

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОТИНИНА В МОЧЕ И СТОЧНЫХ ВОДАХ МЕТОДОМ ВЭЖХ СО СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ И МАСС- СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

Чжан М.¹, Максимова А.А.¹, Пирогов А.В.¹, Рожанец В.В.²

1) Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
Химический факультет, Москва, tongjoo0813@gmail.com

2) НИИ наркологии, филиала ФГБУ "ФМИЦПН" им. В.П. Сербского Минздрава
России, Москва

Курение – одна из тяжелейших проблем нашего времени, причина множества болезней и преждевременной смертности. Ежегодно в мире курение становится прямой или опосредованной причиной смерти 3 миллионов человек. В России курит 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.

Главный путь метаболизма никотина – через котинин (70-80%), период полураспада которого составляет 15-20 часов, что позволяет обнаружить его в моче в течение нескольких дней (до недели) после употребления табака. Котинин широко используется в качестве биологического маркера для определения, потребляемого (ингаляционного) никотина. Уровни котинина в моче <5 нг/мл предполагают отсутствие активного курения, значения <20 нг/мл и <50 нг/мл могут быть связаны с пассивным или легким курением соответственно, а уровни, характерные для активных курильщиков обычно достигают от 1 до 8 мкг/мл.

Нами разработан способ селективного определения котинина в моче и сточных водах методом ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС/МС.

Для проведения жидкостной экстракции к 1 мл анализируемого объекта добавляли 10 мкл 1М NaOH и 1 мл хлороформа. Органическую фазу центрифугировали в течение 5 мин и упаривали на ротаторном испарителе при 40°C. После упаривания остаток перерастворили в 1 мл подвижной фазы. Для твердофазной экстракции использовали патрон Chromabond SA с емкостью 0.74 мэкв/г. Патрон активировали 10 мл метанола и 5 мл HCl, затем вводили 1 мл анализируемого объекта и промывали 5 мл HCl и 5 мл воды. Элюирование проводили 2 мл ацетонитрила.

Выбраны условия определения котинина методом ВЭЖХ-УФ: колонка Synergy Hydro-RP (250 x 4.6 мм, 4 мкм), подвижная фаза в составе 1:1 – вода:ацетонитрил, температура термостата 35°C, скорость потока 0.7 мл/мин и длина волны детектирования 220 нм. При объеме вводимой пробы 50 мкл предел обнаружения составляет 1 мкг/мл.

Для определения котинина методом ВЭЖХ-МС/МС в качестве основного фрагментируемого иона выбран ион 177.1 m/z с ММР переходом 80 m/z и 98.1 m/z при потенциале фрагментации 60 В. Энергия соударения для дочерних ионов 80 m/z и 98.1 m/z составляет 30 и 20 эВ, соответственно. При объеме вводимой пробы 4 мкл предел обнаружения составляет 0,4 нг/мл.

В качестве реальных объектов выбраны образцы мочи курящих не менее 10 сигарет в день и сточные воды на входе очистных сооружений разных городов России. Продемонстрировано, что предложенный нами способ определения котинина методом ВЭЖХ-МС/МС позволяет определить содержание котинина в стоках без предварительного концентрирования.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 16-03-00257.