

УДК 543.544

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОТИНИНА В МОЧЕ И СТОЧНЫХ ВОДАХ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С ТАНДЕМНЫМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

М. Чжан<sup>1\*</sup>, А.В. Пирогов<sup>1</sup>, А.А. Максимова<sup>1</sup>, В.И. Добровольский<sup>2</sup>,  
А.А. Стахеев<sup>2</sup>, Ю.В. Абрамова<sup>2</sup>, А.А. Прядка<sup>2</sup>, А.П. Жариков<sup>3</sup>, А.Е. Носырев<sup>4</sup>,  
В.В. Рожанец<sup>3</sup>, О.А. Шпигун<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, кафедра аналитической химии; <sup>2</sup>ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт физико-технических и радиотехнических измерений»; <sup>3</sup>НИИ наркологии, филиала ФГБУ «ФМИЦПН» имени В.П. Сербского Минздрава России; <sup>4</sup>НИИ фармации, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России; \*e-mail: tongjoo0813@gmail.com)

Представлен способ извлечения и последующего количественного определения котинина в моче и сточных водах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемным масс-спектрометрическим детектированием. Метод характеризуется низкими пределами обнаружения, высокой чувствительностью и селективностью. Подобраны оптимальные условия твердофазной экстракции котинина из мочи и сточных вод. Данная методика позволяет проводить достоверную оценку содержания котинина в моче «активного» и «пассивного» курильщиков и в сточных водах.

**Ключевые слова:** котинин, высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия, сточные воды, моча, твердофазная экстракция.

Курение табака – одна из серьезных медико-социальных проблем нашего времени, причина множества болезней и преждевременной смертности. Ежегодно в мире курение становится прямой или опосредованной причиной смерти трех миллионов человек. В России курят около 40% мужчин и 15% женщин, что позволяет говорить о наличии эпидемии курения. С принятием антитабачного закона в России и ограничением курения в общественных местах особую актуальность приобретает определение численности курящих в населенных пунктах в режиме реального времени [1].

Метаболизм никотина (период полураспада около 2 ч) происходит разными путями, главным образом, путем биотрансформации в котинин (70–80%), период полураспада которого составляет 15–20 ч, а следовательно, он может быть обнаружен в организме в течение нескольких дней после употребления табака [2].

Котинин можно использовать как хороший индикатор воздействия табачного дыма на организм человека, поскольку его уровень в моче пропорционален суммарному воздействию табачного дыма. И хотя содержание котинина

варьирует в зависимости от формы употребления табака (электронные сигареты, никотин-замещающая терапия), это соединение широко используют в качестве биологического маркера для определения статуса курения табака и оценки воздействия на окружающую среду табачного дыма [3].

Такой параметр, как содержание котинина в сточных водах, можно использовать для оценки суммарного потребления табака и уровня его потребления на душу населения. Проведение работ в этом направлении позволит определять число жителей, обслуживаемых соответствующими очистными сооружениями в режиме реального времени, что в свою очередь откроет широкие возможности для эпидемиологических исследований [4].

Уровень котинина в моче активного курильщика составляет 300 мкг/л, у человека, подвергающегося пассивному или легкому курению – от 10 до 200 мкг/л. Присутствие котинина в бытовых сточных водах варьируется от 1 до 4 мкг/л [5]. Столь низкое содержание котинина в объектах исследования требует разработки чувствительной методики определения котинина.

Цель данной работы – разработка высокочувствительного способа определения котинина в моче и сточных водах (без предварительного концентрирования) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с масс-спектрометрическим детектированием.

### Экспериментальная часть

**Приборы и материалы.** В ходе работы использовали следующие реактивы: котинин, дейтерированный котинин ( $d_3$ ) («Sigma-Aldrich», США,  $\geq 98\%$ ), метанол, ацетонитрил, муравьиная кислота, гидроксид натрия, гидрофосфат натрия двуводный, дигидрофосфат натрия двуводный, аммиак (25%-й), ацетат аммония, дигидрофосфат аммония, хлороформ (все «Panreac», Испания, «х.ч.»), дихлорметан, этилацетат («Компонент-реактив», Россия, «ч.д.а.»), уксусная кислота («Химмед», Россия, «х.ч.»), деионизованная вода, образцы мочи и сточных вод.

Для определения котинина в моче и сточных водах использовали жидкостной хроматограф «Agilent 1290» («Agilent Technologies», США) с автоматическим инжектором и tandemным трехкврупольным масс-спектрометром «Agilent 6460» («Agilent Technologies», США), оснащенным источником ионизации электро-распылением (ИЭР). Сбор данных и обработку хроматограмм проводили с помощью программного обеспечения MassHunter («Agilent Technologies», США). Для ВЭЖХ-анализа применяли колонку Synergi Hydro (250×4,6 мм), диаметр зерна сорбента 4 мкм («Phenomenex», США). Для отбора аликвот использовали автоматические дозаторы с диапазонами установки отбираемого объема в интервалах 10–100, 20–200, 100–1000 и 1000–5000 мкл (предел допустимой относительной погрешности измерения не более  $\pm 5\%$ , «LABMATE», Польша). Взвешивание точных навесок проводили на весах «ExplorerPro» («Ohaus Corporation», США), точность которых составляла 0,0001 г. Для центрифугирования образцов использовали центрифугу «СМ-50» («Elmi», Латвия). Для проведения ультразвуковой жидкостной экстракции и дегазации подвижной фазы применяли ультразвуковую ванну «УЗВ-4.0» (ПКФ «Сапфир», Россия). Для упаривания растворителя использовали роторный испаритель с автоматизированной вакуумной станцией («Buchii», Швейцария). Измерение рН растворов проводили на рН-метре «PB-11» («SartoriusAG», Германия). Для проведения твердофазной экстракции использовали вакуумную

установку (манифолд), вакуумный насос «Buchii V-100» (Швейцария), патроны для твердофазной экстракции «Chromabond SA» (сорбент на основе силикагеля с привитыми группами бензолсульфо-кислоты) размер пор 60 мкм, размер частиц 45 мкм, удельная поверхность 500 м<sup>2</sup>/г («Macherey-Nagel», Германия).

**Пробоподготовка образцов мочи и сточных вод.** Рабочие растворы готовили непосредственно в день анализа разбавлением аликвот исходного раствора деионизованной водой. При подготовке образцов мочи пробу центрифугировали (15 тыс. об/5 мин), затем надосадочную жидкость разбавляли деионизованной водой в 3 раза. Полученный раствор снова подвергали центрифугированию (15 тыс. об/5 мин). Затем добавляли необходимое количество внутреннего стандарта и проводили экстракцию. При подготовке образцов сточной воды пробу центрифугировали (15 тыс. об / 5 мин), добавляли раствор внутреннего стандарта и проводили экстракцию.

**Твердофазная экстракция.** К точному объему пробы добавляли точный объем раствора внутреннего стандарта и перемешивали. Соблюдая рекомендованные производителем условия для каждого сорбента, сравнивали степень извлечения котинина при использовании следующих картриджей:

Chromabond SA (сорбент на основе силикагеля с привитыми группами бензолсульфо-кислоты),

Chromabond C<sub>18</sub> (сорбент – эндкепированный силикагель с привитыми октадецилсилильными группами).

Порядок проведения твердофазной экстракции (ТФЭ) с помощью Chromabond SA:

1) последовательным пропусканием через картридж по 3 мл метанола и воды проводили кондиционирование и уравнивание сорбента патрона;

2) со скоростью 5 мл/мин через сорбент пропускали пробу объемом 2 мл;

3) проводили промывку картриджа с определяемым соединением последовательным добавлением по 3 мл 5%-й уксусной кислоты, смеси метанол : вода (50:50) и смеси метанол : ацетонитрил : уксусная кислота (40:40:20) для удаления нейтральных и кислотных примесей;

4) проводили элюирование смесью метанол : ацетонитрил : аммиак (2 мл) в соотношении (47,5:47,5:5).

Порядок проведения ТФЭ с помощью Chromabond C<sub>18</sub>:

1) последовательным пропусканием через картридж по 4 мл метанола и воды проводили кондиционирование и уравнивание сорбента патрона;

2) пробу объемом 2 мл пропускали через сорбент со скоростью 5 мл/мин;

3) проводили промывку картриджа 3 мл воды, а затем сушили сорбент, пропуская воздух в течение 3 мин;

4) проводили элюирование, используя 1,5 мл дихлорметана, а затем 1 мл смеси дихлорметана, изопропанола и аммиака в соотношении 78:20:2;

5) полученный экстракт упаривали на роторном испарителе при температуре 50 °С, остаток растворяли в 2 мл смеси ацетонитрил : вода (50:50).

**Условия ВЭЖХ-МС/МС анализа.** Разделение компонентов пробы проводили в изократическом режиме на колонке Synergi Hydro (250×4,6 мм), диаметр зерна сорбента 4 мкм («Phenomenex», США) с предзащитной колонкой Thermo scientific с фазой C18 (10×4 мм, 3 мкм). Температура термостата колонки составляла 35 °С. Объем вводимой пробы 4 мкл. Использовали изократический режим элюирования. Подвижная фаза – вода : ацетонитрил (50:50), скорость потока 0,7 мл/мин. В качестве источника ионизации использовали источник ИЭР в режиме регистрации положительно заряженных ионов. Напряжение на капилляре составило 3,5 кВ. Скорость потока газа периферийного слоя 11 л/мин. Температура газа периферийного слоя 300 °С, температура на распылителе 325 °С, скорость потока газа (азота) 8 л/мин. Напряжение в ячейке соударений 5 В, напряжение на фрагменторе 110 В. Для детектирования котинина в режиме мониторинга множественных реакций использовали ММР-переходы:

$$m/z = 177,10 \rightarrow m/z = 80,05;$$

$$m/z = 177,10 \rightarrow m/z = 98,06.$$

Для детектирования внутреннего стандарта использовали ММР-переходы:

$$m/z = 180,10 \rightarrow m/z = 80,05;$$

$$m/z = 180,10 \rightarrow m/z = 101,06.$$

Для первого ММР-перехода энергия соударения составила 20 эВ, для второго ММР-перехода – 30 эВ. Время сканирования одного ММР-перехода 200 мс.

### Результаты и их обсуждение

Моча представляет собой сложную по составу биологическую жидкость, в которую, помимо воды (97%), входят различные органические и неорганические соединения, такие как минеральные соли, продукты распада белковых веществ (мочевина, аминокислоты, креатинин), а также микроэлементы, инактивированные гормоны и ферменты. В сточных водах значительная доля химических веществ (загрязнений) присутствует в составе взвешенных в воде мелких частиц, представляющих дисперсную фазу стока. Во взвешенном состоянии в воде находятся многие минеральные загрязнители – песок, глина, шлаки и органические вещества растительного и животного происхождения (остатки растений, плодов, злаков, овощей, бумага и т.д.). Из вышесказанного следует, что выбор условий проведения экстракции котинина представляет собой важный этап анализа.

#### Выбор условий жидкость-жидкостной экстракции

В данной работе проведен сравнительный анализ таких экстрагентов, как тетрахлорметан, хлороформ, дихлорметан и этилацетат. В качестве

Т а б л и ц а 1

**Степень извлечения котинина из модельных растворов разных концентраций методом жидкостной экстракции. Органический растворитель – хлороформ ( $n = 3, P = 0,95$ )**

Концентрация котинина, мг/л	Степень извлечения, %
0,5	68±8
1	75±7
5	92±7
10	66±8
50	74±6

Т а б л и ц а 2

Степень извлечения котинина из модельных растворов разных концентраций методом ТФЭ с использованием картриджей Chromabond SA ( $n = 3, P = 0,95$ )

Концентрация котинина, мкг/л	Степень извлечения, %	$s_p, \%$
0,1	93±9	4
1,0	95±15	7
10	98±16	8
100	93±12	6
500	92±11	5

образцов исследования использовали модельный раствор котинина (5 мг/л). Максимальная степень извлечения (87±5%) получена при использовании хлороформа. Проведена оценка воспроизводимости экстракции при разной концентрации котинина. На основании результатов, представленных в табл. 1, сделан вывод о том, что метод жидкостной экстракции не подходит для определения котинина в широком диапазоне концентраций, поскольку степень извлечения зависит от его концентрации.

### Выбор сорбента для твердофазной экстракции

Установлено, что использование картриджа Chromabond C<sub>18</sub> с октадецилсилильными группами позволяет извлечь лишь 57% котинина, в то время как степень извлечения с использованием картриджа Chromabond SA составляет 98%. Причем степень извлечения не зависит от концентрации котинина в исследуемом диапазоне концентраций. В ходе дальнейшей работы использовали

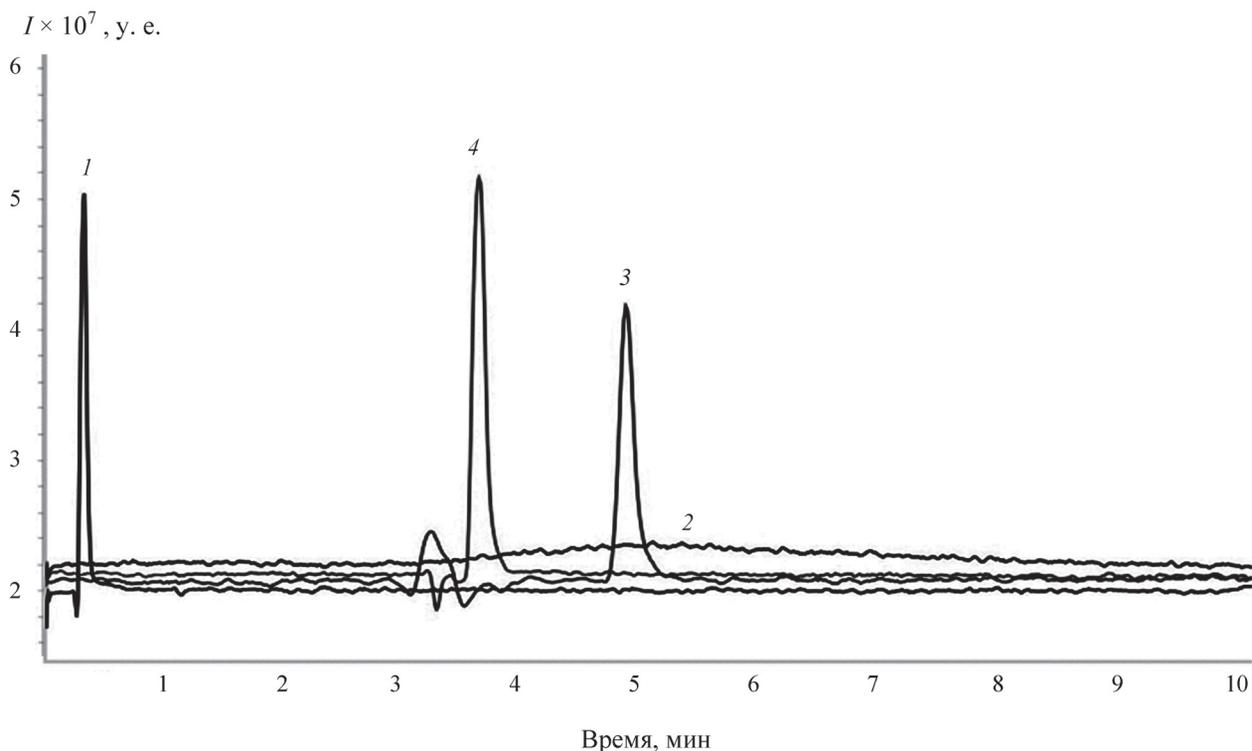


Рис. 1. Наложение хроматограмм, полученных с использованием следующих колонок: 1 – Zorbax Eclipse C18, 2 – Synergi Fusion-RP, 3 – Poroshell HILIC, 4 – Synergi Hydro; объем вводимой пробы 4 мкл,  $c_k = 1$  мкг/л, подвижная фаза – 0,1%-я муравьиная кислота : ацетонитрил (50:50), скорость подвижной фазы 0,7 мл/мин. Режим детектирования по полному ионному току, ИЭР

картридж Chromabond SA, где котинин удерживается по ионообменному механизму.

Для оценки воспроизводимости степени извлечения котинина методом ТФЭ готовили серию модельных растворов котинина с концентрацией 0,1; 1; 10; 100 и 500 мкг/л. Результаты приведены в табл. 2.

### **Выбор неподвижной фазы**

В работе сравнивали следующие хроматографические колонки:

Agilent Zorbax Eclipse C18 (150×4,6 мм, размер частиц 5 мкм);

Phenomenex Synergi Fusion-RP (250×4,6 мм, размер частиц 4 мкм);

Agilent Poroshell HILIC (250×4,6 мм, размер частиц 4 мкм);

Phenomenex Synergi Hydro (250×4,6 мм, размер частиц 4 мкм).

Поскольку котинин – гидрофильное соединение, целесообразно использовать неподвижную фазу с полярным эндкеппингом, что обеспечивает хорошее удерживание неполярных и сильнополярных соединений. Из рис. 1 видно, что наибольшую интенсивность пика обеспечивает колонка Phenomenex Synergi Hydro. Для сравнения эффективности колонок провели расчет числа теоретических тарелок на 1 м колонки. Максимальное число теоретических тарелок (34200±700) было получено при использовании колонки Phenomenex Synergi Hydro.

Для сокращения времени анализа варьировали температуру термостата колонки ВЭЖХ от 25 до 45 °С. Выбранная температура термостата колонки составила 35 °С.

### **Выбор условий масс-спектрометрического детектирования**

Температура периферийного и осушающего газа, скорость потока газа, давление распылителя и напряжения на капилляре выбраны по рекомендациям производителя.

### **Выбор ММР-переходов, энергии соударений и напряжения на фрагменторе**

Для подбора оптимальных условий масс-спектрометрического детектирования в режиме прямого ввода использовали раствор котинина (100 мкг/л) в режиме сканирования ионов (от  $m/z = 50$  до  $m/z = 300$ ).

По наиболее интенсивному пику была определена масса родительского иона, равная 177,10 (рис. 2). Наибольшую чувствительность можно

достичь, используя режим ММР в варианте tandemного масс-спектрометрического детектирования. На рис. 3 приведен масс-спектр дочерних ионов при значении энергии соударения 50 эВ.

Для количественного анализа обычно выбирают ММР-переход с максимальной интенсивностью. Для подтверждения выбран дополнительный переход с максимальным значением  $m/z$ . Для количественного анализа котинина мы выбрали следующие ММР-переходы:

$$m/z = 177,10 \rightarrow m/z = 80,05;$$

$$m/z = 177,10 \rightarrow m/z = 98,06.$$

На интенсивность сигнала определенного ММР-перехода большое влияние оказывает величина энергии соударений (ЭС). Ее выбор зависит в основном от устойчивости иона-предшественника и требуемой степени его фрагментации. Для определения величин ЭС, при которых наблюдается максимальная интенсивность выбранных ММР-переходов, построены зависимости интенсивности их сигналов от величины ЭС (рис. 4). Выбраны энергии соударения 30 и 20 эВ для переходов  $m/z = 177,10 \rightarrow m/z = 80,05$  и  $m/z = 177,10 \rightarrow m/z = 98,06$  соответственно.

Напряжение на фрагменторе может оказывать значительное влияние на выход ионизации пробы и, соответственно, на чувствительность определения. Построены зависимости интенсивности сигнала котинина от напряжения на фрагменторе (рис. 5). Для выбора оптимального потенциала фрагментации сравнивали интенсивность сигналов ММР-переходов от 10 до 180 В с шагом изменения потенциала 10 В. Оптимальное значение напряжения на фрагменторе 110 В.

### **Линейность**

Для оценки метрологических характеристик предложенного подхода построена градуировочная зависимость для определения котинина методом ВЭЖХ-МС/МС в выбранных условиях для серии из 12 испытуемых растворов с содержанием котинина в диапазоне концентраций 0,1–1000 мкг/л.

Методом наименьших квадратов рассчитывали уравнение линейной регрессии зависимости площади пика от концентрации котинина и метрологические параметры уравнения линейной регрессии (табл. 3).

Пики, соответствующие котинину, обнаружены в «холостом» растворе. Холостой раствор получали путем проведения процедуры ТФЭ образца воды с добавлением дейтерированно-

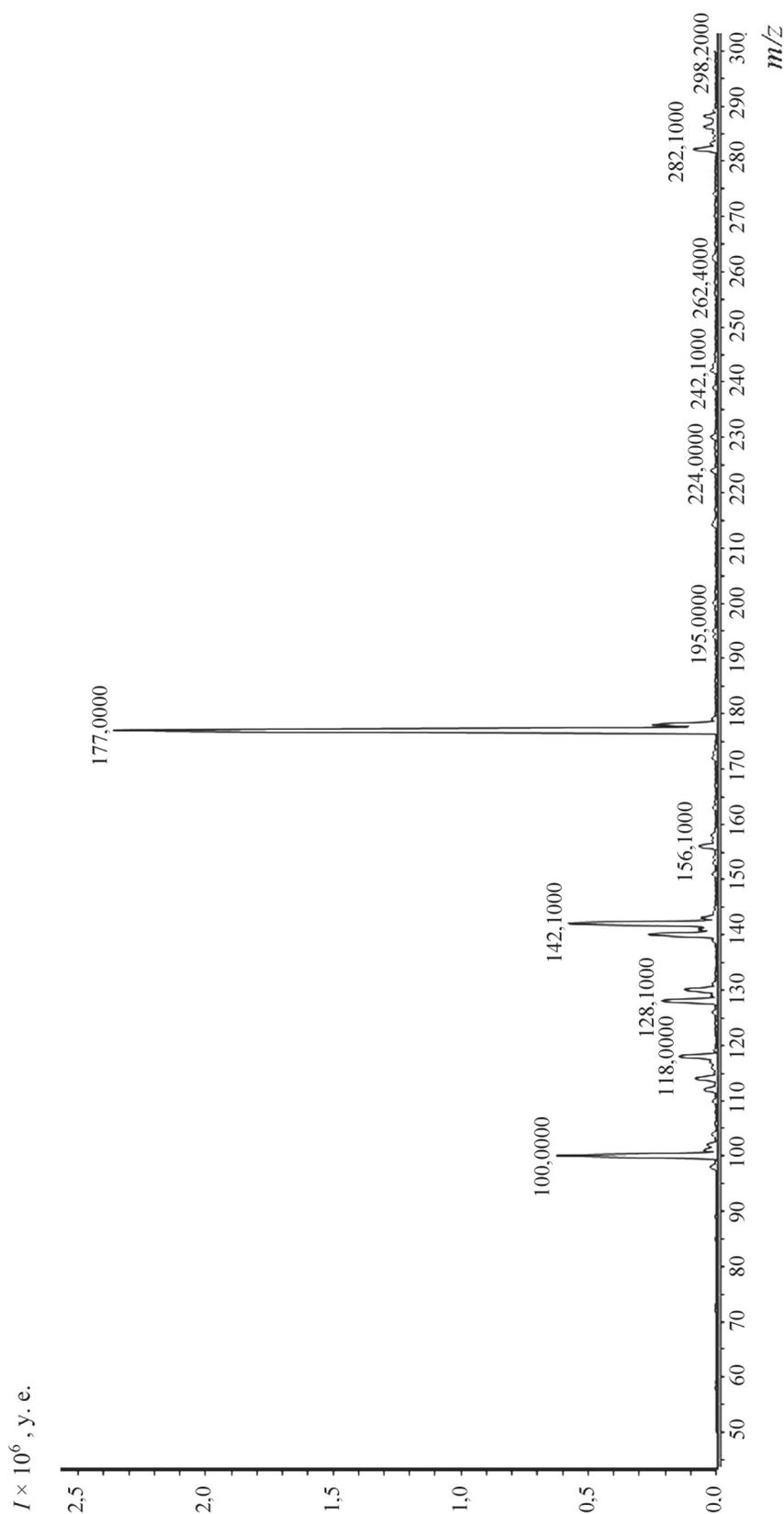


Рис. 2. Масс-спектр раствора когинина ( $c_k = 100$  мкг/л). Колонка Synergi Hydro RP 80A ( $250 \times 4,6$  мм  $\times$  4 мкм). Объем вводимой пробы 4 мкл,  $c_s = 1$  мкг/л. Подвижная фаза – 0,1%-я муравьиная кислота : ацетонитрил (50:50), скорость подвижной фазы 0,7 мл/мин. Детектирование по полному ионному току в диапазоне значений  $m/z$ , равных 50–300

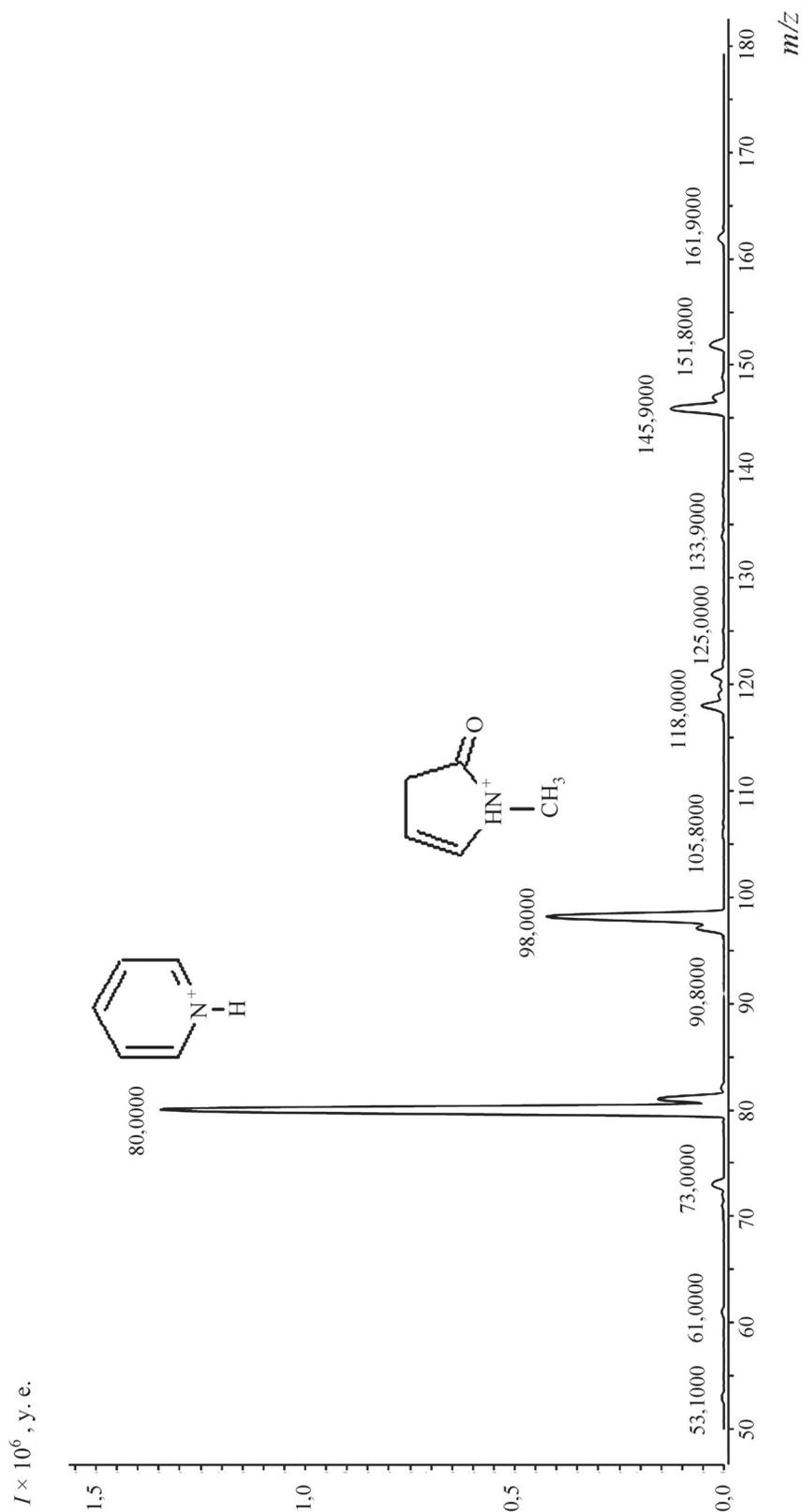


Рис. 3. Масс-спектр электронной ионизации котинина (ЭС = 50 эВ). Колонка Supelco Нудго RP 80А (250 × 4,6 мм × 4 мкм). Объем вводимой пробы 4 мкл,  $c_k = 1$  мкг/л. Подвижная фаза – 0,1%-я муравьиная кислота : ацетонитрил (50:50), скорость подвижной фазы 0,7 мл/мин

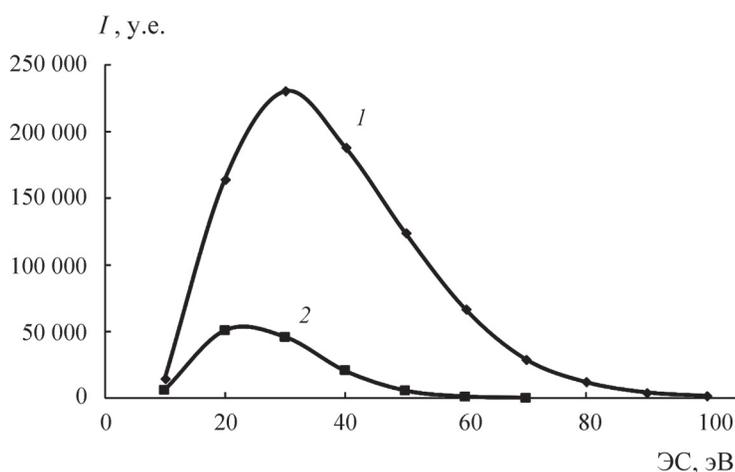


Рис. 4. Зависимость интенсивности сигналов переходов: 1 –  $m/z = 177,10 \rightarrow m/z = 80,05$ ; 2 –  $m/z = 177,10 \rightarrow m/z = 98,06$  от значений энергии соударения

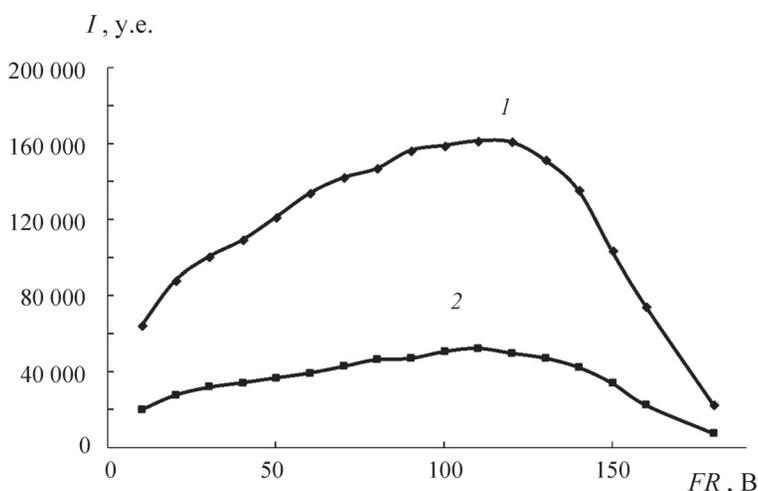


Рис. 5. Зависимость интенсивности сигнала котинина от напряжения на фрагменторе для выбранных ММР-переходов: 1 –  $m/z = 177,10 \rightarrow m/z = 80,05$ ; 2 –  $m/z = 177,10 \rightarrow m/z = 98,06$

Т а б л и ц а 3

**Диапазоны линейности градуировочной зависимости при определении котинина методом ВЭЖХ-МС/МС ( $n = 3, P = 0,95$ )**

Номер линейного диапазона	Линейный диапазон	Уравнение градуировочной зависимости
1	0,1–10 мкг/л	$S_i/S_{IS} = (65,1 \pm 5,8) \times 10^{-2} \times c_i + (0,18 \pm 0,23)$ ( $P = 0,95; n = 3, r = 0,999$ )*
2	5–1000 мкг/л	$S_i/S_{IS} = (62,3 \pm 1,0) \times 10^{-2} \times c_i + (1,46 \pm 5,20)$ ( $P = 0,95; n = 3, r = 0,998$ )*

\* $S_{IS}$  – площадь хроматографического пика внутреннего стандарта (дейтерированный котинин, 0,91 мкг/л).

го котинина. Никотин из атмосферного воздуха в обычных условиях может превращаться в котинин окружающей среды, чем можно объяснить его присутствие в растворителях и реагентах. Со-

держание котинина в холостом растворе характеризуется хорошей воспроизводимостью ( $s_r = 11$ ), дальнейшие расчеты проводили, учитывая присутствие котинина в фоновых концентрациях.

При низких концентрациях (от 50 нг/мл и ниже) значительное влияние оказывает фоновое содержание котинина. При анализе реальных объектов целесообразно рассматривать два линейных участка: от 0,1 до 10 мкг/л и от 5 до 1000 мкг/л. Предел обнаружения составляет 0,03 мкг/л без предварительного концентрирования.

### Прецизионность

Прецизионность методики оценивали путем определения сходимости результатов при повторении анализа на шести пробах одним специалистом в один день на одном и том же оборудовании. Определяли также внутрिलाбораторную прецизионность при проведении анализа одной и той же пробы в одной лаборатории с полным повторением процедуры ее приготовления, но при выполнении измерений другим специалистом.

Сходимость оценивали путем расчета относительного стандартного отклонения (RSD), полученного по последовательным определениям, выполненным одним специалистом в один день. Оценку внутрिलाбораторной прецизионности при установленном доверительном интервале определяли по F-критерию Фишера и *t*-критерию Стьюдента. Результаты представлены в табл. 4. Показано, что методика обладает хорошей сходимостью (RSD менее 5%) и внутрिलाбораторной прецизионностью, поскольку выполнены все критерии приемлемости.

### Стабильность растворов

Исследовали стабильность модельного раствора при комнатной температуре (25 °С). Анализ пробы проводили сразу после приготовления, а также через 30, 60 мин и далее до тех пор, пока разница с первоначальным измерением не составила более

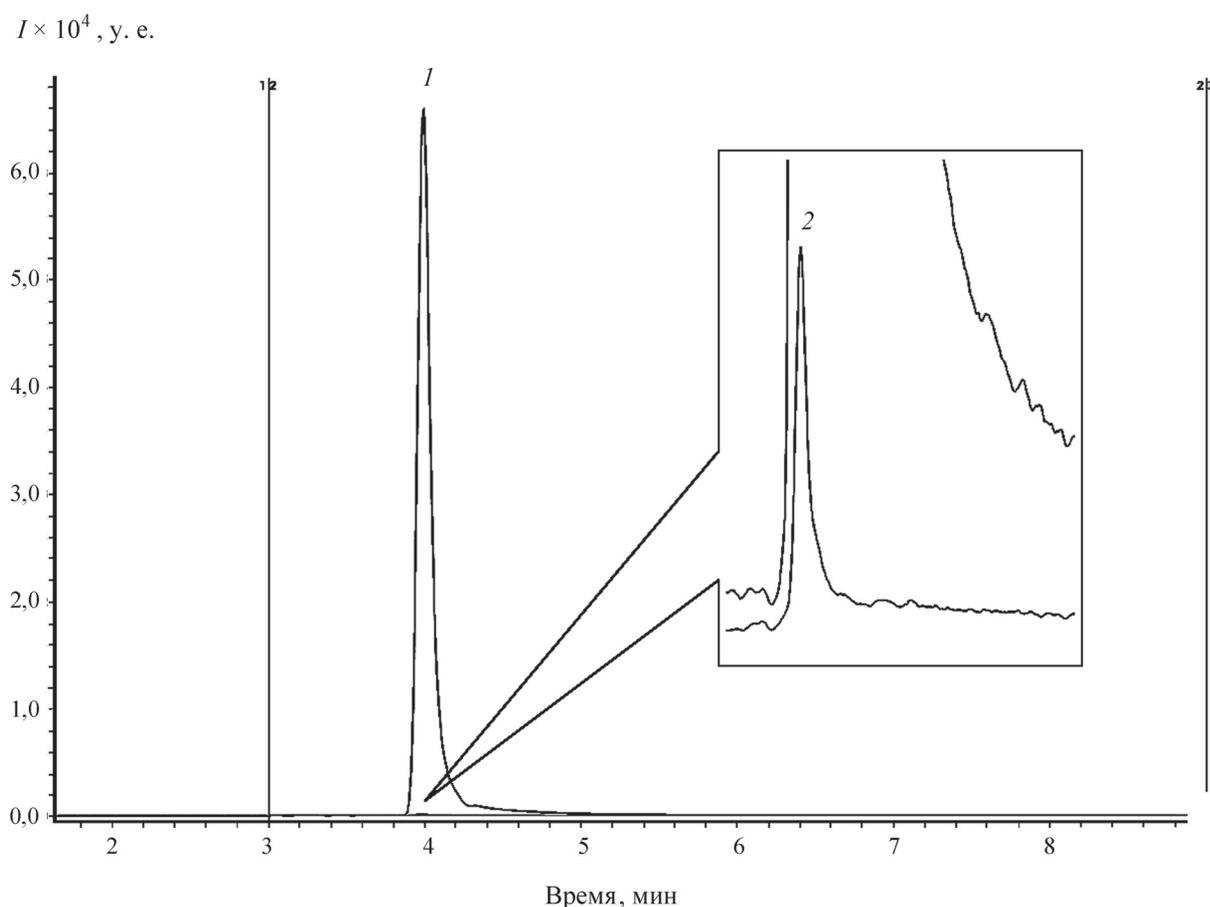


Рис. 6. Наложение хроматограмм мочи активного курильщика (1) и пассивного курильщика (2). Колонка: Synergi Hydro RP 80A (4,6×250 мм; 4 мкм). Подвижная фаза – ацетонитрил:вода в соотношении 50:50. Скорость потока 0,7 мл/мин. Температура колонки 35 °С. Детектирование в режиме мониторинга множественных реакций при положительной ионизации. Переход  $m/z$  177,10 → 80,05 (30 эВ);  $m/z$  177,10 → 98,06 (20 эВ). Объем вводимой пробы 4 мкл

Т а б л и ц а 4

**Внутрилабораторная прецизионность определения котинина**

Номер пробы	Специалист 1	Специалист 2
	$S_{к.}, \text{ у.е. } (c_{к.} = 500 \text{ мкг/л})$	
1	1460	1580
2	1490	1600
3	1490	1620
4	1520	1520
5	1570	1610
6	1590	1540
Среднее	1520	1578
Параметр	специалист 1	специалист 2
SD	50,60	40,21
RSD, %	3,33	2,55
Расчетный критерий Фишера $F_{\text{расч.}}$	1,58	
Табличный критерий Фишера $F_{\text{табл.}}$ (0,95; 5,5)	5,05	
Расчетный критерий Стьюдента $t_{\text{расч.}}$	2,21	
Табличный критерий Стьюдента $t_{\text{табл.}}$ (0,95; 10)	2,23	

Т а б л и ц а 5

**Результаты хроматографического определения котинина в реальных объектах ( $n = 3, P = 0,95$ )**

Объект (проба)	Концентрация, мкг/л	$s_r, \%$
Сточная вода (№ 1)	1,4±0,1	9
Сточная вода (№ 2)	1,0±0,1	11
Сточная вода (№ 3)	1,5±0,1	9
Моча (отсутствие курения)	0,8±0,2	14
Моча (активное курение)	996±21	6

5%. Установлено, что раствор сохраняет стабильность в течение 48 ч.

**Робастность**

В ходе исследования робастности методики было установлено, что варьирование таких параметров

хроматографирования, как состав подвижной фазы (ацетонитрила ±5%), температура колонки (±5 °С), скорость подвижной фазы (±0,2 мл/мин), не оказывает значимого влияния на количество найденного котинина в исследуемых объектах. Относительное отклонение не превышает 10,0%.

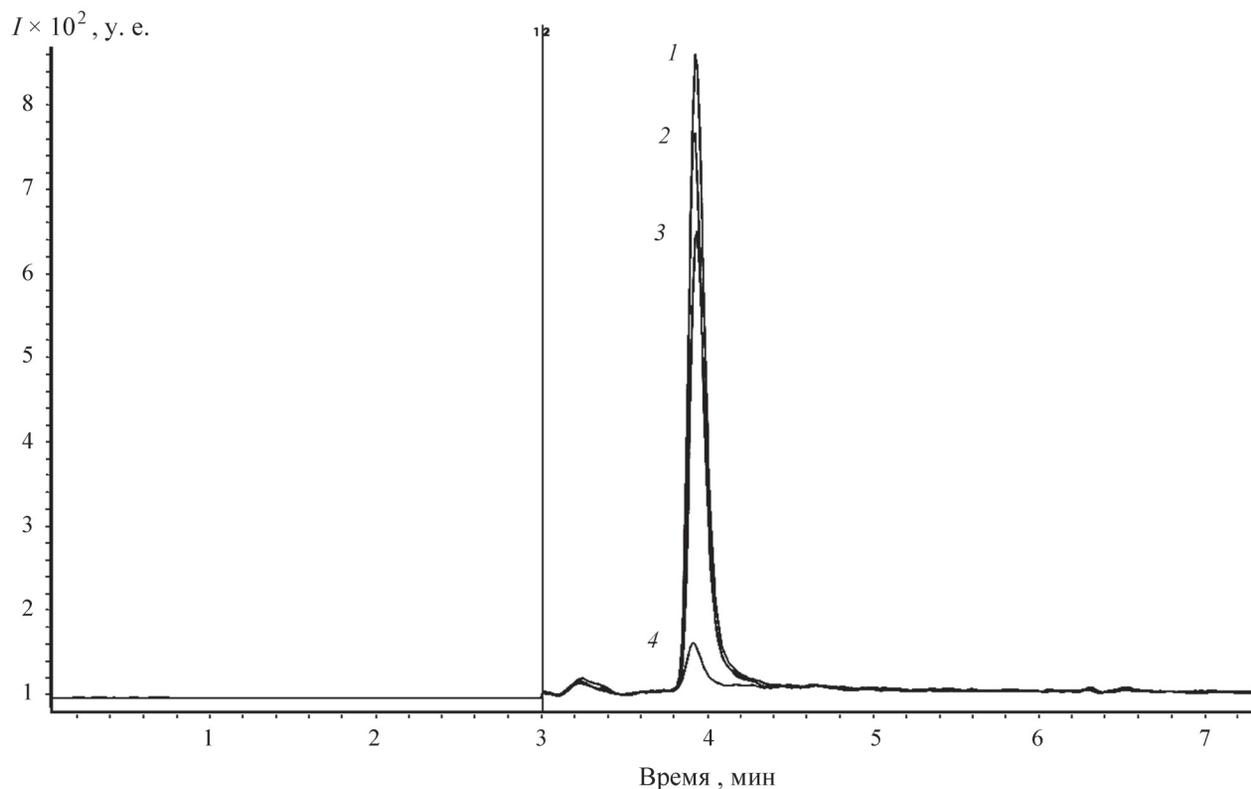


Рис. 7. Наложение хроматограмм образцов сточных вод, отобранных в Московской области: 1 – канал № 1, 2 – канал № 2, 3 – канал № 3, 4 – холостой раствор. Колонка: Synergi Hydro RP 80A (4,6×250 мм; 4 мкм). Подвижная фаза – ацетонитрил:вода в соотношении 50:50. Скорость потока 0,7 мл/мин. Температура колонки 35 °С. Детектирование в режиме мониторинга множественных реакций при положительной ионизации. Переход  $m/z$  177.10 → 80,05 (30 эВ);  $m/z$  177.10 → 98,06 (20 эВ). Объем вводимой пробы 4 мкл

### Анализ реальных объектов

В качестве примера анализа реальных объектов был проведен анализ мочи активного курильщика и человека, не подвергающегося воздействию табака, а также образцов сточных вод, отобранных на трех водоочистных станциях Московской области. Результаты исследований приведены в табл. 5. Наложение хроматограмм, полученных при анализе мочи, приведено на рис. 6, полученных при анализе сточных вод – на рис. 7.

Таким образом, разработан способ определения котинина методом высокоэффективной

жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием при использовании в качестве внутреннего стандарта дейтерированного котинина. Оценены метрологические характеристики определения котинина методом ВЭЖХ-МС/МС с предварительной пробоподготовкой методом ТФЭ. Данный способ характеризуется низкими пределами обнаружения (0,1 мкг/л) и хорошей воспроизводимостью ( $s_r = 6\text{--}14\%$ ). Его можно применять для определения котинина в моче и сточных водах. Найдено содержание котинина в моче активного курильщика и в сточных водах на уровне соответственно 1 мг/л и 1 мкг/л (без предварительного концентрирования).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-03-00257).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рожанец В.В. // Вопросы наркологии. 2016. № 7–8. С. 54.
2. Pianezza M.L., Sellers E.M., Tyndale R.F. // Nature. 1998. Vol. 393. N 6687. P. 750.
3. Abdallaha I.A., Hammell D.C., Stinchcomb A.L., Hassan H.E. // J. Chromatogr. B. 2016. Vol. 1020. P. 67.

4. Medana C., Aigotti R., Sala C., Dal Bello F., Santoro V., Gastaldi D., Baiocchi C. // Spectroscopy. 2016. Vol. 14. N 2. P. 20.
5. Sommerfeld K., Lukasic-Glebocka M., Kulza M., Druzdz A., Panienski P., Zielinska-Psujka B. // Forensic Sci. Int. 2016. Vol. 262. P. e15.

Поступила в редакцию 09.09.17

## DETERMINATION OF COTININE IN URINE AND WASTEWATER BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY COUPLED WITH TANDEM MASS-SPECTROMETRIC DETECTION

M. Jang<sup>1\*</sup>, A.V. Pirogov<sup>1</sup>, A.A. Maksimova<sup>1</sup>, V.I. Dobrovolskiy<sup>2</sup>, A.A. Stakheev<sup>2</sup>, J.V. Abramova<sup>2</sup>, A.A. Priadka<sup>2</sup>, A.P. Jaricov<sup>3</sup>, A.E. Nosyrev<sup>4</sup>, V.V. Rozhanets<sup>3</sup>, O.A. Shpigun<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> M.V. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry, Department of Analytical Chemistry; <sup>2</sup> FSUE «Russian Metrological Institute of Technical Physics and Radio»; <sup>3</sup> National Research Centre on Drug Abuse – the branch of the Federal state budgetary institution “Federal medical research center for psychiatry and Drug Abuse of the Ministry of health of the Russian Federation”; <sup>4</sup> National Research Centre of Pharmacy – Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of health of the Russian Federation”; \*e-mail: mongjoo0813@gmail.com)

**A technique of extraction and the subsequent quantitative determination of cotinine in urine and wastewater by high performance liquid chromatography with tandem mass-spectrometric detection is presented. The method is characterized by low limit of detection, high efficiency and sensitivity. Optimal conditions for the extraction of cotinine from urine and wastewater are found. This technique allows the accurate estimation of the content of cotinine in urine of «active»/«passive» smokers and wastewater.**

**Key words:** cotinine, high performance liquid chromatography, mass-spectrometry, wastewater, urine, solid phase extraction.

**Сведения об авторах:** Чжан Мончжу – аспирант кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (mongjoo0813@gmail.com); Пирогов Андрей Владимирович – вед. науч. сотр. кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. хим. наук, профессор (pirogov@analyt.chem.msu.ru); Максимова Анна Анатольевна – студентка кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (maksifix1@gmail.com); Добровольский Владимир Иванович – начальник научно-технического отделения физико-химических и электрических измерений ФГУП «ВНИИФТРИ», канд. техн. наук (vid@vniiftri.ru); Стахеев Алексей Анатольевич – начальник лаборатории, ученый-хранитель государственного эталона ФГУП «ВНИИФТРИ» (stakheev@vniiftri.ru); Абрамова Юлия Викторовна – руководитель промсанлаборатории службы охраны труда и экологии ФГУП «ВНИИФТРИ» (abramova@vniiftri.ru); Прядка Алексей Александрович – инженер промсанлаборатории службы охраны труда и экологии ФГУП «ВНИИФТРИ» (priadka@vniiftri.ru); Жариков Артем Павлович – лаборант лаборатории аналитической токсикологии НИИ наркологии, филиала ФГБУ «ФМИЦПН» имени В.П. Сербского Минздрава России (ajaricov@mail.ru); Носырев Александр Евгеньевич – руководитель центральной химико-токсикологической лаборатории НИИ фармации I МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России, канд. техн. наук (rerik2050@mail.ru); Рожанец Владимир Всеволодович – вед. науч. сотр. лаборатории аналитической токсикологии НИИ наркологии, филиал ФГБУ «ФМИЦПН» имени В.П. Сербского Минздрава России, канд. биол. наук (vladimirroz@mail.ru); Шпигун Олег Алексеевич – профессор кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. хим. наук, чл.-корр. РАН (shpiguno@yandex.ru).