

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата химических наук
Мелехина Артема Олеговича
на тему: «ВЭЖХ-МС/МС определение метаболитов нитрофуранов в
пищевых продуктах с использованием нового дериватирующего
агента, сверхсшитого и магнитного сверхсшитого полистиролов»
по специальности 1.4.2 – «Аналитическая химия»

Диссертационная работа А.О. Мелехина посвящена решению **актуальной** проблемы, связанной с разработкой чувствительных методов одновременного определению нитрофуранов и, что особенно важно, их метаболитов, а также других потенциально опасных для здоровья человека лекарственных препаратов в пищевых продуктах. Актуальность проблемы подчеркивается данными о продолжающемся использовании этих препаратов в агропромышленных комплексах, несмотря на существующие запреты, а также относительной устойчивостью метаболитов нитрофуранов в связанном с белками виде.

Сложность определения метаболитов нитрофуранов заключается в их высокой гидрофильности и нахождения в связанной с матрицей формах, что требует разработки более совершенных и эффективных методов пробоподготовки объектов анализа и химической дериватизации метаболитов с целью изменения их гидрофобности и свойств, позволяющих осуществлять более чувствительное и надежное количественное определение следовых количеств этих соединений. Для решения вышеупомянутой проблемы автором разработаны методики определения, **новизна** которых заключается в использовании нового дериватирующего агента 5-нитро-2-фуральдегида (5-НФА) и сверхсшитого полистирола (ССПС) и его магнитного аналога. Определенная оригинальность использования 5-НФА заключается в том, что конечные продукты дериватизации представляют

собой исходные нитрофураны, то есть снижается количество определяемых форм в объектах анализа. Кроме того, появляется возможность использования большого объема литературных данных по определению нитрофуранов в пищевых продуктах для определения их метаболитов.

Практическая значимость работы А.О. Мелехина связана с разработкой методик ВЭЖХ-МС/МС определения основных, то есть нормируемых, нитрофуранов (фуразолидон, нитрофуразон, нитрофурантоин, фуралтодон) и соответствующих метаболитов нитрофуранов (3-амино-2-оксазолидинон, 3-амино-5-метилморфолино-2-оксазолидинон, 1-аминогидантоин, семикарбазид) в меде, куриных яйцах, курином мясе и субпродуктах включающие очистку гидролизатов методом ТФЭ или МТФЭ. Хочется отметить дальнейший потенциал практического использования разработанных методик, что показано на примере определения нитрофуранов вместе с другими 128 лекарственными препаратами в молоке.

Следует отметить удачный выбор сверхсшитого полистирола в качестве адсорбента и его магнитного аналога для концентрирования особенно нитрофуранов и нитропроизводных метаболитов. В этом случае, дефицит электронной плотности в ароматических системах указанных аналитов за счет наличия нитрогрупп обеспечивает дополнительные π - π взаимодействия с π -донорной ароматической структурой полимерного сорбента.

Не вызывает сомнений **степень достоверности** полученных результатов за счет использования современного хроматографического и масс-спектрометрического оборудования, необходимых стандартов, обработки полученных результатов методами математической статистики, хорошей воспроизводимостью и правильностью результатов, соответствием с результатами независимых методов анализа.

Структура представленной диссертационной работы соответствует классической схеме и состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, 4 глав с результатами исследования, заключения,

выводов и списка цитируемой литературы. Работа содержит 157 страниц машинописного текста, включая 32 рисунка, 30 таблиц и список цитируемой литературы из 198 источников информации.

Первая глава представляет собой исчерпывающий обзор по теме на основе данных из 163 источников информации по свойствам нитрофуранов и их метаболитов, хроматографическим способам определения указанных классов соединений и нормирующих документов. Особо следует отметить подробную информацию по применению различных дериватизирующих реагентов (таблица 2), раздел 1.5 по многокомпонентным методам определения метаболитов нитрофуранов совместно с другими лекарственными веществами, который предполагает дальнейшее развитие работ в данном направлении. В конце главы сформулированы задачи исследования.

Экспериментальная часть работы написана достаточно подробно, но могла бы быть более детализирована в ряде случаев, например, относительно методики гомогенизации проб, что будет сформулировано далее в виде отдельного замечания.

Главы 4-6 содержат экспериментально полученные результаты по оптимизации условий дериватизации метаболитов нитрофуранов с 5-НФА, изучению сорбции нитрофуранов на сверхсшитом полистироле и его магнитном аналоге, определению метаболитов нитрофуранов методом ВЭЖХ-МС/МС и многокомпонентной твердофазной экстракции с использованием сверхсшитого полистирола. Все главы содержат огромное количество данных, которые обсуждаются, как в перечисленных главах, так и в заключении.

В целом следует отметить, что диссертантом успешно решены все поставленные задачи. Особенно стоит отметить убедительно доказанное преимущество нового реагента 5-НФА в сравнении с традиционно используемым реагентом 2-нитробензальдегидом. Показана эффективность сверхсшитого полистирола и его магнитного аналога для сорбционного

выделения 132 лекарственных препаратов из сложных по составу матриц. Данные результаты, полученные с использованием современного хроматографического и масс-спектрометрического оборудования, имеют большую перспективу для дальнейшего практического использования сверхсшитого полистирола.

Работа написана понятным научным языком и практически не содержит опечаток. Полученные диссертантом **материалы соответствуют паспорту научной специальности 1.4.2 – Аналитическая химия.**

Основные результаты диссертационной работы достаточно полно опубликованы в 3 статьях в высокорейтинговых зарубежных журналах по специальности, а также в 3 статьях в основном отечественном журнале по аналитической химии, а также доложены на 4 отечественных научных конференциях.

Несмотря на высокий уровень научного исследования и высокую значимость полученных диссертантом результатов, по работе имеются следующие замечания:

1. Украшением работы и одновременно некоторым осложнением является совмещение химической формы причины появления метаболитов в объектах анализа, то есть добавок нитрофуранов в корма, и следствия использования 5-НФА в качестве дериватизирующего агента, то есть нитрофуранов в качестве определяемой формы. То есть, присутствие остаточных, неразложившихся нитрофуранов, может влиять на конечные результаты определения. В работе отсутствует подробное рассмотрение этой проблемы.

2. Одной из наиболее изученных аспектов диссертационной работы является оптимизация пробоподготовки образцов. Несмотря на большой объем информации, в работе отсутствует какая-либо информация о гомогенизации анализируемых образцов. Так, отсутствуют конкретные данные о том, как проводилась гомогенизация образцов. В особенности это

относится к биологическим тканям, таким как куриное мясо. В настоящее время существует большое количество различных типов гомогенизаторов, в том числе с расширенными возможностями, например, с одновременной ультразвуковой обработкой гомогенизируемой пробы. Автор диссертации справедливо указывает на прочность связывания метаболитов нитрофуранов с матрицей образцов, поэтому важно было бы указать не только способ и конкретные условия гомогенизации (время, тип гомогенизатора, возможные добавки при гомогенизации), но и привести характеристики получаемых гомогенизированных проб. В первую очередь, это относится к размеру частиц биологических ткани в образующихся гомогенизатах. Понятно, что экстракция аналитов из объема твердых или полутвердых частиц зависит от их размера и влияет на время гидролиза соответствующих ассоциатов метаболитов.

3. Одним из важных элементов новизны работы является использование сверхсшитого полистирола (ССПС) и его магнитного аналога. Автор убедительно показывает, что данные сорбенты эффективно работают для твердофазной экстракции нитрофуранов. Однако, сравнение их экстракционной эффективности с зарубежными аналогами (Таблица 29) по сути, проводится для разных анализируемых соединений. В случае зарубежных сорбентов это производные метаболитов нитрофуранов с 2-нитробензальдегидом (2-НБА). Учитывая, что продукты реакции с 2-НБА более гидрофобные, то данное сравнение работает не в пользу ССПС, а зарубежных адсорбентов.

4. Большинство анализируемых объектов представляет более-менее однородные образцы, за исключением куриных яиц, которые состоят из желтка (25 %), белка (65 %) и скорлупы (10%). Поскольку, как справедливо отмечает автор работы, метаболиты нитрофуранов специфично взаимодействуют только с белками, представлялось бы более логичным использовать исключительно белковую составляющую яиц для определения метаболитов нитрофуранов. Учитывая, что согласно литературным данным,

соотношение концентраций метаболитов нитрофуранов (например, нитрофурантоина) в белке и желтке составляет около 100, то возможно простое повышение чувствительности анализа на два порядка за счет использования в качестве объекта анализа белка яйца. Кроме того, желток яйца содержит достаточно много липидов, которые требуют дополнительных операций (в данной работе – экстракция генсаном) для их удаления из пробы перед анализом.

5. Для объяснения ряда полученных результатов по сорбционному извлечению лекарственных препаратов используются значения параметров Ханша или коэффициентов распределения между октанолом-2 и водой ($\lg P$). Автор использует теоретически рассчитанные значения $\lg P$, которые взяты из базы данных MarvinSketch. Их использование не совсем оправдано, поскольку экспериментально полученные значения $\lg P$, известные для многих лекарственных препаратов, заметно отличаются (вплоть до 1 по логарифму) от рассчитанных.

6. В разделе 2.7. автор работы указывает, что изотермы адсорбции использовались для расчета коэффициенты распределения D и изменения свободной энергии Гиббса ΔG . Однако, данные параметры в работе не рассчитывались и не использовались.

Вместе с тем, вышеприведенные замечания не носят принципиального характера и не умаляют значимости диссертационного исследования, выполненного Мелехиным Артемом Олеговичем. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.4.2 – «Аналитическая химия» (по химическим наукам), а также критериям, определенным Положением о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Мелехин Артем Олегович заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2 – «Аналитическая химия».

Официальный оппонент:

доктор химических наук, профессор,
ВЕДУЩИЙ НАУЧНЫЙ СОТРУДНИК кафедры физической химии
химического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова»

НЕСТЕРЕНКО Павел Николаевич

подпись

20.02.2023

Контактные данные:

p.nesterenko@phys.chem.msu.ru, +7 (495) 939-43-53

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

02.00.02 – Аналитическая химия

Адрес места работы:

119991, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 3,

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Московский государственный университет имени
М.В.Ломоносова», химический факультет, кафедра физической химии

Тел.: +7 (495) 939-35-71; e-mail: dekanat@chem.msu.ru