



Индикация и идентификация опасных веществ

УДК 543.42:615.9

DOI: 10.25514/CHS.2023.2.25008

Совершенствование подхода к аналитическому контролю мышьяка и его соединений. Апробация на реальных объектах

В.Н. Ракитский¹, Л.Г. Бондарева¹✉, Н.Е. Федорова¹, А.С. Родионов¹

¹ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора,
Московская область, Мытищи, Россия,
e-mail: lydiabondareva@gmail.com

Поступила в редакцию: 23.06.2023 г.; после доработки: 01.11.2023 г.; принята в печать: 01.11.2023 г.

Аннотация – Анализ литературных источников показал наличие «слабых» мест при аналитическом контроле мышьяка в объектах ихтиофауны и водорослях, используемых в пищевой продукции. Для того, чтобы сделать заключение о качестве рыбы необходимо выявление форм нахождения мышьяка: либо неорганическая (наиболее токсичная), либо органические соединения, являющиеся токсически инертными или малотоксичными. В результате проведения мониторинговых исследований было выявлено, что наибольшее валовое содержание мышьяка обнаружено в ламинарии – 1,510 мг/кг, при этом доля неорганической формы самая высокая – до 70,5% от всего количества мышьяка. В других образцах неорганический мышьяк не найден. Во всех исследуемых образцах монометиларсиновая кислота не обнаружена. Доля диметиларсиновой кислоты зависит от среды обитания и источников питания.

Ключевые слова: мышьяк, ВЭЖХ-ИСП-МС, аналитический контроль, элементоорганические соединения.

Indication and identification of hazardous substances

UDC 543.42:615.9

DOI: 10.25514/CHS.2023.2.25008

Improvement of the approach in the analytical control of arsenic and its compounds. Approbation on real objects

Valerii N. Rakitskii¹, Lydia G. Bondareva¹✉, Nataliya E. Fedorova¹, and Alexander S. Rodionov¹

¹«Federal scientific center of Hygiene» named after F.F. Erisman of the Federal Service of Surveillance in the Sphere of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Mytishchi, Moscow Region, Russia, e-mail: lydiabondareva@gmail.com

Received: June 26, 2023; Revised: November 1, 2023; Accepted: November 1, 2023

Abstract – An analysis of literary sources showed the presence of "weak" points in the analytical control of arsenic in fish fauna and algae used in food products. To formulate a conclusion about the quality of fish, it is necessary to identify the forms of arsenic: either inorganic (the most toxic), or organic compounds that are toxically inert or low toxic. As a result of monitoring studies, it was revealed that the highest gross content of arsenic was found in kelp - 1.510 mg / kg, while the share of the inorganic form is the highest - up to 70.5% of the total amount of arsenic. In other samples, inorganic arsenic was not detected. In all the studied samples, no monomethylarsic acid compound was found. The proportion of dimethylarsic acid depends on habitat and food sources.

Keywords: arsenic, HPLC-ICP-MS, analytical control, element-organic compounds.

ВВЕДЕНИЕ

На современном этапе человеческого развития вся структура водной экосистемы в большей или меньшей степени подвержена негативному влиянию продуктов жизнедеятельности человека, его производственной деятельности, грубому нарушению санитарных норм и правил относительно среды обитания. Это, в свою очередь, повлияло на уменьшение биоразнообразия, снижение продуктивности растений и животных.

Все загрязнители разделены по классу токсичности, по уровню канцерогенного воздействия, распространенности, частоте встречаемости и т.д. Многие токсиканты, попав в почву, воду или атмосферу, проходят долгий миграционный путь, приводящий их к живому организму, где они способны накапливаться и передаваться дальше. Рано или поздно, но конечным звеном в таком продвижении будут люди, употребляющие продукцию животного происхождения. Одним из наиболее опасных веществ, загрязняющих водную среду, является мышьяк.

Мышьяк (As) – металлоид из группы пниктогенов (элементы V группы периодической таблицы Д.И. Менделеева), который может поступать в водоемы как из природных, так и из антропогенных источников. Мышьяк появляется в водных объектах в основном в результате сочетания природных процессов, таких как реакции выветривания, биологическая активность, вулканические выбросы и речной перенос As-содержащих месторождений полезных ископаемых [1, 2]. Помимо естественных причин, особое внимание уделено антропогенной деятельности, к которым относится использование соединений мышьяка в сельском хозяйстве и животноводстве, а также в горнодобывающей промышленности. Все это является причиной загрязнения подземных и поверхностных вод мышьяком [3].

Мышьяк является канцерогеном класса 1, и отравление человека может происходить при употреблении загрязненной воды или продуктов, выращенных в загрязненных средах (наземная, водная). Неорганическими формами являются трехвалентная – As(III), которая наиболее распространена, и пятивалентная – As(V) [4].

Основные соединения мышьяка в воде, как и сам химический элемент в чистом виде, чрезвычайно токсичны. Они провоцируют развитие хронических заболеваний, могут привести к смерти. В США предельно допустимое содержание мышьяка в воде установлено на уровне 0,01 мг/л. Всемирная

организация здравоохранения (ВОЗ) [5] и Европейская директива 98/83/ЕС [6] также установили рекомендуемое значение 0,01 мг/л As в питьевой воде. В Российской Федерации предельно-допустимая концентрация в воде установлена в СанПин 1.2.3685-21 [7] для общего мышьяка на уровне 0,01 мг/л.

Загрязненную воду нельзя использовать для приготовления пищи, для мытья, полива, поения животных. Контаминация воды мышьяком является одной из наиболее распространенных экологических проблем в мире, что приводит к повышению токсической нагрузки в более чем в 20 странах, таких как Бангладеш, Индия, Чили, Аргентина и Китай [8–10]. Самыми главными источниками мышьяка в продуктах питания являются морепродукты, включая рыбу, моллюски и морские водоросли. Согласно исследованию [11], половина потребления этого элемента приходится на рыбу, несмотря на ее относительно низкий процент общего потребления. В отличие от воды и многих продуктов, где преобладают неорганические формы мышьяка, в объектах морского промысла представлены в основном органические формы.

Так как мышьяк – сильнейший биологический ксенобиотик, при действии которого картина острого отравления рыб нехарактерна, выявлены смертельные концентрации мышьяковистого ангидрида в расчете на As (мг/л) [11]:

- для форели и окуня 15 – 19,
- карася и карпа 19 – 25
- дафний 0,5
- циклопов 1 – 5

Допустимые уровни во всех видах рыбной продукции и мясе морских млекопитающих, в том числе сушеной продукции, согласно ТР/ТС 021-2011 «О безопасности пищевой продукции» [12], для общего мышьяка составляют: 1,0 мг/кг, для пресноводных - в икре и молоки рыб и продуктах из них, аналогах икры и рыбьем жире; для морских рыб, а также в моллюсках, ракообразных, других беспозвоночных, земноводных, пресмыкающихся, водорослях и морских травах – 5,0 мг/кг.

В 2022 г. в Китайской народной республике согласован государственный стандарт, устанавливающий норматив по предельному содержанию именно неорганического мышьяка в рыбе и продуктах из нее и других водных животных в количестве 0,1 мг/кг [13].

В связи с развитием и совершенствованием методов пробоподготовки и детектирования мышьяка и его соединений встает вопрос – как наиболее эффективно провести анализ объектов окружающей среды (вода, водные организмы: водные растения, водоросли, рыбы и пр.), который бы позволил получить достоверные результаты исследований, особенно мониторинговые. Кроме того, все чаще возникает вопрос, связанный с выявлением формы нахождения мышьяка в анализируемых средах.

В Российской Федерации определение концентрации мышьяка в питьевой воде проводится по ГОСТ 4152-89 [14], по ПНД Ф 14.1:2:4.221-06 [15] определяется массовая концентрация общего мышьяка, мышьяка(V) и

мышьяка(III) в водах питьевых, природных, минеральных и сточных. Существует также перечень других методов определения, основанных на различных физико-химических свойствах мышьяка и используемых как в Российской Федерации, так и в мировом научном сообществе [16–19]. Европейский стандарт EN-16278 позволяет определять неорганический мышьяк атомно-абсорбционным методом с генерацией гидридов после проведения твердофазной экстракции (SPE) [20]. Чаще всего определяется валовое содержание элемента. Существует правило, если содержание валового мышьяка выше рекомендованных нормативными документами норм, тогда определяют неорганический мышьяк [13].

Наиболее чувствительными являются гибридные методы. В мировой практике существуют методики определения содержания неорганического мышьяка методом высокоэффективной жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ВЭЖХ-ИСП-МС) [21–23].

Однако все чаще возникает вопрос – в какой форме находится мышьяк? Развитие приборной базы позволяет создавать комплексы гибридных методов, с помощью которых возможно одновременно проводить разделение мышьяка по формам нахождения с последующим детектированием и оценкой доли мышьяка, присутствующего в той или иной форме [4, 24–26]. Тем более это актуально с точки зрения ассимиляции и трансформации мышьяка в трофических цепочках, конечным звеном которых является в том числе и человек.

Целью настоящих исследований явилось развитие гибридной методики разделения и детектирования мышьяка в водной среде и объекте ихтиофауны – морской рыбе, апробация методики на реальных образцах воды и некоторых водных живых организмах (рыба, ламинарии).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оценка эффективности предлагаемого метода осуществлена на модельных образцах морской воды, промысловой рыбы.

В качестве модельной использовалась бутилированная проба морской воды «Магия Черного моря», которая была приобретена на коммерческой основе (производитель ООО «Агро-Эксим». Забор водных ресурсов произведен на основании договора о водопользовании от 08.07.2019 г. № 00-06.03.00.001-М-ДЗИО-Т-2019-07823-00; Евразийский Экономический Союз, декларация соответствия, дата регистрации 30.12.2019 ЕАЭС № RU Д RU. ПФ 02.В.18762/19). Указанные в Сертификате свойства: pH 7,5-8,4; содержание кислорода 5,6-7,4 мг/г; минерализация 17,6-18,3 г/л; общая щелочность Alk 3,32 мг-экв./л; пробы воды отобраны на расстоянии 5 км от берега и на глубине 10 м и прошли предварительную трехкратную очистку.

В качестве модельного образца рыбы использовали филе, выращенного в искусственных условиях карася [27]. В качестве пищи использовали кормовую смесь, в которой контролировали содержание элементов, в том числе и мышьяка.

Подготовка образцов рыбы и ламинарий. Целую рыбу сразу после отлова замораживали в индивидуальных пластиковых пакетах перед отправкой в лабораторию. Далее рыбу размораживали, разделяли на филе и снимали кожу, за исключением камбалы. Образцы филе камбалы весом приблизительно 200 г каждый были взяты с верхней стороны рыбы с надрезом по обеим сторонам. От центральной линии примерно на 10 см позади головы по направлению к хвосту. Филе каждой отдельной рыбы промывали водой с помощью Merck Milli-Q Integral 5, снабженной дополнительной точкой отбора воды с вспомогательной ступенью фильтрации через фильтр Quantum-ICP (MQ), а затем гомогенизировали с помощью аналитического блендера. Содержание влаги в гомогенизированных образцах определяли с помощью анализатора влажности со стандартной одностадийной процедурой сушки при 105°C. Перед сублимационной сушкой гомогенизированные образцы помещали на полистироловые чашки, тщательно промытые кислотой, и замораживали при температуре не выше –18°C в морозильной камере. Непосредственно перед анализом образцы рыб лиофилизировали в течение 48 ч в вакуумной сублимационной сушилке, а затем измельчали в порошок с помощью аналитической мельницы. Ламинарии отбирали и готовили к определению аналогично пробам рыб.

Усредненную навеску по 1,0 г каждого образца помещали в кварцевый сосуд микроволновой системы пробоподготовки Milestone UltraWave, туда же вносили 5 мл 0,3 М азотной кислоты (азотная кислота Chem-Lab, 65%, a.r.). Затем проводили микроволновую экстракцию при температуре 95°C в течение 90 мин. По окончании процесса разложения сосуда охлаждали до комнатной температуры, экстракт количественно переносили в полипропиленовую центрифужную пробирку. Доводили объем до 50 мл деионизированной водой, полученной при помощи системы очистки воды MQ. Пробирку со смесью центрифугировали при скорости вращения ротора 12000 об/мин в течение 10 мин, затем экстракт фильтровали через мембранный шприцевой фильтр с размером пор 0,45 мкм непосредственно в вials.

Подготовка проб воды. При подготовке проб воды отбирали аликвоту 5 мл, переносили в полипропиленовую пробирку и доводили объем раствора до 50 мл 0,3 М раствором азотной кислоты (азотная кислота Chem-Lab, 65%, a.r.). Далее образцы фильтровали непосредственно в вials через шприцевой фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Подготовленные пробы воды и рыбы анализировали методами (ВЭЖХ-ИСП-МС) и атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС).

В качестве системы разделения использован жидкостной хроматограф Agilent 1200 LC, снабженный анионообменной колонкой Hamilton PRP-X-100 длиной 250 мм с внутренним диаметром 4,6 мм и зернением 10 мкм. Температура термостата колонки составила 25°C, скорость потока элюента – 1,2 мл/мин, объем вводимой пробы – 50 мкл. Режим элюирования изократический, в качестве подвижной фазы использован двухосновный фосфатный буфер ((NH₄)₂HPO₄) с концентрацией 9 мМ, доведенный до pH 9,0 раствором аммиака.

Для детектирования общего содержания и форм соединений мышьяка использован масс-спектрометр с индуктивно-связанной плазмой Agilent 7800 ICP-MS. Детектирование производилось при следующих условиях: напряжение на RF-генераторе: 1550 W; скорость потока газа-носителя: 1,0 л/мин; содержание кислорода по отношению к скорости потока газа-носителя: 9%; температура распылительной камеры: 2°C; глубина плазмоотбора: 8,0 мм. Детектирование соединений мышьяка проводилось по массе ^{75}As .

Для приготовления внутреннего стандарта использовали исходный многоэлементный раствор (6020 ISS, 10 мкг/мл), содержащий Bi, Li, Ho, In, Rh, Sc, Tb и Y (Inorganic Ventures, Кристиансбург, Вирджиния, США) (200 мкг/л) для определения общего As. Исходный раствор одноэлементного Rh 1000 мкг/мл (Inorganic Ventures, Кристиансбург, Вирджиния, США) использовали в качестве внутреннего стандарта для анализа форм нахождения мышьяка. Для ежедневной оптимизации спектрометра использовали раствор для настройки ICP-MS 7500cs (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США), содержащий 1,0 мкг/л Se, Co, Y. Использовались аргон высокой чистоты (99,999%) и гелий высокой чистоты (99,999%).

Список используемых для количественного определения стандартных образцов представлен в таблице 1.

Валовое содержание мышьяка в модельных пробах воды и рыбы оценивали в том числе и при помощи атомно-абсорбционного спектрометра высокого разрешения с источником излучения сплошного спектра ContrAA 800-D. Измерения проводили на длине волны 193,6960 нм, учет неселективного поглощения осуществляли с помощью измерения поглощения на длине волны вблизи атомной линии поглощения. Использован режим коррекции фонового поглощения с использованием референтных спектров.

Таблица 1. Используемые стандартные образцы мышьяка для определения методам ВЭЖХ-ИСП-МС

Table 1. Standard arsenic samples used for determination by HPLC-ICP-MS

Вещество	Используемый стандартный образец	Концентрация
As(III)*	ГСО 7344-96	0,1 мг/мл
ММА**	SRM 3030	17,64 мг/кг±0,15 мг/кг
DMA***	SRM 3031	20,47 мг/кг±0,18 мг/кг
AsB ^{4*}	SRM 3033	19,06 мг/кг±0,27 мг/кг

*арсенит мышьяка (NaAsO_2), ** - монометиларсиновая кислота ($\text{C}_3\text{H}_7\text{AsNa}_2\text{O}_3$),

***диметиларсиновая кислота ($\text{C}_2\text{H}_7\text{AsO}_2$), ^{4*}арсенобентаин ($\text{C}_6\text{H}_{11}\text{AsO}_2$).

Измерения проводили при использовании 3 оценочных пикселей. Ввод пробы осуществляли автоматически в кювету, объем вводимой пробы – 20 мкл. Температурный режим ЭТА: высушивание – 20 с при температуре 80°C, 20 секунд при температуре 90°C, 10 секунд при температуре 110°C, озоление – 20 секунд при температуре 350°C и 30 секунд при температуре 550°C, атомизация – 4 секунды при температуре 2200°C, отжиг – 4 секунды при температуре 2450°C.

Исходные растворы соединений мышьяка (1,0 мг/мл) (табл. 1) готовили раздельно растворением соответствующих количеств соединений мышьяка в воде MQ. Конечную смесь промежуточных растворов готовили путем разбавления отдельных рабочих растворов. Градуировочные растворы (0,2 – 100 мг/л) были свежеприготовленными, то есть готовились непосредственно перед анализом. Все исходные растворы хранили в темном месте при температуре 4°C для предотвращения разложения или окисления. Для проверки линейности калибровочных кривых использовали подход, основанный на построении графика постоянного отклика для значений y/x (где y обозначает инструментальный сигнал, а x – концентрация аналитов в стандартном растворе) с применением допустимого отклонения в пределах $\pm 5\%$.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета «Анализ данных» программы Microsoft Excel, нормальность распределения оценивалась по критерию Дэвида-Хартли-Пирсона, количественные значения оценивались с помощью средней и ее стандартной ошибки ($C \pm SD$). Статистическая значимость оценивалась с использованием t -критерия Стьюдента, корреляционный анализ проводили с помощью коэффициента корреляции Пирсона, значимость различий оценивалась при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Развитие метода разделения и определения форм нахождения мышьяка в пробах воды и рыбы

Анализ форм нахождения мышьяка включал три этапа: извлечение, разделение и идентификация. Необходимо было использовать комбинацию аналитических методов, чтобы получить достаточную селективность и чувствительность для анализа видообразования. Концентрации и соотношения форм соединений в образце оставались неизменными на этапах подготовки и экстракции. Исходя из этого для нас было крайне важно правильно разработать аналитическую процедуру.

При этом «внутренняя» прослеживаемость, определяемая как достоверность, была обеспечена анализом проб с добавками. Уровень неопределенности для каждого вида мышьяка оценивался в соответствии с подходом «снизу вверх» [28].

Для выделения соединений мышьяка из анализируемых образцов применялся метод экстракции с помощью микроволнового разложения с использованием смеси метанол/вода. Эффективность экстракции (ЭЭ) была подтверждена путем определения общего содержания мышьяка в полученных экстрактах с помощью ААС. Идентифицированы и количественно определены шесть форм мышьяка с использованием ВЭЖХ-ИСП-МС с анионообменной колонкой.

Для достоверности предлагаемого подхода проведены исследования модельных образцов морской воды и рыбы с внесением веществ с суммой общего мышьяка на уровне 0,005 мг/л и 0,01 мг/кг, соответственно. Результаты анализа образцов с внесением на определение общего мышьяка представлены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты анализа с внесением мышьяка в модельные образцов морской воды и рыбы

Table 2: Results of analysis of model seawater and fish samples

№	Уровень внесения	Полнота извлечения %	Число определений (n)	Средняя полнота извлечения, %	Среднее квадратичное (стандартное) отклонение, %	Диапазон полноты извлечения, %
<i>Вода</i>						
1	0,005 мг/л	92,40 99,50 96,30 94,32 98,80	5	96,24	3,09	92 – 99
<i>Рыба</i>						
1	0,01 мг/кг	88,40 95,30 94,13 89,69 93,11	5	92,13	2,96	88 – 95

В наших исследованиях рассматривались и элементарноорганические соединения, которые имеют отношение к природной среде. Речь идет о соединениях, которые там обнаружены или могут там образовываться, или могут вступать в реакцию или переноситься в окружающей среде.

При использовании гибридного метода ВЭЖХ с ИПС-МС было сделано предположение, что использование аммонийно-фосфатного буфера в сочетании с анионообменной колонкой при реализации анионообменной вариации ВЭЖХ может позволить достичь удовлетворительного разделения детектируемых соединений по базовой линии.

Исследовано влияние pH буфера на качество разделения детектируемых соединений. Установлено, что при работе на нейтральных значениях pH (6,0 - 7,0) достигается качественное разделение всех веществ, за исключением пары AsB-As(III). Хроматограмма, полученная при работе на нейтральных pH, представлена на рисунке 1.

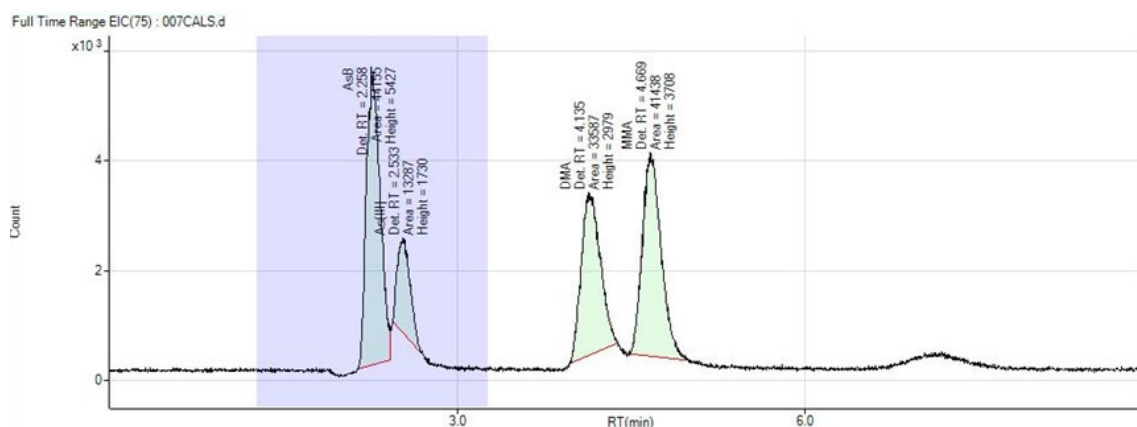


Рис. 1. Хроматограмма смеси стандартных растворов (по 5 мкг/л): As(III), MMA, DMA, AsB при pH = 6,0.

Fig. 1. Chromatogram of the mix standard solutions (5 µg/l): As(III), MMA, DMA, AsB at pH = 6.0.

Влияние неполного разделения на результаты количественного определения мышьяксодержащих соединений удастся нивелировать, благодаря использованию режима интегрирования хроматографического пика по высоте для расчета концентрации.

При повышении pH до 9,0 удастся получить лучшее разделение для исследуемых соединений мышьяка. Полученная хроматограмма представлена на рисунке 2.

Для снижения величины шума на базовой линии, а также устранения влияния полиатомных интерференций $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$, $^{38}\text{Ar}^{37}\text{Cl}^+$ использована октопольная ячейка соударения при скорости потока гелия 1,0 мл/мин. Произведен ряд экспериментов для подбора оптимальной скорости потока гелия, на основании которых осуществлен выбор необходимой и достаточной величины в 1,0 мл/мин. При использовании ячейки соударения удалось снизить величину шума в 10 раз.

Исследовано влияние длины линии, соединяющей выход из хроматографической колонки с распылительной камерой масс-спектрометра. Установлено, что при использовании капилляра длиной более 20 см наблюдается снижение отклика детектора и асимметрия хроматографических пиков.

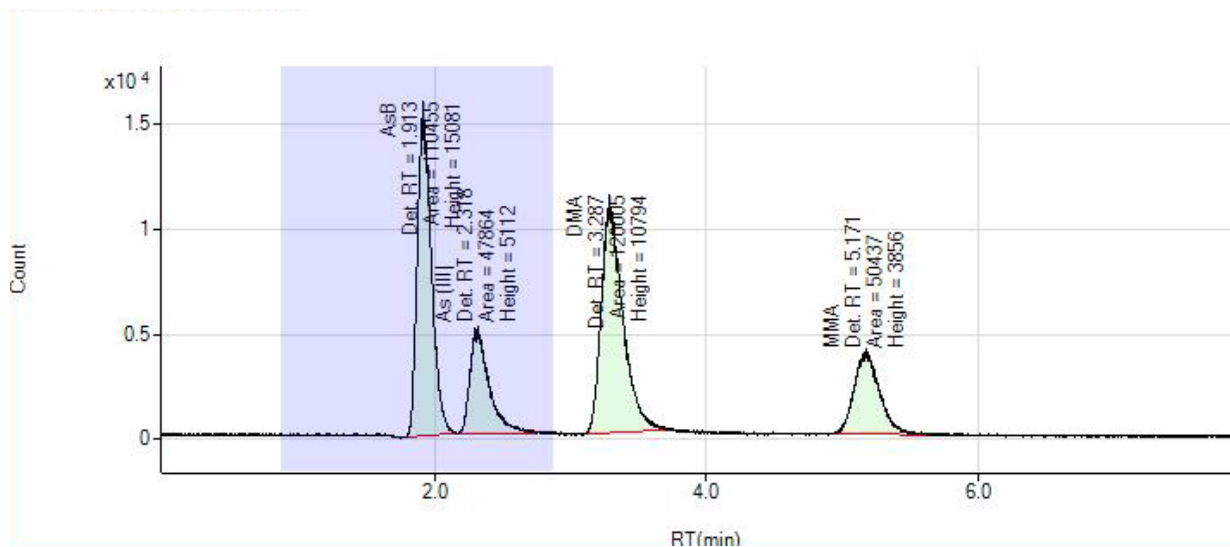


Рис. 2. Хроматограмма смеси стандартных растворов (5 мкг/л): As (III), MMA, DMA, AsB при pH = 9,0.

Fig. 2. Chromatogram of the mix standard solutions (5 µg/l): As (III), MMA, DMA, AsB at pH = 9.0.

На основании данных анализа образцов с внесением по всему диапазону градуировочной зависимости установлены пределы количественного определения соединений общего, органического и неорганического мышьяка на уровне 0,005 мг/л для морской воды и 0,05 мг/кг для рыбы. Несмотря на то, что требования ТР/ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», согласно которому предельно-допустимая концентрация общего мышьяка в филе рыб не должна превышать 1 мг/кг, для пресноводных и 5 мг/кг для морских [12], в своих исследованиях мы усовершенствовали методику, с помощью которой можно было бы удовлетворять и международные стандарты, в частности

требования нормативов, установленных в Китайской Народной Республике по неорганическому мышьяку – 0,1 мг/кг [13]. Проверка чувствительности хроматографической системы при работе на выбранных пределах количественного определения проведена по критерию сигнал/шум $\geq 10:1$.

Для подтверждения значимости количественного определения химических форм мышьяка при экологическом контроле загрязнения объектов окружающей среды проведено сравнение результатов, полученных при исследовании искусственно выращенного образца рыбы с внесением 0,5 мг/кг для каждого соединения AsB, As(III), MMA, DMA, с использованием предлагаемого метода ВЭЖХ-ИСП-МС и традиционного атомно-абсорбционного, при условии того, что суммарное содержание мышьяка по всем формам в этом случае составляет 0,5 мг/кг. Полученные результаты приведены в таблице 3.

Полученный результат валового содержания мышьяка методом ВЭЖХ-ИСП-МС составлял $0,506 \pm 0,0071$ мг/кг; тогда как внесенное значение составляло 0,5 мг/кг. Расчетное извлечение составило $101,2 \pm 1,7\%$, что подтверждает незначительное влияние матрицы образца. Суммарная неопределенность общего содержания мышьяка оценивалась с учетом следующих источников неопределенности: воспроизводимость измерений, калибровка и извлечение. Расширенная неопределенность ($U[\%]$, $k = 2$), рассчитанная для общего мышьяка методом «снизу вверх», составила 7,1%. Его можно применять во всем диапазоне концентраций 0,05 – 5,0 мг/кг.

Таблица 3. Сравнение результатов анализа модельных образцов рыбы, полученных методами ВЭЖХ-ИСП-МС и ААС

Table 3. Comparison of the results of analyses of model fish samples obtained by HPLC-ISP-MS and AAS methods

Соединение	Уровень внесения, мг/кг	Результаты, мг/кг	
		ВЭЖХ-ИСП/МС	ААС-ЭТА
Валовое содержание As	0,5	$0,506 \pm 0,007$	0,45
AsB	0,5	0,48	
As(III)		0,41	
DMA		0,44	
MMA		0,46	

При определении содержания общего мышьяка методом ААС с электротермической атомизацией (ААС-ЭТА) получено значение содержания общего мышьяка, составляющее ~ 90% от внесенного. Таким образом, при определении содержания мышьяка в биологических объектах, в частности рыбе, необходимо учитывать вклад эффекта матрицы.

Апробация методики на реальных образцах воды, рыбы и водорослей ламинарии

Исследовались образцы воды, отобранные в ходе экспедиций в 2019-2022 г., в Черном море (район г. Сочи), Охотском море (район г. Магадан), Японском

море (район г. Находка), Азовском море (район г. Таганрог), а также в водохранилищах: реки Енисей - Красноярское (населенный пункт Приморск), и реки Ангара - Богучанское (район г. Козьмодемьянск). Все образцы воды были собраны в полиэтиленовые бутылки, предварительно очищенные моющим средством свободным от металлов, промытые деионизированной водой, затем выдержанные в 5% азотной кислоте в течение 24 ч и, наконец, еще раз промытые деионизированной водой. После сбора пробы сразу доставляли в холодильной камере в лабораторию, где их замораживали вплоть до проведения анализа по определению содержания общего мышьяка и его соединений (табл. 4).

Кроме того, исследовались образцы промысловых видов рыб, выловленных в пунктах отбора проб воды (табл. 4) и морские водоросли ламинария (*Laminaria*), которые были отобраны в Японском и Охотском морях (табл. 4): Черное море – тюлька (*Clupeonella*), черноморский бычок (*Gobiidae*), черноморская камбала – калкан (*Scophthalmus maeoticus*); Азовское море: кефаль (*Mugil*), хамса (*Engraulis encrasicolus*), судак (*Sander lucioperca*); Охотское море – минтай (*Gadus chalcogrammus*), навага (*Eleginus gracilis*), горбуша (*Oncorhynchus gorbuscha*); Японского моря – голец (*Salvelinus alpinus*), камбала (*Pleuronectes platessa*), терпуг (*Hexagrammidae*); водохранилища реки Енисей – окунь (*Perca fluviatilis*), ряпушка (*Coregonus sardinella*), щука (*Esox lucius*); водохранилище реки Ангара – лещ (*Abramis brama*), окунь (*Perca fluviatilis*), омуль (*Coregonus autumnalis*). Проанализировано по 10 – 15 образцов каждого вида рыб.

Все результаты представлены непосредственно для свежего продукта, за исключением результатов по ламинарии, которые пересчитывались на сухую массу.

В пресной воде содержание мышьяка находилось на уровне 0,005 – 0,006 мг/л. Содержание мышьяка в морской воде находилось на уровне допустимой нормы с вариацией содержания на уровне погрешности. На наш взгляд, это связано с тем, что морская вода сама по себе имеет сложный химический состав. Кроме того, в моря впадают реки, которые несут какое-то количество мышьяка в различных физико-химических формах и агрегатных состояниях (взвеси, истинные растворы, растительные остатки с накопленным мышьяком и пр.), что способствует увеличению содержания мышьяка в морской воде.

Общее содержание мышьяка колебалось от $0,254 \pm 0,021$ мг/кг ($n = 10$) в образцах рыбы, выловленной в пресноводных водоемах, до $1,510 \pm 0,080$ мг/кг ($n = 10$) в – ламинариях. Результаты этого исследования также согласуются с литературными данными о том, что морские водоросли имеют самые высокие общие концентрации мышьяка в морской пищевой сети [29], донные рыбы (например, бычки) содержат больше мышьяка, чем пелагические рыбы (например, лососевые, окунь, лещ), а хищные виды (например, судак, щука) содержат промежуточное значение содержания мышьяка, со значительными вариациями между видами и внутри вида. На наш взгляд это связано с источником питания (хищные виды рыб, донные виды рыб) и со средой

обитания (водный придонный слой, верхний и срединный слои водного потока).

Таблица 4. Содержание общего мышьяка в пробах воды, рыб и водорослях

Table 4. Content of total As in water, fish and seaweed

№	Содержание общего As				
	мг/л	мг/кг			
Черное море					
1	Вода	Рыбы			
		Тюлька	Черноморский бычок	Черноморская камбала	
	0,015±0,004	0,258±0,034	0,587±0,103	0,683±0,115	
Азовское море					
2	Вода	Рыбы			
		Кефаль	Хамса	Судак	
	0,012±0,002	0,254±0,041	0,265±0,029	0,416±0,054	
Охотское море					
3	Вода	Рыбы			Водоросль
		Минтай	Навага	Горбуша	Ламинария
	0,011±0,002	0,301±0,029	0,259±0,028	0,294±0,027	1,510±0,080
Японское море					
4	Вода	Рыбы			Водоросль
		Голец	Камбала	Терпуг	Ламинария
	0,012±0,003	0,307±0,041	0,672±0,59	0,402±0,041	1,498±0,074
Водохранилище реки Енисей					
5	Вода	Рыбы			
		Окунь	Ряпушка	Щука	
	0,005±0,002	0,368±0,024	0,254±0,021	0,454±0,038	
Водохранилище реки Ангара					
6	Вода	Рыбы			
		Лещ	Окунь	Омуль	
	0,006±0,002	0,267±0,027	0,350±0,031	0,289±0,021	

Для анализа состава мышьяка в исследуемых видах рыб использовали два метода экстракции. Для анализа неорганического As использовали метод экстракции с использованием разбавленной азотной кислоты, основанный на европейском стандарте [30]. Окисляющие кислотные условия, используемые в методе, могут разлагать и изменять целостность других видов мышьяка, присутствующих в образцах. Для определения других гидрофильных соединений мышьяка использовали метод водной экстракции, так как он сохранял целостность видов мышьяка. Все образцы были проверены на наличие ММА, который не был обнаружен ни в одном из исследуемых материалов. Поэтому ММА был выбран в качестве внутреннего стандарта для количественного определения соединений мышьяка.

Максимальное содержание неорганического As было обнаружено в ламинариях из Японского и Охотского морей – $1,065 \pm 0,020$ мг/кг. Однако и эти значения не превышали нормативы, установленные в РФ [12]. Эти образцы также экстрагировали методом водной экстракции для сравнения

эффективности экстракции. Методом водной экстракции получено значение содержания неорганического As $1,054 \pm 0,030$ мг/кг. Сравнение с методом экстракции с использованием разбавленной азотной кислоты не показало каких-либо статистически значимых различий в полученных результатах. В дальнейшем нами использовалась процедура мягкой экстракции водой.

Относительные пропорции видов мышьяка в исследованных видах рыб и ламинариях в процентах показаны в таблице 5.

Таблица 5. Распределение мышьяка по формам нахождения в образцах рыб и ламинарий, в отношении к содержанию общего мышьяка, %

Table 5. Distribution of arsenic by forms of occurrence in fish and kelp samples, in relation to the content of total arsenic, %

№	Образец	Соединения мышьяка, %			
		As(III)	AsB	DMA	ММА
1	Тюлька	н.о.	20	0,5	н.о.
2	Черноморский бычок	н.о.	12	2,3	н.о.
3	Черноморская камбала-калкан	н.о.	13	2,5	н.о.
4	Кефаль	н.о.	21	0,7	н.о.
5	Хамса	н.о.	23	0,6	н.о.
6	Судак	н.о.	45	1,4	н.о.
7	Минтай	н.о.	31	1,0	н.о.
8	Навага	н.о.	37	0,8	н.о.
9	Горбуша	н.о.	23	6,9	н.о.
10	Голец	н.о.	29	7,0	н.о.
11	Камбала	н.о.	13	3,0	н.о.
12	Окунь терпуг	н.о.	41	1,7	н.о.
13	Окунь	н.о.	74	0,2	н.о.
14	Ряпушка	н.о.	76	0,3	н.о.
15	Щука	н.о.	78	0,2	н.о.
16	Лещ	н.о.	68	0,3	н.о.
17	Омуль	н.о.	79	0,3	н.о.
18	Ламинарии	70,5	н.о.	< 0,2	н.о.

Гидрофильные соединения мышьяка составляют от 10% до 95% от общего количества элемента в исследуемых материалах. ДМА является единственным видом мышьяка, присутствующим во всех типах исследуемых рыб и ламинарии, который также был обнаружен в следовых количествах в отношении к общему содержанию мышьяка, то есть в диапазоне от $\sim 0,2\%$ в видах рыб, выловленных в пресноводных водоемах, до $\sim 7\%$ в лососевых, выловленных в морях, относящихся к бассейну Тихого океана. Для всех других образцов в этом исследовании уровень ДМА составлял от 0,5% до 3% от

общего содержания мышьяка. При этом в ламинарии содержание ДМА составляло менее 0,2% от общего количества мышьяка. Вероятно, это связано с тем, что в водорослях менее выражена трансформация в том числе и мышьяка из-за отличных от рыб процессов физиологии.

Известно, что в морских организмах неорганический мышьяк может подвергаться биоконверсии в метилированные соединения, такие как ММА или арсенобетайн (AsB) [1, 2, 4, 31]. Поэтому AsB обнаружен у всех протестированных высших трофических организмов, но отсутствовал у ламинарии. На долю AsB приходится 13% общего содержания мышьяка в донных рыбах, 79% в пресноводных рыбах и 47% в лососе. В других видах исследуемых видов рыб содержание AsB варьируется в пределах 20 – 45%.

Остальные соединения мышьяка не были идентифицированы, в виду ограниченности лабораторных ресурсов.

Основываясь на прогнозируемом уровне воздействия мышьяка в пище и ожидаемом метаболизме, маловероятно, что мышьяк в пище может значительно способствовать канцерогенным эффектам, связанным с мышьяком. Это связано с тем, что основная часть мышьяка в морепродуктах находится в виде AsB, который не токсичен с $LD_{50} > 10\,000$ мкг/г и быстро выводится из организма в неизменном виде с продуктами жизнедеятельности [31, 32].

Результаты этих исследований показывают, что водоросли имеют самое высокое общее содержание мышьяка $1,510 \pm 0,080$ мг/кг. Все остальные образцы исследуемых рыб в этом исследовании имели общее содержание мышьяка ниже 0,60 мг/г. С другой стороны, содержание токсичного неорганического мышьяка в этих образцах морепродуктов колеблется от $<0,005$ до 0,027 мг/кг.

Таким образом, содержание общего мышьяка как мера неоднозначна. При отсутствии анализа форм нахождения и допущение, что общее содержание мышьяка составляет 100%, неверно делать следующие выводы:

1. что ламинарии опасны с точки зрения общего содержания в них мышьяка, без данных о форме нахождения, так как почти весь мышьяк в них не токсичен;
2. что виды донных и хищных видов рыб накапливают значительные количества мышьяка в виду их пищевых особенностей, и в этом случае большая часть элемента находится в виде токсикологически инертных соединений, например, в виде AsB, который, как известно, не токсичен.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определение различных химических форм элементов входит в число наиболее актуальных задач для аналитических и экологических лабораторий. Наименее изучен вопрос определения и нормирования мышьяка и его видовых форм, с чем связано стремительно растущее число публикаций в этой области.

При анализе литературных источников, установлено, что наиболее чувствительным методом, обладающим высокой точностью, селективностью и воспроизводимостью, является метод ВЭЖХ-ИСП-МС в вариантах ионообменной ион-парной обращено-фазовой хроматографии. К основным

достоинствам метода можно отнести ультранизкие пределы количественного определения, незначительное влияние матричных и инструментальных интерференций, возможность использования простых и экспрессных процедур пробоподготовки.

В этих исследованиях мы обратили внимание на гидрофильные соединения мышьяка, которые составляют основную часть видов мышьяка в исследуемых материалах, за исключением ламинарии – морской водоросли, употребляемой в пищу. Поскольку не все виды мышьяка экстрагировались в водной фазе во всех исследуемых материалах, необходимо охарактеризовать и количественно определить неизвестную фракцию мышьяка, чтобы установить уровень риска.

Описанные методические подходы определения мышьяка и его распределение по формам нахождения апробировано на большой выборке объектов ихтиофауны, как морской, так и пресноводной, также на морских водорослях ламинарии. Наши результаты хорошо согласуются с данными, полученными при исследованиях объектов морской и пресноводной экосистем на мировом уровне.

Хотелось быть еще раз подчеркнуть, что принимать решение по уровню токсичности мышьяка, обнаруженного в рыбе или морских водорослях можно только после выявления форм нахождения этого элемента.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Отраслевой программы Роспотребнадзора, регистрационный номер 121090800090-4 (фундаментальные исследования).

ACKNOWLEDGMENT

The work was supported in part by the Industry Program of Rosпотребнадзор, registration number 121090800090-4 (basic research).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

CONFLICT OF INTERESTS:

The authors declare no conflict of interests.

Список литературы:

1. Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. (2004). *Биохимическая индикация состояния рыб*. М.: Наука, 215 с.
2. Fowler B. A., Chou C. S. J., Jones R. L., & Chen C.J. (2007). *Handbook of the toxicology of metals (3rd ed.)*. Burlington: Elsevier.
3. Komorowicz I., & Barańkiewicz D. (2016). Determination of total arsenic and arsenic species in drinking water, surface water, wastewater, and snow from Wielkopolska, Kujawy-Pomerania, and Lower Silesia provinces, Poland. *Environ Monit Assess*, 188(9), 504(2016).
<https://doi.org/10.1007/s10661-016-5477-y>.
4. Cima F., Craig P., & Harrington Ch. (2003). *Organometallic compounds in the environment*. USA: John Wiley & Sons Ltd, Inc. <https://doi.org/10.1002/0470867868.ch3>.

5. World Health Organization (2011). Guidelines for drinking water quality, 4th ed. Switzerland: WHO.
6. COUNCIL DIRECTIVE 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. (1998). *Official Journal of the European Communities*, L 330/32, 32 p.
7. СанПин 1.2.3685-21. Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания, 2021. 677 с.
8. Mandal B., & Suzuki K. (2002). Arsenic round the world: a review. *Talanta*, 58, 201–235. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(02\)00268-0](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(02)00268-0)
9. Paikaray S. (2012). Environmental hazards of arsenic associated with black shales: a review on geochemistry, enrichment and leaching mechanism. *Rev. Environ. Sci. Biol.*, 11, 289–303. <https://doi.org/10.1007/s11157-012-9281-z>.
10. Villaescusa I., & Bollinger J. (2008). Arsenic in drinking water: sources, occurrence and health effects (a review). *Rev. Environ. Sci. Biol.*, 7, 307–323. <https://doi.org/10.1007/s11157-008-9138-7>.
11. Akter K., Owens G., & Davey D. (2005). Arsenic speciation and toxicity in biological systems. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 184, 97–149. https://doi.org/10.1007/0-387-27565-7_3.
12. ТР/ТС 021-2011 «О безопасности пищевой продукции», 2011. 242 с.
13. GB 2752-2022. China Releases the Standard for Maximum Levels of Contaminants in Foods https://www.fsis.usda.gov/sites/default/files/media_file/2021-02/GB-2762-2017.pdf (дата обращения 15.05.2023).
14. ГОСТ 4152-89. ВОДА ПИТЬЕВАЯ. Метод определения массовой концентрации мышьяка, 1991. 7с.
15. ПНД Ф 14.1:2:4.221-06. Методика выполнения измерений массовой концентрации ионов мышьяка и ртути в пробах воды питьевой, минеральной питьевой, природной и сточной методом инверсионной вольтамперометрии, 2006. 22 с.
16. Sanchez-Rodas D., Corns W., Chen B., & Stockwel P. (2010). Atomic fuorescence spectrometry: a suitable detection technique in speciation studies for arsenic, selenium, antimony and mercury. *J. Anal. At. Spectrom.*, 25, 933–946. <https://doi.org/10.1039/B917755H>.
17. Fiket Z., Roje V., Mikac N., & Kniewald G. (2007). Determination of arsenic and other trace elements in bottled waters by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry. *Croat. Chem. Acta*, 80, 91–100.
18. Jackson B. P., Liba A., & Nelson J. (2015) Advantages of reaction cell ICP-MS on doubly charged interferences for arsenic and selenium analysis in foods. *J. Anal. At. Spectrom.*, 30, 1179–1183. <https://doi.org/10.1039/C4JA00310A>
19. Magnusson B., & Ornemark U. (2014). Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.
20. EN 16278:2012. Animal feeding stuffs - Determination of inorganic arsenic by hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS) after microwave extraction and separation by solid phase extraction (SPE), 2012. 18 p. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/cen/50782c2f-939f-4316-85d3-9f3fa4c7306a/en-16278-2012> (дата обращения 05.08.2023).
21. Jin, P., Liang, X., Xia, L., Jahouh, F., Wang, R., Kuang, Y., & Hu, X. (2016). Determination of 20 trace elements and arsenic species for a realgar-containing traditional Chinese medicine Niu Huang Jiedu tablets by direct inductively coupled plasma-mass spectrometry and high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasm. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 33, 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2015.09.006>.
22. Komorowicz I., Sajnog A., Barakiewicz D. (2019). Total arsenic and arsenic species determination in freshwater fish by ICP-DRC-MS and HPLC/ICP-DRC-MS techniques. *Molecules*, 24(3). <https://doi.org/10.3390/molecules24030607>.

23. Yu X., Deng T., Guo Y., & Wang Q. (2014). Arsenic species analysis in freshwater using liquid chromatography combined to hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*, 69, 83–88. <https://doi.org/10.1134/S1061934814010146>.
24. Hirano S., Kobayashi Y., Cui X., Kanno S., Hayakawa T., & Shraim A. (2004). The accumulation and toxicity of methylated arsenicals in endothelial cells: important roles of thiol compounds. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 198, 458 – 467. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2003.10.023>.
25. Karadjova I., Slavekova V., & Tsalev D. (2008). The biouptake and toxicity of arsenic species on the green microalga *Chlorella salina* in seawater. *Aquat. Toxicol.*, 87, 264–271. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.02.006>.
26. Petrick J., Ayala-Fierro F., Cullen W., Carter D., & Vasken A. (2000). Monomethylarsonous acid (MMA III) is more toxic than arsenite in Chang human hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 163, 203–207. <https://doi.org/10.1006/taap.1999.8872>.
27. Bondareva L. (2018) *Tritium in the freshwater ecosystem of the Yenisei River: behavior, accumulation, and transformation*. In: *Tritium: Advance in Research and Application*. New York: Nova Science Publishers. (pp. 47–98).
28. GUM. The Guide to the expression of uncertainty in measurement, 2004. 30 p.
29. Jan A., Benford D., Boobis A., & Ceccatelli S. Scientific Opinion on Arsenic in Food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal*, 7(10), 1351. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1351>.
30. BS EN 16802:2016. Foodstuffs. Determination of elements and their chemical species. Determination of inorganic arsenic in foodstuffs of marine and plant origin by anion-exchange HPLC-ICP-MS, 2016. 18 p. <https://www.en-standard.eu/bs-en-16802-2016-foodstuffs-determination-of-elements-and-their-chemical-species-determination-of-inorganic-arsenic-in-foodstuffs-of-marine-and-plant-origin-by-anion-exchange-hplc-icp-ms/> (дата обращения 05.08.2023).
31. Kenyon E.M., & Hughes M.F. (2001). A concise review of the toxicity and carcinogenicity of dimethylarsinic acid. *Toxicology*, 160, 227–236. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(00\)00458-3](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(00)00458-3).
32. Kaise T., Watanabe S., & Itoh K. (1985) The acute toxicity of arsenobetaine. *Chemosphere*, 14, 1327–1332. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(85\)90153-5](https://doi.org/10.1016/0045-6535(85)90153-5)

References:

1. Nemova N.N., & Vysotskaya R.U. (2004). *Biochemical indication of fish condition*. M.: Nauka, 215 p. (in Russ.)
2. Fowler B. A., Chou C. S. J., Jones R. L., & Chen C.J. (2007). *Handbook of the toxicology of metals (3rd ed.)*. Burlington: Elsevier.
3. Komorowicz I., & Barańkiewicz D. (2016). Determination of total arsenic and arsenic species in drinking water, surface water, wastewater, and snow from Wielkopolska, Kujawy-Pomerania, and Lower Silesia provinces, Poland. *Environ Monit Assess*, 188(9), 504(2016). <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5477-y>.
4. Cima F., Craig P., & Harrington Ch. (2003). *Organometallic compounds in the environment*. USA: John Wiley & Sons Ltd, Inc. <https://doi.org/10.1002/0470867868.ch3>.
5. World Health Organization (2011). *Guidelines for drinking water quality*, 4th ed. Switzerland: WHO.
6. COUNCIL DIRECTIVE 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. (1998). *Official Journal of the European Communities*, L 330/32, 32 p.
7. SanPin 1.2.3685-21. Hygienic norms and requirements to ensure safety and (or) harmlessness of environmental factors for humans, 2021. 677 p. (in Russ.).
8. Mandal B., & Suzuki K. (2002). Arsenic round the world: a review. *Talanta*, 58, 201–235. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(02\)00268-0](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(02)00268-0).

9. Paikaray S. (2012). Environmental hazards of arsenic associated with black shales: a review on geochemistry, enrichment and leaching mechanism. *Rev. Environ. Sci. Biol.*, 11, 289 – 303. <https://doi.org/10.1007/s11157-012-9281-z>.
10. Villaescusa I., & Bollinger J. (2008). Arsenic in drinking water: sources, occurrence and health effects (a review). *Rev. Environ. Sci. Biol.*, 7, 307–323. <https://doi.org/10.1007/s11157-008-9138-7>.
11. Akter K., Owens G., & Davey D. (2005). Arsenic speciation and toxicity in biological systems. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 184, 97–149. https://doi.org/10.1007/0-387-27565-7_3.
12. TR/TS 021-2011 «On Food Safety», 2011. 242 p. (in Russ.).
13. GB 2752-2022. China Releases the Standard for Maximum Levels of Contaminants in Foods https://www.fsis.usda.gov/sites/default/files/media_file/2021-02/GB-2762-2017.pdf (accessed 15.05.2023).
14. GOST 4152-89. Drinking water. Method for determination of arsenic mass concentration, 1991. 7 p. (in Russ.).
15. PND F 14.1:2:4.221-06. Methodology for measuring the mass concentration of arsenic and mercury ions in drinking, mineral drinking, natural and waste water samples by the inversion voltammetry method, 2006. 22 p. (in Russ.).
16. Sanchez-Rodas D., Corns W., Chen B., & Stockwel P. (2010). Atomic fluorescence spectrometry: a suitable detection technique in speciation studies for arsenic, selenium, antimony and mercury. *J. Anal. At. Spectrom.*, 25, 933–946. <https://doi.org/10.1039/B917755H>.
17. Fiket Z., Roje V., Mikac N., & Kniewald G. (2007). Determination of arsenic and other trace elements in bottled waters by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry. *Croat. Chem. Acta*, 80, 91–100.
18. Jackson B. P., Liba A., & Nelson J. (2015) Advantages of reaction cell ICP-MS on doubly charged interferences for arsenic and selenium analysis in foods. *J. Anal. At. Spectrom.*, 30, 1179–1183. <https://doi.org/10.1039/C4JA00310A>.
19. Magnusson B., & Ornemark U. (2014). *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*.
20. EN 16278:2012. Animal feeding stuffs - Determination of inorganic arsenic by hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS) after microwave extraction and separation by solid phase extraction (SPE), 2012. 18 p. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/cen/50782c2f-939f-4316-85d3-9f3fa4c7306a/en-16278-2012> (accessed 05.08.2023).
21. Jin, P., Liang, X., Xia, L., Jahouh, F., Wang, R., Kuang, Y., & Hu, X. (2016). Determination of 20 trace elements and arsenic species for a realgar-containing traditional Chinese medicine Niu Huang Jiedu tablets by direct inductively coupled plasma-mass spectrometry and high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasm. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 33, 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2015.09.006>.
22. Komorowicz I., Sajhóg A., & Barańkiewicz D. (2019). Total arsenic and arsenic species determination in freshwater fish by ICP-DRC-MS and HPLC/ICP-DRC-MS techniques. *Molecules*, 24(3). <https://doi.org/10.3390/molecules24030607>.
23. Yu X., Deng T., Guo Y., & Wang Q. (2014). Arsenic species analysis in freshwater using liquid chromatography combined to hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry*, 69, 83–88. <https://doi.org/10.1134/S1061934814010146>.
24. Hirano S., Kobayashi Y., Cui X., Kanno S., Hayakawa T., & Shraim A. (2004). The accumulation and toxicity of methylated arsenicals in endothelial cells: important roles of thiol compounds. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 198, 458–467. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2003.10.023>.

25. Karadjova I., Slavekova V., & Tsalev D. (2008). The biouptake and toxicity of arsenic species on the green microalga *Chlorella salina* in seawater. *Aquat. Toxicol.*, 87, 264–271. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.02.006>.
26. Petrick J., Ayala-Fierro F., Cullen W., Carter D., & Vasken A. (2000). Monomethylarsonous acid (MMA III) is more toxic than arsenite in Chang human hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 163, 203–207. <https://doi.org/10.1006/taap.1999.8872>.
27. Bondareva L. (2018) *Tritium in the freshwater ecosystem of the Yenisei River: behavior, accumulation, and transformation*. In: *Tritium: Advance in Research and Application*. New York: Nova Science Publishers. (pp. 47–98).
28. GUM. The Guide to the expression of uncertainty in measurement, 2004. 30 p.
29. Jan A., Benford D., Boobis A., & Ceccatelli S. Scientific Opinion on Arsenic in Food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal*, 7(10), 1351. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1351>.
30. BS EN 16802:2016. Foodstuffs. Determination of elements and their chemical species. Determination of inorganic arsenic in foodstuffs of marine and plant origin by anion-exchange HPLC-ICP-MS, 2016. 18 p. <https://www.en-standard.eu/bs-en-16802-2016-foodstuffs-determination-of-elements-and-their-chemical-species-determination-of-inorganic-arsenic-in-foodstuffs-of-marine-and-plant-origin-by-anion-exchange-hplc-icp-ms/> (accessed 05.08.2023)
31. Kenyon E.M., & Hughes M.F. (2001). A concise review of the toxicity and carcinogenicity of dimethylarsinic acid. *Toxicology*, 160, 227–236. [https://doi.org/10.1016/S0300-83X\(00\)00458-3](https://doi.org/10.1016/S0300-83X(00)00458-3).
32. Kaise T., Watanabe S., & Itoh K. (1985) The acute toxicity of arsenobetaine. *Chemosphere*, 14, 1327–1332. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(85\)90153-5](https://doi.org/10.1016/0045-6535(85)90153-5).