

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертацию Константина Осипова “Исследование и устранение неспектральных помех при анализе биологических жидкостей и лекарственных средств методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой”, представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия

Диссертационная работа К. Осипова посвящена исследованию неспектральных помех, возникающих при элементном анализе различных биологических жидкостей и лекарственных средств методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП).

Следует отметить, что уже через 3-4 года после введения МС-ИСП в аналитическую практику стало понятно, что в методе имеется два основных ограничения: спектральные интерференции и матричный эффект. Однако, благодаря таким достоинствам, как чрезвычайно высокая чувствительность, широкий динамический диапазон и возможности определения не только содержания, но и изотопного состава практически всех элементов Периодической таблицы, метод быстро получил всеобщее признание. Это привело к широкому использованию МС-ИСП в различных прикладных исследованиях, в том числе в медицине. Однако, еще в начале 90-х годов прошлого века Alan L. Gray, являющийся одним из создателей метода, предупреждал о том, что столь быстрое его развитие и коммерциализация может привести к уменьшению числа исследований в области фундаментальных основ метода.

И, действительно, за прошедшие 30 лет в методе МС-ИСП были достигнуты значительные успехи в области устранения помех от спектральных интерференций. Производители спектрометров практически каждые 2-3 года предлагают новые и более изощренные решения проблемы спектральных интерференций с использованием квадрупольных масс-спектрометров с дополнительными quadro- окто- и гексаполями, а также спектрометры высокого разрешения.

Совсем иначе обстоит дело с решением проблемы матричного эффекта. В методе по-прежнему действует ограничение по содержанию матричного элемента в анализируемом растворе на уровне 0.05-0.2 % масс, в зависимости от природы матричного элемента. И прогресс в снижении пределов определения современных

спектрометров обусловлен в основном существенным увеличением инструментальной чувствительности этих приборов. Что касается увеличения толерантности спектрометров к высокосолевым растворам, то всё, в основном, ограничивается введением специальных устройств, позволяющих проводить разбавление анализируемого образца путем: а) разбавления деионированной водой при его подаче в распылитель б) разбавлением образовавшегося аэрозоля дополнительным потоком аргона в распылительной камере. Понятно, что в обоих случаях пределы определения будут возрастать на фактор разбавления исходного образца. Поэтому исследования направленные на уменьшения влияния матричного эффекта на результаты анализа путем изменения рабочих параметров масс-спектрометра, приводящие к увеличению содержания матричного элемента в анализируемом растворе, безусловно, интересны и важны. На сегодняшний день насчитывается очень небольшое число публикаций, выполненных на современных приборах и посвященных этой проблеме, поэтому диссертация К. Осипова интересна, как с научной стороны, так и с точки зрения практической значимости.

Диссертационная работа К. Осипова состоит из введения, обзора литературы (глава 1), 3 глав экспериментальной части, выводов и списка литературы (193 библиографические ссылки). Диссертация изложена на 153 страницах машинописного текста, содержит 18 рисунков и 28 таблиц.

В **главе 1** приведен подробный обзор литературы по использованию метода МС-ИСП в клинической практике, рассмотрены конкретные примеры использования метода в анализе биологических жидкостей и разработке лекарственных средств на основе координационных соединений металлов. Дана критическая оценка не только условий пробоподготовки, но и подходов к устранению неспектральных матричных помех, являющихся одним из главных недостатков МС-ИСП.

Во второй части подробно описаны три основных причины возникновения неспектральных помех: влияния кислоты, сопутствующих элементов и органических веществ, и особое внимание уделено природе их возникновения, сложности и многообразия механизмов их проявления, а также представлены альтернативные варианты их минимизации преимущественно инструментальными способами.

И, наконец, в последней части обзора подробно рассмотрен метод внутреннего стандарта, часто применяемый в качестве дополнительного способа нивелирования влияния матричных компонентов.

В данном литературном обзоре собрана исчерпывающая литература, проведен критический обзор предлагаемых путей решения поставленных задач. На мой взгляд, содержание главы 1 может быть легко трансформировано в пару хороших обзоров по использованию метода МС-ИСП в клинической практике и путях решения проблемы матричного эффекта.

Во **второй главе** описаны используемые в работе реактивы, стандартные образцы, лабораторная посуда, основное и вспомогательное оборудование. Следует отметить очень хороший уровень используемых реактивов и стандартных образцов от ведущих мировых производителей, что косвенно свидетельствует о высоком уровне проведенных экспериментальных исследований. Также в этой главе приведены подробные “прописи” набора процедур и приемов, используемых в экспериментальной работе, которые могли бы стать основой нескольких методик анализа МС-ИСП.

Третья глава посвящена исследованию влияния матричного эффекта на результаты анализа биологических жидкостей. Показано, что влияние солевого состава, присутствия органических компонентов и кислот в анализируемом растворе носит аддитивный характер, и впервые выявлены основные источники подавления сигналов в зависимости от вариантов пробоподготовки.

Также изучены возможности устранения различных проявлений матричного эффекта путем выбора устойчивых настроек параметров работы спектрометра. Показано, что даже в этом случае необходимо использование внутреннего стандарта для полного устранения влияния матричного эффекта. Впервые показана прямая взаимосвязь между различными режимами работы прибора и критериями выбора внутреннего стандарта. Предложено два подхода к устранению матричного эффекта при МС-ИСП анализе. При измерении в стандартном режиме работы прибора (т.е. после настройки на максимальную чувствительность) необходимо использовать в качестве внутреннего стандарта элемент, имеющий близкий к аналиту первый потенциал ионизации. При проведении МС-ИСП измерений в режиме устойчивых

параметров в качестве внутреннего стандарта можно использовать практически любой элемент, независимо от его атомной массы и ПИ.

Сформулированные в этом разделе критерии выбора элемента в качестве внутреннего стандарта, безусловно, имеют большую практическую значимость, далеко выходящую за рамки использования МС-ИСП в клиническом анализе.

На основе проведенных исследований разработан комплекс аналитических методик МС-ИСП, описанный в **четвертой главе**, представлены основные результаты применения подходов к устранению неспектральных помех для решения конкретных клинических задач, поставленных медиками и разработчиками лекарственных средств на основе координационных соединений металлов.

И, наконец, в разделе **выводы** суммированы результаты проведенных исследований.

Диссертационная работа К. Осипова написана понятным русским языком, текст сопровождается большим количеством таблиц и рисунков и позволяет сделать вывод о том, что поставленные вопросы решены на высоком уровне с использованием современного оборудования, а полученные результаты представляют интерес, как в научном, так и в практическом плане. Автореферат диссертации полностью соответствует основным положениям, изложенным в диссертации. Материалы исследований освещены в реферируемых журналах и доложены на конференциях.

В качестве замечаний необходимо отметить:

1. Влияние процессов экстракции из плазмы и последующего формирования ионного пучка в интерфейсе и высоковакуумной части на величину матричного эффекта.

Не могу согласиться с предположением К. Осипова о том, что: *“...процессы экстракции ионов из плазмы, формирования первичного ионного пучка и его изменения в интерфейсе и высоковакуумной части не играют существенной роли ввиду конструктивных особенностей ионной оптики данного масс-спектрометра”*. Тем более, что и К.Осипов через одно предложение пишет: *“ Показана ключевая роль потенциала на линзе-экстракторе в компенсации частичного падения*

чувствительности определения при уменьшении скорости потока аргона через распылитель”

На мой взгляд, первая линза в ионной оптике спектрометра Agilent 7500с не является экстрактором. Традиционно на экстракторе должен быть отрицательный потенциал, а небольшой положительный потенциал на этой линзе служит для первичной фокусировки положительно заряженных ионов анализа при их вхождении в ионную оптику. В качестве экстрактора используется следующая линза. Возможно, при анализе объектов, состоящих в основном из легких элементов, дополнительный вклад в величину плотности объемного заряда от этих матричных ионов и не так значителен, но это требует экспериментальной проверки.

2. Использование распылителя Бабингтона и концентрического распылителя

В работе в качестве альтернативы распылителю Бабингтона использован концентрический распылитель, и, несмотря на лучшие результаты, от него отказались из-за его уязвимости к вводу растворов с высоким содержанием солей и органических веществ. Во-первых, поскольку не указан тип распылителя, то трудно судить о его уязвимости к вводу различных растворов. Во-вторых, современные распылители, например, SeaSpray, позволяют работать с растворами, содержащими до 5-10 % растворенных веществ. И, наконец, существуют достаточно простые системы увлажнения аргона, проходящего через распылитель, еще более раздвигающие рамки применения концентрических распылителей.

3. И одно мелкое замечание. В диссертации рис. 12 представлен в цвете и, соответственно, он действительно подтверждает распределение вкладов в занижение сигнала по природе происхождения. В случае автореферата этот же рисунок представлен в черно-белом варианте, что затрудняет его понимание.

В целом следует отметить что, несмотря на сделанные замечания, диссертация К. Осипова “Исследование и устранение неспектральных помех при анализе биологических жидкостей и лекарственных средств методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой” является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научном уровне, отвечает требованиям

специальности 02.00.02 – Аналитическая химия и соответствует критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным п. 9 “Положения о порядке присуждения ученых степеней”, утвержденного постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Официальный оппонент

Василий Константинович Карандашев

к.х.н., зав.лаб. ядерно-физических и масс-спектральных методов анализа

ФГБУН “Институт проблем технологии микроэлектроники и особо чистых материалов Российской академии наук” (ИПТМ РАН)

142432, Московская обл., г. Черноголовка, ул. Академика Осипьяна, 6

тел. + 7(496) 5244269

e-mail karan@iptm.ru



Подпись В.К. Карандашева заверяю:

Ученый секретарь ИПТМ РАН

д.ф.-м.н. А.Н. Редькин

13 апреля 2015 г.

