОм · см (25°C) получали на установке Milli-Q-UV (Millipore, Франция).

Соединения идентифицировали с использованием стандартных образцов β-туйона (≥96%), β-линалаола (≥97%) и камфоры (≥95%) (Sigma-Aldrich, США).

Экстракция ЭМК из мяты перечной и мяты длиннолистной. Экстракцию компонентов эфирного масла Фармакопейным способом (ГФ РФ) проводили гидродистилляцией по методике [7]. Навеску измельченного сырья (30 г) помещали в круглодонную колбу емк. 1000 мл, прибавляли 300 мл деионизованной воды. Колбу с содержимым присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 мин. Эфирное масло собирали в приемник Гинзберга. Остатки воды удаляли добавлением безводного сульфата натрия. Перед проведением анализа при необходимости пробу разбавляли гексаном.

Извлечение ЭМК из мяты *субкритической экстракцией* (СЭ) проводили на экспериментальной установке, собранной на базе жидкостного хроматографа и состоящей из насоса для подачи экстрагента LC20AD (Shimadzu, Япония), печи-термостата ЛХМ-80 (НПО "Хроматограф", СССР), ячейки для экстрагирования, в качестве которой использовали пустую стальную хроматографическую колонку, ограничителя противодавления P-455 (Upchurch Scientific, США), капилляров для предварительного нагрева экстрагента и охлаждения экстракта [21]. Навеску измельченного сухого растительного материала (0.2000 г) помещали в экстракционную ячейку и устанавливали ее в печь-термостат. До проведения экстракции экстрагент (ацетон или вода) предварительно продували азотом в течение 5 мин до полного удаления растворенного кислорода и помещали в емкость для растворителя. Затем экстракционную ячейку с помощью насосной системы установки заполняли экстрагентом и нагревали до требуемой температуры. По достижении заданной температуры систему выдерживали в течение нескольких минут при выключенном потоке экстрагента и затем при скорости потока растворителя 1 мл/мин отбирали 5 мл экстракта. Давление в системе по показанию манометра насоса составляло 40–180 атм. Далее проводили газохромато-масс-спектрометрическое определение ЭМК в экстракте.

Для газохроматографического с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС) определения ЭМК в водном экстракте мяты перечной проводили жидкостно-жидкостную экстракцию (ЖЖЭ) анализов из водного экстракта в органическую фазу (гексан). Пробирку со смесью водного экстракта и органического растворителя (1 : 1) помещали в УЗ-ванну на 10 мин, а затем центрифугировали при 10000 об./мин в течение 10 мин. Супернатант отбирали, сушили безводным сульфатом натрия и затем идентифицировали аналиты. При использовании ацетона в качестве экстрагента полученный экстракт напрямую вводили в хроматограф для анализа.

ГХ-МС-определение эфирно-масличных компонентов в эфирном масле и экстрактах мяты перечной и

мяты длиннолистной. Газохроматографический анализ экстрактов проводили на хроматографе Shimadzu GC-2010 с масс-спектрометрическим детектором GCMS-QP2010 Plus. Аналиты разделяли на кварцевой капиллярной колонке HP-ULTRA 1 (50 м × 0.20 мм, 0.33 мкм) (Agilent Technologies, США) в режиме программируемого нагрева колонки: 50°C в течение 3 мин; линейный подъем температуры до 210°C со скоростью 8 град/мин; выдерживание при данной температуре в течение 12 мин; линейный подъем температуры до 290°C со скоростью 8 град/мин и выдерживание при данной температуре в течение 15 мин. Объем вводимой пробы 1 мкл, режим ввода – с делением потока 1 : 10 или 1 : 5. Температура термостата колонки – 50°C, инжектора – 260°C. В качестве газа-носителя использовали гелий марки А (НИИ КМ, Россия), линейная скорость потока – 25.1 см/мин. Параметры работы масс-спектрометра: температура ионного источника – 200°C, температура интерфейса – 280°C, напряжение на детекторе – 1.2 кВ, сканирование в режиме полного ионного тока, время сканирования – 0.5 с, диапазон регистрируемых масс – 34–600 m/z .

Эфирно-масличные компоненты идентифицировали сопоставлением полученных масс-спектров компонентов и стандартных веществ – β -линалола, камфоры, β -туйона, а также содержащихся в библиотеках NIST05 и WILEY8 данных (подобие спектров не менее 75%). Содержание ЭМК в полученных экстрактах оценивали по имеющимся стандартным веществам и методом внутренней нормировки по площадям пиков, достаточно распространенным при изучении компонентного состава растительного сырья [22].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Компонентный состав эфирных масел мяты перечной и мяты длиннолистной, полученных гидродистилляцией по Фармакопейной методике. Образцы эфирных масел мяты перечной и мяты длиннолистной, полученные гидродистилляцией из высушенных и измельченных листьев [7], представляли собой маслянистые, не смешивающиеся с водой жидкости слегка желтоватого цвета с характерным выраженным ароматом.

Методом газовой хромато-масс-спектрометрии в составе эфирного масла мяты перечной (*M. piperita* L.) обнаружили с использованием имеющихся стандартных образцов и данных библиотек масс-спектров WILEY8, NIST05 и предположительно идентифицировали 38 соединений, составляющих 98.5% летучего состава, из которого на долю монотерпеноидов приходилось 91.8%, монотерпенов – 0.46%, сесквитерпенов – 4.65%, сесквитерпеноидов – 0.89% и сложных эфиров – 0.19% (рис. 1). Основными компонентами эфирного масла мяты перечной (*M. piperita* L.) были DL-ментон

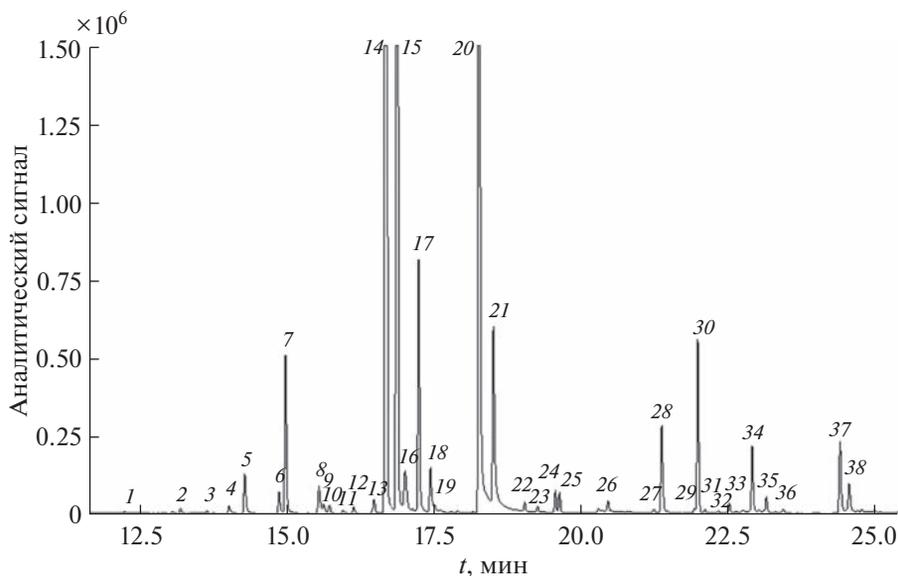


Рис. 1. ГХ-МС-хроматограмма эфирного масла мяты перечной (*M. piperita* L.) (разбавление гексаном 1 : 1000): 1 — α -пинен, 2 — оцимен, 3 — β -пинен, 4 — α -терпинен, 5 — 1,8-цинеол, 6 — γ -терпинен, 7 — *цис*- β -терпинеол, 8 — β -линалоол, 9 — изотуйол, 10 — β -туйон, 11 — 3-октин, 12 — 3-туянол, 13 — камфора, 14 — DL-ментон, 15 — DL-ментон, 16 — (+)-ментол, 17 — 4-карвоментенол, 18 — α -терпинеол, 19 — дигидрокарвеол, 20 — пулегон, 21 — пиперитон, 22 — ментилацетат, 23 — изоборнилацетат, 24 — дигидроэдулан, 25 — дигидроэдулан I, 26 — γ -элемен, 27 — β -элемен, 28 — β -элемен, 29 — гермакрен-D, 30 — β -кариофиллен, 31 — гермакрен-D, 32 — гермакрен-D, 33 — α -кариофиллен, 34 — гермакрен-D, 35 — ароманденрен, 36 — δ -кадинен, 37 — спатуленол, 38 — β -кариофиллен.

(69.6%), пулегон (12.27%), пиперитон (3.01%), 4-карвоментенол (2.52%), β -кариофиллен (1.62%) и *цис*- β -терпинеол (1.61%), а содержание ментола составляло около 0.8%, т.е. оно оказалось крайне низким. Основными компонентами эфирного масла мяты перечной по данным [5, 23, 24] являются ментон и ментол с содержанием 20–40%. В большинстве изученных [25] образцов мяты перечной содержание ментона преобладало над ментолом, а повышенное содержание ментона и пулегона оказалось характерным для российских сортов *M. piperita* L.

В эфирном масле мяты длиннолистной (*M. longifolia* L.) обнаружили с использованием имеющихся стандартных образцов и данных библиотек масс-спектров WILEY8, NIST05 и предположительно идентифицировали 27 компонентов, составляющих 96.3% летучего состава, из которых монотерпеноиды — 81.1%, монотерпены — 1.12%, сесквитерпены — 6.04%, сложные эфиры — 7.78% (рис. 2). Основными компонентами эфирного масла мяты длиннолистной (*M. longifolia* L.) были β -линалоол (54.95%), DL-ментон (8.44%), линалацетат (4.91%), 4-карвоментенол (3.98%), β -кариофиллен (3.84%), 1,8-цинеол (3.67%) и *цис*- β -терпинеол (2.21%). Преобладание β -линалоола в полученном эфирном масле мяты длиннолистной может свидетельствовать о принадлежности данного образца к линалоольному хемотипу [26, 27]. Схожим оказался состав эфирного масла образца

мяты длиннолистной, произрастающей в Никитском ботаническом саду (Крым), описанный авторами работы [26], — линалоол (54.39%), линалацетат (9.32%), 1,8-цинеол (8.85%), ментон (6.88%). Исследователи из Турции [27] выявили три образца мяты длиннолистной, относящихся к линалоольному хемотипу с содержанием линалоола 64–87%. Однако существует большое разнообразие хемотипов мяты длиннолистной, летучий состав которых различается. В мяте длиннолистной [4] основными компонентами эфирного масла определили ментол (19.4–32.5%), ментон (20.7–28.8%), пулегон (7.8–17.8%), 1,8-цинеол (5.6–10.8%). Мажорными компонентами эфирного масла собранной в Иране мяты длиннолистной (*Mentha longifolia* var. *Mentha longifolia* (Stapf) Briq.) оказались 1,8-цинеол (33.5%), линалоол (15.1%), ментон (12.9%) и *транс*-пиперитонксид (12.6%) [28]. Авторы работы [19] установили, что для состава эфирных масел различных видов мяты характерен высокий полиморфизм и большое разнообразие, а изученные образцы мяты длиннолистной поделили на два хемотипа: первый богат пулегонном, второй — ментоном [19]. По данным [29], в различных частях мира на сегодняшний день известны 58 хемотипов *Mentha longifolia* L.

Таким образом, эфирные масла обоих видов образцов мяты преимущественно состояли из монотерпеноидов, что согласуется с данными [8, 24]. Тем не менее компоненты эфирного масла мяты

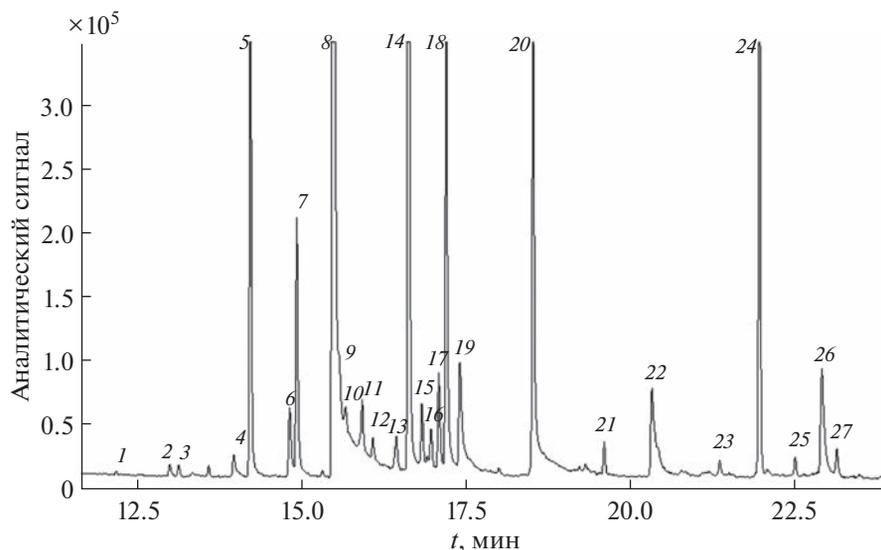


Рис. 2. ГХ-МС-хроматограмма эфирного масла мяты длиннолистной (*M. longifolia* L.) (разбавление гексаном 1 : 1000): 1 – α -пинен, 2 – оцимен, 3 – β -пинен, 4 – α -терпинен, 5 – 1,8-цинеол, 6 – γ -терпинен, 7 – *cis*- β -терпинеол, 8 – β -линалоол, 9 – изотуйол, 10 – β -туйон, 11 – 3-октилацетат, 12 – 3-туянол, 13 – камфора, 14 – DL-ментон, 15 – DL-ментон, 16 – (+)-ментол, 17 – (+)-изоментол, 18 – 4-карвоментенол, 19 – α -терпинеол, 20 – линалацетат, 21 – ди-гидроэдулан I, 22 – α -терпинилацетат, 23 – β -элемен, 24 – β -кариофиллен, 25 – α -кариофиллен, 26 – гермакрен-D, 27 – аромандрен.

длиннолистной (*M. longifolia* L.) отличались от входящих в состав эфирного масла мяты перечной (*M. piperita* L.) высоким содержанием линалоола и отсутствием пулегона и пиперитона. Данное компонентное различие может быть следствием генетической вариабельности растений, различных условий произрастания, к которым относятся топографические, климатические и почвенные условия. На компонентное различие также могут влиять период сбора растительного материала (стадия вегетации (цветение/бутонизация)), условия сушки, хранения, а также способ извлечения эфирного масла.

Компонентный состав экстрактов мяты перечной и мяты длиннолистной, полученных в условиях субкритической экстракции. Перспективным способом извлечения ЭМК из растительного сырья является субкритическая экстракция, требующая использования меньшего количества растительного сырья и позволяющая сократить время экстракции по сравнению с условиями ГФ РФ [7]. Для оптимизации условий субкритической экстракции компонентов эфирных масел из мяты перечной и мяты длиннолистной изучили влияние температуры и состава экстрагента на эффективность извлечения компонентов.

На примере мяты перечной изучили возможность проведения субкритической экстракции ЭМК водой в диапазоне 100–200°C (рис. 3). Максимальное извлечение ментола и ментона водой достигается при 180°C. Однако отметим, что такие термолабильные компоненты, как пипери-

тон, линалоол и камфора эффективнее извлекались при более низких температурах. Оптимальной температурой извлечения пулегона оказался диапазон 160–180°C (рис. 3). Выявленные оптимальные температурные условия экстракции ЭМК удовлетворительно согласуются с литературными данными. Например, оптимальная температура субкритической экстракции ЭМК водой из мяты перечной (*M. piperita* L.) составляла 175°C по данным [13], а из мяты японской (*Mentha arvensis* L.) – 180°C [9]. В результате сделали заключение, что более достоверные данные по компонентному составу водного экстракта мяты перечной можно получить анализом полученного при 160°C экстракта.

С учетом физико-химических свойств аналитов предположили, что ацетон будет способствовать лучшему извлечению ЭМК, а также позволит исключить стадию ЖЖЭ, используемую для перевода аналитов из водного экстракта в органическую фазу перед газохроматографическими исследованиями.

Субкритическую экстракцию ЭМК из мяты длиннолистной изучили в диапазоне 90–150°C, а из мяты перечной – 120–180°C. При этом учитывали тот факт, что выше 150°C возможна деградация линалоола [13], которая подтверждается уменьшением площади его пика в экстракте мяты перечной, выделенном при 180°C. С повышением температуры экстракции с 120 до 150°C концентрация линалоола в экстракте мяты длиннолистной снижалась, а в экстракте мяты перечной увеличивалась. По-видимому, это связано с различной

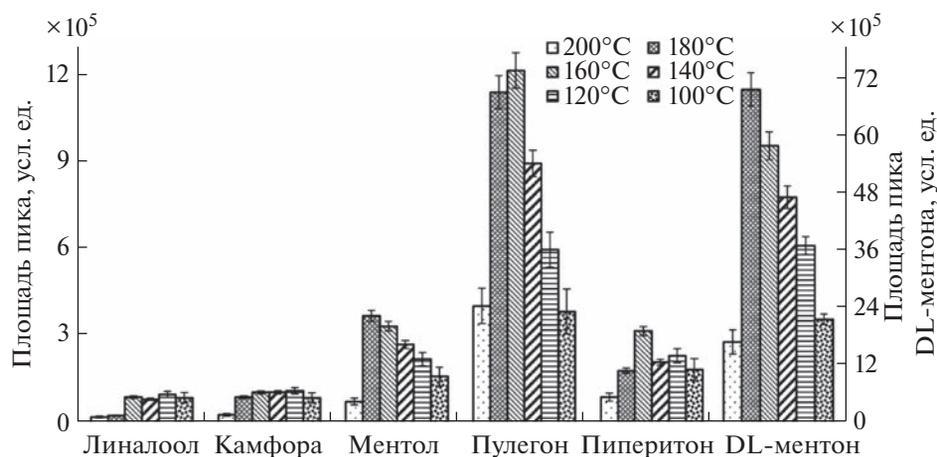


Рис. 3. Оптимизация условий субкритической экстракции эфирно-масличных компонентов водой из мяты перечной (*M. piperita* L.).

растительной матрицей, несмотря на принадлежность растений к одному роду. С учетом данных рис. 4, динамики выхода компонентов сделали вывод, что оптимальной температурой для их субкритической экстракции из мяты длиннолистной ацетоном является 120°C, а из мяты перечной – 150°C.

Влияние способа экстракции на выход компонентов и состав экстрактов из мяты длиннолистной и мяты перечной изучали сравнением данных гидродистилляции и субкритической экстракции компонентов ацетоном/водой (табл. 1). 3-Туянол из мяты обоих видов в субкритических условиях при экстракции ацетоном не извлекается или деградирует (табл. 1). Выход *цис*- β -терпинеола значительно повысился, а содержания α - и γ -терпинена снизились при субкритической экстракции ацетоном из мяты длиннолистной по сравнению с гидродистилляцией, что может быть связано с деградацией или химическими превращениями компонентов. Например, γ -терпинен может являться продуктом дегидратации α -терпинеола [30]. Анализируя данные табл. 1, можно полагать, что субкритическая экстракция ЭМК мяты длиннолистной ацетоном при 120°C повышает выход ряда компонентов и позволяет надежнее идентифицировать анализы по сравнению с гидродистилляцией.

В полученном субкритическим способом ацетоном экстракте мяты перечной отсутствовали α -терпинен, 3-туянол, дигидрокарвеол, изоборнилацетат, дигидроэдуланы и δ -кадинен, но присутствовали отсутствующие в эфирном масле, полученном гидродистилляцией, компоненты – β -мирцен, 1,5-ангидро-6-дезоксигексо-2,3-диулоза, диизоамилен, 3-терпиноленон. 1,5-Ангидро-6-дезоксигексо-2,3-диулоза относится к лактамным сахарам [31, 32]. Роль соединений 2,3-диулозы проявляется в образовании пигментов и продуцировании летучих ароматических соединений. Пред-

положительно, эти соединения являются промежуточными продуктами синтеза первичных и вторичных метаболитов растений.

При переходе от гидродистилляции к субкритической экстракции ацетоном снижается выход мажорных монотерпеноидов: в мяте перечной содержание DL-ментона – первый сигнал с 5.3 до 3.2 мг/г, второй сигнал с 2.1 до 1.1 мг/г; 4-карвоментенола с 0.26 до 0.08; пулегона с 1.3 до 1.0 мг/г; мяте длиннолистной содержание β -линалоола с 12.5 до 11.2 мг/г. Выходы остальных компонентов значительно повысились. В субкритических условиях экстракции ацетоном выходы сесквитерпенов увеличились по сравнению с гидродистилляцией: β -кариофиллена в мяте перечной с 0.17 до 0.31 мг/г; мяте длиннолистной с 0.88 до 1.34 мг/г; β -элемена в мяте перечной с 0.11 до 0.57 мг/г; мяте длиннолистной с 0.05 до 0.07 мг/г; гермакрена-D в мяте перечной с 0.07 до 0.12 мг/г; мяте длиннолистной с 0.35 до 0.63 мг/г.

Эффективность извлечения ЭМК из мяты перечной водой в субкритических условиях снизилась по сравнению с ацетоном и гидродистилляцией. При субкритической экстракции ацетоном извлекаются большие количества ЭМК растительного сырья, однако следует учитывать, что эти экстракты напрямую неприменимы для целей фитотерапии ввиду токсичности экстрагента.

Таким образом, обсуждены результаты исследования компонентного состава эфирного масла и экстрактов, полученных гидродистилляцией и субкритической экстракцией из растений рода *Mentha* L. на примере мяты перечной (*Mentha piperita* L.) и мяты длиннолистной (*Mentha longifolia* L.). Оптимизированы условия субкритической

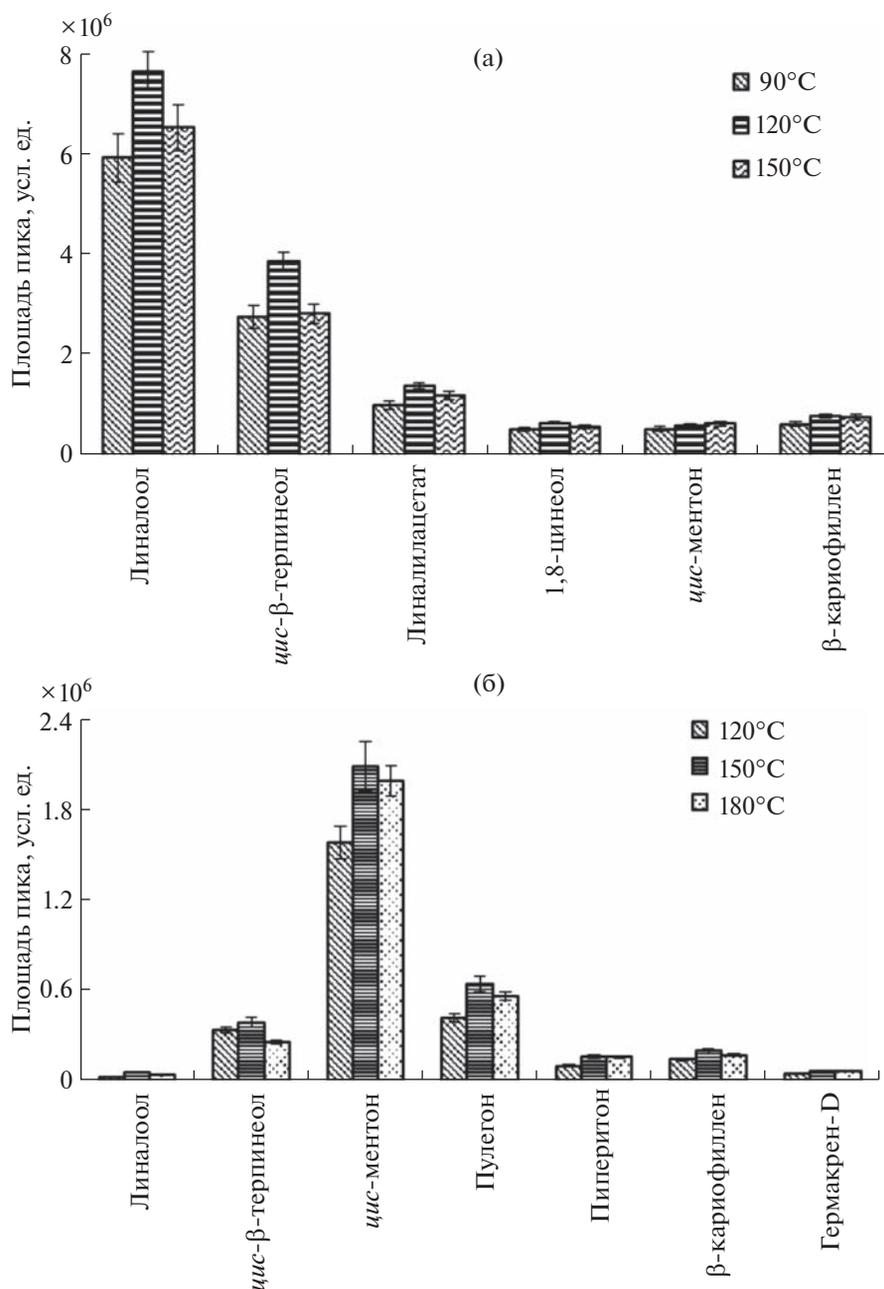


Рис. 4. Оптимизация условий субкритической экстракции эфирно-масличных компонентов ацетоном из мяты длиннолистной (*M. longifolia L.*) (а) и мяты перечной (*M. piperita L.*) (б).

экстракции компонентов для каждого вида изучаемых растений – 150°C ацетоном для мяты перечной (*Mentha piperita L.*) и 120°C ацетоном для мяты длиннолистной (*Mentha longifolia L.*). При переходе от гидродистилляции к субкритической экстракции ацетоном в экстрактах обоих видов мяты повышалось содержание монотерпенов, сесквитерпенов и сложных эфиров, а выходы некоторых мажорных монотерпеноидов снижались, что, вероятно, связано с более жесткими условиями извлечения, которые могут приводить к их частич-

ной деградации. Повышение выхода сесквитерпеноидов в условиях субкритической экстракции ацетоном по сравнению с гидродистилляцией может быть связано с их более высокой термической устойчивостью. В водном экстракте мяты перечной практически отсутствуют сесквитерпеноиды и сложные эфиры, прослеживается также общее снижение выхода всех компонентов по сравнению с эфирным маслом и ацетоновым экстрактом.

Работа выполнена в рамках проекта Госзадания Минобрнауки РФ № FZEN-2023-0006 с использо-

Таблица 1. Компонентный состав* эфирных масел и экстрактов, полученных гидродистилляцией и субкритической экстракцией ацетоном и водой из мяты (*Mentha L.*) в оптимизированных условиях ($n = 3$, $P = 0.95$)

t_R , мин	Компонент	Мята перечная (<i>Mentha piperita L.</i>)			Мята длиннолистная (<i>Mentha longifolia L.</i>)	
		ГФ РФ	СЭ		ГФ РФ	СЭ
		эфирное масло	ацетон	вода	эфирное масло	ацетон
12.243	α -Пинен	0.002 (0.02)	0.031	0.002	0.006 (0.03)	0.168
13.053	Оцимен	0.003 (0.03)	0.041	—	0.024 (0.11)	0.243
13.191	β -Пинен	0.006 (0.06)	0.045	—	0.022 (0.10)	0.074
13.336	β -Мирицен	—**	0.040	—	—	0.097
14.016	α -Терпинен	0.011 (0.10)	—	0.001	0.049 (0.22)	0.025
14.266	1,8-Цинеол	0.050 (0.47)	0.125	0.021	0.835 (3.67)	1.130
14.867	γ -Терпинен	0.027 (0.25)	0.019	—	0.150 (0.66)	0.079
14.977	<i>цис</i> - β -Терпинеол	0.167 (1.61)	0.570	—	0.503 (2.21)	6.081
15.379	<i>цис</i> -Линалоол оксид	—	—	—	—	0.020
15.544	β -Линалоол	0.039 (0.37)	0.089	0.011	12.518 (54.95)	11.208
15.627	Изогуйол	0.010 (0.12)	0.017	0.009	0.095 (0.42)	0.107
15.722	β -Туйон	0.011 (0.11)	0.029	—	0.409 (1.80)	0.084
15.954	3-Октин	0.004 (0.05)	0.013	0.005	—	—
15.962	3-Октилацетат	—	—	—	0.372 (1.63)	0.089
16.135	3-Туянол	0.008 (0.08)	—	0.002	0.130 (0.57)	—
16.243	1,5-Ангидро-6-дезоксигексо- 2,3-диулоза	—	0.423	—	—	—
16.485	Камфора	0.020 (0.19)	0.149	0.012	0.229 (1.01)	0.052
16.686	DL-Ментон	5.299 (49.97)	3.205	0.655	1.922 (8.44)	1.193
16.874	DL-Ментон	2.063 (19.61)	1.139	0.422	0.170 (0.75)	0.082
17.010	(+)-Ментол	0.068 (0.79)	0.160	0.022	0.149 (0.66)	0.085
17.125	(+)-Изоментол	—	—	—	0.233 (1.03)	0.144
17.243	4-Карвоментенол	0.256 (2.52)	0.079	0.143	0.907 (3.98)	0.059
17.443	α -Терпинеол	0.062 (0.56)	0.076	0.039	0.366 (1.61)	0.145
17.510	Дигидрокарвеол	0.013 (0.12)	—	0.006	—	—
17.902	Диизоамилен	—	0.051	—	—	—
18.054	<i>цис</i> -Сабинен гидрат ацетат	—	—	—	—	1.336
18.308	1-Карвон	—	—	—	—	0.133
18.495	<i>цис</i> -Карвоноксид	—	—	—	—	0.054
18.272	Пулегон	1.246 (12.27)	1.023	0.108	—	—
18.514	Пиперитон	0.210 (3.01)	0.338	0.101	—	—
18.555	Линалилацетат	—	—	—	1.118 (4.91)	2.307

Таблица 1. Окончание

t_R , мин	Компонент	Мята перечная (<i>Mentha piperita</i> L.)			Мята длиннолистная (<i>Mentha longifolia</i> L.)	
		ГФ РФ	СЭ		ГФ РФ	СЭ
		эфирное масло	ацетон	вода	эфирное масло	ацетон
19.047	Ментилацетат	0.009 (0.13)	0.035	—	—	—
19.265	Изоборнилацетат	0.005 (0.06)	—	—	—	—
19.569	Дигидроэдулан	0.023 (0.22)	—	0.006	—	—
19.640	Дигидроэдулан I	0.020 (0.20)	—	—	0.053 (0.23)	0.010
20.087	3-Терпиноленон	—	0.096	—	—	—
20.359	α -Терпинилацетат	—	—	—	0.283 (1.24)	0.086
20.464	γ -Элемен	0.011 (0.16)	0.033	0.001	—	—
20.477	1,5-Гептадиен, 2,5-диметил-3-метилен	—	—	—	—	0.100
21.248	β -Элемен	0.005 (0.06)	—	—	—	—
21.377	β -Элемен	0.107 (1.01)	0.567	0.002	0.049 (0.22)	0.066
21.934	Гермакрен-D	0.005 (0.05)	0.065	—	—	0.079
21.993	β -Кариофиллен	0.170 (1.62)	0.306	—	0.875 (3.84)	1.343
22.114	Гермакрен-D	0.005 (0.05)	0.028	—	—	0.049
22.199	β -Гераниолен	—	—	—	—	0.027
22.344	Гермакрен-D	0.003 (0.03)	—	—	—	—
22.527	α -Кариофиллен	0.011 (0.13)	0.018	—	0.039 (0.17)	0.072
22.918	Гермакрен-D	0.069 (0.75)	0.117	—	0.351 (1.54)	0.632
23.159	Аромандрен	0.019 (0.23)	0.037	—	0.062 (0.27)	0.064
23.444	δ -Кадинен	0.005 (0.12)	—	—	—	—
23.634	(S)-(+)-Карвон ацетат	—	—	—	—	0.388
24.414	Спатуленол	0.094 (0.89)	0.158	0.006	—	—
24.569	β -Кариофиллен	0.035 (0.44)	—	—	—	—

* Приведены содержания компонентов, мг/г (мас. %).

** Не обнаружено. *Примечание.* Жирным шрифтом обозначены мажорные компоненты полученного экстракта.

ванием научного оборудования ЦКП “Эколого-аналитический центр” Кубанского госуниверситета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Anwar F, Abbas A., Mehmood T., Gilani A., Rehman N. *Mentha*: A genus rich in vital nutra-pharmaceuticals – A review // *Phytother. Res.* 2019. V. 33. № 10. P. 2548. <https://doi.org/10.1002/ptr.6423>
2. Wu Z., Tan B., Liu Y., Dunn J., Martorell Guerola P., Tortajada M., Cao Z., Ji P. Chemical composition and antioxidant properties of essential oils from peppermint, native spearmint and Scotch spearmint // *Molecules.* 2019. V. 24. № 15. P. 2825. <https://doi.org/10.3390/molecules24152825>
3. Taylan O., Cebi N., Sagdic O. Rapid screening of *Mentha spicata* essential oil and L-menthol in *Mentha piperita* essential oil by ATR-FTIR spectroscopy coupled with multivariate analyses // *Foods.* 2021. V. 10. № 2. P. 202. <https://doi.org/10.3390/foods10020202>
4. Moloudizargari M., Aghajanshakeri S., Mikaili P., Mojaverrostami S. Pharmacological and therapeutic effects of *Mentha longifolia* L. and its main constituent, menthol // *Anc. Sci. Life.* 2013. V. 33. № 2. P. 129. <https://doi.org/10.4103/0257-7941.139059>
5. Pavlič B., Teslić N., Zengin G., Đurović S., Rakić D., Cvetanović A., Gunes A.K., Zeković Z. Antioxidant and enzyme-inhibitory activity of peppermint extracts and essential oils obtained by conventional and emerging extraction techniques // *Food Chemistry.* 2021. V. 338. P. 127724. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127724>
6. Radivojac A., Bera O., Zeković Z., Teslić N., Mrkonjić Ž., Bursać Kovačević D., Putnik P., Pavlič B. Extraction of peppermint essential oils and lipophilic compounds: Assessment of process kinetics and environmental impacts with multiple techniques // *Molecules.* 2021.

- V. 26. № 10. P. 2879.
<https://doi.org/10.3390/molecules26102879>
7. Государственная Фармакопея Российской Федерации. Изд. 14. М., 2018. Т. 2. С. 2383.
 8. *Hassanein H.D., El-Gendy A.E.G., Saleh I.A., Hendawy S.F., Elmissiry M.M., Omer E.A.* Profiling of essential oil chemical composition of some Lamiaceae species extracted using conventional and microwave-assisted hydrodistillation extraction methods via chemometrics tools // *Flavour Fragr. J.* 2020. V. 35 № 3. P. 329.
<https://doi.org/10.1002/ffj.3566>
 9. *Chiou T.-Y., Konishi M., Nomura S., Shimotori Y., Murata M., Ohtsu N., Kohari Y., Nagata Y., Saitoh T.* Recovery of mint essential oil through pressure-releasing distillation during subcritical water treatment // *Food Sci. Technol. Res.* 2019. V. 25. № 6. P. 793.
<https://doi.org/10.3136/fstr.25.793>
 10. *Bai X., Aimila A., Aidarhan N., Duan X., Maiwulanjiang M.* Chemical constituents and biological activities of essential oil from *Mentha longifolia*: effects of different extraction methods // *Int. J. Food Prop.* 2020. V. 23. № 1. P. 1951.
<https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1833035>
 11. *Платонов И.А., Павлова Л.В., Новикова Е.А., Никитченко Н.В., Рошупкина И.Ю.* Извлечение биологически активных соединений из лекарственного растительного сырья экстрагентами в субкритическом состоянии // *Физикохимия поверхности и защита материалов.* 2014. Т. 50. № 6. С. 633.
<https://doi.org/10.7868/S0044185614060175> (*Platonov I.A., Pavlova L.V., Novikova E.A., Nikitchenko N.V., Roschupkina I.Y.* Extraction of biologically active compounds from medicinal plant raw material by extractants in subcritical state // *Prot. Met. Phys. Chem. Surf.* 2014. V. 50. № 6. P. 762.)
<https://doi.org/10.7868/S0044185614060175>
 12. *Милевская В.В., Статкус М.А., Темердашев З.А., Киселева Н.В., Бутыльская Т.С., Шилько Е.А.* Экстракция и определение биологически активных компонентов зверобоя и препаратов на его основе // *Журн. аналит. химии.* 2016. Т. 71. № 7. С. 768.
<https://doi.org/10.7868/S0044450216070136> (*Milevskaya V.V., Temerdashev Z.A., Kiseleva N.V., Butyl'skaya T.S., Shil'ko E.A., Statkus M.A.* Extraction and determination of biologically active components of St. John's wort and its pharmaceutical preparations // *J. Anal. Chem.* 2016. V. 71. № 7. P. 741.)
<https://doi.org/10.7868/S0044450216070136>
 13. *Kubatova A., Lagadec A.J.M., Miller D.J., Hawthorne S.B.* Selective extraction of oxygenates from savory and peppermint using subcritical water // *Flavour Fragr. J.* 2001. V. 16. № 1. P. 64.
[https://doi.org/10.1002/1099-1026\(200101/02\)16:1<64::AID-FFJ949>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/1099-1026(200101/02)16:1<64::AID-FFJ949>3.0.CO;2-D)
 14. *Темердашев З.А., Милевская В.В., Рябоконт Л.П., Латин Н.Н., Киселева Н.В., Нагалеvский М.В.* Идентификация и определение компонентов эфирных масел шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.), выделенных различными экстракционными способами // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. № 11. С. 1030.
<https://doi.org/10.31857/S0044450220110134> (*Temerdashev Z.A., Milevskaya V.V., Ryabokon L.P., Latin N.N., Kiseleva N.V., Nagalevsky M.V.* Identification and determination of components of essential oils of medicinal sage (*Salvia officinalis* L.) isolated by various extraction methods // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 11. P. 1451.)
<https://doi.org/10.31857/S0044450220110134>
 15. *Писарев Д.И., Новиков О.О.* Методы выделения и анализа эфирных масел // *Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация.* 2012. № 10(129). С. 25.
 16. *Сахратов В.А., Малкова Т.Л., Карпова Л.Н., Поснелова А.А.* Оценка качества листьев мяты перечной методом тонкослойной хроматографии в ряде объектов растительного происхождения // *Аспирантский вестник Поволжья.* 2019. Т. 19. № 5–6. С. 148.
<https://doi.org/10.17816/2072-2354.2019.19.3.148-154>
 17. *Karaca N., Demirci B., Demirci F.* Evaluation of *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* L., *Mentha spicata* L. subsp. *spicata* L. essential oils and their main components against sinusitis pathogens // *Z. Naturforsch. C.* 2018. V. 73. № 9–10. P. 353.
<https://doi.org/10.1515/znc-2017-0150>
 18. *Hawrył M., Świeboda R., Hawrył A., Niemiec M., Sępak K., Waksmundzka-Hajnos M., Szymczak G.* Micro two-dimensional thin-layer chromatography and chemometric analysis of essential oils from selected *Mentha* species and its application in herbal fingerprinting // *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 2015. V. 38. № 20. P. 1794.
<https://doi.org/10.1080/10826076.2015.1107580>
 19. *Soilhi Z., Rhimi A., Heuskin S., Fauconnier M.L., Mekki M.* Essential oil chemical diversity of Tunisian *Mentha* spp. collection // *Ind. Crops Prod.* 2019. V. 131. P. 330.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.041>
 20. *Zhang J., Li M., Zhang H., Pang X.* Comparative investigation on aroma profiles of five different mint (*Mentha*) species using a combined sensory, spectroscopic and chemometric study // *Food Chemistry.* 2022. V. 371. P. 131104.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131104>
 21. *Милевская В.В., Статкус М.А., Темердашев З.А.* Способ экстракции биологически активных веществ из зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.). Патент РФ № 2568912. Заявка 2014150590/15А от 12.12.2014, опубл. 20.11.2015.
 22. *Can Başer K.H., Özek T.* Gas chromatographic analysis of essential oils // *Gas Chromatogr.* 2012. P. 675.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820675-1.00040-X>
 23. *Taherpour A.A., Khaef S., Yari A., Nikeafshar S., Fathi M., Ghambari S.* Chemical composition analysis of the essential oil of *Mentha piperita* L. from Kermanshah, Iran by hydrodistillation and HS/SPME methods // *J. Anal. Sci. Technol.* 2017. V. 8. № 1. P. 11.
<https://doi.org/10.1186/s40543-017-0122-0>
 24. *Hsouna A.B., Touj N., Hammami I., Dridi K., Al-Ayed A.S., Hamdi N.* Chemical composition and *in vivo* efficacy of the essential oil of *Mentha piperita* L. in the suppression of crown gall disease on tomato plants // *J. Oleo Sci.* 2019. V. 68. № 5. P. 419.
<https://doi.org/10.5650/jos.ess18261>
 25. *Оленников Д.Н., Дударева Л.В.* Химический состав и антирадикальная активность эфирного масла

- российских образцов *Mentha piperita* L. // Химия растительного сырья. 2011. № 4. С. 109.
26. Хлыпенко Л.А., Феськов С.А. Хемотипическое разнообразие видов рода *Mentha* L. в коллекции ароматических и лекарственных растений Никитского ботанического сада // Биология растений и садоводство: теория, инновации. 2018. № 146. С. 121. <https://doi.org/10.25684/NBG.scbook.146.2018.18>
27. Baser K.H.C., Kürkçüoğlu M., Tarımcılar G., Kaynak G. Essential oils of *Mentha* species from Northern Turkey // J. Essent. Oil Res. 1999. V. 11. № 5. P. 579. <https://doi.org/10.1080/10412905.1999.9701218>
28. Asghari B., Zengin G., Bahadori M.B., Abbas-Mohammadi M., Dinparast L. Amylase, glucosidase, tyrosinase, and cholinesterases inhibitory, antioxidant effects, and GC-MS analysis of wild mint (*Mentha longifolia* var. *calliantha*) essential oil: A natural remedy // Eur. J. Integr. Med. 2018. V. 22. P. 44. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2018.08.004>
29. Шевчук О.М., Феськов С.А., Багрикова Н.А., Тания И.В. Хемотипическое разнообразие эфирного масла *Mentha longifolia* (L.) L. // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 2021. № 140. С. 130. <https://doi.org/10.36305/0513-1634-2021-140-130-139>
30. Павлов Б.А., Терентьев А.П. Курс органической химии: учебное пособие. М.: Госхимиздат, 1965. 686 с.
31. Qadir A., Aqil Mohd., Ali A., Ahmad Farhan.J., Ahmad S., Arif M., Khan N. GC-MS analysis of the methanolic extracts of *Smilax china* and *Salix alba* and their antioxidant activity // Turk. J. Chem. 2020. V. 44. № 2. P. 352. <https://doi.org/10.3906/kim-1907-5>
32. Nagaraja S.K., Nayaka S., Kumar, R.S. Phytochemical analysis, GC-MS profiling, and in vitro evaluation of biological applications of different solvent extracts of *Leonotis nepetifolia* (L.) R.Br. flower buds // Appl. Biochem. Biotechnol. 2023. V. 195(2). P. 1197. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-04201-2>

УДК 543.613;543.544.3;543.51

ВЛИЯНИЕ СОПУТСТВУЮЩИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ПРОФИЛЬ ЛЕТАЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ, ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ЛЕГКИХ

© 2023 г. Э. М. Гашимова^а*, А. З. Темердашев^а,
В. А. Порханов^б, И. С. Поляков^б, Д. В. Перунов^б

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

^бНаучно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 им. С.В. Очаповского
ул. 1 Мая, 167, Краснодар, 350086 Россия

*e-mail: elina.gashimova@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.03.2023 г.

После доработки 30.03.2023 г.

Принята к публикации 30.03.2023 г.

Диагностика рака легких по выдыхаемому воздуху – перспективное направление развития медицины, однако многие пациенты помимо рака легких имеют и другие сопутствующие заболевания, что может сказываться на качестве создаваемых диагностических методов. Настоящая работа посвящена изучению возможного влияния наиболее распространенных сопутствующих заболеваний: хронической сердечной недостаточности, гипертонии, ожирения, сахарного диабета и атеросклероза на состав летучих органических соединений из выдыхаемого воздуха пациентов с раком легких с использованием метода газовой хромато-масс-спектрометрии. Найдены некоторые компоненты и их соотношения, отличающиеся в группах пациентов с раком легких с различными сопутствующими заболеваниями.

Ключевые слова: ГХ-МС, выдыхаемый воздух, летучие органические соединения, рак легких, сопутствующие заболевания.

DOI: 10.31857/S0044450223090050, **EDN:** ZWSMXI

Разработка и внедрение неинвазивных способов диагностики может повысить качество лечения и способствовать увеличению охвата пациентов за счет простоты процедур диагностики и отсутствия дополнительных требований к стерильности оборудования и квалификации медицинского персонала. Такой подход позволяет выявлять заболевания на ранних этапах, что может значительно увеличить эффективность и сократить срок курса лечения.

Выдыхаемый воздух – один из наиболее интересных объектов исследования для неинвазивной диагностики различных заболеваний, потенциал которого активно изучается [1–3]. Наибольший интерес представляют легочные заболевания, в частности рак легких – одно из опаснейших онкологических заболеваний с максимальным количеством летальных исходов [4–6]. Продемонстрирована возможность диагностировать и другие легочные заболевания, такие как астма [7], хроническая обструктивная болезнь легких [8, 9], муковисцидоз [10], а также различные инфекционные заболевания: COVID 19 [11, 12], туберкулез [13] и др. [14]. С другой стороны, изучается возможность диагностирования не только легочных заболеваний

по компонентам выдыхаемого воздуха: онкологических заболеваний различных локализаций [15–18], сахарного диабета [19, 20], заболеваний печени и желудочно-кишечного тракта [21, 22].

Независимо от типа заболевания в исследованиях по выявлению биомаркеров в выдыхаемом воздухе участвуют две группы добровольцев – с наличием и отсутствием заболевания. В результате выявляют уникальные биомаркеры, характерные для одной из исследуемых групп добровольцев, либо совокупности наиболее отличных компонентов, на основании которых с применением математического моделирования создают диагностическую модель. Для идентификации биомаркеров заболеваний выдыхаемый воздух целесообразно анализировать методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС), учитывая возможность проведения качественного и количественного анализа профиля летучих органических соединений (ЛОС) одновременно [23, 24]. Однако ввиду длительности анализа и сложности обработки данных, а также многостадийности процедуры анализа, включающей отбор проб, концентрирование компонентов (чаще всего в сорбции

онных трубках [24–26] либо на волокне для твердофазной микроэкстракции [27, 28]) применяют и альтернативные методы: спектрометрию ионной подвижности с детектированием ионов в масс-спектрометре [29], масс-спектрометрию выбранных ионов в потоке [30, 31], масс-спектрометрию с реакцией переноса протона [32, 33]. Перечисленные методы превосходят ГХ-МС по времени и по простоте процедуры анализа, однако уступают на этапе идентификации компонентов. Предложены и более простые конструкции по типу “электронный нос” и мобильные диагностические комплексы, как коммерчески доступные, например Aeonose [34] или Cyranose 320 [35], так и оригинальные [36, 37], для решения задач диагностики различных заболеваний. Подобные приборы способны детектировать совокупность компонентов без возможности идентификации, кроме того, их можно настраивать на определенные компоненты. В качестве примера можно привести аналитическую систему с планарными микрофлюидными колонками и термодесорбером для определения ацетона в выдыхаемом воздухе [38].

Несмотря на разнообразие применяемых аналитических методов для выявления биомаркеров заболеваний, довольно часто перечень предполагаемых биомаркеров для диагностики разных заболеваний может совпадать, например, ацетон относят к биомаркерам как рака легких, так и сахарного диабета, а содержание гептана отличается у здоровых людей и пациентов с раком молочной железы, раком легких, раком желудка [1]. В то же время в различных исследованиях перечень предполагаемых биомаркеров для одного и того же заболевания, например рака легких, существенно отличается [25, 27, 29]. Другой проблемой является наличие у пациента сопутствующих заболеваний, что может не всегда учитываться при проведении исследований. В частности, образцы выдыхаемого воздуха, полученные от пациентов с раком легких и пациентов с другими легочными заболеваниями, сравнивали неоднократно [39, 40]. Кроме того, сравнивали пациентов с раком легких с наличием и отсутствием сопутствующих заболеваний легких [41]. Однако пациенты могут иметь целый ряд заболеваний, в том числе и не только легочных, которые могут вносить вклад в вариативность профилей ЛОС, что необходимо принимать во внимание.

В настоящей работе исследовано влияние сопутствующих заболеваний на профиль ЛОС из выдыхаемого воздуха пациентов с раком легких с целью выявления предполагаемых веществ-кандидатов и их соотношений, изменяющихся в зависимости от наличия или отсутствия сопутствующего заболевания. Представлены результаты ГХ-МС-анализа выдыхаемого воздуха пациентов с раком легких, у которых кроме этого диагностированы хроническая сердечная недостаточность

(ХСН), гипертония, ожирение, сахарный диабет и атеросклероз.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Участники исследования. Эксперимент проводили с участием 53 больных раком легких, проходивших курс лечения в НИИ ККБ № 1 им. С.В. Очаповского (Краснодар). У 14 пациентов помимо рака легких диагностированы ХСН, гипертония и ожирение; 12 пациентов с раком легких также больны сахарным диабетом; у пяти пациентов с раком легких диагностирован атеросклероз; 22 пациента не имели сопутствующих заболеваний. Медианы возрастов всех групп участников исследования находились в пределах от 58 до 70 лет. Пробы отбирали натощак. В случае если пациент курил, пробы отбирали минимум через 2.5 ч после курения. Перед отбором проб участники исследования не менее 10 мин находились в спокойном состоянии в помещении, где проходит отбор проб. Локальный этический комитет НИИ ККБ им. С.В. Очаповского министерства здравоохранения Краснодарского края (протокол № 122 заседания локального этического комитета от 19.12.2019 г.) одобрил проведение данного клинического исследования.

Материалы и методы. Стандартные образцы бензола, толуола, этанола, ацетонитрила, *n*-гептана, *n*-гексана (>95%, Sigma-Aldrich, США), диэтилового эфира (>95%, Acros Organics, Бельгия), ацетона, пропанола-1, пропанола-2 х. ч. (Вектон, Россия), этилацетата, бутилацетата х. ч. (Компонент-реактив, Россия) использовали при проведении ГХ-МС-анализа.

Приборы и оборудование. Для отбора проб использовали тедларовые пробоотборные пакеты объемом 5 л (Supelco, Bellefonte, PA, США). Отобранные пробы выдыхаемого воздуха концентрировали в сорбционные трубки с сорбентом Tenax TA (35/60 меш) (ЗАО СКБ “Хроматэк”, Россия). Концентрирование проводили следующим образом: 0.5 л пробы из пробоотборного пакета пропускали со скоростью 200 мл/мин через сорбционную трубку с применением аспиратора ПВ-2 (ЗАО СКБ “Хроматэк”, Россия). В день отбора проб также отбирали пробу окружающего воздуха.

Для проведения ГХ-МС-анализа использовали газовый хроматограф Хроматэк-Кристалл 5000.2 с квадрупольным масс-спектрометрическим детектором Хроматэк МСД с источником электронной ионизации и двухстадийным термодесорбером ТДС-1 (ЗАО СКБ “Хроматэк”, Россия). Хроматографическое разделение ЛОС проводили на капиллярной колонке Supelco Supel-Q PLOT (30 м × 0.32 мм). Условия концентрирования и анализа проб оптимизированы ранее [42]. Полученные данные обрабатывали с помощью программного обеспечения “Хроматэк Аналитик” (ЗАО СКБ

Таблица 1. Условия анализа проб выдыхаемого воздуха методом газовой хромато-масс-спектрометрии с термодесорбцией

Параметр	Значение			
Термодесорбер				
Газ-носитель	Гелий			
Температура крана, °С	150			
Температура переходной линии, °С	180			
Температура десорбции, °С	250			
Начальная температура ловушки, °С	–10			
Конечная температура ловушки, °С	250			
Время десорбции, мин	5			
Хромато-масс-спектрометр				
Температура инжектора, °С	250			
Деление потоком	1 : 10			
Температура источника ионизации, °С	200			
Температура переходной линии, °С	250			
Режим сканирования	Сканирование полного ионного тока			
Диапазон сканирования масс, Да	33–220			
Энергия ионизации, эВ	70			
Температурная программа:				
скорость нагрева, °С/мин	0	10	6	4
<i>t</i> , °С	50	150	220	250
время, мин	0	0	7	0
скорость потока газа-носителя, мл/мин	1.30			

“Хроматэк”, Россия). Условия ГХ-МС-анализа приведены в табл. 1.

При отсутствии стандартных образцов компоненты идентифицировали путем сопоставления полученных масс-спектров с библиотечными (NIST 17). Удовлетворительным признавали результат, при котором фактор подобия спектра превышал 85%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Создание способа диагностики рака легких путем анализа выдыхаемого воздуха – весьма сложная задача, решение которой предложено различными исследовательскими группами, однако отличия в результатах весьма существенны. Данная задача требует комплексного подхода и предварительной оценки влияния многих факторов, одним из которых является наличие у пациентов сопутствующих заболеваний. Рак легких нередко диагностируется у пациентов, имеющих и другие заболевания, что часто не учитывается. Данная работа посвящена оценке влияния некоторых сопутствующих заболеваний на состав выдыхаемого воздуха пациентов с раком легких. Заболевания сердечно-сосудистой системы наиболее распространены среди пациентов с раком легких, так как большинство из них – пожилые люди. Весьма распространенными заболеваниями данной категории пациен-

тов являются также сахарный диабет, атеросклероз, заболевания желудка и ожирение. Анализировали выдыхаемый воздух пациентов с раком легких с четырьмя типами сопутствующих заболеваний: хронической сердечной недостаточностью, гипертонией и ожирением; сахарным диабетом; заболеваниями желудка, включая различные формы гастрита и эрозию желудка; атеросклерозом. Профиль ЛОС каждой из групп сопоставляли с профилем ЛОС группы пациентов с раком легких, не имеющих сопутствующих заболеваний с применением теста Манна–Уитни. В табл. 2 представлены соединения и соотношения, отличающиеся в группах каждого из заболеваний. Из всех сопутствующих заболеваний на профиль ЛОС выдыхаемого воздуха меньше всего влияют заболевания желудка. В работе [43], посвященной разработке способов диагностики заболеваний желудка по составу выдыхаемого воздуха с применением “электронного носа”, потенциальные биомаркеры не идентифицировали. В работе [44] сопоставление данных о пациентах с гастритом и с раком желудка показало пониженное содержание 1,3-диоксолан-2-метанола и бензотиазола и повышенное содержание ряда других компонентов у пациентов с гастритом. В работе [45] наличие в выдыхаемом воздухе диметилсульфида отнесли к ожирению, однако в настоящем исследовании зафиксировано большое число сульфосодержащих соединений в разных

Таблица 2. Соединения (соотношения), отличающиеся в группах больных раком легких в зависимости от наличия и типа сопутствующего заболевания (тест Манна–Уитни)

Сопутствующее заболевание	Соединение (соотношение)	<i>p</i> -уровень
Заболевания желудка	2,3-Бутандион	0.0059
	2,3-Бутандион/аллил метил сульфид	0.0155
ХСН + Гипертония + Ожирение	Диметил трисульфид	0.0067
	1-Метилтиопропен	0.0222
	1-Метилтиопропан	0.0119
	Диметил трисульфид/диметилдисульфид	0.0016
	Диметил трисульфид/1-метилтиопропан	0.0212
	Диметил трисульфид/диметилсульфид	0.0119
	Диметил трисульфид/ацетон	0.0061
	Диметил трисульфид/изопрен	0.0108
	2,3-Бутандион/диметилдисульфид	0.0285
	2,3-Бутандион/2-пентанон	0.0031
	2,3-Бутандион/1-метилтиопропен	0.0045
	2,3-Бутандион/1-метилтиопропан	0.0178
	2,3-Бутандион/диметилсульфид	0.0273
Сахарный диабет	Бензальдегид/диметилсульфид	0.0475
	Аллил метил сульфид/1-метилтиопропен	0.0166
	Аллил метил сульфид/1-метилтиопропан	0.0320
	1-Метилтиопропан/диметилсульфид	0.0065
	1-Метилтиопропан/изопрен	0.0382
Атеросклероз	2-Бутанон/аллил метил сульфид	0.0137
	2-Бутанон/2-пентанон	0.0192
	2-Бутанон/изопрен	0.0115
	Ацетонитрил/аллил метил сульфид	0.0192
	Аллил метил сульфид/1-метилтиопропен	0.0493
	Ацетон/изопрен	0.0045

соотношениях, отличающихся у пациентов с раком легких с ожирением и без. В исследовании [46] наблюдали отличия в содержании 7-метил-3-метил-1,6-октадиена, 2-ацетилпиррола и 1-метокси-4-(1-пропенил)-бензола в зависимости от индекса массы тела. Эти соединения попадают в организм экзогенно, так как являются продуктами метаболизма искусственных подсластителей. В настоящем исследовании подобные компоненты не наблюдали, возможно, из-за того, что пробы отбирали натощак. Ранее [47] нами изучена другая выборка пациентов с раком легких и частично рассмотрен вопрос о некоторых сопутствующих заболеваниях, однако в исследовании участвовало гораздо меньше пациентов с сопутствующими заболеваниями. При ожирении наблюдали более высокие соотношения бензальдегид/ацетонитрил и бензальдегид/2,3-бутандион; некоторые соотношения, включающие сульфосодержащие компоненты и 2,3-бутандион, статистически значимо отличались в случае гипертонии. В данной работе также получен ряд других соотношений с сульфосодержащими соединениями и 2,3-бутандионом

при ожирении и гипертонии. В данном случае отличия могут быть обусловлены тем, что в данной работе у пациентов присутствуют гипертония, ожирение и ХСН одновременно, что тоже необходимо принимать во внимание. Соотношение бензальдегид/диметилсульфид статистически значимо отличалось в случае сахарного диабета как в предыдущем исследовании [47], так и в настоящем. Основным биомаркером сахарного диабета является ацетон [38, 48], однако в данном исследовании статистически значимых отличий в случае ацетона не наблюдалось, что может быть связано с тем, что рак легких сильнее сказывается на профиле ЛОС выдыхаемого воздуха, чем сахарный диабет. Отмечено [49], что атеросклероз может быть причиной повышенного содержания альдегидов в выдыхаемом воздухе, однако в данной работе подобных закономерностей не выявлено.

Тест Манна–Уитни позволяет рассматривать только две группы наблюдений, в то время как тест Крускала–Уоллиса – несколько групп с учетом всех возможных попарных сравнений. Первоначально было важно рассмотреть все группы

Таблица 3. Соединения (соотношения), отличающиеся в группах больных раком легких с различными сопутствующими заболеваниями (тест Крускала–Уоллиса)

Соединение (соотношение)	<i>p</i> -уровень
2,3-Бутандион	0.0449
Диметил трисульфид/диметилдисульфид	0.0164
Диметил трисульфид/ацетон	0.0476
2-Бутанон/аллил метил сульфид	0.0331
2-Бутанон/2-пентанон	0.0263
2,3-Бутандион/2-пентанон	0.0124
2,3-Бутандион/1-метилтипропен	0.0191
Алил метил сульфид/1-метилтипропен	0.0483
Ацетон/изопрен	0.0257

пациентов с различными сопутствующими заболеваниями по отдельности в сравнении с пациентами без сопутствующих заболеваний. Далее все соединения, отличающиеся хотя бы в одной из групп, проверяли на предмет отличия во всех группах одновременно с применением теста Крускала–Уоллиса. В табл. 3 представлен перечень соединений и их соотношений, значения которых статистически значимо отличались в группах пациентов с различными сопутствующими заболеваниями и без заболеваний. На рис. 1 представлены диаграммы размаха соотношений данных соединений. Многие из данных параметров ранее относили к биомаркерам рака легких: содержание 2,3-бутандиона [27]; соотношение диметилтрисуль-

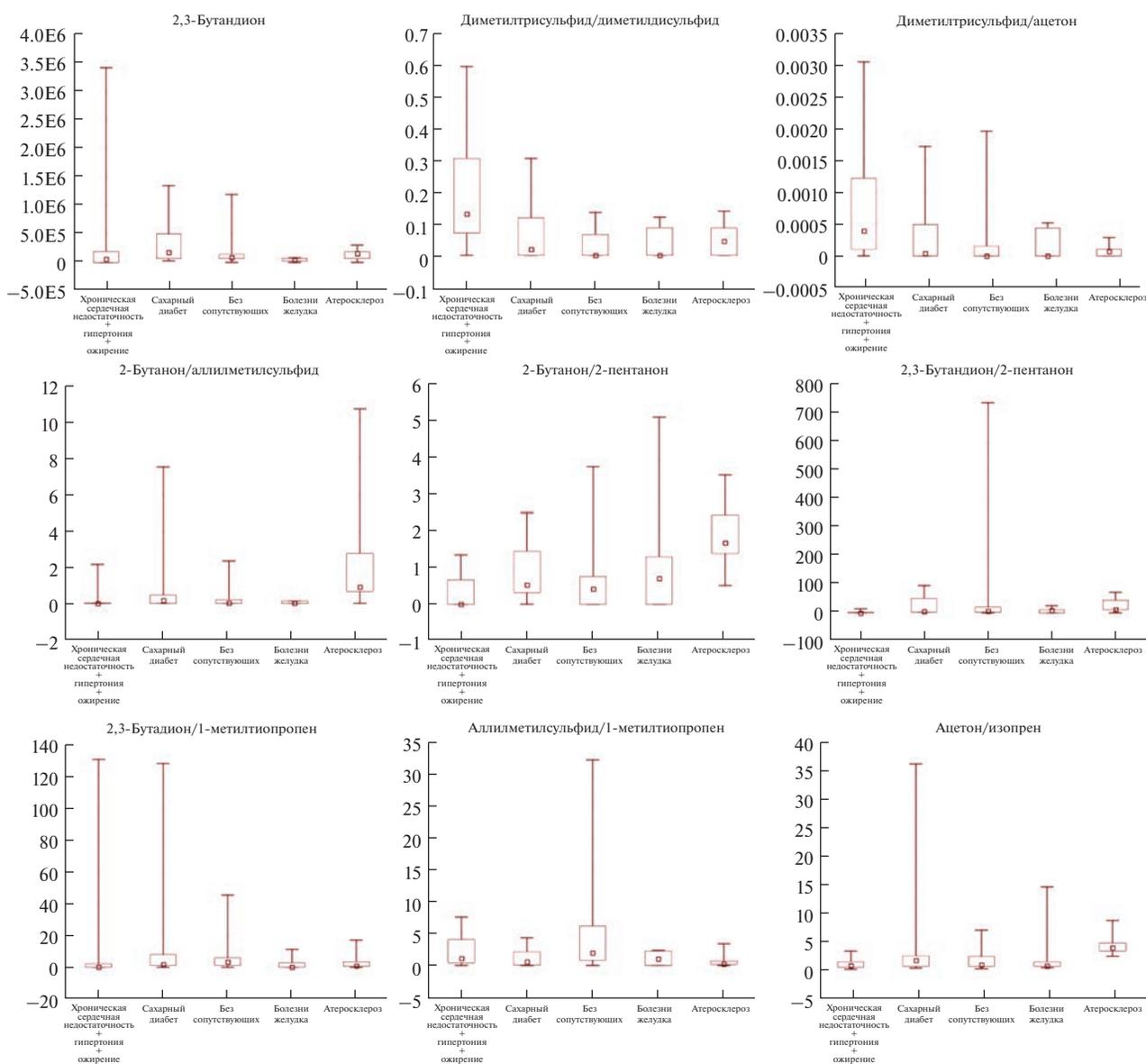


Рис. 1. Диаграммы размаха соотношений летучих органических соединений, отличающихся в группах пациентов с раком легких с различными сопутствующими заболеваниями.

фид/диметилдисульфид ранее неоднократно и для разных выборок относили к биомаркерам рака легких [47, 50], соотношение 2-бутанон/2-пентанон также фигурирует в качестве биомаркера [47], тем не менее изменения содержания данных компонентов и их соотношений могут быть обусловлены наличием у пациента сопутствующего заболевания. Выборка в данном исследовании слишком мала, чтобы говорить о четко выявленных закономерностях, однако данный вопрос следует рассматривать более детально, так как наличие у пациентов сопутствующих заболеваний может искажать профиль ЛОС выдыхаемого воздуха, что впоследствии отразится на чувствительности создаваемых диагностических моделей.

Исследования проводили в рамках выполнения проекта Российского научного фонда и Кубанского научного фонда № 22-13-20018 с использованием научного оборудования ЦКП “Эколого-аналитический центр” Кубанского государственного университета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sharma A., Kumar R., Varadwaj P. Smelling the disease: Diagnostic potential of breath analysis // *Mol. Diagn. Ther.* 2023. <https://doi.org/10.1007/s40291-023-00640-7>
2. Yan H., Zhou Y.-G. Electrical sensing of volatile organic compounds in exhaled breath for disease diagnosis // *Curr. Opin. Electrochem.* 2022. V. 33. Article 100922.
3. Kaloumenou M., Skotadis E., Lagopati N., Efstathopoulos E., Tsoukalas D. Breath analysis: A promising tool for disease diagnosis — the role of sensors // *Sensors.* 2022. V. 22. Article 1238.
4. Antoniou S.X., Gaude E., Ruparel M., Schee M.P., Janes S.M., Rintoul R.C. The potential of breath analysis to improve outcome for patients with lung cancer // *J. Breath Res.* 2019. V. 13. № 3. Article 034002.
5. Keogh R.J., Riches J.C. the use of breath analysis in the management of lung cancer: Is it ready for primetime? // *Curr. Oncol.* 2022. V. 29. P. 7355.
6. Peled N., Fuchs V., Kestenbaum E.H., Oscar E., Bitran R. An update on the use of exhaled breath analysis for the early detection of lung cancer // *Lung Cancer (Auckl).* 2021. V. 12. P. 81.
7. Nidheesh V.R., Mohapatra A. K., Nayak R., Unnikrishnan V.K., Kartha V. B., Chidangil S. UV laser-based photoacoustic breath analysis for the diagnosis of respiratory diseases: Detection of asthma // *Sens. Actuators B: Chem.* 2022. V. 370. Article 132367.
8. Velzen P., Brinkman P., Knobel H.H., Berg J.W.K., Jonkers R.E., Loijmans R.J., Prins J.M., Sterk P.J. Exhaled breath profiles before, during and after exacerbation of COPD: A prospective follow-up study // *J. Chronic Obstr. Pulm. Dis.* 2019. V. 5–6. P. 330.
9. Cazzola M., Segreti A., Capuano R., Bergamini A., Martinelli E., Calzetta L., Rogliani P., Ciaprinì C., Ora J., Paolesse R., Natale C.D., D’Amico A. Analysis of exhaled breath fingerprints and volatile organic compounds in COPD // *COPD Res. Pract.* 2015. V. 1. № 7. Article 32.
10. Dijk F., Woollam M., Angarita-Rivera P., Siegel A., Agarwal M., Davis M., Chmiel J.F., Sanders D.B. Volatile organic compounds in exhaled breath as biomarkers of pulmonary exacerbations in children with cystic fibrosis // *J. Clin. Med.* 2021. V. 10. № 1. P. 330.
11. Zamora-Mendoza B.N., Martinez L.D.L., Rodríguez-Aguilar M., Mizaikoff B., Flores-Ramirez R. Chemometric analysis of the global pattern of volatile organic compounds in the exhaled breath of patients with COVID-19, post-COVID and healthy subjects. Proof of concept for post-COVID assessment // *Talanta.* 2022. V. 236. Article 122832.
12. Ibrahim W., Cordell R.L., Wilde M.J., Richardson M., Carr L., Dasi A.S.D., 1,2, Hargadon B., Free R.C., Monks P.S., Brightling C.E., Greening N.J., Siddiqui S. Diagnosis of COVID-19 by exhaled breath analysis using gas chromatography–mass spectrometry // *ERJ Open Res.* 2021. V. 7. Article 00139.
13. Zetola N.M., Modongo C., Matsiri O., Tamuhla T., Mbongwé B., Matlhagela K., Sepako E., Catini A., Sirugo G., Martinelli E., Paolesse R., Natale C.D. Diagnosis of pulmonary tuberculosis and assessment of treatment response through analyses of volatile compound patterns in exhaled breath samples // *J. Infect.* 2017. V. 74. № 4. P. 367.
14. Berna A.Z., John O.A.R. Breath metabolites to diagnose infection // *Clin. Chem.* 2021. V. 68. № 1. P. 43.
15. Xiang L., Wu S., Hua Q., Bao C., Liu H. Volatile organic compounds in human exhaled breath to diagnose gastrointestinal cancer: A meta-analysis // *Front. Oncol.* 2021. V. 11. Article 606915.
16. Leon-Martínez L.D., Rodríguez-Aguilar M., Gorocica-Rosete P., Domínguez-Reyes C.A., Martínez-Bustos V., Tenorio-Torres J.A., Ornelas-Rebolledo O., Cruz-Ramos J.A., Balderas-Segura B., Flores-Ramirez R. Identification of profiles of volatile organic compounds in exhaled breath by means of an electronic nose as a proposal for a screening method for breast cancer: A case-control study // *J. Breath Res.* 2020. V. 14. № 4. Article 046009.
17. Chung J., Akter S., Han S., Shin Y. Choi T.G., Kang I., Kim S.S. Diagnosis by volatile organic compounds in exhaled breath from patients with gastric and colorectal cancers // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24. № 1. Article 129.
18. Waltman C.G., Marcelissen T.A.T., Roermund J.G.H. Exhaled-breath testing for prostate cancer based on volatile organic compound profiling using an electronic nose device (Aeonose™): A preliminary report // *Eur. Urol. Focus.* 2020. V. 6. № 6. Article 1220.
19. Paleczek A., Grochala D., Rydosz A. Artificial breath classification using XGBoost algorithm for diabetes detection // *Sens.* 2021. V. 21. Article 4187.
20. Kalidoss R., Umamath S. A comparison of online and offline measurement of exhaled breath for diabetes pre-screening by graphene-based sensor; from powder processing to clinical monitoring prototype // *J. Breath Res.* 2019. V. 13. Article 036008.
21. Stavropoulos G., Munster K., Ferrandino G., Sauca M., Ponsioen C., Schooten F.-J., Smolinska A. Liver impairment — the potential application of volatile organic compounds in hepatology // *Metabolites.* 2021. V. 11. Article 618.

22. Hintzen K.F.H., Grote J., Wintjens A.G.W.E., Lubbers T., Eussen M.M.M., Schooten F.J., Bouvy N.D., Peeters A. Breath analysis for the detection of digestive tract malignancies: Systematic review // *BJS Open*. 2021. V. 5. № 2. Article zrab013.
23. Scheepers M.H.M.C., Al-Difaie Z., Brandts L., Peeters A., Grinsven B., Bouvy N.D. Diagnostic performance of electronic noses in cancer diagnoses using exhaled breath: A systematic review and meta-analysis // *BJS Open*. *JAMA. Netw. Open*. 2022. V. 5. № 6. Article e2219372.
24. Westphal K., Dudzik D., Waszczuk-Jankowska M., Graff B., Narkiewicz K., Markuszewski M.J. Common strategies and factors affecting off-line breath sampling and volatile organic compounds analysis using thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry (TD-GC-MS) // *Metabolites*. 2023. V. 13. Article 8.
25. Pesesse R., Stefanuto P.H., Schleich F., Louis R., Focant J.F. Multimodal chemometric approach for the analysis of human exhaled breath in lung cancer patients by TD-GC × GC-TOFMS // *J. Chromatogr. B*. 2019. V. 1114–1115. P. 146.
26. Oort P.M., Brinkman P., Slingers G., Koppen G., Maas A., Roelofs J.J., Schnabel R., Bergmans D. C., Raes M., Goodacre R., Fowler S.J., Schultz M.J., Bos L.D. Exhaled breath metabolomics reveals a pathogen-specific response in a rat pneumonia model for two human pathogenic bacteria: A proof-of-concept study // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2019. V. 316. № 5. P. L751.
27. Filipiak W., Filipiak A., Sponring A., Schmid T., Zelger B., Ager C., Klodzinska E., Denz H., Pizzini A., Lucciarini P., Jamnig H., Troppmair J., Amann A. Comparative analyses of volatile organic compounds (VOCs) from patients, tumors and transformed cell lines for the validation of lung cancer-derived breath markers // *J. Breath Res.* 2014. V. 8. № 2. <https://doi.org/10.1088/1752-7155/8/2/027111>
28. Mendel J., Frank K., Edlin L., Hall K., D. Webb, Mills J., Holness H.K., Furton K.G., Mills D. Preliminary accuracy of COVID-19 odor detection by canines and HS-SPME-GC-MS using exhaled breath samples // *Forensic Sci. Int.: Synergy*. 2021. V.3. Article 100155.
29. Lamote K., Vynck M., Thas O., Cleemput J., Nackaerts, K., Meerbeeck J.P. Exhaled breath to screen for malignant pleural mesothelioma: A validation study // *Eur. Respir. J.* 2017. V. 50. № 6. Article 1700919.
30. Smith D., Spanel P., Demarais N., Langford V.S., McEwan M.J. Recent developments and applications of selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) // *Mass Spectrom. Rev.* 2023. Article e21835.
31. Tsou P.H., Lin Z.L., Pan Y.C., Yang H.C., Chang C.J., Liang S.K., Wen Y.F., Chang C.H., Chang L.Y., Yu K.L., Liu C.J., Keng L.T., Lee M. R., Ko J.C., Huang G.H., Li Y.K. Exploring volatile organic compounds in breath for high-accuracy prediction of lung cancer // *Cancers*. 2021. V. 13. № 6. Article 1431.
32. Pleil J.D., Hansel A., Beauchamp J. Advances in proton transfer reaction mass spectrometry (PTR-MS): Applications in exhaled breath analysis, food science, and atmospheric chemistry // *J. Breath Res.* 2019. V. 13. № 3. Article 039002.
33. Jung Y.J., Seo H.S., Kim J.H., Song K.Y., Park C.H., Lee H.H. Advanced diagnostic technology of volatile organic compounds real time analysis analysis from exhaled breath of gastric cancer patients using proton-transfer-reaction time-of-flight mass spectrometry // *Front. Oncol.* 2021. V. 11. Article 560591.
34. Kort S., Brusse-Keizer M., Gerritsen J. W., Schouwink H., Citgez E., Jongh F. Maten J., Samii S., Bogart M., Palen J. Improving lung cancer diagnosis by combining exhaled-breath data and clinical parameters // *ERJ Open Res.* 2020. V. 6. № 1. Article 00221.
35. Dragonieri S., Quaranta V.N., Carratu P., Ranieri T., Resta O. Exhaled breath profiling by electronic nose enabled discrimination of allergic rhinitis and extrinsic asthma // *Biomarkers*. 2019. V. 1. P. 70.
36. Saidi T., Moufid M., Beleño-Saenz K.J., Welearegay T.G., Bari N.E., Jaimes-Mogollon A.L., Ionescu R., Bourkadi J.E., Benamor J., Ftouh M. E., Bouchikhi B. Non-invasive prediction of lung cancer histological types through exhaled breath analysis by UV-irradiated electronic nose and GC/QTOF/MS // *Sens. Actuators B: Chem.* 2020. V. 311. Article 127932.
37. Cai Y., Huang L., Sun W., Xu C., Ren X., Ye Y., Zhu Y., Sun L., Jiang D., Zhang Q., Wang Y. Noninvasive analysis of exhaled breath for gastric cancer diagnosis using paper-based smartphone nano-optoelectronic noses // *Sens. Actuators B: Chem.* 2023. V. 381. Article 133411.
38. Платонов И.А., Колесниченко И.Н., Павлова Л.В., Муханова И.М., Платонов В.И. Мобильный диагностический комплекс для экспрессного количественного определения ацетона в выдыхаемом воздухе // Сорбционные и хроматографические процессы. 2022. Т. 22. № 4. С. 365.
39. Corradi M., Poli D., Banda I., Bonini S., Mozzoni P., Pinelli S., Alinovi R., Andreoli R., Ampollini L., Casalini A., Carbognani P., Goldoni M., Mutti A. Exhaled breath analysis in suspected cases of non-small-cell lung cancer: A cross-sectional study // *J. Breath Res.* 2015. V. 9. № 2. Article 027101.
40. Hubers A.J., Brinkman P., Boksem R.J., Rhodius R.J., Witte B.I., Zwinderman A.H., Heideman D.A.M., Duin S., Koning R., Steenbergen R.D.M., Snijders P.J.F., Smit E.F., Sterk P.J., Thunnissen E. Combined sputum hypermethylation and enose analysis for lung cancer diagnosis // *J. Clin. Pathol.* 2014. V. 67. № 8. P. 707.
41. Hashoul D., Haick H. Sensors for detecting pulmonary diseases from exhaled breath // *Eur. Respir. Rev.* 2019. V. 28. № 152. Article 190011.
42. Гашимова Э.М., Темердашев А.З., Порханов В.А., Поляков И.С., Перунов Д.В., Азарян А.А., Дмитриева Е.В. Оценка возможности газохроматографического определения летучих органических соединений в выдыхаемом воздухе для неинвазивной диагностики рака легких // *Журн. аналит. химии*. 2019. Т. 74. № 5. С. 365.
43. Chen Y., Xia R., Feng Y. The research of chronic gastritis diagnosis with electronic noses // *J. Sens.* 2021. V. 2021. Article 5592614.
44. Tong H., Wang Y., Li Y., Liu S., Chi C., Liu D., Guo L., Li E., Wang C. Volatile organic metabolites identify patients with

- gastric carcinoma, gastric ulcer, or gastritis and control patients // *Cancer Cell Int.* 2017. V. 17. Article 108.
45. *Oyerinde A.S., Selvaraju V., Babu J.R., Geetha T.* Potential role of oxidative stress in the production of volatile organic compounds in obesity // *Antioxidants.* 2023. V. 12. № 1. Article 129.
46. *Blanchet L., Smolinska A., Baranska A., Tigchelaar E., Swertz M., Zhernakova A., Dallinga J. W., Wijmenga C., Schooten F.J.* Factors that influence the volatile organic compound content in human breath // *J. Breath Res.* 2017. V. 11. № 1. Article 016013.
47. *Temerdashev A.Z., Gashimova E.M., Porkhanov V.A., Polyakov I.S., Perunov D.V., Dmitrieva E.V.* Non-Invasive lung cancer diagnostics through metabolites in exhaled breath: Influence of the disease variability and comorbidities // *Metabolites.* 2023. V. 13. Article 203.
48. *Dixit K., Fardindoost S., Ravishankara A., Tasnim N., Hoorfar M.* Exhaled breath analysis for diabetes diagnosis and monitoring: Relevance, challenges and possibilities // *Biosensors.* 2021. V. 11. Article 476.
49. *Das S., Pal M.* Non-invasive monitoring of human health by exhaled breath analysis: A comprehensive review // *J. Electrochem. Soc.* 2020. V. 167. Article 037562.
50. *Gashimova E., Osipova A., Temerdashev A., Porkhanov V., Polyakov I., Perunov D., Dmitrieva E.* Study of confounding factors influence on lung cancer diagnostics effectiveness using gas chromatography–mass spectrometry analysis of exhaled breath // *Biomark. Med.* 2021. V. 15. № 11. P. 821.

УДК 543.544.5:543.51

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УМИФЕНОВИРА И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С КОМБИНИРОВАННЫМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

© 2023 г. С. А. Сыпалов^а, Н. В. Ульяновский^а *, Д. С. Косяков^а, А. Т. Лебедев^а

^аСеверный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, Центр коллективного пользования научным оборудованием “Арктика”

Набережная Северной Двины, 17, Архангельск, 163002 Россия

*e-mail: n.ulyanovsky@narfu.ru

Поступила в редакцию 11.04.2023 г.

После доработки 24.04.2023 г.

Принята к публикации 25.04.2023 г.

Разработан подход к высокочувствительному и селективному хромато-масс-спектрометрическому определению бромсодержащего противовирусного препарата умифеновира (Арбидол) и его метаболитов в природной и сточной водах, активном иле и донных отложениях, основанный на сочетании двух техник масс-спектрометрического детектирования – масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП) и масс-спектрометрии высокого разрешения с ионизацией электро-распылением (МСВР-ЭРИ). Обращенно-фазовое хроматографическое разделение и детектирование на основе МСВР-ЭРИ обеспечивают надежное обнаружение и идентификацию аналитов в сложных матрицах, в то время как применение МС-ИСП с регистрацией сигнала ⁷⁹Bг позволяет избежать матричных эффектов и использовать единый аналитический стандарт для количественного анализа. Применение твердофазной экстракции и жидкостной экстракции под давлением в качестве методов пробоподготовки позволило достичь пределов обнаружения на уровне 0.2 нг/л и 2 мкг/кг для жидких и твердых образцов соответственно. Разработанный подход успешно апробирован при анализе реальных объектов. Показано, что концентрации аналитов в городских сточных водах находятся в диапазоне 4.4–260 нг/л. Наибольшее содержание характерно для активного ила (до 3.7 мг/кг), который выступает эффективным сорбентом умифеновира и продуктов его трансформации.

Ключевые слова: умифеновир, арбидол, метаболиты, сточные воды, активный ил, ВЭЖХ-МС-ИСП, ВЭЖХ-МСВР.

DOI: 10.31857/S0044450223090153, EDN: ZYKEYI

Сезонные вирусные инфекции и особенно эпидемии (например, COVID-19) неизбежно приводят к резкому увеличению употребления противовирусных фармацевтических препаратов [1]. Среди значительного списка таких лекарств в Российской Федерации одним из наиболее распространенных и широко используемых является умифеновир (торговое название – Арбидол), который был лицензирован в 1993 г. как средство для борьбы с гриппом [2]. Благодаря широкому спектру действия и антиоксидантной активности умифеновир также нашел применение против вирусов герпеса человека, гепатитов В и С [3] и ряда других заболеваний.

Известно, что порядка 40% от суточной дозы умифеновира (200 мг – профилактическая, 800 мг – терапевтическая) выводится из организма в неизменном виде в первые сутки после примене-

ния [4], что приводит к поступлению значительных количеств данного соединения в муниципальные сточные воды. При этом относительно низкая токсичность для человека ($LD_{50} > 4$ г/кг) не гарантирует безопасность умифеновира для водных экосистем. Так, имеющиеся в литературе оценки его биологической активности, сделанные с использованием QSAR-моделирования взаимосвязи структуры и свойств, относят умифеновир к группе соединений высокого риска для экологического состояния объектов окружающей среды и показывают потенциально низкую устойчивость к нему живых организмов [5]. Ситуация осложняется способностью умифеновира образовывать широкий спектр метаболитов, образующихся как в организме человека, так и в процессах очистки и дезинфекции сточных вод. В работе [6] нами показано, что благодаря высокой

антиоксидантной активности [7] ключевыми направлениями химических превращений умифеновира являются окисление по атому серы, гидроксигирование и деалкилирование. Образующиеся при этом продукты трансформации по биологической активности могут не только не уступать исходному соединению, но и существенно превосходить его. Это делает актуальной задачу организации систематического контроля умифеновира и его метаболитов в сточных водах и природных водных объектах, включая донные отложения. Ее решение существенно осложняется необходимостью проведения анализа на уровне следовых концентраций крайне сложных по химическому составу объектов, а также отсутствием стандартных образцов метаболитов. Преодоление указанных трудностей возможно при использовании современных методов хромато-масс-спектрометрии, обеспечивающих максимально высокую селективность и чувствительность анализа. Прежде всего, речь идет о высокоэффективной жидкостной хроматографии-танDEMной масс-спектрометрии высокого разрешения с электрораспылительной ионизацией (**ВЭЖХ-МСВР-ЭРИ**), позволяющей надежно выявлять и идентифицировать аналиты в сложных матрицах. Недостатком метода является его подверженность матричным эффектам в количественном анализе, эффективное устранение которых требует наличия труднодоступных изотопно-меченных аналитических стандартов. Благодаря наличию атома галогена в структуре умифеновира и его метаболитов, при решении задач нестандартного определения перспективно применение масс-спектрометрического детектирования с индуктивно связанной плазмой (**МС-ИСП**), отличающегося высокой чувствительностью по отношению к бромю [8]. Широко известно применение **ВЭЖХ-МС-ИСП** для определения органических форм мышьяка и ртути в объектах окружающей среды и биологических тканях [9–11], а в последнее время и для изучения метаболизма лекарственных препаратов, содержащих такие гетероатомы, как селен, фосфор и галогены [12–14]. В работе [6] нами показана возможность использования комбинации двух техник масс-спектрометрического детектирования (**ИСП** и **МСВР**) для поиска и определения умифеновира и его метаболитов в сточных водах.

Настоящее исследование посвящено развитию данного направления и имеет целью разработку нового подхода к высокочувствительному и селективному определению умифеновира и его важнейших метаболитов в сточных водах, активном иле и донных отложениях, основанного на применении метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с комбинированным масс-спектрометрическим детектированием с использованием техник **МС-ИСП** и **МСВР-ЭРИ**.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты и материалы. Для приготовления подвижной фазы, буферных растворов и в качестве растворителей при экстракции использовали следующие реактивы: метанол (HPLC grade, Merck, Германия), муравьиную кислоту ($\geq 96\%$, Sigma-Aldrich, США) деионизованную воду с удельным сопротивлением 18.2 МОм·см (Тип 1), полученную с использованием системы Milli-Q (Millipore, Франция), ацетонитрил (0 сорт, Криохром, Россия), аммиак водный ос. ч., $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ х. ч., кислоту ортофосфорную ос. ч., гидроксид натрия х. ч. (Компонент-Реактив, Россия), тиосульфат натрия 5-водный стандарт-титр (Уралхиминвест, Россия). Для проведения модельного хлорирования использовали гипохлорит натрия, полученный в лабораторных условиях пропусканием газообразного хлора через раствор гидроксида натрия по известной процедуре [15]. По данным иодометрического титрования, содержание активного хлора в полученном растворе составило 110 г/л.

В работе использовали стандартный образец умифеновира гидрохлорида $\geq 98.0\%$ (Sigma-Aldrich, Германия).

Объекты исследования и подготовка проб. В качестве модельного, применяемого для оптимизации хроматографического разделения, выбрали раствор умифеновира после хлорирования, полученный способом, приведенным в работе [6]. Для этого в 10 мл 50 мМ фосфатного буферного раствора с pH 5, содержащего 20 мг/л умифеновира, добавляли гипохлорит натрия до достижения концентрации “активного” хлора, равной 4 мг/л. Спустя 10 мин с начала взаимодействия в реакционную смесь вносили 500 мкл 0.1 н раствора тиосульфата натрия для остановки реакции. Полученную смесь вводили в хроматографическую систему.

Образцы сточной воды и смеси осадка сточных вод с активным илом отбирали на городских очистных сооружениях канализации города Архангельска в ноябре 2022 г. Образец **СВ-1** представлял собой исходные сточные городские воды, поступающие на очистные сооружения. Образец **СВ-2** – сточная вода после этапа обработки гипохлоритом натрия (дезинфекции). Образец **РВ** – природная вода из реки Хаторица, отобранная на расстоянии ~2 км ниже по течению от места сброса очищенных сточных вод. Пробоподготовку и анализ образцов воды проводили непосредственно в день отбора. Образец **АИ** – смесь осадка сточных вод с активным илом массой ~2 кг с влажностью 65% отбирали из последнего отстойника после стадии биологической очистки. Образец массой 1 кг помещали в пластиковый контейнер, герметично закрывали, хранили при -20°C и размораживали непосредственно перед анализом.

Умифеновир и его метаболиты извлекали из сточной и речной вод методом твердофазной

экстракции (ТФЭ) с применением системы автоматической твердофазной экстракции Sepaths UP (LabTech, Италия). Использовали картриджи для ТФЭ, заполненные 200 мг функционализированного стирол-дивинилбензолного полимерного сорбента BondElut PPL (Agilent Technologies, США). Перед проведением процедуры экстракции картриджи предварительно кондиционировали путем последовательного пропускания через них 10 мл метанола и 10 мл деионизованной воды. Образцы сточной и природной воды объемом 1 л предварительно отфильтровывали через фильтр “синяя лента” и доводили до заданного значения pH 50 мМ фосфатным буферным раствором с добавкой серной кислоты или гидроксида натрия и пропускали через подготовленный сорбент со скоростью 10–15 мл/мин. После этого сорбент промывали 1 мл деионизованной воды, высушивали в потоке высокочистого азота (99.99%) и элюировали органическим растворителем объемом 10 мл. Полученный экстракт упаривали в токе азота до 500 мкл, центрифугировали и проводили хроматографический анализ.

Извлечение умифеновира и его метаболитов из осадков сточных вод, активного ила и донных отложений проводили методом жидкостной экстракции под давлением (ЖЭД) с использованием системы ASE-150 (Thermo Scientific, США). К исследуемому образцу массой 5 г добавляли диатомовую землю в соотношении 5 : 1 (по массе) и помещали смесь в ячейку из нержавеющей стали объемом 10 мл. Экстракцию проводили в атмосфере аргона высокой чистоты (99.99%) в течение 3 циклов по 10 мин каждый при температуре 100°C. По завершении процедуры ячейку промывали свежей порцией экстрагента, объем которого составлял 60% от объема ячейки. Полученный экстракт (~25–35 мл) упаривали до объема 10 мл в токе азота высокой чистоты (99.99%), фильтровали через нейлоновый мембранный фильтр (размер пор 0.2 мкм) и проводили хромато-масс-спектрометрический анализ.

Хромато-масс-спектрометрический анализ. Хроматографическое разделение проводили с использованием ВЭЖХ системы LC-30 Nexera (Shimadzu, Япония), состоящей из вакуумного дегазатора DGU-5A, двух хроматографических насосов LC-30AD, автодозатора SIL-30AC, термостата колонки CTO-20A и системного контроллера SVM-20A. Использовали хроматографическую колонку Nucleodur PFP 150 × 2 мм, размер частиц 1.8 мкм (Macherey-Nagel, Германия) с пентафторфенильной неподвижной фазой. Градиентное элюирование проводили при 40°C растворами 0.1%-ной муравьиной кислоты в воде и метаноле или ацетонитриле. Скорость потока подвижной фазы составляла 0.25 мл/мин, объем ввода – 5 мкл.

Обнаружение и количественный анализ бромсодержащих аналитов проводили методом МС-ИСП с использованием в качестве детектора системы Aurora Elite (Bruker, Германия), оснащенной квадрупольным масс-анализатором и коллизионно-реакционным интерфейсом (КРИ). Использовали следующие параметры: мощность ВЧ-генератора – 1.6 кВт, глубина отбора – 5 мм, скорость потока плазмообразующего, вспомогательного, дополнительного и распыляющего газа (Ar) 18.0; 1.65; 0.23 и 0.8 л/мин соответственно, время сканирования – 500 мс. Детектирование проводили в режиме мониторинга выделенных ионов (m/z 79). Водород и гелий высокой чистоты (20–50 мл/мин) использовали в качестве реагентов в КРИ. Управление масс-спектрометром, сбор и анализ данных осуществляли с использованием программного обеспечения Quantum и Compass CDS (Bruker, Германия).

Установление элементного состава и идентификацию обнаруживаемых аналитов проводили методом ВЭЖХ-МСВР с использованием квадруполь-времяпролетного масс-спектрометра TripleTOF 5600+ (AB Sciex, Канада), оснащенного источником ионов Duospray. Масс-спектрометрическое детектирование проводили в режиме генерации положительно заряженных ионов в условиях электрораспыления (ЭРИ(+)). Использовали следующие параметры ионного источника: давление распыляющего и осушающего газов 40 psi, давление газа завесы 30 psi, напряжение 5500 В и температура источника 300°C. Для повышения надежности идентификации аналитов записывали масс-спектры диссоциации, активированной соударениями, в режиме информационно-зависимого эксперимента с энергией соударений 40 эВ и спредом 20 эВ. Критерием для записи МС/МС-спектров являлось пороговое значение интенсивности сигнала иона-предшественника, равное 100 имп/с. Масс-спектры записывали в диапазонах масс 200–1000 Да (МС) и 20–1000 Да (МС/МС). Элементный состав определяли на основе точных масс и изотопного распределения ионов с использованием следующих ограничений: максимальное число атомов С – 100, Н – 300, О – 20, N – 5, Br – 1, S – 1, Cl – 5, P – 2, погрешность определения массы <5 м.д. (МС) и <10 м.д. (МС/МС), отношение сигнал/шум ≥ 10 . Калибровку шкалы масс в режимах МС и МС/МС выполняли непосредственно перед анализом в автоматическом режиме с использованием в качестве эталона раствора формиата натрия. Управление масс-спектрометром, сбор и анализ данных осуществляли с использованием программного обеспечения Analyst, PeakView, MasterView и FormulaFinder (AB Sciex, Канада).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

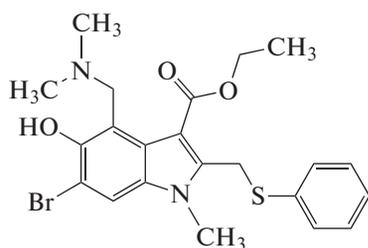
Определение умифеновира и его метаболитов методами ВЭЖХ-МСВР и ВЭЖХ-МС-ИСП. Иссле-

Таблица 1. Характеристики аналитов, используемые для идентификации при детектировании в режиме масс-спектрометрии высокого разрешения

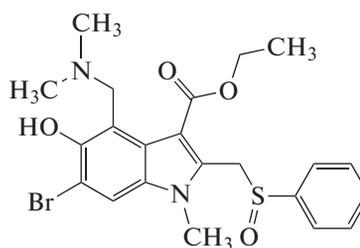
Аналит	Элементный состав	m/z	Погрешность, ppm	m/z ионов-продуктов (отн. интенсивность, %)
Метаболит I	$C_{16}H_{21}BrN_2O_4$	385.0767	2.5	293.9763 (95); 295.9911 (100); 340.0188 (60); 385.0769 (15)
Метаболит II	$C_{21}H_{23}BrN_2O_4S$	479.0651	3.1	278.9887 (60); 293.9760 (30); 323.0157 (100); 354.0581 (25)
Метаболит III	$C_{22}H_{25}BrN_2O_4S$	493.0807	3.2	278.9874 (50); 293.9750 (25); 323.0144 (100); 368.0727 (60)
Умифеновир	$C_{22}H_{25}BrN_2O_3S$	477.0856	2.9	278.9888 (80); 293.9763 (70); 323.0155 (35); 432.0279 (100)

дование модельного раствора продуктов трансформации умифеновира, полученного при действии гипохлорита натрия, демонстрирует присутствие как исходного соединения, так и трех важнейших метаболитов (схема 1), идентифицированных нами ранее в экспериментах по модельному хлорированию в различных условиях [6]. Указанные соединения выбраны нами в качестве целевых ана-

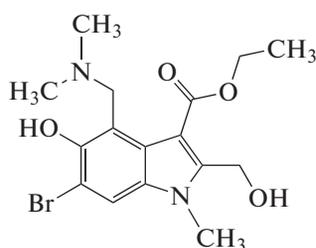
литов для контроля уровней загрязнения муниципальных сточных вод и природных водных объектов, находящихся под их воздействием, умифеновиром и продуктами его трансформации. Масс-спектрометрическая информация, необходимая для поиска и надежной идентификации четырех соединений в реальных образцах сточной воды и донных отложений, представлена в табл. 1.



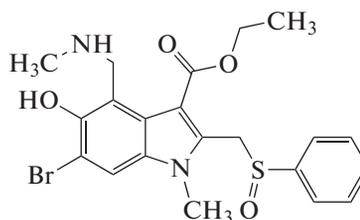
Умифеновир



Метаболит III



Метаболит I



Метаболит II

Схема 1. Структурные формулы умифеновира и важнейших его метаболитов.

Ввиду отсутствия стандартных образцов метаболитов умифеновира, а также крайней сложности исследуемых матриц, содержащих тысячи посторонних соединений, возможности для проведения количественного анализа методами жидкостной хромато-масс-спектрометрии существенно ограничены. Это в значительной степени относится и к исходному умифеновиру, поскольку надежное

устранение матричных эффектов при использовании масс-спектрометрического детектирования с ионизацией электрораспылением возможно лишь при наличии труднодоступных изотопно-меченных стандартов аналита. Тем не менее, благодаря наличию в структуре всех целевых аналитов атома брома, решением проблемы их надежного определения является применение масс-

спектрометрического детектирования, селективно по отношению к бромю. Таким методом является масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, которая в сочетании с хроматографическим разделением обеспечивает раздельное определение бромсодержащих соединений при совместном присутствии. В таком варианте градуировка системы может быть реализована с использованием любых бромсодержащих внешних стандартов. Для максимального учета возможных интерференций в аргоновой плазме, требованием к таким стандартам является близкое к анализам удерживание на выбранной неподвижной фазе. В случае выбранных нами целевых аналитов таким стандартом может выступать сам умифеновир.

В качестве неподвижной фазы для хроматографического разделения выбрали пентафторфенильный сорбент на основе силикагеля, обеспечивающий хорошее удерживание аналитов и их отделение от полярных компонентов матрицы (в том числе бромид-ионов), элюирующихся с мертвым объемом хроматографической колонки. Оптимизация параметров хроматографического разделения ориентирована на обеспечение полного разделения пиков аналитов, минимизацию продолжительности анализа с целью сокращения потребления аргона и снижения себестоимости, а также устранение мешающих влияний при ионизации в условиях МС-ИСП. Сравнение ацетонитрила и метанола в качестве органических компонентов подвижной фазы показало несомненное преимущество последнего. В отличие от ацетонитрила, в условиях анализа метанол не дает существенных отложений углерода на входном конусе масс-спектрометра и обеспечивает высокую стабильность плазмы в течение длительного времени независимо от доли органического растворителя в подвижной фазе. В результате оптимизации выбрали следующую программу градиентного элюирования: 0–1 мин: 25% метанола, 1–20 мин: линейное повышение доли спирта до 100%, 20–30 мин: 100% метанола. Для снижения интенсивности образования нагара после элюирования всех компонентов с хроматографической колонки (16 мин) поток элюента автоматически перенаправляется в слив, минуя ионный источник масс-спектрометра.

В качестве аналитического иона выбрали $^{79}\text{Br}^+$ (m/z 79), поскольку использование изотопа ^{81}Br оказалось затруднительным вследствие существенно более высокого уровня полиатомных интерференций со стороны реальных проб, подвижной фазы и компонентов плазмы, в том числе за счет образования кластеров $^{40}\text{Ar}_2\text{H}^+$ [16]. Регистрация хроматограмм по иону с m/z 79 также показывает наличие интерференций со стороны кластеров аргона ($^{38}\text{Ar}^{40}\text{ArH}^+$ и $^{39}\text{K}^{40}\text{Ar}^+$), при этом наблюдается значительный дрейф базовой линии при увеличении доли метанола в элюенте. Для устране-

ния данного эффекта использовали коллизионно-реакционный интерфейс масс-спектрометра с подачей водорода и гелия в качестве реакционных газов. Как и ожидалось, наилучшие результаты дает использование водорода благодаря его способности к селективному взаимодействию с аргоном в плазме, оптимальный расход газа-реагента при этом составил 40 мл/мин. Применение КРИ позволило не только минимизировать полиатомные интерференции, но и повысить соотношение сигнал/шум более чем в 3 раза (рис. 1).

Анализ стандартных растворов умифеновира в широком диапазоне концентраций позволил определить инструментальные пределы обнаружения (ПО) и нижние границы определяемых концентраций (НГОК) на основании критериев 3σ и 10σ (соотношение сигнал/шум), а также линейные диапазоны концентраций аналитов (табл. 2). Градуировочные зависимости, полученные с использованием стандартного образца умифеновира, линейны в широком диапазоне концентраций (не менее четырех порядков величины) с коэффициентами корреляции R^2 более 0.99. Достигнутая чувствительность ВЭЖХ-МС-ИСП-анализа находится на уровне единиц мкг/л, близком к достигаемому в методе ВЭЖХ-МСВР, без предварительного концентрирования исследуемых образцов и обеспечивает решение практических задач. Это допускает эффективное совместное применение обеих техник для поиска и идентификации аналитов (ВЭЖХ-МСВР) и их селективного определения (ВЭЖХ-МС-ИСП). Концентрации метаболитов умифеновира при этом рассчитывают по концентрации брома с использованием пересчетных коэффициентов (табл. 2), учитывающих молекулярные массы аналитов. Необходимо отметить, что такой комбинированный метод анализа может быть использован для поиска и определения самых разных бромсодержащих соединений, элементный состав которых установлен на основании точных масс по данным ВЭЖХ-МСВР.

Оптимизация условий пробоподготовки образцов. Определение умифеновира и его метаболитов в реальных образцах природных и сточных вод, а также донных отложений требует предварительной подготовки образцов к анализу, включая их концентрирование, а также удаление компонентов матрицы. Для решения задачи концентрирования водных образцов мы использовали подход, основанный на твердофазной экстракции аналитов с применением полимерного функционализированного сорбента BondElute PPL, обладающего средством как к неполярным, так и к умеренно полярным анализам [17]. Параметры проведения твердофазной экстракции (рН и состав элюента) оптимизировали на модельных растворах, содержащих 0.5 мкг/л умифеновира. Величину рН варьировали в диапазоне от 2 до 12 (шаг 2 ед. рН).

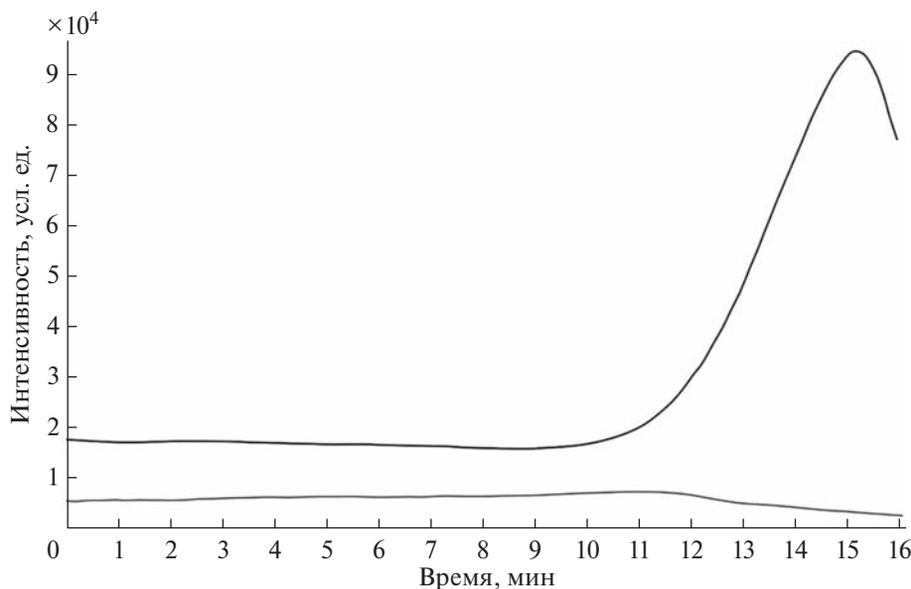


Рис. 1. Хроматограммы деионизованной воды в режиме градиентной ВЭЖХ-МС-ИСП без (сверху) и с применением (снизу) коллизионно-реакционного интерфейса.

Представленные на рис. 2а данные демонстрируют, что во всем исследуемом диапазоне рН степень извлечения находится на уровне не менее 75%, при этом среднеквадратичное отклонение полученных величин не превышает 7%. Тем не менее максимальные значения степени извлечения достигаются в щелочной среде (рН 12) вследствие перевода аналита в молекулярную форму за счет депротонирования третичной аминной группы в его структуре. Значительное влияние на эффективность ТФЭ может оказывать природа растворителя, применяемого для элюирования аналитов с сорбента. Предварительные эксперименты показали, что применение чистого ацетонитрила или метанола не позволяет эффективно десорбировать умифеновир – степени извлечения не превышают 1%. Данную проблему решили путем перевода аналита в протонированную форму за счет добавления в элюент 0.5% (по объему) муравьи-

ной кислоты, что повышает эффективность элюирования до $100 \pm 6\%$ и $84 \pm 4\%$ для метанола и ацетонитрила соответственно. Таким образом, с учетом чувствительности метода ВЭЖХ-МС-ИСП и степени концентрирования в ходе пробоподготовки ($\times 2000$) достигаемый предел обнаружения и нижние границы определяемых концентраций в пересчете на бром составляют 0.2 и 0.7 нг/л соответственно.

В случае анализа осадков сточных вод, активного ила и донных отложений для извлечения аналитов разработан подход, основанный на применении жидкостной экстракции под давлением. Изучена возможность применения в качестве экстрагентов ацетонитрила и метанола, в том числе с добавками кислоты и щелочи: I – ацетонитрил с 1% муравьиной кислоты, II – ацетонитрил, III – ацетонитрил с 1% аммиака, IV – метанол с 1% муравьиной кислоты, V – метанол, VI – метанол с

Таблица 2. Метрологические характеристики определения умифеновира и его метаболитов методом ВЭЖХ-МС-ИСП

Аналит	t_R , мин	Коэффициент $a_{Br} \times 10^4$ уравнения вида $y = ax$ (градуировка по брому)	Коэффициент $a \times 10^4$ уравнения вида $y = ax$ (градуировка по умифеновиру)	ПО, мкг/л (по брому)	НГОК, мкг/л (по брому)	ПО, мкг/л	НГОК, мкг/л	Линейный диапазон, мкг/л
Метаболит I	6.2	5.76	1.21	0.4	0.7	1.5	5.0	НГОК–50000
Метаболит II	8.7		1.04			1.8	5.9	
Метаболит III	8.9		0.92			2.1	6.9	
Умифеновир	11.8		0.98			2.0	6.6	

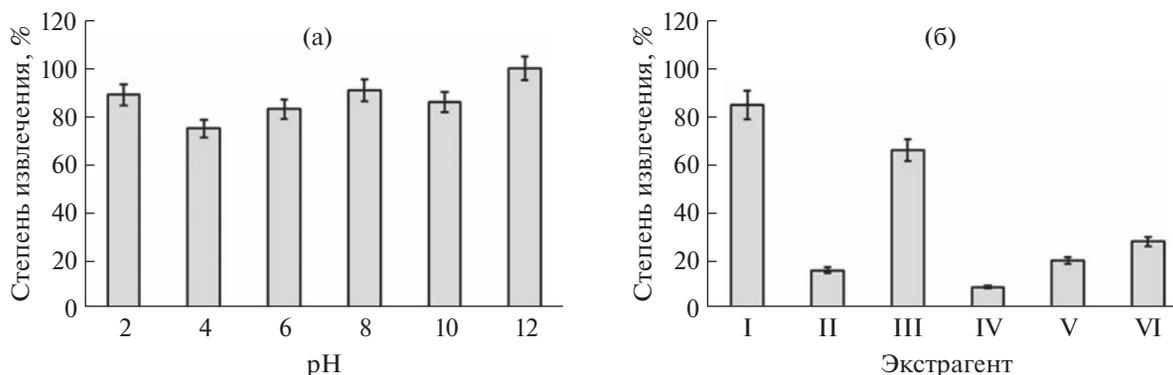


Рис. 2. Степень извлечения умифеновира в зависимости от величины pH водного образца (слева) при твердофазной экстракции и типа применяемого органического экстрагента (справа) при экстракции донных отложений методом жидкостной экстракции под давлением.

1% аммиака. При проведении процедуры экстракции при 100°C ни один из вариантов с метанолом (IV–VI) не позволяет достичь степени извлечения более 30% (рис. 2б). Это может быть обусловлено протеканием побочных процессов алкоголиза сложноэфирной связи, а также метилированием фенольной гидроксильной группы при повышенных температуре и давлении. Чистый ацетонитрил (II) также характеризуется крайне низкой эффективностью – извлечение находится на уровне 15–20%. Как и в случае элюирования с полимерного сорбента для ТФЭ, перевод аналита в протонированную форму путем добавки в экстрагент кислоты позволяет достичь максимальных величин степени экстракции, которые составили $85 \pm 4\%$. Увеличение температуры экстракции не привело к повышению эффективности извлечения. Наоборот, при 120°C наблюдается снижение степени извлечения в 2.5 раза, что обусловлено термолabileностью умифеновира. Таким образом, предложенные условия ЖЭД донных отложений в сочетании с определением целевых аналитов методом ВЭЖХ-МС-ИСП обеспечивают достижение предела обнаружения и нижней границы определяемых концентраций на уровне 2 и 6.6 мкг/кг соответственно.

Анализ реальных объектов. Предложенные подходы к определению умифеновира и трех важнейших его метаболитов в сточных и природных водах, а также осадках сточных вод и донных отложениях характеризуются высокой чувствительностью, что позволяет контролировать содержание данных аналитов на следовом уровне. Для апробации предложенного подхода проведен анализ образцов, отобранных в период пандемии COVID-19 на станции очистки муниципальных сточных вод г. Архангельска. Примеры хроматограмм экстракта активного ила представлены на рис. 3. При обнаружении целевых соединений рассчитывали их содержание на основе градуировочной зависимости, по-

лученной с использованием коммерчески доступного аналитического стандарта умифеновира.

Данные табл. 3 демонстрируют, что в поступающих на очистные городские сооружения сточных водах присутствуют как сам умифеновир, так и один из важнейших его метаболитов (метаболит III), образование которого обусловлено окислением атома серы с образованием сульфоновой группы. После прохождения всех стадий очистки (механическая, биологическая и дезинфекция активным хлором) содержание фармацевтического препарата снижается на два порядка, что свидетельствует об эффективности используемой технологии подготовки воды в отношении данного загрязнителя. Следует также отметить, что в речной воде не удалось обнаружить контролируемые соединения, что может объясняться как значительным разбавлением очищенных стоков после сброса, так и возможным накоплением остаточных количеств донными отложениями. Обращает на себя внимание изменение соотношения умифеновир/ метаболит III до и после очистки. На выходе с очистных сооружений доля метаболита значительно увеличивается, что может быть вызвано интенсификацией окислительных процессов с участием умифеновира в аэротенках с активным илом или в ходе дезинфекции.

Наибольшие концентрации умифеновира обнаружены в экстрактах активного ила, которые достигают 3.7 ± 0.4 мкг/кг. Помимо этого обнаружены все контролируемые продукты, среди которых доминирует метаболит III (600 ± 50 мкг/кг), а минимально содержание метаболита I (27 ± 3 мкг/кг).

Несмотря на очевидную эффективность удаления умифеновира при очистке сточных вод, значительная доля донных фармацевтического препарата и его метаболитов способна накапливаться активным илом. Последний после выведения из технологического процесса вывозится и складировается на иловых площадках, где может выступать в

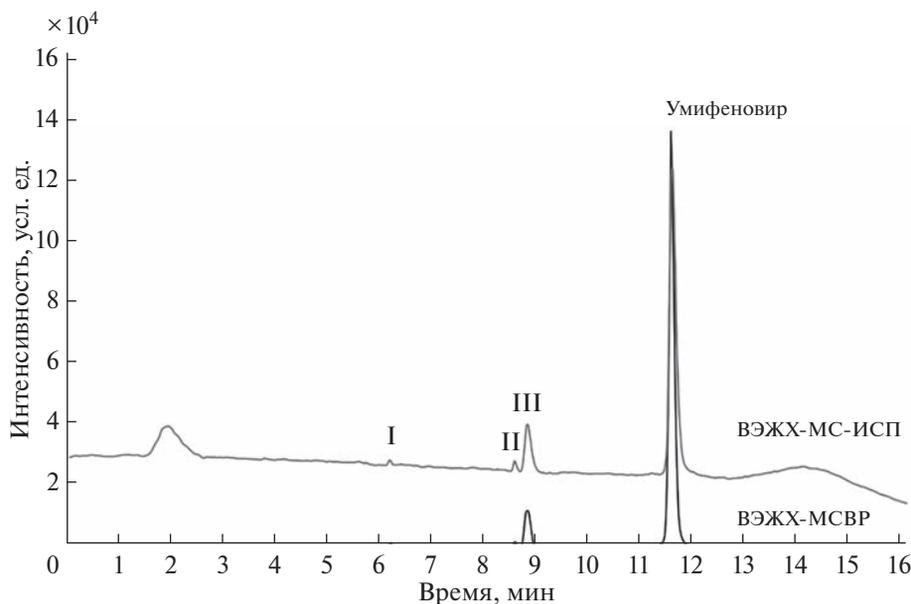


Рис. 3. Хроматограммы экстракта активного ила (образец АИ), полученные методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с детектированием в режиме масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (сверху) и масс-спектрометрии высокого разрешения (снизу).

Таблица 3. Результаты определения умифеновира и его метаболитов в реальных объектах

Параметр	Метаболит I ($t_R = 6.2$)	Метаболит II ($t_R = 8.7$)	Метаболит III ($t_R = 8.9$)	Умифеновир ($t_R = 11.8$)	
Брутто формула	$C_{16}H_{21}BrN_2O_4$	$C_{21}H_{23}BrN_2O_4S$	$C_{22}H_{25}BrN_2O_4S$	$C_{22}H_{25}BrN_2O_3S$	
Молекулярная масса	385.2578	447.3287	493.4216	477.4222	
Массовая доля (Br), %	21	18	16	17	
Концентрация, нг/л	СВ-1	—*	—	43 ± 3	
	СВ-2	—	—	7.6 ± 0.5	
	РВ	—	—	—	
Содержание, мкг/кг	АИ	27 ± 3	98 ± 8	600 ± 50	3700 ± 400

* Ниже НГОК.

качестве источника вторичного загрязнения объектов окружающей среды. Это обуславливает необходимость проведения контроля содержания умифеновира и его метаболитов не только в сбрасываемых очищенных водах, но и в местах хранения отработанного активного ила и прилегающих водоемах.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП НО «Арктика» Северного (Арктического) федерального университета им. М.В. Ломоносова при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 21-13-00377).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Suda K.J., Hunkler R.J., Matusiak L.M., Schumock G.T. Influenza antiviral expenditures and outpatient prescriptions in the United States, 2003–2012 // *Pharmacotherapy*. 2015. V. 35. № 11. P. 991. <https://doi.org/10.1002/phar.1656>
2. Трофимов Ф.А., Цышкова Н.Г., Зотова С.А., Гринева А.Н. Синтез нового противовирусного препарата Арбидола // *Фармацевтический химический журнал*. 1993. Т. 27. № 1. С. 75. (Trofimov F.A., Tsyshkova N.G., Zotova S.A., Grineva A.N. Synthesis of a new antiviral agent, arbidole // *Pharm. Chem. J.* 1993. V. 27. № 1. P. 75.) <https://doi.org/10.1007/BF00772858>
3. Pécheur E.I., Borisevich V., Halfmann P., Morrey J.D., Smee D.F., Prichard M., Mire C.E., Kawaoka Y., Geisbert T.W., Polyak S.J. The synthetic antiviral drug arbidol inhibits globally prevalent pathogenic viruses // *J. Virol.* 2016. V. 90. № 6. P. 3086. <https://doi.org/10.1128/JVI.02077-15>

4. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Арбидол. https://arbidol.ru/files/arbidol_maksimum_kapsuly_200_mg.pdf?v=20210224 (дата обращения 08.04.2023).
5. Kuroda K., Li C., Dhangar, K., Kumar M. Predicted occurrence, ecotoxicological risk and environmentally acquired resistance of antiviral drugs associated with COVID-19 in environmental waters // *Sci. Total Environ.* 2021. V. 776. Article 145740. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145740>
6. Ul'yanovskii N.V., Kosyakov D.S., Sypalov S.A., Varsegov I.S., Shavrina I.S., Lebedev A.T. Antiviral drug Umifenovir (Arbidol) in municipal wastewater during the COVID-19 pandemic: Estimated levels and transformation // *Sci. Total Environ.* 2022. V. 805. Article 150380. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150380>
7. Proskurnina E.V., Izmailov D.Y., Sozarukova M.M., Zhuravleva T.A., Leneva I.A., Poromov A.A. Antioxidant potential of antiviral drug umifenovir // *Molecules.* 2020. V. 25. № 7. P. 1577. <https://doi.org/10.3390/molecules25071577>
8. Muller A.L., Mello P.A., Mesko M.F., Duarte F.A., Dressler V.L., Muller E.I., Flores E.M. Bromine and iodine determination in active pharmaceutical ingredients by ICP-MS // *J. Anal. At. Spectrom.* 2012. V. 27. № 11. P. 1889. <https://doi.org/10.1039/C2JA30212H>
9. Xie R., Johnson W., Spayd S., Hall G.S., Buckley B. Arsenic speciation analysis of human urine using ion exchange chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry // *Anal. Chim. Acta.* 2006. V. 578. № 2. P. 186. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.06.076>
10. de Souza S.S., Campiglia A.D., Barbosa Jr F. A simple method for methylmercury, inorganic mercury and ethylmercury determination in plasma samples by high performance liquid chromatography–cold-vapor-inductively coupled plasma mass spectrometry // *Anal. Chim. Acta.* 2013. V. 761. P. 11. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.11.038>
11. McSheehy S., Pohl P., Łobiński R., Szpunar J. Investigation of arsenic speciation in oyster test reference material by multidimensional HPLC-ICP-MS and electrospray tandem mass spectrometry (ES-MS-MS) // *Analyst.* 2001. V. 126. № 7. P. 1055. <https://doi.org/10.1039/B102225N>
12. Bierla K., Dernovics M., Vacchina V., Szpunar J., Bertin G., Lobinski R. Determination of selenocysteine and selenomethionine in edible animal tissues by 2D size-exclusion reversed-phase HPLC-ICP MS following carbamidomethylation and proteolytic extraction // *Anal. Bioanal. Chem.* 2008. V. 390. P. 1789. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-1883-5>
13. Klencsár B., Li S., Balcaen L., Vanhaecke F. High-performance liquid chromatography coupled to inductively coupled plasma–Mass spectrometry (HPLC-ICP-MS) for quantitative metabolite profiling of non-metal drugs // *Trends Anal. Chem.* 2018. V. 104. P. 118. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.020>
14. Liu D., Chen G., Huo Z., Liu H., Ji W., Liu H. A study of bromine speciation in human serum and ambroxol determination in rat plasma by liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry // *Chromatographia.* 2019. V. 82. P. 927. <https://doi.org/10.1007/s10337-019-03730-z>
15. Brauer G. Handbook of Preparative Inorganic Chemistry. New York: Academic Press Inc., 1993. 1906 p.
16. Lyon T.D.B., Robin P.A., Watson W.S., Littlejohn D. Determination of elevated concentrations of bromine in serum by ICP-MS and ICP-OES // *J. Anal. At. Spectrom.* 2005. V. 20. № 8. P. 757. <https://doi.org/10.1039/B417529H>
17. Kosyakov D.S., Ul'yanovskii N.V., Popov M.S., Latkin T.B., Lebedev A.T. Halogenated fatty amides – A brand new class of disinfection by-products // *Water Res.* 2017. V. 127. P. 183. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.10.008>