

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Гончаров Никита Олегович

**Магнитная твердофазная экстракция с диспергированием
магнитного сверхсшитого полистирола углекислым газом
для выделения амфениколов и нитроимидазолов
перед их ВЭЖХ-МС/МС-определением**

Специальность 1.4.2. Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2026

Диссертация подготовлена на кафедре аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова.

Научный руководитель: **Толмачева Вероника Владимировна,**
кандидат химических наук

Официальные оппоненты: **Амелин Василий Григорьевич,**
*доктор химических наук, профессор,
Владимирский государственный университет
имени Александра Григорьевича и Николая
Григорьевича Столетовых, институт
естественных наук, кафедра химии и
химических технологий, профессор*
Еремин Сергей Александрович,
*доктор химических наук, профессор,
МГУ имени М.В.Ломоносова, химический
факультет, кафедра химической энзимологии,
ведущий научный сотрудник*
Моходоева Ольга Борисовна,
*кандидат химических наук,
Институт геохимии и аналитической химии
им. В.И. Вернадского Российской академии
наук, лаборатория концентрирования,
ведущий научный сотрудник*

Защита диссертации состоится «14» октября 2026 года в 15 часов 00 минут на заседании диссертационного совета МГУ.014.5 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, г. Москва, ГСП-1, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 3, МГУ имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, аудитория 446.

E-mail: dissovet02.00.02@mail.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций Научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (г. Москва, Ломоносовский просп., д. 27) и на сайте <https://dissovet.msu.ru/dissertation/4023>.

Автореферат разослан «___» сентября 2026 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук

Ананьева И.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Пробоподготовка является наиболее сложной и трудоемкой стадией аналитического цикла, на выполнение которой зачастую уходит большая часть времени всего анализа. Поэтому в настоящее время идет активный поиск новых подходов, которые позволяют снизить временные и материальные затраты, улучшить аналитические характеристики методик, а также уменьшить негативное воздействие, связанное с реализацией аналитической процедуры, на окружающую среду и человека.

В этой связи выгодно выделяется метод пробоподготовки, в англоязычной литературе получивший название «effervescence-assisted microextraction». Он основан на химическом диспергировании сорбента или экстрагента углекислым газом и, как правило, реализуется с использованием «шипучих» таблеток. Его выгодно отличает отсутствие необходимости использования перемешивающих устройств, упрощение схемы анализа и его ускорение, дешевизна и доступность. Диспергирование углекислым газом универсально и может использоваться как в жидкостной, так и в твердофазной экстракции.

Наибольший интерес в данном методе представляют магнитные сорбенты, так как они позволяют сочетать эффективность диспергирования с легкостью отделения твердой фазы от раствора. Такой вариант магнитной твердофазной экстракции (МТФЭ) получил в англоязычной литературе название magnetic effervescent tablet microextraction или effervescence-assisted magnetic dispersive solid-phase extraction, что на русский перевели как “микроэкстракция магнитными шипучими таблетками” или “магнитная твердофазная экстракция с диспергированием сорбента углекислым газом” (МТФЭ-СО₂), соответственно. На сегодняшний день существует не так много работ, посвящённых подобному подходу к пробоподготовке. В качестве сорбентов зачастую используют магнитные наночастицы, функционализированные ионными жидкостями. Мало сведений о применении метода МТФЭ-СО₂ для пробоподготовки сложных объектов, таких как пищевые продукты; в частности, нет работ, посвящённых выделению ветеринарных антибиотиков. Между тем задача их определения в таких объектах стоит весьма остро, что во многом связано с глобальной проблемой развития антибиотикорезистентности, представляющей значительную опасность для здоровья человека. Актуально расширение круга используемых магнитных сорбентов и определяемых с применением МТФЭ-СО₂ веществ, а также разработка подходов к многокомпонентному выделению приоритетных аналитов с применением данного варианта пробоподготовки.

Цель работы состояла в поиске новых подходов к многокомпонентному выделению амфениколов, нитроимидазолов и некоторых других ветеринарных антибиотиков из молока, меда и речных вод, основанных на МТФЭ-СО₂, перед их ВЭЖХ-МС/МС определением.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Провести оценку возможности использования магнитного сверхсшитого полистирола (МССПС) в методе МТФЭ-СО₂, для чего необходимо выбрать условия получения шипучих таблеток, включающих в свой состав магнитный сорбент.

2. На примере амфениколов и нитроимидазолов выявить основные факторы, влияющие на степень извлечения антибиотиков в методе МТФЭ-СО₂; изучить особенности их сорбции в зависимости от состава шипучей таблетки, природы сорбатов, объема анализируемого раствора; сравнить эффективность выделения этих антибиотиков методом МТФЭ-СО₂ с классическим вариантом МТФЭ.

3. Разработать новые варианты пробоподготовки пищевых продуктов с использованием шипучих таблеток, содержащих магнитный сверхсшитый полистирол, для выделения амфениколов и нитроимидазолов методом МТФЭ-СО₂ в сочетании с ВЭЖХ-МС/МС определением, а также провести валидацию разработанных методик.

4. Разработать способ многокомпонентного выделения ветеринарных лекарственных веществ методом МТФЭ-СО₂ из речных вод в сочетании с ВЭЖХ-МС/МС определением.

Научная новизна.

1. Показано, что магнитный сорбент на основе сверхсшитого полистирола (ССПС) пригоден к использованию в варианте пробоподготовки методом магнитной твердофазной экстракции с диспергированием сорбента углекислым газом.

2. Разработан способ получения шипучих таблеток, содержащих магнитный ССПС и эффервесцентные реагенты, в качестве которых выбраны гидрокарбонат натрия и лимонная кислота; подобран их состав для эффективного использования в решаемых задачах.

3. Показано, что шипучие таблетки, содержащие магнитный ССПС, можно использовать в методе МТФЭ-СО₂ для количественного выделения амфениколов и нитроимидазолов из водных растворов; выявлены основные факторы, влияющие на этот процесс.

4. Показано, что метод МТФЭ-СО₂ с использованием таблеток, содержащих МССПС, гидрокарбонат натрия и лимонную кислоту, применим для группового выделения амфениколов, нитроимидазолов и их метаболитов из экстрактов меда и молока перед их дальнейшим определением методом ВЭЖХ-МС/МС.

5. Обоснован подход к скринингу речных вод на содержание антибиотиков, основанный на их многокомпонентном выделении и концентрировании методом МТФЭ-СО₂ и дальнейшем их определении методом ВЭЖХ-МС/МС.

Практическая значимость.

1. Предложены составы шипучих таблеток, содержащих МССПС, для реализации экспрессной и простой пробоподготовки меда, молока и речной воды с применением МТФЭ-СО₂.

2. Определены условия для количественного выделения амфениколов, нитроимидазолов и их метаболитов из меда и молока в случае первых и меда в случае вторых, а также их мультиклассового выделения вместе с другими антибиотиками из

речных вод с применением шипучих таблеток, содержащих МССПС, для дальнейшего определения аналитов методом ВЭЖХ-МС/МС.

3. Разработаны и валидированы методики ВЭЖХ-МС/МС определения тиамфеникола, флорфеникола и хлорамфеникола в мёде и молоке после пробоподготовки методом МТФЭ-СО₂ с использованием шипучих таблеток, содержащих МССПС. Предложенные методики позволяют определять амфениколы на уровнях ниже МДУ (C_{lim} находится в диапазоне от 0.3 до 1 мкг/кг в случае мёда и 0.02-0.05 мкг/кг в случае молока).

4. Разработана и валидирована методика ВЭЖХ-МС/МС определения диметридазола, гидроксидиметридазола, ипронидазола, гидроксиипронидазола, метронидазола, гидроксиметронидазола, ронидазола, орнидазола, тернидазола и тинидазола в меде после пробоподготовки методом МТФЭ-СО₂ с использованием шипучих таблеток, содержащих МССПС. Предложенная методика позволяет определять нитроимидазолы и их метаболиты на уровнях ниже МДУ (C_{lim} находится в диапазоне от 0.3 до 1 мкг/кг).

5. Разработана и валидирована методика многокомпонентного выделения с последующим ВЭЖХ-МС/МС определением 55 ветеринарных лекарственных веществ 9 классов (4 амфеникола, 9 β-лактамов, 1 диаминопиридин, 3 линкозамида, 9 макролидов, 9 нитроимидазолов, 2 плевомутилина, 12 сульфаниламидов, 6 хинолонов) в речных водах после их выделения методом МТФЭ-СО₂, позволяющая определять эти соединения на уровне 0.012–0.2 мкг/л. Методика апробирована при анализе вод трех рек.

Положения, выносимые на защиту

1. Универсальность сорбционных свойств по отношению к определяемым ветеринарным лекарственным веществам и простота отделения от раствора МССПС позволяют обосновать возможность его применения в качестве эффективного сорбционного материала в методе МТФЭ-СО₂.

2. Способ получения эффервесцентных таблеток для МТФЭ-СО₂, содержащих МССПС, диспергирующие реагенты (гидрокарбонат натрия и лимонную кислоту), а также связующие компоненты, позволяет получать удобную в использовании и обладающую требуемыми эксплуатационными характеристиками форму сорбента для метода МТФЭ-СО₂.

3. Применение диспергирования углекислым газом позволяет достичь количественного извлечения амфениколов, нитроимидазолов и их метаболитов на МССПС из водных растворов и экстрактов продуктов питания.

4. Варьирование состава шипучих таблеток, содержащих МССПС, позволяет модифицировать МТФЭ-СО₂ для выделения амфениколов и нитроимидазолов из меда или молока, а сочетание предложенных методик выделения с ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием позволяет определять эти антибиотики на уровне 0.3–1 мкг/кг в меде и 0.02–0.05 мкг/кг в молоке соответственно.

5. Экспрессный подход к одновременному многокомпонентному выделению методом МТФЭ-СО₂ 55 антибиотиков девяти различных классов из речных вод в сочетании с ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием обладает высокой чувствительностью (сотые-десятые доли мкг/мл) и перспективен для проведения пробоподготовки в полевых условиях.

Степень достоверности. Достоверность полученных результатов подтверждается применением современного аналитического оборудования (в том числе хромато-масс-спектрометрического), осуществлением обработки полученных результатов методами математической статистики, проверкой правильности результатов методом «введено-найдено».

Соответствие паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.4.2. Аналитическая химия по областям исследований: методы химического анализа (химические, физико-химические, атомная и молекулярная спектроскопия, хроматография, рентгеновская спектроскопия, масс-спектрометрия, ядерно-физические методы и др.); теория и практика пробоотбора и пробоподготовки в аналитической химии; анализ органических веществ и материалов; анализ пищевых продуктов; анализ объектов окружающей среды.

Апробация результатов исследования. Результаты работы представлены на 9 всероссийских и международных конференциях (3 устных и 6 стендовых докладов): XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии (Санкт-Петербург, Россия, 2019); VI Всероссийский симпозиум «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием (Краснодар, Россия, 2021); Международный молодежный научный форум «Ломоносов-2022» (Москва, Россия, 2022); IV Съезд аналитиков России (Москва, Россия, 2022); XXX Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов-2023" (Москва, Россия, 2023); XXXI Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов-2024" (Москва, Россия, 2024); 53rd International symposium on high performance liquid phase separations and related techniques (Далянь, Китай, 2024); XIII всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды «ЭКОАНАЛИТИКА — 2025» (Санкт-Петербург, Россия, 2025); VII всероссийский симпозиум с международным участием «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар, Россия, 2025).

Публикации. По материалам работы опубликовано 4 печатных работы, в том числе 4 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности отрасли наук.

Личный вклад автора заключается в постановке цели и задач исследования, поиске и систематизации литературных данных по теме работы, постановке и проведении экспериментов, обработке и интерпретации полученных данных, подготовке к публикации результатов исследований, представлении полученных результатов на конференциях, формулировании научных положений, выносимых на

защиту, и выводов. Представленные результаты получены лично автором, под его руководством или в сотрудничестве с коллегами. Во всех опубликованных работах вклад автора является определяющим. В выполнении отдельных разделов работы принимали участие студенты Арсентьева Е.К., Бирюкова М.А. и Лазаревич Т.В., у которых автор был соруководителем курсовых и дипломной работы. Синтез магнитного ССПС осуществляли по методике, разработанной к.х.н., Толмачевой В.В. Помощь в получении и обработке данных при использовании масс-спектрометрических детекторов оказана к.х.н., с.н.с. А.О. Мелехиным (ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»).

Структура и объём работы. Работа имеет следующую структуру: сокращения и обозначения, введение, обзор литературы, экспериментальная часть (1 глава), результаты и их обсуждение (4 главы), заключение, выводы, список цитируемой литературы. Материал изложен на 135 страницах машинописного текста, содержит 32 рисунка, 35 таблиц. Список цитируемой литературы содержит 188 наименований.

Используемые сокращения

МТФЭ – магнитная твердофазная экстракция, МТФЭ-СО₂ – магнитная твердофазная экстракция с диспергированием сорбента углекислым газом, ССПС – сверхсшитый полистирол, МССПС – магнитный сверхсшитый полистирол, МНЧ – магнитные наночастицы, МЭ – матричный эффект.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цели и задачи, продемонстрирована научная новизна, показана практическая значимость, обозначены степени достоверности и апробации работы, приведены структура, объём, а также представлены публикации по теме исследования.

Обзор литературы

В первой главе диссертации представлен обзор литературы. В первой части обзора литературы представлена информация о современных тенденциях развития аналитической химии в рамках концепции защиты окружающей среды и устойчивого развития. Представлена хронология появления основных теоретических концепций и метрик, рассмотрено влияние этих концепций на стадию пробоподготовки. Во второй части обзора литературы рассматривается диспергирование углекислым газом в экстракционных и сорбционных методах разделения и концентрирования. Проведён поиск литературы по данному методу с диспергированием экстрагента или сорбента углекислым газом с момента его появления в 2011 году в системах Science Direct, eLibrary, Google Scholar по словосочетаниям: ("effervescent tablet" OR "effervescence-assisted" OR "tablet-assisted") AND "dispersive liquid-liquid" (AND "magnetic"); ("effervescent tablet" OR "effervescence-assisted" OR "tablet-assisted") AND ("solid-phase extraction" OR "solid-phase microextraction") (AND "magnetic"). Показано, что подавляющее число публикаций посвящено применению диспергирования углекислым газом в дисперсионной и гомогенной жидкость-жидкостной экстракции, обсуждены теоретические основы, и проведено сравнение с классическими

вариантами пробоподготовки с отдельным акцентом на варианте с применением магнитных сорбентов и их диспергировании углекислым газом.

Экспериментальная часть

Вторая глава содержит перечисление исходных веществ, реагентов, объектов исследования, используемой аппаратуры, описание техники и методики эксперимента, а также условия инструментального анализа.

Использовали стандарты ветеринарных лекарственных веществ с высокой степенью чистоты ($\geq 95.0\%$) фирм “Acros Organics”, “Glenthams”, “abcr”, “Alfa Aesar”, “Witega”, “DrEhrenstorfer”, “Sigma-Aldrich”, “European Pharmacopoeia”, “Toronto Research Chemicals”. Более подробные данные по чистоте и производителю каждого стандарта приведены в тексте диссертации. Некоторые физико-химические параметры приведены в таблицах 1 и 2.

Для получения МССПС использовали образец ССПС Диапак П-3 (патроны Диапак П-3, ЗАО “БиоХимМак СТ”) и магнитные наночастицы (МНЧ) Fe_3O_4 , которые получали смешением гексагидрата хлорида железа (III) (ч.д.а.), гексагидрата соли Мора (ч.д.а.), аммиака (ос.ч.) и соляной кислоты (ч.д.а.). Для прессования шипучих таблеток использовали моногидрат лимонной кислоты, гидрокарбонат натрия, этилендиаминтетраацетат натрия (Across Organics, Бельгия). Также в работе применялись следующие растворители: ацетонитрил, метанол, муравьиная кислота (Fisher Scientific Inc., США).

При определении амфениколов и нитроимидазолов их растворы концентрацией $1 \cdot 10^{-2}$ М получали путём растворения точных навесок в этаноле и метаноле соответственно и хранили при температуре 4°C . При одновременном многокомпонентном определении 55 лекарственных веществ классов их растворы концентрацией 1000 мкг/мл, а также растворы внутренних стандартов концентрацией 1000 мкг/мл получали путём растворения точной навески в ацетонитриле, или смеси ацетонитрил-вода (1:1) в случае β -лактамов, или в смеси ацетонитрил-25 %-ный водный раствор аммиака (1:1) в случае хинолонов и хранили не более шести месяцев при температуре -20°C . Перед использованием исходные растворы смесей аналитов разбавляли деионизированной водой до необходимой концентрации. Смесей веществ хранили 1 месяц.

Образцы полифлорного мёда и молока покупали в местных магазинах и хранили при температуре 4°C (Москва, Россия). Образцы речной воды отбирали из Москвы-реки, Оки и Вуоксы и хранили в холодильнике.

Деионизованную воду получали, используя систему очистки воды Millipore (“Millipore”, Германия). Кислотность среды определяли при помощи рН-метра-иономера “Эксперт 001” (“ЭкониксЭксперт”, Россия). Для осуществления механического диспергирования применяли шейкер для пробирок Sky Line S-3.02M (ELMI Ltd., Латвия), для отделения – центрифугу ЦЛн-16 (Xiangzhi Centrifuge, Китай), для осуществления десорбции – ультразвуковую ванну S15H (Elma Schmidbauer GmbH, Германия), для упаривания элюата в потоке воздуха после

десорбции – эвапоратор EVA EC S (VLM GmbH, Германия). Магнитную сепарацию проводили при помощи неодимового магнита (20 × 20 × 20 мм). Таблетки прессовали на гидравлическом прессе (Техносоюз, Россия).

Для регистрации спектров поглощения использовали спектрофотометр СФ-104 (“Аквилон”, Россия). При выборе условий прессования таблеток и осуществления МТФЭ-СО₂ разделение проводили на колонке Luna 5u C18(2) (150×3 мм, 5 мкм, “Phenomenex”). Использовали жидкостный хроматограф «Цвет-Яуза-04» (НПО «Химавтоматика», Россия) с фотометрическим детектором (310 нм) JETchrom UVV-107D (ООО «Портлаб», Россия).

Определение аналитов в продуктах питания и речных водах проводили методом ВЭЖХ-МС/МС. В случае нитроимидазолов и их метаболитов (мёд) проводили разделение в режиме градиентного элюирования на хроматографе ExionLC с автоматическим пробоотборником и двухканальным насосом в сочетании с тройным квадрупольным масс-спектрометром SCIEX Triple Quad™ 5500. В случае амфениколов (мёд и молоко) и одновременного многокомпонентного определения (речные воды) использовали хроматограф Shimadzu HPLC Nexera X2 с автоматическим пробоотборником и двухканальным насосом совместно с тройным квадрупольным масс-спектрометрическим Shimadzu LCMS 8060 (Shimadzu, Япония). Во всех случаях разделение проводили на колонке Acclaim™ 120 C18 column (100 × 2.1 мм, 3 мкм).

Основные результаты и их обсуждение представлены в главах 3–6. В третьей главе изучена сорбция амфениколов и нитроимидазолов на МССПС в условиях механического перемешивания (вариант МТФЭ). Магнитный сорбент получали в среде метанола, сорбируя наночастицы магнетита на ССПС. Синтезированный сорбент проявляет суперпарамагнитные свойства, о чем свидетельствует отсутствие петли гистерезиса на кривой намагничивания (рис. 1а). Форма изотерм сорбции-десорбции азота содержит петли гистерезиса как в случае ССПС, так и МССПС (рис. 1б,в). Это свидетельствует о том, что как модифицированный МНЧ сорбент, так и не модифицированный относятся к микропористым (II, H₄-тип по ИЮПАК).

Значение объёма пор и удельной поверхности в случае модификации поверхности сорбента МНЧ хоть и приводит к небольшому снижению данных показателей, но не является значительным. Дифференциальная кривая распределения объёма пор по диаметрам (рис. 1г) свидетельствует о наличии микро- (52%), мезо- (43%) и макропор (5%) в структуре МССПС.

Таблица 1 — Некоторые физико-химические свойства амфениколов

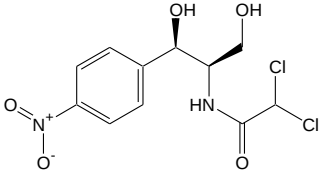
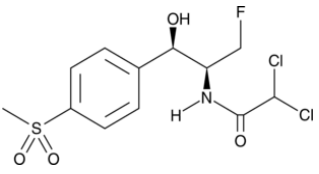
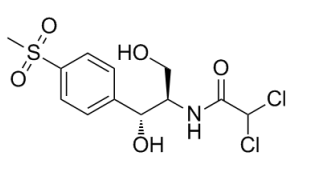
Название	Хлорамфеникол	Флорфеникол	Тиамфеникол
Структурная формула			
$\log K_{ow}$	1.14	0.8	-0.3
pK_a	11.03	10.73	11.05
$S_{mol, nm}^2$	0.75	0.60	0.82

Таблица 2 — Некоторые физико-химические свойства нитроимидазолов и их метаболитов

Название	Метронидазол	Тинидазол	Орнидазол	Ронидазол	Диметридазол
Химическая формула	$C_6H_9N_3O_3$	$C_8H_{13}N_3O_4S$	$C_7H_{10}ClN_3O_3$	$C_6H_8N_4O_3$	$C_5H_7N_3O_2$
$\log K_{ow}$	-0.01	-0.27	0.69	-0.45	0.31
pK_a	$pK_1: 2.58$ $pK_2: 14.44$	$pK_1: 4.7$	$pK_1: 2.72$ $pK_2: 13.29$	$pK_1: 1.32$ $pK_2: 12.99$	$pK_1: 2.81$
Название	Ипронидазол	Тернидазол	Гидроксидиметридазол	Гидроксиипронидазол	Гидроксиметронидазол
Химическая формула	$C_7H_{11}N_3O_2$	$C_7H_{11}N_3O_3$	$C_5H_7N_3O_3$	$C_7H_{11}N_3O_3$	$C_6H_9N_3O_4$
$\log K_{ow}$	1.18	0.17	-0.49	0.21	-0.81
pK_a	$pK_1: 2.55$	$pK_1: 2.72$ $pK_2: 14.90$	$pK_1: 2.21$ $pK_2: 13.31$	$pK_1: 2.21$ $pK_2: 13.44$	$pK_1: 1.98$ $pK_2: 13.28$

Изучена сорбция амфениколов и нитроимидазолов на МССПС. Варьировали время контакта фаз, кислотность среды и концентрацию сорбатов. Выбраны условия десорбции и проведено сравнение элюентов. Контроль за содержанием сорбатов в равновесной фазе проводили спектрофотометрически. Сорбционное равновесие достигается быстро, за 5 – 10 мин (рис. 2а,б).

Влияние кислотности среды на извлечение аналитов обусловлено двумя факторами: зарядом аналита и зарядом поверхности сорбента. В случае амфениколов возможно депротонирование аминогруппы (табл. 1), поэтому при $pH < 9$ они присутствуют в растворе в нейтральной форме, в более же основной среде переходят в анионную форму. Нитроимидазолы и их метаболиты в кислой среде присутствуют в растворе в виде протонированных по имидазольному кольцу форм ($pH < pK_{a1-2}$), в нейтральной среде доминируют молекулярные формы, а в щелочной – возможно депротонирование гидроксильных групп у некоторых представителей класса ($pH > pK_{a2-2}$), табл. 2. Зависимости степеней извлечения амфениколов и нитроимидазолов от pH приведены на рисунке 2в,г. Для МССПС характерно наличие положительного заряда на поверхности при $pH < 3.3$ и отрицательного при большем pH. По этой причине амфениколы и нитроимидазолы лучше всего сорбируются при слабокислом и нейтральном pH в области доминирования молекулярных форм.

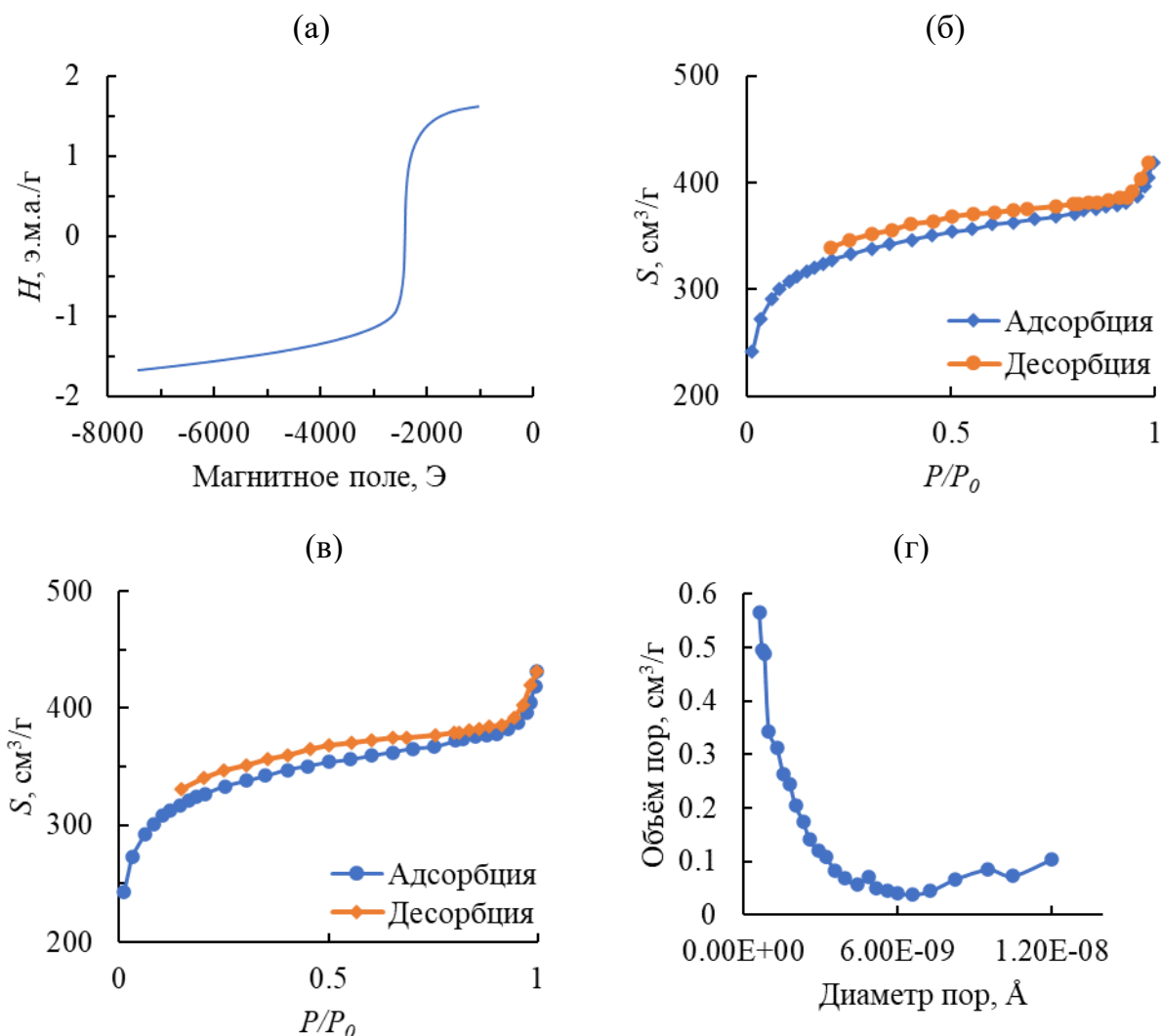


Рисунок 1 — Сорбционные и магнитные характеристики ССПС и МССПС; а — Кривая намагничивания МССПС; б — изотермы сорбции-десорбции N_2 на ССПС; в — изотермы сорбции-десорбции N_2 на МССПС; г — зависимость объема пор от их диаметра для МССПС; H — намагниченность; S — адсорбция; P/P_0 — относительное давление.

Значительное снижение степеней извлечения происходит для нитроимидазолов в кислой области, что быть связано с тем, что катионные формы плохо удерживаются на МССПС из-за электростатического отталкивания. Уменьшение эффективности сорбционного извлечения в щелочной среде наблюдается в основном для веществ, имеющих в составе ОН-группы. Для амфениколов и нитроимидазолов (кроме тинидазола и ронидазола) на МССПС наблюдаются линейные зависимости между логарифмом коэффициента распределения ($D = R(\%) \cdot V(\text{мл}) / (100 - R(\%)) / m_{\text{сорб}}(\text{г})$) и параметром гидрофобности ($\log K_{ow}$, табл. 1 и 2):

Амфениколы: $\lg D = (0.36 \pm 0.02) \log K_{ow} + (4.07 \pm 0.01)$ ($R^2 = 0.998$),

Нитроимидазолы: $\lg D = (1.07 \pm 0.10) \log K_{ow} + (3.76 \pm 0.07)$ ($R^2 = 0.945$).

Эти зависимости могут указывать на наличие гидрофобных взаимодействий, однако механизм может быть более сложным, поскольку тинидазол и ронидазол количественно сорбируются на МССПС, несмотря на их довольно высокую гидрофильность.

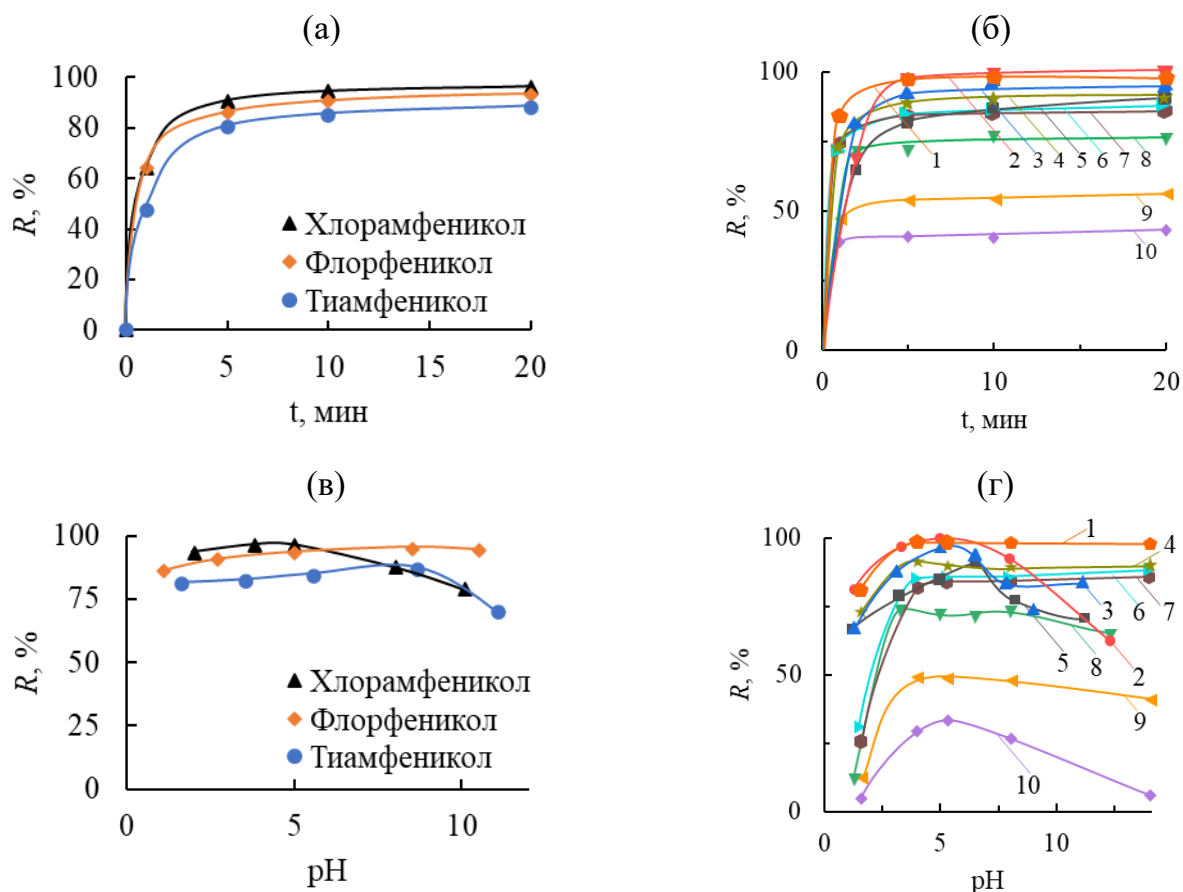


Рисунок 2 — Зависимости степени извлечения от времени контакта фаз (а, б) и pH (в, г) на МССПС; а, в — для амфениколов; б, г — для нитроимидазолов и их метаболитов; $C_{в-тв} = 5 \cdot 10^{-5}$ М, $V = 25$ мл, $m_{сорб} = 0.020 \pm 0.001$ г. 1 – ипронидазол, 2 – тинидазол, 3 – орнидазол, 4 – гидроксиипронидазол, 5 – ронидазол, 6 – тернидазол, 7 – диметридазол, 8 – метронидазол, 9 – гидроксидиметридазол, 10 – гидроксиметронидазол.

На рисунке 3 в качестве примера приведены изотермы сорбции амфениколов на МССПС. Изотермы описываются уравнением Лэнгмюра, применимость данного уравнения была проверена путем спрямления в координатах C/a от C :

$$y = 2.6236x + 0.0468; R^2 = 0.9989 \text{ (хлорамфеникол);}$$

$$y = 2.2237x + 0.0579; R^2 = 0.9824 \text{ (флорфеникол);}$$

$$y = 3.1761x + 0.1454; R^2 = 0.9935 \text{ (тиамфеникол).}$$

Из полученных зависимостей рассчитаны величины предельной сорбции, константы сорбции и изменения энергии Гиббса (табл. 3). В случае амфениколов первые обратно пропорциональны расчётным значениям площади поперечного сечения оптимальной конформации молекулы $a_m = 2721/S_{\text{мол}}$ (табл. 1), что свидетельствует о плотном заполнении пор сорбента, при этом предельная величина занимаемой ими предельной поверхности $(160 \pm 20) \text{ м}^2/\text{г}$ соответствует поверхности мезопор (табл. 4), что говорит об их основном вкладе в сорбционный процесс и обосновывает хорошую и мало зависящую от размера молекулы кинетику (рис. 2а) из-за большей доступности мезопор по сравнению с микропорами.

На стадии выбора условий десорбции амфениколов и нитроимидазолов варьировали природу органического растворителя (метанол, этанол и ацетонитрил) и его объем. Количественная десорбция всех веществ достигается при элюировании ацетонитрилом (1+1 мл) в УЗ-ванне (5 мин).

Глава 4 посвящена выбору условий выделения амфениколов, нитроимидазолов и их метаболитов на МССПС в условиях МТФЭ-СО₂ с использованием шипучих таблеток. Условия прессования таблеток выбирали на примере таблеток, содержащих лимонную кислоту, гидрокарбонат натрия и МССПС, с использованием гидравлического пресса. Таблетки, содержащие только кислоту и гидрокарбонат натрия, получались прочными при любом соотношении компонентов и массе таблетки, однако введение МССПС в смесь приводит к тому, что таблетки начинают крошиться (рис. 4а). Установлено, что решить эту проблему можно как уменьшением содержания МССПС в таблетках (рис. 4б), так и использованием связующего. В качестве связующего выбраны ацетонитрил (рис. 4в) и метанол (рис. 4г) (растворители, частично растворяющие лимонную кислоту, тем самым образуя вязкую структуру, помогающую таблетке не разрушаться), а также борная кислота, навеску которой добавляли в смесь для прессования (рис. 4д). Самые прочные

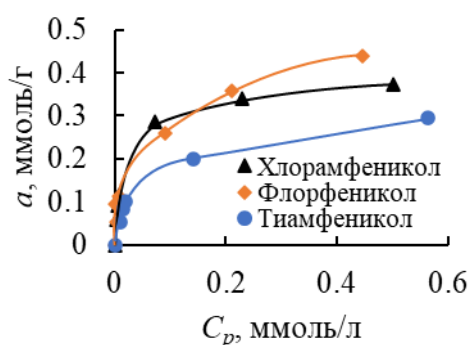


Рисунок 3 — Изотермы сорбции амфениколов на МССПС.
V = 25 мл, m_{сорб} = 0.020 ± 0.001 г,
t = 10 мин.

Таблица 3. Параметры сорбции амфениколов в системе «водный раствор – МССПС»

Соединение	a_m , мкмоль/г	K, л/моль	ΔG°_{298} , кДж/моль
Хлорамфеникол	381.2	$5.6 \cdot 10^4$	-27.07
Флорфеникол	449.7	$3.8 \cdot 10^4$	-26.14
Тиамфеникол	314.8	$2.2 \cdot 10^4$	-24.74

Таблица 4 — Характеристики пористой структуры ССПС и МССПС, рассчитанные из изотерм низкотемпературной адсорбции азота

Характеристики сорбента	ССПС	МССПС
Удельная поверхность, м ² /г	1132	1080
Площадь микропор, м ² /г	707	685
Площадь мезопор, м ² /г	219	202
Объем пор, см ³ /г	0.60	0.58
Объем микропор, см ³ /г	0.32	0.30
Объем мезопор, см ³ /г	0.25	0.25
Средний диаметр пор, нм	2.11	2.14

таблетки, полученные с использованием ацетонитрила и борной кислоты, сравнили по эффективности выделения некоторых нитроимидазолов и их метаболитов. Таблетки, спрессованные в присутствии ацетонитрила, дают немного большие степени извлечения.

На примере амфениколов продемонстрировано влияние природы органической кислоты. В качестве подходящих достаточно сильных кислот выбрали лимонную, винную и фталевую кислоты. Готовили таблетки массой 1.5 г при мольном соотношении кислоты и гидрокарбоната натрия 1:1. Составы таблеток приведены в таблице 5. Из приведённых данных следует, что природа кислоты влияет на pH раствора во время сорбции и на время протекания реакции выделения углекислого газа. Степени извлечения амфениколов (рис. 5) при использовании лимонной кислоты оказались значительно выше, что, по-видимому, связано с тем, что лимонная кислота трёхосновная и её реакция выделения газа наиболее интенсивна в водном растворе, что приводит к улучшению диспергируемости сорбента и эффективности экстракции. К сожалению, при использовании фталевой кислоты не удалось рассчитать степени извлечения, т.к. её пик на хроматограммах перекрывал пики аналитов, от ее использования пришлось отказаться. Дальнейший выбор параметров проводили на таблетках, содержащих лимонную кислоту, гидрокарбонат натрия и МССПС, варьируя мольное соотношение гидрокарбоната натрия и кислоты, смачивающие реагенты, массу МССПС, массу таблетки. Молярное соотношение гидрокарбоната и кислоты является важным параметром. От него зависит pH образующегося в результате растворения таблетки цитратного буферного раствора:

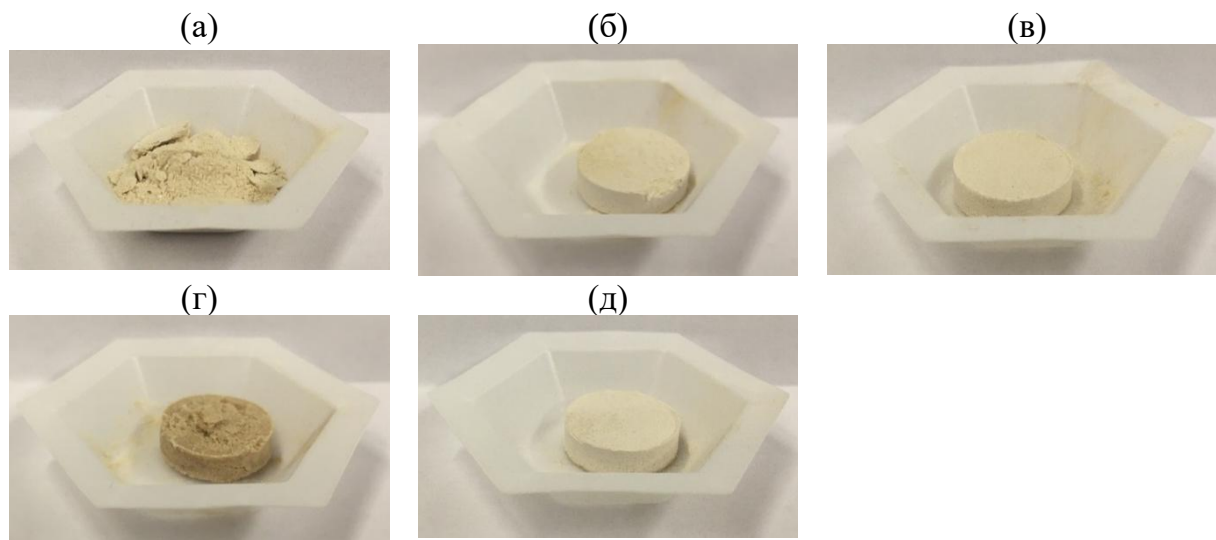


Рисунок 4 — Таблетки для магнитной твердофазной экстракции с диспергированием углекислым газом, полученные прессованием под давлением 20 бар в течение 1 мин. Состав: а — 0.375 г NaHCO_3 , 1.125 г лимонной кислоты, 20 мг МССПС; б — 0.375 г NaHCO_3 , 1.125 г лимонной кислоты, 10 мг МССПС; в — 0.375 г NaHCO_3 , 1.125 г лимонной кислоты, 10 мг МССПС, 1 мл ацетонитрила; г — 0.375 г NaHCO_3 , 1.125 г лимонной кислоты, 10 мг МССПС, 1 мл метанола; д — 0.500 г H_3BO_3 , 0.250 г NaHCO_3 , 0.750 г лимонной кислоты, 10 мг МССПС.

С одной стороны, кислотность среды может влиять на эффективность сорбционного извлечения аналитов, а с другой — на выделение CO_2 . Наибольшая интенсивность последнего наблюдается в кислой среде, поэтому увеличение содержания лимонной кислоты должно способствовать более активному выделению газа и улучшать диспергируемость сорбента. Экспериментальные данные из таблицы 6 демонстрируют, что время реакции значительно увеличивается в кислой среде. При растворении таблеток наилучшие значения степеней извлечения получаются при pH, соответствующему области доминирования молекулярных форм веществ.

При этом дополнительный вклад может вносить и время перемешивания, как, например, при мольном соотношении 4:1 гидрокарбоната натрия и лимонной кислоты степени извлечения амфениколов заметно снижаются (рис. 6). Это, по-видимому, связано с недостаточной эффективностью диспергирования сорбента из-за слишком быстрого протекания эффервесцентной реакции (табл. 6). В дальнейших экспериментах для амфениколов и нитроимидазолов использовали двухкратный и трёхкратный избыток гидрокарбоната натрия соответственно.

Таблица 5 — Влияние природы органической кислоты на протекание эффервесцентной реакции и pH раствора.

Кислота	$m(\text{NaHCO}_3)$, г	$m(\text{кислоты})$, г	$m(\text{МССПС})$, г	pH	$t_{\text{акт}}$, сек	$t_{\text{зав}}$, мин
Лимонная	0.460 ± 0.001	1.040 ± 0.001	0.010 ± 0.001	4.0	20	4
Винная	0.434 ± 0.001	1.066 ± 0.001	0.010 ± 0.001	3.4	20	1
Фталевая	0.403 ± 0.001	1.097 ± 0.001	0.010 ± 0.001	4.1	30	2

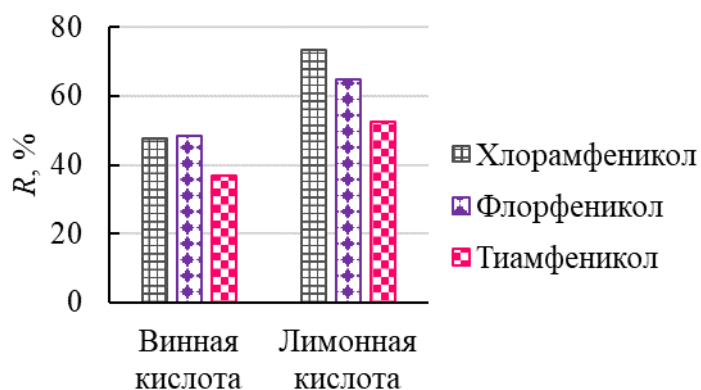


Рисунок 5 — Влияние природы кислоты на извлечение амфениколов, $V=25$ мл, $m_{\text{МССПС}}=0.010 \pm 0.001$ г.

Установлено, что оптимальная масса МССПС в составе таблетки составляет 20 мг (рис. 7а,в). Масса самой таблетки (при выбранном соотношении гидрокарбонат натрия : лимонная кислота и массе МССПС) не оказывает существенного влияния на извлечение аналитов (рис. 7б, г). В последующих опытах использовали таблетки массой 1.5 г. Показано, что перед использованием шипучие таблетки нужно активировать метанолом или ацетонитрилом (200 мкл), иначе поверхность МССПС не смачивается водой и степени извлечения аналитов уменьшаются.

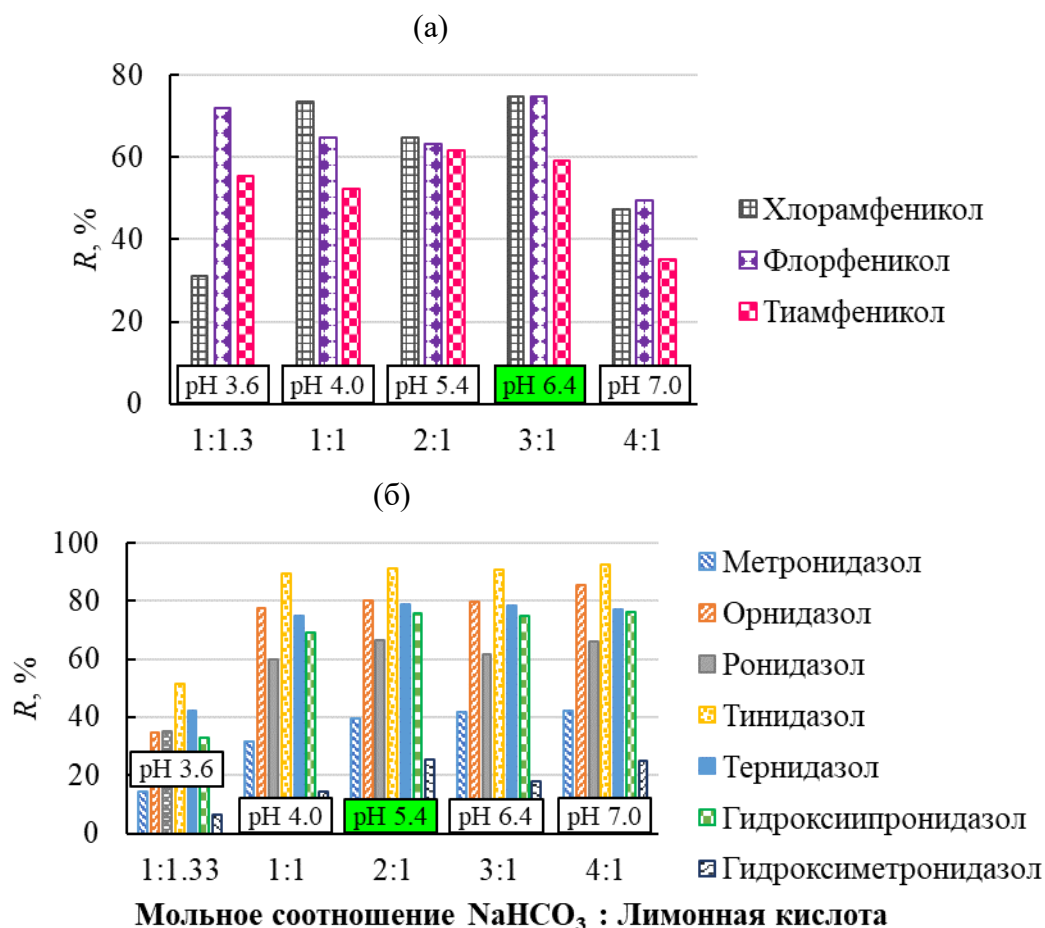


Рисунок 6 — Влияние мольного соотношения диспергирующих реагентов на извлечение амфениколов (а), нитроимидазолов и их метаболитов (б),
 $V=25$ мл, $m_{\text{МССПС}}=0.010\pm0.001$ г, $m_{\text{табл}} = 1.5$ г.

Таблица 6 — Влияние мольного соотношения диспергирующих реагентов на протекание эффервесцентной реакции и pH раствора

Мольное соотношение NaHCO_3 : $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	$m(\text{NaHCO}_3)$, г	$m(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)$, г	pH	$t_{\text{реакции}}$, мин
1 : 1.3	0.375 ± 0.001	1.125 ± 0.001	3.6	4.3
1 : 1	0.460 ± 0.001	1.040 ± 0.001	4.0	4.0
2 : 1	0.700 ± 0.001	0.800 ± 0.001	5.4	3.5
3 : 1	0.850 ± 0.001	0.650 ± 0.001	6.4	2.6
4 : 1	0.950 ± 0.001	0.550 ± 0.001	7.0	1.3

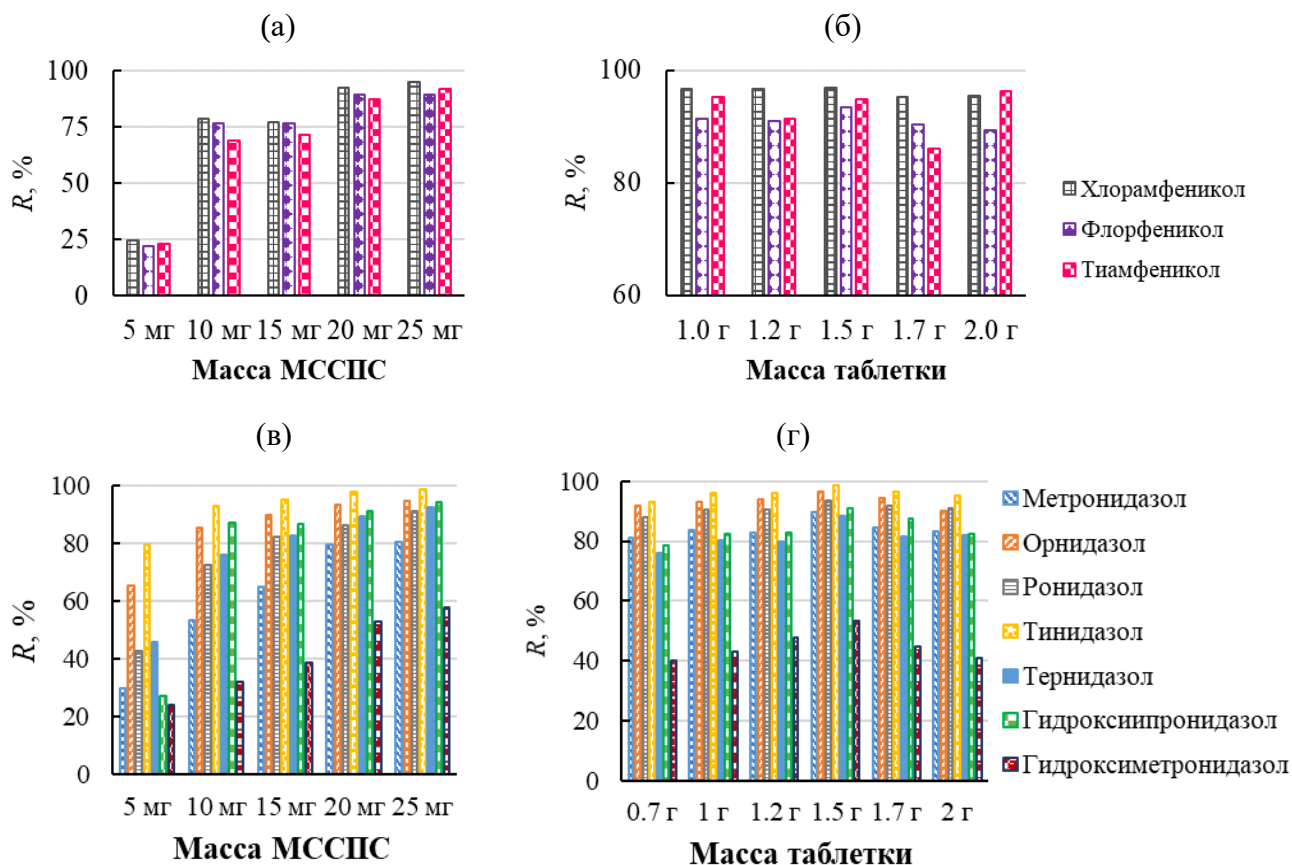


Рисунок 7 — Степени извлечения в зависимости от массы МССПС в таблетках и массы таблетки; а,в — для амфениколов; б,г — для нитроимидазолов и их метаболитов; $V=25$ мл, $m_{\text{табл}} = 1.5$ г, $\text{NaHCO}_3 : \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 = 3:1$ (мольн.), $t \sim 3$ мин для амфениколов, $V=25$ мл, $\text{pH } 5.4$, $m_{\text{табл}} = 1.5$ г, $\text{NaHCO}_3 : \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 = 2:1$ (мольн.), $t \sim 2.7$ мин для нитроимидазолов и их метаболитов.

На примере извлечения амфениколов оценили влияние объёма анализируемого раствора на извлечение аналитов. При объёме анализируемого раствора меньше 25 мл включительно наблюдается количественное извлечение аналитов (рис. 8). Количественного извлечения (85–94%) при бóльших объёмах можно добиться путем увеличения массы магнитного сорбента в составе таблетки до 30 мг. Массу самой таблетки в таком случае увеличивали до 2.250 г для лучшей механической устойчивости.

В выбранных условиях провели сравнение степеней извлечения нитроимидазолов и амфениколов в вариантах МТФЭ и МТФЭ- CO_2 . По эффективности оба метода сопоставимы, однако диспергирование углекислым газом позволяет сократить время сорбции и отказаться от перемешивающих устройств. Степень десорбции не зависит от варианта диспергирования сорбента и достигает количественных значений при элюировании ацетонитрилом (1+1 мл) в УЗ-ванне (5 мин).

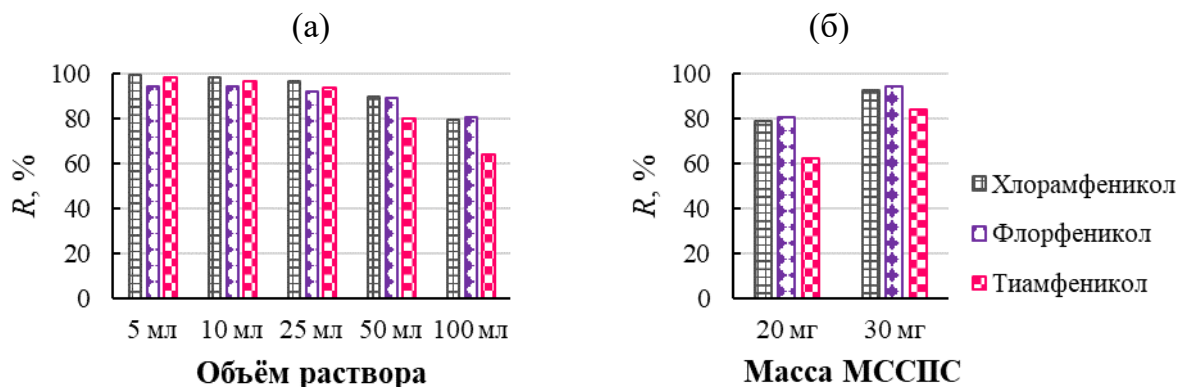


Рисунок 8 — Влияние объема раствора на степени извлечения амфениколов; $m_{\text{табл}} = 1.5 \text{ г}$, $m_{\text{МССПС}} = 0.020 \pm 0.001 \text{ г(а)}$; при увеличении массы таблетки для пробоподготовки из 100 мл воды, $C_{\text{веществ}} = 5 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, $m_{\text{табл}} = 1.5 \text{ г}$, $m_{\text{МССПС}} = 0.020 \pm 0.001 \text{ г}$, $\text{NaHCO}_3 : \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 = 2:1 \text{ (мольн.)}$.

В главе 5 представлены разработанные методики определения амфениколов в мёде и молоке, нитроимидазолов и их метаболитов в мёде.

Для идентификации аналитов использовался метод ММР. С целью выбора условий масс-спектрометрического определения стандартные растворы веществ вводили напрямую в масс-спектрометр для получения ионов-предшественников и дочерних ионов. В качестве первых выбирались характерные молекулярные ионы. Для каждого соединения контролировались два иона продукта. Использовали два ММР перехода, наиболее интенсивный количественной оценки, второй для подтверждения. Для них оптимизировали ПД и ЭС. Для определения неизвестной концентрации аналита применяли метод матричной градуировки (отношение площади пика вещества к площади пика внутреннего стандарта). Линейность градуировок оценивали на модельных образцах без остатков аналитов. Пределы обнаружения и определения рассчитывали по отношению интенсивности пика к шуму, равному 3 и 10 соответственно. Правильность методик подтверждена методом введено-найдено.

Схема пробоподготовки при определении амфениколов в меде включала в себя полное растворение меда в 25 мл воды, затем к раствору добавляли таблетку и проводили процедуру МТФЭ- CO_2 . Молоко содержит белки, которые способствовали пенообразованию, а также из-за высокой концентрации солей и присутствия лимонной кислоты денатурировали и осложняли отделение сорбента при попытках прямого выделения амфениколов из молока методом МТФЭ- CO_2 . Поэтому белки предварительно отделяли при помощи соляной кислоты. Затем к сыворотке добавляли таблетку, содержащую только гидрокарбонат натрия и МССПС, выделение CO_2 происходило за счет реакции гидрокарбоната с HCl , после растворения таблетки в растворе также устанавливался необходимый для сорбции pH. Основные характеристики определения амфениколов в меде после их выделения методом МТФЭ с диспергированием МССПС углекислым газом приведены в таблице 7.

Таблица 7 — Основные характеристики определения амфениколов в меде и молоке после их выделения методом МТФЭ-СО₂.

Вещество	Содержание, мкг/кг	Степень выделения, %	Внутридневная повторяемость (s_r , $n = 5$)	Междневная повторяемость (s_r , $n = 15$)	МЭ*, %	C_{min} , мкг/кг	C_{lim} , мкг/кг
Мед							
Тиамфеникол	1/5/200	99/101/98	0.09/0.10/0.08	0.12/0.11/0.10	-16	0.3	1
Флорфеникол	1/5/200	92/94/95	0.12/0.08/0.10	0.13/0.13/0.07	11	0.1	0.3
Хлорамфеникол	1/5/200	106/102/101	0.11/0.09/0.06	0.15/0.11/0.05	4	0.1	0.3
Молоко							
Тиамфеникол	0.04/0.2/8	105/101/99	0.12/0.10/0.11	0.14/0.13/0.10	-17	0.02	0.05
Флорфеникол	0.04/0.2/8	93/92/94	0.13/0.11/0.12	0.14/0.11/0.11	7	0.005	0.02
Хлорамфеникол	0.04/0.2/8	103/102/99	0.12/0.13/0.08	0.12/0.11/0.10	2	0.005	0.02

*МЭ – матричный эффект.

Для хлорамфеникола, флорфеникола и тиамфеникола пределы определения составили 0.3, 0.3 и 1 мкг/кг соответственно. Эти значения меньше максимально допустимых уровней (МДУ) этих соединений в продуктах питания, что позволит применять предложенную методику при проведении анализа образцов мёда и молока. Степени выделения в предложенном методе равны 92–106%, т.е. являются количественными, при этом относительное стандартное квадратичное отклонение меньше или равно 0.15, что свидетельствует хорошей прецизионности. При этом матричный эффект (МЭ) находится в пределах от -16 до 11%, что может быть связано с применением внутренних стандартов и высокой степенью очистки экстрактов в предложенном методе. Правильность подтверждена методом введено-найденно (табл. 8).

Таблица 8 — Оценка правильности определения амфениколов методом «введено–найденно» ($n = 3$, $P = 0.95$)*

Вещество	Мед		Молоко	
	введено, мкг/кг	найденно, мкг/кг (s_r)	введено, мкг/кг	найденно, мкг/кг (s_r)
Тиамфеникол	0	0	0	0
	2.0	2.0 ± 0.6 (0.12)	0.20	0.20 ± 0.05 (0.11)
Флорфеникол	0	0	0	0
	2.0	1.9 ± 0.6 (0.13)	0.20	0.18 ± 0.05 (0.10)
Хлорамфеникол	0	0	0	0
	2.0	2.1 ± 0.5 (0.09)	0.20	0.20 ± 0.06 (0.12)

*Анализировали 1 г меда и 25 мл молока.

Пробоподготовку образцов меда при определении нитроимидазолов и их метаболитов осуществляли схожим образом. Степени выделения в предложенном методе равны 93–109%, т.е. являются количественными, при этом относительное стандартное квадратичное отклонение ≤ 0.17 , что свидетельствует о хорошей прецизионности. МЭ находится в пределах от -13 до 14%. Разработанная процедура выделения нитроимидазолов отличается простотой, экспрессностью и ресурсоэффективностью. Пределы определения предложенного метода составили 1 мкг/кг, что позволяет определять аналиты на уровне МДУ (1 мкг/кг) (табл. 9).

Таблица 9 — Основные характеристики определения нитроимидазолов и их метаболитов в меде после их выделения методом МТФЭ-СО₂.

Вещество	Содержание, мкг/кг	C _{min} , мкг/кг	C _{lim} , мкг/кг	Степень выделения, %	Внутридневная повторяемость, (s _r , n = 5)	Междневная повторяемость (s _r , n = 15)	МЭ, %
Тинидазол	1/2/200	0.3	1	96/103/109	0.14/0.13/0.07	0.13/0.12/0.10	-2
Ипронидазол	1/2/200	0.3	1	102/101/95	0.17/0.09/0.05	0.13/0.10/0.06	5
Орнидазол	1/2/200	0.3	1	100/105/99	0.08/0.08/0.04	0.16/0.12/0.10	-13
Ронидазол	1/2/200	0.3	1	99/97/101	0.16/0.09/0.04	0.12/0.13/0.10	6
Тернидазол	1/2/200	0.3	1	93/98/96	0.14/0.09/0.05	0.12/0.15/0.08	0
Диметри- дазол	1/2/200	0.3	1	99/94/94	0.11/0.10/0.06	0.13/0.14/0.11	8
Метрони- дазол	1/2/200	0.3	1	113/96/91	0.16/0.08/0.04	0.13/0.16/0.08	14
Гидроксиди- метридазол	1/2/200	0.3	1	103/101/100	0.16/0.05/0.06	0.16/0.16/0.07	2
Гидроксиме- тронидазол	1/2/200	0.3	1	103/104/101	0.10/0.12/0.04	0.16/0.14/0.11	6
Гидроксиип- ронидазол	1/2/200	0.3	1	102/97/98	0.11/0.07/0.06	0.14/0.14/0.08	0

Шестая глава диссертации посвящена многокомпонентному ВЭЖХ-МС/МС определению ветеринарных лекарственных веществ в речных водах после их выделения методом МТФЭ-СО₂. Ранее на примере амфениколов и нитроимидазолов показано, что наибольшие степени выделения в методе МТФЭ-СО₂ достигаются в схожих условиях, что делает перспективным разработку методики одновременного многокомпонентного выделения лекарственных веществ различных классов.

Показано, что при использовании метода МТФЭ-СО₂ для пробоподготовки наибольшие степени выделения выбранных аналитов достигаются при использовании таблеток, содержащих в качестве диспергирующих реагентов 0.700 г гидрокарбоната натрия и 0.800 г лимонной кислоты, 0.200 г ЭДТА в качестве комплексообразователя и 20 мг МССПС в качестве магнитного сорбента. Время протекания эффервесцентной реакции в таком случае составляет ~3 мин, а pH по её завершению соответствует значению 5.3. Последнее способствует существованию преимущественно молекулярных форм определяемых соединений. В качестве элюента для осуществления десорбции использовали ацетонитрил (1 мл × 2). Оценку степеней выделения из речной воды проводили на трёх уровнях концентраций C_{lim}, 5C_{lim} и 8 мкг/мл). В выбранных условиях степени выделения большинства соединений из речной воды составляют 90–105% (рис. 9а). Абсолютные матричные эффекты варьируются в диапазоне от -20 до 20% (рис. 9б). Предлагаемый способ отличается хорошей прецизионностью (s_r ≤ 0.12) (рис. 9в,г). Пределы обнаружения и определения составили 0.012 и 0.04 мкг/л для всех классов веществ кроме β-лактамов и хинолонов для которых они были 0.06 и 0.2 мкг/л соответственно. Правильность

оценивали методом «введено–найдено» на трех образцах речной воды из р. Москвы, р. Оки, р. Вуоксы. На (рис. 10) приведены типичные хроматограммы по выделенным ионам экстракта речной воды для представителей каждого из изученных классов соединений.

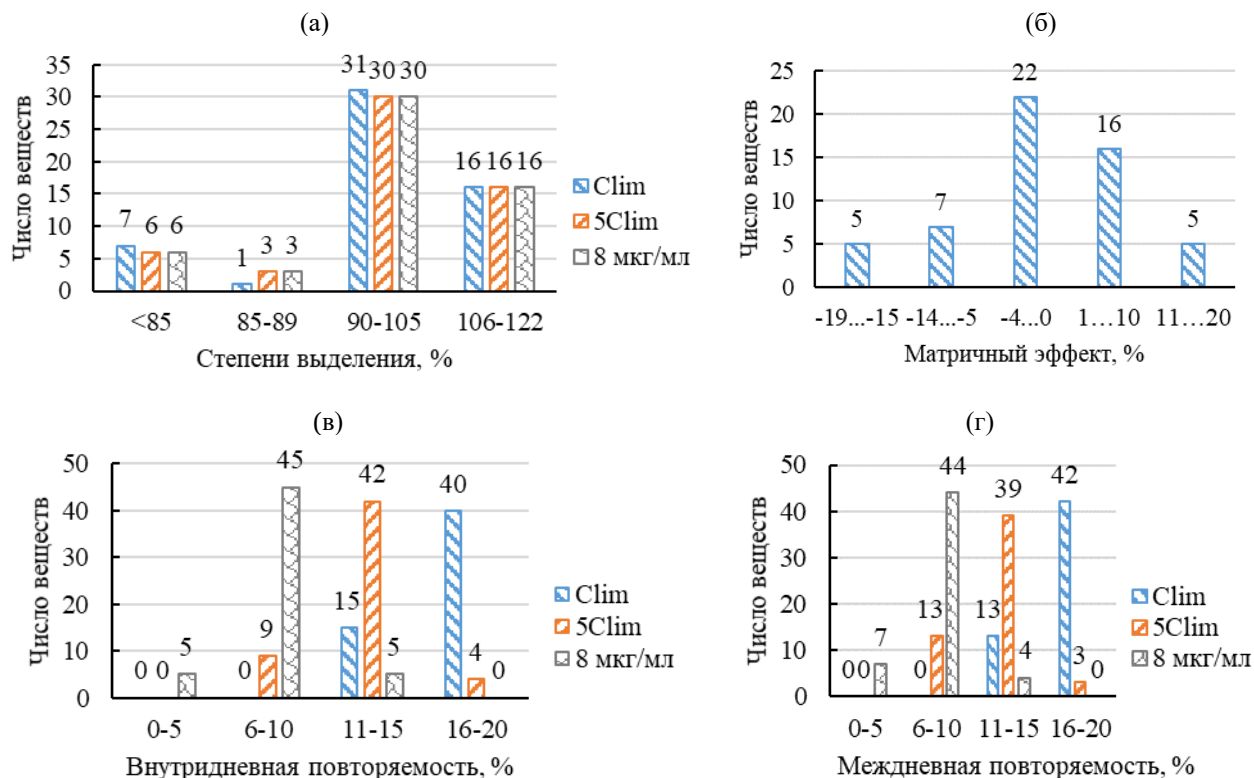


Рисунок 9 — Характеристики многокомпонентного метода определения 55 ветеринарных лекарственных веществ в речных водах; а — степени выделения ветеринарных лекарственных веществ, б — значения матричного эффекта, в — внутрисуточная повторяемость; г — межсуточная повторяемость.

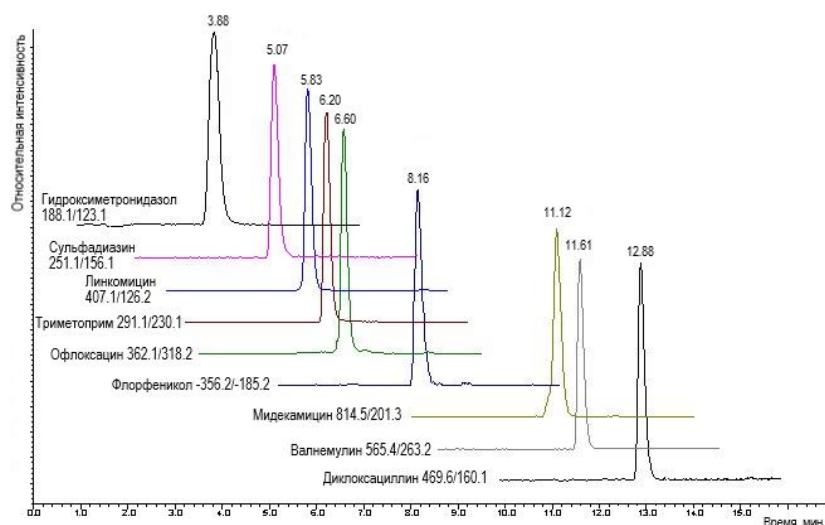


Рисунок 10 — Хроматограммы по выделенным ионам для гидрохлорида метронидазола, сульфадиазина, линкомицина, триметоприма, офлоксацина, флорфеникола, мидекамицина, валнемулина, диклоксациллина после их выделения методом МТФЭ-СО₂ из речной воды с добавлением 20 мкг/л этих веществ.

Заключение

По результатам проведённого исследования предложен новый подход к осуществлению МТФЭ-СО₂ с использованием МССПС. Это открывает новые возможности для дальнейшего развития метода в рамках концепции «зеленой» аналитической химии.

Был разработан способ получения шипучих таблеток, состоящих из МССПС, NaHCO₃ и лимонной кислоты. Показано, что варьирование соотношения компонентов в составе шипучих таблеток позволяет управлять такими важными для сорбции характеристиками, как время контакта фаз, pH раствора и степень выделения.

Использование МССПС позволяет быстро (менее 3 мин) и эффективно проводить выделение как отдельных классов ветеринарных лекарственных веществ, что было показано на примере 4-х амфениколов, а также 10-ти нитроимидазолов и их метаболитов, так и осуществлять одновременное мультиклассовое выделение 55 соединений 9-ти различных классов, включая амфениколы и нитроимидазолы. При этом, насколько нам известно, МТФЭ-СО₂ впервые применен для выделения ветеринарных лекарственных веществ.

Важным достижением является реализация МТФЭ-СО₂ в пробоподготовке продуктов питания (молока и меда). Предложенные методики определения амфениколов, нитроимидазолов и их метаболитов просты в исполнении, экономичны, не требуют больших временных затрат и позволяют отказаться от насосов, перемешивающих устройств и центрифуг, в отличие от классической ТФЭ и МТФЭ. Сочетание МТФЭ-СО₂ с ВЭЖХ-МС/МС позволяет определять антибиотики ниже максимально допустимых уровней в меде и молоке. Отсутствие значительных матричных эффектов свидетельствует о хорошей очистке экстрактов от мешающих компонентов. Разработанные методики важны с точки зрения внедрения современных способов выделения и концентрирования, направленных на снижение затрат времени и ресурсов, в аналитическую практику и могут использоваться в лабораториях, занимающихся контролем качества пищевых продуктов.

В рамках борьбы с распространением антибиотикорезистентности важна разработка способов определения антибиотиков не только в пищевых продуктах, но и в объектах окружающей среды. Использование МССПС в варианте МТФЭ-СО₂ перспективно для выделения антибиотиков из речных вод. На стадии пробоподготовки не требуется использование диспергирующих устройств, а отделение проводится с помощью магнитной сепарации. Предложенный нами вариант пробоподготовки можно применять на месте отбора проб, что может уменьшить издержки на транспортировку проб до лаборатории и позволяет проводить скрининг речных вод на наличие основных классов антибиотиков, встречающихся в речных водах. Таким образом, методика, разработанная в работе, будет интересна лабораториям, занимающимся экологическим мониторингом.

Полученные в ходе выполнения диссертационной работы научные результаты позволяют сделать следующие **выводы**:

1. Продемонстрирована перспективность использования магнитного сорбента на основе ССПС в методе МТФЭ-СО₂.
2. Предложены условия получения таблеток для проведения МТФЭ-СО₂, состоящих из магнитного сорбента (МССПС) и диспергирующих реагентов (NaHCO₃ и лимонной кислоты). Наиболее прочные таблетки получают при прессовании в присутствии связующего (ацетонитрила) в течение 5 мин при давлении 200 бар.
3. Выбраны составы шипучих таблеток, обеспечивающих эффективное выделение амфениколов, нитроимидазолов и их метаболитов из водных растворов. Наибольшие степени извлечения достигаются при использовании таблеток массой 1.5 г, содержащих 20 мг МССПС, а также гидрокарбонат натрия и лимонную кислоту в мольном соотношении 3:1 для амфениколов и 2:1 для нитроимидазолов и их метаболитов. Степени извлечения варьируют в пределах 86-99%.
4. Показана возможность и предложен способ определения амфениколов (тиамфеникола, флорфеникола и хлорамфеникола) в мёде и молоке после пробоподготовки методом МТФЭ-СО₂ в сочетании с ВЭЖХ с последующим масс-спектрометрическим детектированием. Простое растворение навески мёда в воде и выделение амфениколов с помощью шипучих таблеток, содержащих МСПС в качестве магнитного сорбента, а также гидрокарбонат натрия и лимонную кислоту в качестве диспергирующих реагентов, позволяет извлекать аналиты на 92–106% и определять на уровне 0.3–1 мкг/кг. Для выделения аналитов из молока необходимо предварительное отделение белков соляной кислотой. Пределы определения составили 0.02–0.05 мкг/кг.
5. Разработана и валидирована методика определения нитроимидазолов и их метаболитов (гидроксидиметридазола, гидроксиипронидазола, гидроксиметронидазола, диметридазола, ипронидазола, метронидазола, орнидазола, ронидазола, тернидазола и тинидазола) методом ВЭЖХ-МС/МС в мёде после их выделения методом МТФЭ-СО₂ с пределами определения равными 1 мкг/кг.
6. Разработана и валидирована методика одновременного многокомпонентного выделения методом МТФЭ-СО₂ 55 антибиотиков 9-ти различных классов (4 амфеникола, 9 β-лактама, 3 линкозамида, 9 макролидов, 9 нитрозоимидазолов, 2 плевомутилинов, 12 сульфаниламидов, триметоприм, 6 хинолонов) в сочетании с ВЭЖХ с последующим масс-спектрометрическим детектированием. Концентрирование из 25 мл речной воды позволяет определять аналиты на уровне 0.04–0.2 мкг/л. Использование диспергирования углекислым газом открывает перспективы проведения внелабораторной пробоподготовки.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Научные статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности и отрасли наук:

1. **Goncharov N.O., Tolmacheva V.V., Melekhin A.O., Apyari V.V., Dmitrienko S.G.** Effervescence-assisted magnetic solid-phase extraction of nitroimidazoles and their metabolites using magnetic hypercrosslinked polystyrene // *Food Analytical Methods*. 2024. vol. 17. pp. 382–392. EDN: DNUUWX – 1.27 п. л. Вклад автора 60%. Импакт-фактор 3.000 (JIF).
2. **Гончаров Н.О., Толмачева В.В., Лазаревич Т.В., Мелехин А.О., Пурьискин И.Д., Аняри В.В., Дмитриенко С.Г.** Магнитная твердофазная экстракция с диспергированием сверхсшитого полистирола углекислым газом для выделения амфениколов из мёда и молока при их определении методом ВЭЖХ-МС/МС // *Журнал аналитической химии*. 2024. Т. 79. № 9. С. 1028-1036. EDN: TISJIF – 1.04 п.л. Вклад автора 50%. Импакт-фактор 0.250 (SJR).
3. **Гончаров Н.О., Толмачева В.В., Мелехин А.О., Бирюкова М.А., Аняри В.В., Дмитриенко С.Г.** Магнитная твердофазная экстракция с диспергированием магнитного сверхсшитого полистирола углекислым газом для многокомпонентного выделения остатков 55 ветеринарных лекарственных веществ из речных вод перед их ВЭЖХ-МС/МС-определением // *Журнал аналитической химии*. 2025. Т. 80. №4. С. 391-406. EDN: AKGULE – 1.27 п.л. Вклад автора 60%. Импакт-фактор 0.250 (SJR).
4. **Толмачева В.В., Савинова В.Ю., Гончаров Н.О., Дмитриенко С.Г., Аняри В.В., Чернавский П.А., Панкина Г.В.** Сорбция амфениколов на магнитном сверхсшитом полистироле // *Журнал физической химии*. 2022. Т. 96. № 6. С. 875–879. EDN: KTAZKM. – 0.58 п.л. Вклад автора 30%. Импакт-фактор 0.199 (SJR).

БЛАГОДАРНОСТИ

Диссертационная работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда грант № 25-23-20069.

Автор выражает искреннюю благодарность и признательность своему научному руководителю к.х.н. Толмачевой В.В. за поддержку в научно-исследовательской деятельности и помощь на всех этапах выполнения диссертационной работы, д.х.н., проф. Дмитриенко С.Г. и д.х.н. Аняри В.В. за постоянную поддержку, помощь в работе и обсуждении результатов. Автор выражает благодарность коллективу лаборатории комбинированных и гибридных методов анализа к.х.н. Матяш М.В., к.х.н. Фурлетову А.А., к.х.н. Торочешниковой И.И. за помощь и поддержку. Автор выражает благодарность выпускникам и студентам химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова Арсентьевой Е.К., Бирюковой М.А. и Лазаревич Т.В. за помощь в проведении экспериментов и анализе литературных данных. Автор выражает благодарность ФГБУ «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория» за предоставленное оборудование, материалы и стандартные образцы. Автор выражает искреннюю благодарность Мелехину А.О. за помощь в проведении ВЭЖХ-МС/МС исследований и обсуждении результатов.

Автор выражает искреннюю признательность и благодарность семье, друзьям и коллегам за поддержку.