

СОДЕРЖАНИЕ

Том 77, номер 11, 2022

ОБЗОРЫ

Определение остаточных количеств антибиотиков в объектах окружающей среды и пищевых продуктах

О. И. Лаврухина, В. Г. Амелин, Л. К. Киш, А. В. Третьяков, Т. Д. Пеньков

969

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Особенности обработки и интерпретации аналитических данных с высокой степенью неопределенности

И. Г. Зенкевич, Д. А. Никитина, А. С. Кушакова

1016

Спектрометрическое определение суммарного содержания однотипных аналитов с помощью обращенных многомерных градуировок

И. В. Власова, В. И. Вершинин

1032

Газохроматомасс-спектрометрическое определение фенольных соединений в водных экстрактах *Hypericum perforatum* L. с использованием твердофазной аналитической дериватизации

З. А. Темердашев, Е. А. Виноцкая, В. В. Коробкова

1040

Контроль условий полноты минерализации (пробоподготовки) проб мхов-биомониторов при определении в них тяжелых металлов, поступающих при трансграничном переносе из атмосферного воздуха

*Е. С. Попова, С. В. Моржухина, А. С. Илюшкина, Б. К. Зувев,
А. М. Моржухин, Н. М. Омарова*

1052

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

Новые книги издательства Springer

1059

В НАУЧНОМ СОВЕТЕ РАН ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Очередное заседание бюро

1060

Премии совета за 2021 г.

1061

УДК 543.544.5.068.7:543.51:577.18

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ АНТИБИОТИКОВ В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

© 2022 г. О. И. Лаврухина^{a, b}, В. Г. Амелин^{a, b, *}, Л. К. Киш^a, А. В. Третьяков^a, Т. Д. Пеньков^a

^aВсероссийский государственный центр качества и стандартизации
лекарственных средств для животных и кормов
Звенигородское шоссе, 5, Москва, 123022 Россия

^bВладимирский государственный университет
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых
ул. Горького, 87, Владимир, 600000 Россия

*e-mail: amelinvg@mail.ru

Поступила в редакцию 24.03.2022 г.

После доработки 14.04.2022 г.

Принята к публикации 14.04.2022 г.

Представлен обзор методов пробоподготовки и определения остаточных количеств антибиотиков в объектах окружающей среды и продуктах питания: аминокликозидов, амфениколов, гликопептидов, диаминопиримидинов, ионофоров, линкозамидов, макролидов, нитроимидазолов, нитрофуранов, пенициллинов, плевромутилинов, полипептидов, сульфаниламидов, тетрациклинов, хинолонов, хиноксалинов и цефалоспоринов. Рассмотрены способы их индивидуального и группового определения. Показано, что для группового определения остаточных количеств антибиотиков различных классов используют в основном высокоэффективную и ультравысокоэффективную жидкостную хроматографию с масс-спектрометрическим детектированием. Перспективными способами пробоподготовки в настоящее время являются QuEChERS, дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция и твердофазная экстракция.

Ключевые слова: антибиотики, объекты окружающей среды, пищевые продукты, методы извлечения и определения.

DOI: 10.31857/S004445022211007X

Антибиотики широко применяются в ветеринарии. В организме животных они метаболизируются и частично выводятся в неизменном виде, что приводит к их попаданию в окружающую среду и биоаккумуляции в продукции животноводства. Потребление человеком продуктов, содержащих антибиотики, представляет угрозу для здоровья и обуславливает развитие антибиотикорезистентности. Для обеспечения “здоровья человека через здоровье животных” необходим контроль их остаточных содержаний в объектах окружающей среды и пищевой продукции.

Как минимум 70% антибиотиков, имеющих жизненно важное значение для человека, реализуется на рынке для ветеринарного применения, среди них наиболее значимы аминокликозиды, амфениколы, гликопептиды, диаминопиримидины, ионофоры, линкозамиды, макролиды, нитроимидазолы, нитрофураны, пенициллины, плевромутилины, полипептиды, сульфаниламиды, тетрациклины, хинолоны, хиноксалины и цефалоспорины. Они используются не только для лечения инфекционных заболеваний животных,

но и в профилактических целях при выращивании крупного (КРС) и мелкого рогатого скота (МРС), птицы, объектов аквакультуры и др. Антибактериальные препараты могут быть введены инъекционно (внутривенно, внутримышечно или подкожно), перорально, местно (на кожу), и другими способами. Несоблюдение дозировки, а также сроков выведения из организма живых животных, а кроме того, использование антибиотиков в качестве стимуляторов роста приводит к их попаданию в животноводческую продукцию, сточные воды и почву [1–5].

В странах Европейского Союза наиболее часто используемыми в ветеринарии антибиотиками являются тетрациклины (32.4%), пенициллины (25.8%) и сульфаниламиды (11.5%) [6]. Далее следуют макролиды (7.0%), аминокликозиды (5.1%), полимиксины (5.1%), линкозамиды (3.0%), плевромутилины (2.8%) и фторхинолоны (2.2%). На другие группы приходится 5.1% от общего объема продаж этих веществ. Согласно отчету Европейского Медицинского Агентства 2018 г., охватывающего 30 стран (27 стран ЕС, Исландия, Норве-

гия и Швейцария), больше всего ветеринарных антибактериальных препаратов использовалось в Испании, Италии и Германии, меньше всего – в Исландии, Люксембурге и Словении. В США также чаще всего используются тетрациклины (71%) [4].

После потребления животными антибиотики метаболизируются и частично выводятся из организма в неизменном виде: 75–80% доз тетрациклинов (согласно некоторым источникам 90% [5]), 50–90% – эритромицина и 60% – линкомицина [3]. Биоаккумуляция антибиотиков и их метаболитов в органах и тканях животных, их перенос в молоко, яйца, мед и другую продукцию животноводства обуславливают риск для здоровья потребителей и усугубляют проблему развития антибиотикорезистентности [3, 7].

Нарушения в технологических процессах утилизации неиспользованных терапевтических препаратов, очистки сточных вод фармацевтических и сельскохозяйственных предприятий, а также использование в качестве удобрения навоза влекут за собой загрязнение таких объектов окружающей среды, как почва, поверхностные и грунтовые воды, растения [3, 6, 8–10] и, соответственно, корма [7]. В качестве удобрения используются и биосолиды (твердые органические материалы, богатые питательными веществами и полученные фильтрацией бытовых сточных вод), которые также могут содержать экскретируемые антибиотики. Все это в итоге приводит к загрязнению продукции животноводства. Кроме того, попадание антибиотиков в почву влияет на активность и разнообразие почвенных микробных сообществ [3].

Загрязнение воды и почвы антибиотиками зависит в основном от уровня антропогенной нагрузки в конкретном регионе. Отмечено значительно большее содержание антибиотиков в почве пахотных земель, чем в лесной и садовой [2]. Их содержание в сточных водах колеблется от нг/мл до мкг/мл [3].

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Предложено большое количество методик определения антибиотиков и их метаболитов в почве, навозе, биосолидах, сточных и природных водах, а также в донных отложениях (табл. 1). Перечисленные объекты не столь сложны для анализа, как, например, биологические жидкости, пищевые продукты и продовольственное сырье, в особенности животного происхождения.

Благодаря развитию аналитической химии, инструментария и методических подходов к подготовке проб и последующему анализу, многие фармацевтические соединения удается обнару-

жить в сточных и природных водах на уровне нг/л [41]. Их определение в основном предполагает предварительную твердофазную экстракцию (ТФЭ). Наиболее часто используемым сорбентом для ТФЭ в случае анализа водных сред на содержание в них антибактериальных препаратов является гидрофильно-липофильный балансный сорбент (hydrophilic-lipophilic balance, **HLB**), поскольку он селективен и эффективен при выделении полярных соединений [6].

На сегодняшний день, на наш взгляд, одним из перспективных способов пробоподготовки, соответствующих принципам “зеленой химии”, является дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция (ДЖЖМЭ). С момента внедрения в 2006 г. этот подход стал популярным экологически безопасным методом подготовки образцов [42, 43]. Преимуществами ДЖЖМЭ являются предельно малые объемы экстрагента 50–500 мкл, экспрессность и высокие (до нескольких тысяч) коэффициенты концентрирования. Пределы обнаружения примесей, достигаемые при сочетании хроматографического анализа и микроэкстракционного концентрирования, составляют 10^{-7} – 10^{-4} мг/л.

Метод ДЖЖМЭ основан на использовании трехкомпонентных систем растворителей: проба–экстрагент–диспергент, он включает два этапа. На первом этапе смесь экстракционного и диспергирующего растворителей быстро вводится в водный раствор пробы и диспергируется в виде очень мелких капель. В связи с большой площадью поверхности контакта между экстрагентом и водным образцом равновесное состояние достигается быстро, и извлечение не зависит от времени, что является наиболее важным преимуществом метода. Второй стадией является центрифугирование мутного раствора. После центрифугирования фаза, содержащая определяемые вещества, отбирается микрошприцем. Органические растворители выбирают на основании их более высокой плотности по сравнению с водой и экстракционной возможности интересующих компонентов [42]. В качестве экстрагирующего растворителя обычно выбирают галогенированные углеводороды, такие как хлорбензол, хлороформ, четыреххлористый углерод и тетра-хлорэтилен, из-за их высокой плотности.

В настоящее время ДЖЖМЭ применяется для определения достаточно широкого круга органических соединений, в том числе антибиотиков в объектах окружающей среды и продуктах питания. Благодаря сочетанию ДЖЖМЭ и высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым (ВЭЖХ-УФ) [25, 39, 44–47], диодноматричным (ВЭЖХ-ДМД) [48–51] и флуоресцентным (ВЭЖХ-ФЛД) детектированием [51–53], ВЭЖХ- и ультравысокоэффективной жидкостной хромато-

Таблица 1. Определение антибиотиков в почве, навозе, биосолодах, сточных и природных водах

Антибиотик	Метод, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа, степень извлечения (%)	Литература
3 ТЦ и их эпимеры	УВЭЖХ-МС/МС, ACQUITY UPLC VEN C18	Градиент 0.1% МК – АЦН	0.6–2.5 мкг/кг	2.0–10.0 мкг/кг	Почва с добавлением свиного навоза; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, 23.3–159.2	[11]
4 НФ и 4 их метаболита	ВЭЖХ-ДМД, Mightysil RP-18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 362–369 нм ВЭЖХ-МС/МС, Zorbax Eclipse XDB-C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм)	АЦН + 25 мМ NaH ₂ PO ₄ 0.05 мМ АА + метанол	0.05–0.6 мг/л 0.2–0.6 мкг/л	0.08–1.0 мг/л 0.3–1.0 мкг/л	Прудовая вода и донные отложения; фильтрация и ЖЖЭ + фильтрация, 72.9–102.3	[12]
13 фармацевтических препаратов, в т.ч. ХЛ, ТЦ, СА, МЛ	УВЭЖХ-МС/МС, VEN C8 (2.1 × 100 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.1% УК – АЦН + 0.1% УК	–	4.0–272.0 нг/л	Сточные воды, навоз и донные отложения; QuEChERS, онлайн-ТФЭ (рН 2.6), >75.0	[13]
6 ТЦ и 2 эпимера	ВЭЖХ-МС-ВР, Hypersil GOLDTM C18 (150 × 2.1 мм, 3 мкм)	Градиент 0.1% МК – метанол + 0.1% МК	1.5–3.6 нг/г	6.6–40.0 нг/г	Свиной навоз; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, 40.0–103.0	[14]
26 препаратов, в т.ч. ТЦ, СА, МЛ, ХЛ, ЛА, ПМ	ВЭЖХ-МС/МС, Eclipse XDB-C18 (150 × 2.1 мм, 3.5 мкм)	Градиент АЦН – 0.1% МК	0.01–1.86 мкг/кг	0.05–5.91 мкг/кг	Свиной навоз; QuEChERS, 61.39–105.65	[15]
Ципрофлоксацин	ВЭЖХ-ФЛД, LaChrom C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 280/452 нм	25 мМ Н ₃ РО ₄ + триэтиламин/АЦН (82/18)	0.2 мкг/л	0.67 мкг/л	Морская вода; МИ-ТФЭ, 75.2–112.4	[16]
82 препарата, в т.ч. СА, НИ, ТЦ, ХЛ, БЛ, МЛ	УВЭЖХ-МС/МС, Acquity VEN C18 (50 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.1% МК – метанол/АЦН (20/80) + 0.1% МК	0.3–2.0 мкг/кг	1.0–10.0 мкг/кг	Донные отложения отстойника свиной фермы; ТФЭ, 60.0–110.0	[17]

Таблица 1. Продолжение

Антибиотик	Метод, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа, пробоподготовка, степень извлечения (%)	Литература
67 соединений, в т.ч. ХЛ, МЛ, ТЦ, СА, ДП	УВЭЖХ-МС/МС, ZORBAХ Eclipse XDB C18 (50 × 4.6 мм, 1.8 мкм)	Градиент 0.1% МК-АЦН	1–357 нг/л	10–500 нг/л	Очищенные сточные воды; фильтрация с добавлением АЦН, 70.0–120.0	[18]
3 МЛ	ВЭЖХ-МС/МС, Kinetex ХВ-С18 (100 × 3 мм, 2.6 мкм)	Градиент АЦН–0.1% МК	11.5–26.0 нг/л	34.0–77.7 нг/л	Вода; магнитная ТФЭ, >84.0	[19]
4 АФ и их метаболиты	УВЭЖХ-МС/МС, ACQUITY UPLC@VEN C18 (2.1 × 100 мм, 1.7 мкм)	Изократическое элюирование 0.05% NH ₃ /АЦН (40/60)	0.05–0.15 мкг/л	0.17–0.49 мкг/л	Вода для аэвакультуры; ДТФЭ, 70.1–109.2	[20]
Окситетрациклин, флорфеникол, флуфеквин	ВЭЖХ-МС-ВП, Luna Omega Polar C18 (100 Å, 100 × 2.1 мм, 5 мкм)	Градиент 0.1% МК – метанол	–	0.1–0.5 мкг/л, 1–500 мкг/кг	Морская вода, донные отложения, биологические образцы; ТФЭ, 63.0–120.0	[21]
3 ТЦ	УВЭЖХ-УФ, VEN C18 (50 × 2.1 мм, 1.7 мкм), λ = 314 нм	0.02 М ЦК/метанол/АЦН (7/1/2)	0.027–0.107 мкг/л	0.133–0.267 мкг/л	Речная вода; магнитная ТФЭ, 91.0–104.6	[22]
28 антибиотиков, в т.ч. СА, ХЛ, ЛА, МЛ, ТЦ	УВЭЖХ-МС/МС, Kinetex C18 (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.1% МК-АЦН	0.002–0.200 нг/мл	0.005–0.500 нг/мл	Сточные воды свиноводческих хозяйств; QuEChERS, 50.0–100.0	[23]
4 СА и 3 метаболита	ВЭЖХ-МС/МС, Phenomenex Kinetex C18 (100 × 2.1 мм, 2.6 мкм)	Градиент метанол – вода	0.01–0.23 нг/л	0.03–0.78 нг/л	Сточные воды; ТФЭ, 77.7–148.1	[24]
Триметоприм и 6 СА	ВЭЖХ-УФ, Kinetex ХВ C18 (50 × 3.0 мм, 2.6 мкм), λ = 265 нм	Градиент 10 мМ ФА-АЦН/ метанол (8/92)	2.15–7.64 нг/мл	36.8–119.2 нг/мл	Природные воды; ДЖЖМЭ, –	[25]

Таблица 1. Продолжение

Антибиотик	Метод, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа, пробоподготовка, степень извлечения (%)	Литература
62 фарм. препарата, в т.ч. ТЦ, СА, БЛ, МЛ, ПМ, ДП, ХЛ	УВЭЖХ-МС/МС, ACQUITY VEN C18 (100 × 3.0 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.1% МК – АЦН – АЦН/метанол (2/1)	0.00119–0.623 нг/л	0.00475–2.49 нг/л	Питьевая вода; онлайн-ТФЭ, 80.7–119.9	[26]
37 пестицидов и 33 антибиотика, в т.ч. АФ, МЛ, СА и НИ	УВЭЖХ-МС/МС, ACQUITY VEN C18 UPLC (2.1 × 100 мм, 1.7 мкм)	Градиент 2 мМ ФА + 0.1% МК	0.2–3.5 мкг/кг	0.5–11.5 мкг/кг	Навоз домашнего скота и птицы; ASE, магнитная очистка, 60.3–110.0	[27]
40 антибиотиков, в т.ч. ЦС, ЛА, МЛ, НИ, ХЛ, СА, ТЦ	ВЭЖХ-МС/МС, Kinetex C18 (100 × 2.1 мм, 2.6 мкм)	Градиент 0.001% МК – метанол	0.01–34.3 мкг/кг	0.03–115.0 мкг/кг	Донные отложения; ЖЖЭ, ДТФЭ, 24.0–162.0	[28]
Пенициллин G	ВЭЖХ-УФ, Ultimate XB C18 (4.6 × 250 мм, 5 мкм), λ = 220 нм	Метанол + фосфатный буферный раствор (рН 4.5)	0.493 мкг/л	1.638 мкг/л	Сточные и природные воды; ТФЭ, 91.31–123.27	[29]
10 СА	УВЭЖХ-МС/МС, Hypersil gold C18 (2.1 × 100 мм, 1.9 мкм)	Градиент метанол – 0.1% МК	0.54–4.5 нг/л	1.9–15.0 нг/л	Природные воды; ДТФЭ, 82.0–105.4	[30]
7 СА	ВЭЖХ-УФ, InertSustain C18 (4.6 × 250 мм, 5 мкм), λ = 270 нм	Метанол/0.01 М ЩК + вода (32/68)	0.01–0.03 мкг/л	–	Вода; ДТФЭ, 90.5–101.9	[31]
168 фарм. препаратов и их метаболитов, в т.ч. ХЛ, ТЦ, СА, МЛ, БЛ	ВЭЖХ-МС/МС, Phenomenex C18 (50 × 3.0 мм, 2.6 мкм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% МК + АЦН	–	<0.1 нг/л	Сточные и природные воды; ТФЭ, 77.0–117.0	[32]
11 ХЛ	ВЭЖХ-МС/МС, Poroshell 120 SB-C18 (100 × 2.1 мм, 2.7 мкм)	Градиент 0.1% МК – метанол + 0.1% МК	6–150 нг/л	33–500 нг/л	Сточные воды; МИ-ТФЭ, >75.0	[33]

Таблица 1. Окончание

Антибиотик	Метод, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа, пробоподготовка, степень извлечения (%)	Литература
45 антибиотиков, в т.ч. АФ, ЦС, ДП, ЛА, МЛ, НФ, ПЦ, ПМ, ХЛ, СА, ТЦ	УВЭЖХ-МС-ВР, Huretsil Gold C18 (100 × 2.1 мм, 1.9 мкм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% МК + метанол	10–50 нг/л	50 нг/л	Прудовая вода; ТФЭ, 65.7–118.3	[34]
8 антибиотиков, в т.ч. ЦС, СА, ДП, МЛ, ХЛ	ВЭЖХ-МС/МС, Shim-pack XR-ODSIII C18 (150 × 2.1 мм, 2.6 мкм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% МК + АЦН	18.54–78.49 нг/л	58.96–249.59 нг/л	Сточные воды; низкотемпературная раздельная экстракция, 15.6–57.2	[35]
13 МЛ и их метаболиты	ВЭЖХ-МС/МС, ACE C18 RFR	Градиент 0.1% МК – АЦН	0.13–1.1 нг/г	0.39–3.2 нг/г	Донные отложения и глубоководный водоносный горизонт; ЖЭ под давлением, ТФЭ (для воды), 54.0–99.0	[36]
107 соединений, в т.ч. 2 ЛА	ВЭЖХ-МС/МС, Kinetex C18 (150 × 4.6 мм, 2.6 мкм)	Градиент 0.1% МК – метанол	–	5–500 нг/л	Очищенные городские сточные воды, QuEChERS, 70.0–120.0	[37]
172 антропогенных загрязнителя, в т.ч. ЛА, ПЦ, ЦС, СА, ДП	ВЭЖХ-МС-ВР, Thermo Huretsil GOLD aQ column (50 × 2.1 мм, 1.9 мкм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% МК + метанол	–	<1 нг/л	Сточная и водопроводная вода; ТФЭ, >70.0	[38]
3 ТЦ	ВЭЖХ-УФ, C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 224 нм	Градиент АЦН/метанол (50/50) – 0.01 М ЦК	1.37–4.38 мкг/л	4.58–14.60 мкг/л	Вода колодезная, дождевая из леса, прибрежная морская, садовая, минеральная; ДЖЖМЭ, 74.0–113.0	[39]
3 ХЛ	ВЭЖХ-УФ, ZORBAX SB-C18 (150 мм × 4.6 мкм, 5 мкм), λ = 293 нм	Градиент АЦН – 0.01 М Н ₃ Р ₀₄	6.4–9.9 нг/мл	17.8–34.5 нг/мл	Речная вода; магнитная МИ-ТФЭ, 84.1–91.9	[40]

Обозначения: АА – ацетат аммония; АФ – амфениколы; АЦН – ацетонитрил; БЛ – β-лактамы; ДП – диаминопиримидины; ДТФЭ – дисперсионная твердофазная экстракция; ЖЭ – жидкостно-жидкостная экстракция; ЛА – линкозамиды; МЛ – макролиды; МИ-ТФЭ – твердофазная экстракция с использованием микролитно-импринтированных полимеров; МК – муравьиная кислота; МЛ – макролиды; МС-ВР – времяпролётная масс-спектрометрия; МС-ВР – масс-спектрометрия высокого разрешения; НИ – нитроимидазолы; НФ – нитрофураны; ПМ – плевромугиллины; ПЦ – пенициллины; СА – сульфаниламиды; СПМР – супрамолекулярные растворители; ТЦ – тетрациклины; УК – уксусная кислота; ФА – формилат аммония; ХЛ – хинолоны; ЦС – цефалоспорины; ЦК – шавелевая кислота.

графии с масс-спектрометрическим детектированием (УВЭЖХ-МС/МС) [54–56] становится возможным определение ряда антибиотиков в природных, минеральных и грунтовых водах, молоке, яйцах, курице, говядине, рыбе и детских молочных порошковых смесях с достаточно высокой степенью извлечения и низкими пределами определения.

Несмотря на все явные преимущества ДЖЖМЭ, метод редко применяется для определения антибиотиков различных классов одновременно, за исключением использования дорогостоящего метода УВЭЖХ-МС/МС [54]. Особенностью ДЖЖМЭ является ее наиболее частое использование для анализа жидких образцов (табл. 1, 2). Кроме того, в процессе пробоподготовки ДЖЖМЭ может сочетаться с ТФЭ. Предложена УВЭЖХ-МС/МС-методика определения 10 антибиотиков в воде (питьевой, речной, сточной) [58]. В качестве экстракционного растворителя выбран дихлорметан, а в качестве диспергирующего – смесь метанол–ацетонитрил (1 : 1). Максимальные значения предела обнаружения и предела определения составили 1.67 и 5.57 нг/мл соответственно. Степень извлечения находилась в диапазоне от 64.16 до 99.80%, относительное стандартное отклонение – от 0.7 до 8.4%.

Процедура определения антибиотиков в почвах и донных отложениях водоемов сложнее в связи с более трудозатратной пробоподготовкой, но в настоящее время предложена масса решений этой проблемы: ускоренная экстракция растворителем (accelerated solvent extraction, ASE), жидкостная экстракция с использованием ультразвука (УЗ-ЖЭ), дисперсионная ТФЭ (ДТФЭ) [41, 59, 60]. При необходимости процесс пробоподготовки завершается дополнительной ТФЭ-очисткой и фильтрацией. Доступные технологии позволяют определять соединения, в том числе антибиотики, на уровне следовых количеств (несколько нг/л и менее). Так как молекулы большинства антибактериальных препаратов полярны, для анализа водных сред и донных отложений предпочтителен метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) благодаря его высокой селективности и чувствительности (табл. 1). Определение соединений в основном проводится в режиме мониторинга множественных реакций (MRM) – используются как минимум два наиболее характерных ионных перехода ион-предшественник/продукт и надежность результатов обеспечивается не только определением времени удерживания, но и использованием характеристических ионов. Вместе с тем в последнее время повышен интерес и к УВЭЖХ – она обеспечивает еще более высокое разрешение и скорость выполнения анализа [41].

Для снижения и оценки матричных эффектов, в том числе при анализе морской воды и донных отложений, используются метод разбавления после экстракции и изотопно-меченные стандарты, хотя это приводит к увеличению стоимости и/или продолжительности анализа [41]. Однако для получения надежных результатов применение указанных приемов необходимо, поэтому потребность в разработке более селективных, чувствительных, но при этом быстрых и доступных методик сохраняется.

Распределение антибиотиков в почве обусловлено, во-первых, структурой самих соединений и физико-химическими свойствами представителей различных классов (в первую очередь полярностью). Во-вторых – особенностями почвы, так как сорбционные свойства и связующая способность частиц определяются ее составом, рН среды и содержанием органических веществ [5, 8, 10]. Максимальные содержания в почве (мг/кг) определены для окситетрациклина – 50, хлортетрациклина – 11, ципрофлоксацина – 5.6, сульфаметазина – от 0.2 до 25 и тилозина – 1.3 [3, 61]. Для тетрациклинов установлен наибольший риск попадания в пищевую цепь при низком содержании в почве органических веществ, так как в таких условиях их сорбция существенно снижена [5].

Основным источником поступления тетрациклинов, фторхинолонов, сульфаниламидов и макролидов в почву является применение навоза в качестве удобрения. Фторхинолоны отличаются высокой специфичностью взаимодействия с почвами: коэффициент сорбции в почве более чем в 600 раз выше, чем в курином помете [9]. Разработана методика определения ветеринарных антибиотиков в навозе бройлеров, почве и компосте методом ВЭЖХ-МС/МС, предел определения 2–16 мкг/кг [62]. Пробоподготовка, сочетающая жидкостную экстракцию и последующую ТФЭ-очистку на HLB-картриджах позволяет достичь степени извлечения для девяти антибиотиков 63.0–121.0%, максимальные содержания в реальных образцах куриного навоза и почвы установлены для доксициклина и флумеквина. В жидких фракциях свиного навоза содержится до 20.4 мг/л линкомицина – это один из самых высоких показателей остаточного содержания неметаболизированных антибиотиков, экскретируемых животными [63]. Твердофазная экстракция с использованием HLB-картриджей также предложена в качестве пробоподготовки для определения β-лактамных антибиотиков и полиэфирных ионофоров методом ВЭЖХ-МС/МС в навозе КРС, сточных и прудовых водах [64]. Пределы обнаружения цефепима, пенициллина G, клоксациллина, монензина, салиномицина и наразина составили 0.15–2.13 мкг/л в воде, 0.34–2.94 мкг/кг в навозе, соответствующие степени извлечения (%) – 74.4–91.0 и 71.7–94.2. Цефепим, пенициллин G

Таблица 2. Дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция при определении антибактериальных препаратов

Антибиотик	Матрица	Экстрагент (объем, мкл)	Диспергент (объем, мл)	Объем пробы, мл (навеска, г)	Степень извлечения, % (фактор концентрации)	Метод анализа	Предел обнаружения	Литература
5 СА	Молоко	[C ₄ MIM-TEMPO]Cl (50 мг)	0.1 г/мл KPF ₆ (0.26)	40.0 (4.0)	97.2–101.6	ВЭЖХ-УФ, Amethyst C18-H (4.6 × 250 мм, 5 мкм)	0.534–0.891 мкг/л	[44]
2 СА	Курица	Тетрабутил-аммония бромид, малоновая и гексановая кислоты (1 : 1 : 1) (2 г)	Вода (10)	1.0	45.0–75.0	ВЭЖХ-УФ, Phenomenex C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм)	3.0–7.0 мкг/кг	[45]
3 СА	Молоко	Тимол + октановая кислота (3.40 г + 1.65 г) (500)	Вода (25)	10.0	64.0–100.0	ВЭЖХ-УФ, Luna C18(2) (250 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 280 нм	1.0–5.0 мкг/л	[46]
4 ТЦ	Молоко, яйца	[C ₆ MIM][PF ₆] (130 мкл)	[C ₂ MIM][BF ₄]/[C ₄ MIM][NPA] (120/45) (165 мкл)	3.0 (молоко) 1.0 (яйца)	94.1–102.1	ВЭЖХ-УФ, Zorbax Eclipse SB-C18 (4.6 × 250 мм, 5 мкм), λ = 355 нм	0.08–1.12 мкг/кг	[47]
6 ХЛ	Куриный liver	Трихлорметан (200)	АЦН-экстракт (1.0)	5.0	83.0–102.0	ВЭЖХ-ДМД, λ = 280 нм	5.0–19.0 мкг/кг	[48]
11 СА и 14 ХЛ	Вода	CHCl ₃	АЦН (1.25)	5.0	78.0–117.0	УВЭЖХ-ДМД (260–300 нм)	0.35–10.5 нг/мл	[49]
6 СА	Детские молочные смеси	[C ₆ MIM][PF ₆] (70)	Ультразвук	0.5	90.4–114.8	ВЭЖХ-ДМД (270 нм)	2.94–6.66 мкг/кг	[50]

Таблица 2. Окончание

Антибиотик	Матрица	Экстрагент (объем, мкл)	Диспергент (объем, мл)	Объем пробы, мл (навеска, г)	Степень извлечения, % (фактор концентри- рования)	Метод анализа	Предел обнаружения	Лите- ратура
Альбендазол, хлорамфеникол, триметоприм, энрофлоксацин, окситетрацик- лин, никарбазин	Яйца	Дихлорметан (160)	АЦН (1.84)	1.0	24.1–98.3	ВЭЖХ-ДМД/ФЛД	–	[51]
8 ХЛ	Грунтовые воды	[C ₈ MIM][PF ₆] (65 мг)	Метанол (0.4), ультразвук	10.0	85.0–107.0 (122.0–205.0)	ВЭЖХ-ФЛД, λ = 278–324/ 366–514 нм	0.8–13.0 нг/л	[52]
6 ХЛ	Молоко	Хлороформ (200)	Сухой остаток после QuEChERS в АЦН + 10% УК (0.1)	2.0 QuEChERS	69.2–104.8	ВЭЖХ-ФЛД, λ = 278–294/ 466–514 нм	0.8–5.0 мкг/кг	[53]
17 ХЛ, 6 ЦС, 8 ПЦ	Сырое коровье молоко	Трихлорметан (570, 440)	АЦН (1.070, 1.500)	1.0	72.0–110.0	УВЭЖХ-МС/МС (экстракты объеми- нены)	0.1–1.3 нг/г	[54]
6 ТЦ	Говядина	Дихлорметан (200)	Метанол (1.0)	1.0	80.0–105.0	ВЭЖХ-МС/МС	2.22–3.59 мкг/кг	[55]
2 НИ, 2 АФ, 2 красителя	Рыба	Дихлорметан (500)	АЦН (0.7)	2.0	Микровол- новая экс- тракция и ТФЭ очистка; > 87.0	ВЭЖХ-МС/МС	4.52–101.3 пг/кг	[56]
3 ТЦ	Молоко	АЦН (1000)	Тимол/октано- вая кислота (150 мкл)	1.0	70.0–113.0	ВЭЖХ-УФ, С18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 369 нм	1.5–8.5 мкг/л	[57]

Обозначения: АФ – амфениколы; АЦН – ацетонитрил; НИ – нитроимидазолы; ПЦ – пенициллины; СА – сульфаниламиды; ТЦ – тетрациклины; ХЛ – хинолоны; ЦС – цефалоспорины; УК – уксусная кислота; С₂MIM – 1-этил-3-метилимидазол; С₄MIM – 1-бутил-3-метилимидазол; С₆MIM – 1-гексил-3-метилимидазол; С₈MIM-TEMPO – условное обозначение синтезированного молекулярно-импринтированного полимера; С₈MIM – 1-октил-3-метилимидазол; NPA – соль нафто-вой кислоты.

и флоксациллин обнаружены в пробах воды отстойника в концентрациях 0.97–43.31 мкг/л. Из ионофоров обнаружен только монензин (94–1077 мкг/л) в образцах прудовой воды со стоками ферм КРС. В образцах навоза молочного скота обнаружено 8.09–45.20 мкг/кг флоксациллина. Согласно литературным данным биосолиды содержат гораздо меньшее количество антибиотиков [3].

Сорбционная емкость почв по отношению к антибиотикам различна [8]. Вместе с тем отличается и способность их аккумуляции разными видами сельскохозяйственных культур. Как отмечено в работе [65], большее внимание следует уделять региону, в котором выращиваются овощи с более высокой способностью к накоплению антибиотиков. Существенное значение имеют также сезонные различия биодеградации антибиотиков [63]. Все это необходимо учитывать при оценке риска контаминации растительного сырья, произрастающего в различных регионах.

Антибиотики могут присутствовать и в донных отложениях вблизи хозяйств, где их добавляют непосредственно в воду для лечения бактериальных инфекций объектов аквакультуры [7]. Связывание антибиотиков с частицами почвы и отложений может затруднять биодеградацию, повышая их устойчивость в окружающей среде. Отмечено, что уровень загрязнения воды и почвы антибиотиками близок к уровню загрязнения пестицидами, остаточные содержания в сточных водах варьируются от нескольких нг/л до мкг/л, а в твердых веществах, в том числе в почве, от мкг/кг до мг/кг [66].

Нельзя исключать и естественный путь образования антибиотиков. В работе [67] показано, что существует возможность образования хлорамфеникола (ХАФ) почвенными бактериями в их естественной среде с дальнейшим его поглощением растениями. Механизм образования запрещенного к применению в ветеринарной практике ХАФ в почве на данный момент глубоко не изучен, хотя его естественное (фоновое) содержание в растительной продукции может быть значимо (до 32 мкг/кг), что более чем в 200 раз превышает контрольное значение 0.15 мкг/кг, регламентируемое Европейским законодательством [68].

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Пробоподготовка. Значительные трудности анализа продуктов питания животного происхождения обусловлены наличием большого количества сопутствующих компонентов в экстракте при содержании антибиотиков на уровне остаточных количеств. Кроме того, они могут быть преобразованы микроорганизмами, а также дру-

гими физическими и химическими способами в метаболиты, в результате чего образуется смесь экотоксикантов, представляющих еще больший риск для здоровья человека, чем отдельные соединения. Таким образом, растет интерес к доступным многокомпонентным методам анализа антимикробных смесей в пищевых продуктах (табл. 3). Немаловажным этапом при этом является стадия пробоподготовки. От выбора способа подготовки образцов и его осуществления во многом зависят конечные результаты исследования. Из-за сложности матриц для достижения требуемой чувствительности кроме стадии экстракции требуются дополнительная очистка и концентрирование экстракта. Наиболее распространенными анализируемыми пищевыми матрицами являются молоко, мед, ткани животных и яйца. Пробоподготовка включает в себя процедуры удаления белков, обезжиривания и гидролиза сахаров (для меда). Удаление белков обычно достигается с помощью органических растворителей, таких как ацетонитрил или метанол, и при необходимости образец далее обезжиривают гексаном [112].

Экстракция и разбавление – самый простой способ пробоподготовки для многокомпонентных методов с высокочувствительным оборудованием. При разбавлении экстрактов могут незначительно снижаться матричные эффекты, однако для поддержания воспроизводимости в масс-спектрометрии необходимы регенерация колонки и очистка ионного источника. Сочетание жидкостной экстракции с использованием ультразвука и дополнительной очистки экстрактов дисперсионной твердофазной экстракцией позволяет снизить матричный эффект и повысить степень извлечения аналитов [99], хотя отмечены случаи когда дополнительная очистка добавлением сорбента не влияла на матричный эффект и пробоподготовка ограничивалась ЖЭ с добавлением высаливателей [113].

Тем не менее большинство методов подготовки образцов для многокомпонентного анализа антибиотиков в пищевых матрицах используют ТФЭ для достижения чувствительности на уровне нг/кг. Типичные сорбенты для ТФЭ – Oasis HLB и полимерные сорбенты Strata X. Картриджи Oasis HLB предпочтительны из-за достигаемой высокой воспроизводимости для широкого спектра соединений, как полярных, так и неполярных. Strata X картриджи имеют схожую с Oasis HLB функциональность, обеспечивая сопоставимые результаты.

Среди многокомпонентных методик описана процедура, которая включает растворение образца в смеси ацетонитрил–ЭДТА в слабокислой среде (рН 4.0) с последующей твердофазной очисткой на картриджах Oasis HLB. Этот способ

Таблица 3. Определение остаточных количеств антибиотиков различных классов в пищевых продуктах

Антибиотик	Метод, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа, пробоподготовка, степень извлечения (%)	Литература
10 антибиотиков, в т.ч. ТЦ, ХЛ, АФ, СА, ЦС	УВЭЖХ-МС/МС, Waters ACQUITY UPLC® VEN Phenyl (50 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.1% МК – АЦН	0.11–1.67 нг/мл	0.27–5.57 нг/мл	Вода; ТФЭ + ДЖЖМЭ дихлорметан/метанол/АЦН (1/1) УЗ; 64.16–99.80	[58]
11 препаратов, в т.ч. ЦС, ХЛ, СА	ВЭЖХ-ФДЛ, ВЭЖХ-УФ, ВЭЖХ-МС/МС, 250 × 4.6 мм, 5 мкм), λ _{ДС} = 280 нм, λ _{ХЛ} = 280/440 нм, λ _{СА} = 405/495 нм	Градиент 2% УК – АЦН	8.0–20.0 нг/мл	10.0–32.0 нг/мл	Молоко; ЖЖЭ, предколониальная дериватизация, >98.0	[69]
17 препаратов, в т.ч. МЛ	ВЭЖХ-МС/МС, Hureisil Gold C18 (100 × 2.1 мм, 5 мкм)	Градиент метанол – формиатный буфер	0.21–0.61 мкг/кг	5.0–10.0 мкг/кг	Мясо; АСЕ, ≈75.0	[70]
34 препарата, в т.ч. СА, ХЛ, МЛ, ТЦ, ПЦ	УВЭЖХ-МС-ВР, Hureisil GOLD aQ C18 (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент 4 мМ ФА + 0.1% МК – метанол + 0.1% МК	0.1–50 мкг/кг	5.0–50 мкг/кг	Мед; ЖЖЭ, автоматизированная ТФЭ, 68.0–121.0	[71]
8 СА и триметоприм	ВЭЖХ-МС/МС, Xetra MS C18 (2.1 × 150 мм, 3.5 мкм)	Градиент 0.1% МК – АЦН + 0.1% МК	0.06–0.18 мкг/кг	–	Мед; ТФЭ, 70–106	[72]
3 СА, 2 ХН	ВЭЖХ-УФ, Diamonsil C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 265 нм	АЦН/вода (0.2% УК)	0.01–0.014 мкг/л	0.039–0.096 мкг/л	МИ-онлайн-ТФЭ, 71.0–108.2	[73]
3 ЛА и 10 МЛ	ВЭЖХ-МС/МС, Kinetex XB-C18 (2.1 × 100 мм, 2.6 мкм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% МК + АЦН	0.5–3.0 мкг/кг	0.5–5.0 мкг/кг	Рыба, креветки; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, 47.0–99.0	[74]
26 препаратов, в т.ч. СА, ФХ, ХЛ, триметоприм	ВЭЖХ-МС/МС, YMC ODS-AQ (2 × 100 мм, 3 мкм)	Градиент 0.1% МК – АЦН	–	0.40–10.0 нг/г	Рыба и креветки; ЖЖЭ, фильтрация, 88.0–112.0	[75]
38 препаратов, в т.ч. СА, ХЛ	УВЭЖХ-МС/МС, Acquity VNE C18 (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.1% МК + 5 мМ АА – метанол	1–125 мкг/кг	–	Молоко; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, 87.0–119.0	[76]

Таблица 3. Продолжение

Антибиотик	Метод, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа, пробоподготовка, степень извлечения (%)	Литература
2 ТЦ, хлорамфеникол	ВЭЖХ-УФ, Zorbax Eclipse XDB-C18 column (4.6 × 150 мм, 3.5 мкм), λ _{ТЦ} = 270 нм, λ _{АФ} = 272 нм	Градиент АЦН – 0.8% МК	4.2–8.2 мкг/кг	13.8–27.4 мкг/кг	Мед; ИЖ-ЖЖЭ, 85.5–110.9	[77]
39 антибиотиков, в т.ч. СА, ТЦ, МЛ, ХЛ, ПЦ, АФ, ДП	УВЭЖХ-МС/МС, Acquity HSS T3 (2.1 × 100 мм, 1.8 мкм)	Градиент 0.1% МК – АЦН	0.48–1048.0 мкг/кг	–	Печень; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, 80.0–110.0	[78]
45 антибиотиков, в т.ч. ПЦ, ЦС, ХЛ, ТЦ, МЛ, СА, ЛА, ДП	ВЭЖХ-МС/МС, Luna C18 (50 × 3.0 мм, 3 мкм)	Градиент АЦН – ГФМК	0.01–3.79 мкг/л	0.02–10 мкг/л	Вода; ТФЭ, 84.3–109.3	[79]
НФ и их метаболиты, АФ	УВЭЖХ-МС-ВР, Acquity UPLC VEN C18 (2.1 × 50 мм, 1.7 мкм)	Градиент 10 мМ АА + метанол + NH ₃ – метанол	0.05–0.5 мкг/кг	–	Мышечная ткань, почки, ливер, рыба, Мед, яйца, молоко; гидролиз, ЖЖЭ, ОФ-ТФЭ, 22–237	[80]
78 препаратов, в т.ч. БЛ, ЛА, МЛ, АФ, ХЛ	ВЭЖХ-МС/МС, Acquity CSH C18, (2.1 × 150 мм, 1.7 мкм)	Градиент метанол/АЦН (3/1) + 0.1 мМ ФА + 0.5 мМ МК – 0.1 мМ ФА + 0.5 мМ МК	–	0.1–10.0 мкг/кг	Молоко, яйца, мясо; ЖЖЭ, ДТФЭ-очистка, 70.0–120.0	[81]
391 соединения, в т.ч. антибиотики, применяемые в ветеринарии	УВЭЖХ-МС-ВР, Huretsil GOLD aQ C18 (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.1% МК + 4 мМ ФА – 0.1% МК + 4 мМ ФА + метанол	0.5–50.0 мкг/кг	10.0–100.0 мкг/кг	Детское питание; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, 70.0–120.0	[82]
88 препаратов, в т.ч. МЛ, ХЛ, СА, ТЦ, ПЦ	ВЭЖХ-МС/МС, SAR-CELL RAK C18 MG III (2.1 × 150 мм, 5 мкм)	Градиент АЦН + 0.1% МК	0.2–2.0 мкг/кг	0.5–10.0 мкг/кг	Молоко; онлайн-ТФЭ, 63.1–117.4	[83]
76 препаратов, в т.ч. МЛ, ПЦ, СА, ДП, АГ	ВЭЖХ-МС/МС, ACQUITY UPLC VEN HPLC (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент АЦН – 1 мМ ФА + 0.1% МК – метанол	–	0.37–178.0 мкг/кг	Мышечная ткань КРС; ЖЖЭ (2 стадии), ТФЭ-очистка, 60.0–109.0	[84]

Таблица 3. Продолжение

Антибиотик	Метод, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа, пробоподготовка, степень извлечения (%)	Литература
62 антибиотика: АФ, БЛ, ДП, ЛА, МЛ, ПМ, ХЛ, СА, ТЦ	ВЭЖХ-МС-ВР, Roto-shell 120 ЕС-С18 (100 × 3.0 мм, 2.7 мкм)	Градиент метанол – 0.1% МК	1–5 мкг/кг	3.3–10 мкг/кг	Мясо; ЖЖЭ, 59.0–93.0	[85]
61 препарат, в т.ч. БЛ, МЛ, СА, ТЦ, ХЛ	УВЭЖХ-МС/МС, HSS T3 (2.1 × 100 мм, 1.8 мкм)	Градиент АЦН – 0.1% МК	0.003–1.57 мкг/кг	0.01–5.18 мкг/кг	Молоко; ТФЭ, 61.5–118.6	[86]
120 препаратов, в т.ч. ХЛ, МЛ, БЛ, НИ, СА, ЛА, АФ, ХН, ТЦ	ВЭЖХ-МС/МС, Huretsil Gold C18 (150 × 2.1 мм, 5 мкм)	Градиент АЦН – 0.1% МК	0.5–3.0 мкг/кг	1.5–10.0 мкг/кг	Мясо, молоко, яйца; УЗ-ЖЖЭ, ТФЭ-очистка; >60	[87]
138 препаратов и метаболитов	УВЭЖХ-МС/МС, Huretsil Gold aQ C-18 (100 × 2.1 мм, 1.9 мкм) + Accuscore C-18 aQ (10 × 2.1 мм, 1.9 мкм)	Градиент вода + 1 мл/л МК + 4 мМ ФА – метанол + 1 мл/л МК + 4 мМ ФА	0.01–4.73 мкг/кг (возможность обнаружения)	–	Рыба; ЖЖЭ, ДТФЭ, 81.0–111.0	[88]
8 ХЛ, 8 СА, 4 ТЦ	УВЭЖХ-МС/МС, VEN C18 (2.1 × 50 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.2% МК – АЦН/метанол (1/1)	0.5–3.0 нг/г	1.5–6.0 нг/г	Мясо; МИ-ТФЭ, 74.5–102.7	[89]
80 препаратов, в т.ч. БЛ, ЛА, МЛ, ХЛ, НИ, СА, ДП, АФ	ВЭЖХ-МС-ВР, Acquity UPLC VEN C18 (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.1% МК – метанол	–	0.25–25 мкг/кг	Рыба; ЖЖЭ, фильтрация, 60.74–109.85	[90]
54 препарата, в т.ч. МЛ, СА, ХЛ	ВЭЖХ-МС-ВР, C18 (150 × 2.1 мм, 2.7 мкм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% МК + метанол	0.31–1.61 мкг/кг	1.05–6.94 мкг/кг	Рыба; микро-ДТФЭ, 56.3–119.9	[91]
36 антибиотиков, в т.ч. СА, ТЦ, АФ, ФХ, ПЦ и ДП	ВЭЖХ-МС/МС, C18 PerfectSil Target ODS-3 HD (150 × 3.0 мм, 3 мкм)	Градиент 0.1% МК – метанол	0.14–2.91 нг/г	0.50–9.70 нг/г	Мед; ЖЖЭ, 65.0–116.1	[92]
Эритромицин, тетрациклин, хлорамфеникол	ВЭЖХ-ИРС, C18 (4.6 × 250 мм, 5 мкм)	АЦН + 0.05% АА	10–20 мкг/кг	–	Молоко; МИ-ТФЭ, 72.94–88.17	[93]
25 антибиотиков, в т.ч. ПЦ, ТЦ, СА, ХЛ, МЛ, ЛА и ДП	ВЭЖХ-МС/МС, Synergi Hydro RP C18 (150 × 2 мм, 4 мкм)	Градиент 0.1% МК – метанол	1 мкг/кг	2 мкг/кг	Рыба; ЖЖЭ, 91.1–105.6	[94]

Таблица 3. Продолжение

Антибиотик	Метод, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа, пробоподготовка, степень извлечения (%)	Литература
24 фарм. субстанции, в т.ч. ХЛ, СА, ТЦ	УВЭЖХ-МС/МС, XBridge VEN C18 (2.1 × 100 мм, 2.5 мкм)	Градиент метанол – 0.1% МК	–	5–10 мкг/кг	Креветки; Двухступенчатая ЖЖЭ, 83.0–100.0	[95]
39 препаратов, в т.ч. НИ, ЛА, ХЛ, СА, АФ, МЛ, ТЦ, ПЦ и ЦС	УВЭЖХ-МС/МС, Poroshell 120 EC-C18 (150 × 2.1 мм, 2.7 мкм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% МК + АЦН	–	1–5 мкг/кг	Мясо, печень, почки; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, 60.0–120.0	[96]
25 препаратов, в т.ч. БЛ, ХЛ, АФ, НФ	УВЭЖХ-МС/МС, XBridge® MS C18 (2.1 × 100 мм, 5 мкм)	Градиент вода – АЦН + 0.1% МК	–	0.1–12.0 нг/г	Молоко; ЖЖЭ, 65.9–123.5	[97]
СА, ТЦ, МЛ	ВЭЖХ-МС/МС, XТerra® C18 3.5 мм, 125 Å (100 × 2.1 мм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% МК + АЦН	–	0.0025–0.005 мкг/кг	Мед; ЖЖЭ, 36.0–139.0	[98]
4 ХЛ, 3 ТЦ, 7 СА, 3 МЛ, линкомицин	ВЭЖХ-МС/МС, Kinetex XB-C18 (100 × 3 мм, 2.6 мкм)	Градиент АЦН – 0.1% муравьиная кислота	0.30–1.8 нг/г	0.8–5.9 нг/г	Зерно; УЗ-ЖЖЭ, ДТФЭ, 74.0–127.0	[99]
2 ГП, 5 ПП	ВЭЖХ-МС/МС, Kinetex Biphenyl (50 × 2.1 мм, 2.6 мкм)	Градиент 0.1% МК + АЦН – 0.1% МК	5–20 мкг/кг	15–30 мкг/кг	Корма; ДТФЭ, 63.1–107.5	[100]
45 антибиотиков, в т.ч. ЦС, ДП, ФХ, ЛА, МЛ, ПЦ, ПМ, СА, ТЦ	ВЭЖХ-МС/МС, InfinityLab Poroshell 120 (50 × 2.1 мм, 1.9 мкм)	0.1% МК + АЦН/метанол (80/20)	0.3–3.0 мкг/кг	1.0–10.0 мкг/кг	Шампиньоны; 73.0–118.0	[101]
55 антибиотиков, в т.ч. ХЛ, СА, ТЦ, МЛ, ЛА, ПЦ, НИ, АФ	УВЭЖХ-МС/МС, ZORBAX RRHD Eclipse plus C18 (100 × 2.1 мм, 1.8 мкм)	Градиент 0.1% МК – АЦН	1.0–5.0 нг/г	3.0–10.0 нг/г	Креветки; ЖЖЭ, 74.3–113.3	[102]
77 препаратов, в т.ч. СА, БЛ и ХЛ	УВЭЖХ-МС/МС, UPLC HSS T3 (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% МК + АЦН	–	На уровне МДУ Канады и США	Курица; автоматизированная ТФЭ, 60.0–140.0	[103]

Таблица 3. Окончание

Антибиотик	Метод, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа, пробоподготовка, степень извлечения (%)	Литература
164 фарм. субстанций, в т.ч. АФ, ЦС, ИФ, ЛА, МЛ, НИ, ПШ, ХЛ, СА, ТЦ	ВЭЖХ-МС-ВР, Rheoplex Luna Omega (100 × 2.1 мм, 1.6 мкм)	Градиент 0.1% МК – АЦН + 0.1% МК – метанол + 0.1% МК	–	От 0.9 нг/кг	Мясо; ЖЖЭ, 70.0–120.0	[104]
141 препарат, в т.ч. АФ, ИФ, ЛА, МЛ, НИ, ХЛ, СА, ТЦ	ВЭЖХ-МС-ВП, Roto-shell 120 EC–C18 (150 × 2.1 мм, 2.7 мкм)	Градиент 0.1% МК + 10 mM AA – АЦН	0.1–5.0 мкг/кг	0.1–10.0 мкг/кг	Свинина; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, > 70	[105]
45 антибиотиков, в т.ч. ПЦ, ЦС, ТЦ, СА, МЛ, ХЛ	УВЭЖХ-МС-ВП, Acquity HSS T3 (2.1 × 100 мм, 1.8 мкм)	Градиент 0.1% МК – АЦН	0.20–30.93 мкг/кг	–	Свиная печень; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, 82.0–120.0	[106]
62 препарата, в т.ч. АФ, ЛА, МЛ, ХЛ, ХН, ДП, СА, ТЦ, БЛ	ВЭЖХ-МС/МС, Nupersil Gold HPLC (150 × 3.0 мм, 5 мкм)	Градиент 5 mM AA – АЦН + 0.1% УК	25 мкг/кг	75 мкг/кг	Пищевые продукты и корма; ASE, >57	[107]
291 загрязнитель, в т.ч. НИ и их метаболиты, БЛ, ЛА, МЛ, ХН, ХЛ, СА, ДП, ИФ	УВЭЖХ-МС/МС, Acquity HSS-T3 (100 × 2.1 мм, 1.8 мкм)	Градиент 0.1% МК + 0.5 mM AA – Метанол + 0.1% МК; 2 mM AA – метанол	–	0.1–50.0 мкг/кг	Протеиновый порошок; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, низкотемпературная фильтрация, 65.6–142.2	[108]
78 препаратов, в т.ч. СА, ХЛ, БЛ	УВЭЖХ-МС/МС, Acquity UPLC VEN C18 (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% МК + АЦН/метанол (8/2)	0.03–0.33 мкг/кг	0.1–1.0 мкг/кг	Яйца; ДТФЭ, 70.5–119.2	[109]
54 препарата, в т.ч. СА, ХЛ, МЛ, АФ, ЦС, ЛА	УВЭЖХ-МС/МС, Eclipse Plus C18 RRHD (100 × 2.1 мм, 1.8 мкм)	Градиент Вода/метанол (95/5) + 0.1% МК + 5 mM AA – метанол	0.3–10.9 мкг/кг	0.1–3.8 мкг/кг	Яйца; ТФЭ, 61.5–97.0	[110]
18 препаратов, в т.ч. ПЦ, МЛ, ЛА, ХЛ, ТЦ, СА, АФ	УВЭЖХ-МС/МС, Acquity UPLC VEN C18 (2.1 × 50 мм, 1.7 мкм)	Градиент АЦН–0.1% МК	0.1–3.2 мкг/кг	1.0–10.0 мкг/кг	Мясо, рыба, яйца, мед; ТФЭ, 92.59–102.86	[111]

Обозначения: АГ – аминокислоты; АЦН – ацетонитрил; ГП – гликопептиды; ГФМК – гептафтормасляная кислота; ЖЖЭ – жидкостно-жидкостная экстракция; ИЖ – ионные жидкости; ИФ – ионофоры; МДУ – максимально допустимый уровень; МИ – молекулярно-импринтированная; МС-ВР – масс-спектрометрия высокого разрешения; ОФ-ТФЭ – обращённо-фазовая экстракция; ПП – полипептиды; ТФМЭ – твердофазная микроэкстракция; ФА – формиат аммония; ФХ – фторхинолоны; ХН – хиноксалины.

применен для одновременного определения 30 антибиотиков (макролидов, тетрациклинов, хинолонов, сульфаниламидов, пенициллинов, амфениколов и диаминопиримидинов) в печени КРС, свиней, овец и домашней птицы. Степень извлечения варьировалась от 80 до 110% [78]. Очевидно, что данный способ пробоподготовки трудоемок, а анализ в целом занимает слишком много времени, что не позволяет анализировать множество образцов в короткие сроки. Кроме того, предполагается использование большого количества токсичных органических растворителей, в том числе и для восстановления картриджей.

Твердофазная экстракция продолжает широко применяться в практике анализа (табл. 1, 3, 4). Ее развитие связано в первую очередь с применением новых материалов в качестве твердой фазы, например молекулярно-импринтированных полимеров, появлением метода твердофазной микроэкстракции, что позволяет существенно повысить селективность очистки [115–117, 128, 143, 194, 195]. Молекулярный импринтинг впервые исследовали в 1949 г. в связи с необходимостью разработки более селективных сорбентов интерес к ТФЭ с использованием молекулярно-импринтированных полимеров (МИ-ТФЭ) возрос в последние десятилетия. Кроме того, появилась возможность синтеза и использования в пробоподготовке сложных матриц магнитных наночастиц на основе молекулярно-импринтированных полимеров [195]. В основном с их применением предложены методики определения отдельных представителей аминогликозидов, нитроимидазолов, сульфаниламидов, тетрациклинов, фторхинолонов и β -лактамов (табл. 1, 4). Ограничение использования МИ-ТФЭ в многокомпонентном анализе обусловлено ее основным преимуществом – селективностью.

Для сокращения продолжительности анализа и необходимого объема пробы предложена онлайн-ТФЭ [196], и в настоящее время разработано множество методик с ее применением [13, 26, 73, 83, 159, 163]. Автоматизация пробоподготовки для дальнейшего исследования сложных образцов, а именно объектов окружающей среды и продуктов питания, изучается с конца восьмидесятых годов. Онлайн-методы имеют ряд преимуществ: сокращение потребления растворителей и меньший контакт с ними исполнителя, возможность регенерации ТФЭ-колонок, экономия времени.

Жидкостная и твердофазная экстракция совершенствуются и активно используются на этапе подготовки образцов в рутинном анализе пищевых продуктов. При этом неавтоматизированные процедуры трудоемки и требуют применения больших количеств токсичных органических растворителей. В то же время в аналитическую мето-

дологию уже более 30 лет внедряется концепция “зеленой химии”. Изначально она была ориентирована на методы органического синтеза, но позже адаптирована и к другим областям химии. Кроме экологической безопасности, применение принципов “зеленой химии” позволяет снизить стоимость анализа, повысить его скорость и безопасность для исполнителей [197]. С этой точки зрения предложен такой способ пробоподготовки как дисперсионная твердофазная экстракция **QuEChERS** (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe – быстрый, простой, дешевый, эффективный, точный и надежный), известный с 2003 г. и изначально применявшийся для быстрого извлечения пестицидов [198]. Эффективность метода настолько существенна, что два его варианта в настоящее время являются официальными методами анализа международных организаций по стандартизации ЕС и AOAC International (Association of Official Agricultural Chemists International – Международная Ассоциация Официальных Агрохимиков, США) при определении остаточных содержаний пестицидов во фруктах и овощах [197]. Экстракцию целевых компонентов проводят ацетонитрилом в присутствии буферизирующих солей. Очистку экстрактов от липидов, жиров и белков осуществляют насыпными сорбентами Bondesil-PSA, C_{18} , графитированной сажой, ионообменными смолами и их комбинациями. В последнее время метод применяется в многокомпонентном определении лекарственных средств для ветеринарного применения в продуктах питания [198]. QuEChERS позволяет сократить продолжительность пробоподготовки; нет необходимости применения дополнительных способов очистки, что уменьшает риск ошибки; характеризуется высокой степенью извлечения для широкого спектра антибиотиков; позволяет использовать меньшее количество органических растворителей. Метод показал хорошие результаты и в анализе объектов окружающей среды (табл. 1). Его простота обеспечивает высокую надежность и воспроизводимость. Применение QuEChERS для определения антибиотиков иллюстрирует табл. 5.

Надежный и быстрый УВЭЖХ-МС/МС-способ определения восьми антибиотиков хинолонового ряда (марбофлоксацина, цiproфлоксацина, данофлоксацина, энрофлоксацина, сарафлоксацина, дифлоксацина, флумеквина и оксолиновой кислоты) разработан для анализа продуктов пчеловодства [201]. Образец меда, маточного молочка или прополиса помещали в центрифужную пробирку и растворяли в среде 30 мМ NaH_2PO_4 буферного раствора с рН 7.0. Затем экстрагировали 5%-ной муравьиной кислотой в ацетонитриле с добавлением солей и сорбентов QuEChERS. Аликвоту надосадочной жидкости переносили в пробирку и высушивали в токе азо-

Таблица 4. Характеристика методик определения антибиотиков различных классов

Антибиотик	Метод определения, детектор, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа; пробоподготовка, степень извлечения, %	Литература
Аминогликозиды						
6 АГ	ВЭЖХ-МС/МС, X-Terras C18 (100 × 2.1 мм, 3.5 мкм)	Градиент 10 мМ НФПК – АЦН + 10 мМ НФПК	5–100 нг/г	12.5–250 нг/г	Молоко, мышечная ткань; ЖЖЭ 36.8–98.0	[114]
3 АГ	ВЭЖХ-ИРС, Synergis C18 (250 мм × 4.6 мм, 5 мкм)	Вода + 0.2% ТФА – АЦН (9/1)	3.0–5.2 мкг/кг	–	Рыба; ТФЭ, 82.1–96.7	[115]
10 АГ	ВЭЖХ-МС/МС, Kinetex HILIC (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент 150 мМ АА + 1% МК – АЦН	2.3–14.7 мкг/кг	4.2–49 мкг/кг	Молоко и молочная продукция; МИ-ТФЭ, 70.0–106.0	[116]
11 АГ	ВЭЖХ-МС/МС, ZIC-HILIC (50 × 2.1 мм, 3.5 мкм)	Градиент 175 мМ ФА + 0.3% МК – метанол + 0.3% МК	2–30 мкг/кг	7–100 мкг/кг	Мед, молоко, свинина; МИ-ТФЭ, 78.2–94.8	[117]
3 АГ	ВЭЖХ-МС/МС, Click Xion-C18 (3.0 × 150 мм, 5 мкм)	Градиент АЦН/вода/МК (80/19/1) + 30 мМ ФА – вода/МК (99/1) + 30 мМ ФА	0.913–1.23 мкг/кг	–	Мед; ДТФЭ, 82.9–100.7	[118]
Амфениколы						
Хлорамфеникол	ВЭЖХ-МС/МС, Luna C18 (150 × 4.6 мм, 5 мкм)	Градиент вода – АЦН	0.02 мкг/г	0.04–0.09 мкг/г	Мед, рыба, креветки; ЖЖЭ; 85.5–115.6	[119]
3 АФ	ВЭЖХ-ДМД, Perfectsil-120 ODS-2 (250 × 4 мм, 5 мкм)	АЦН/0.05 АА (25/75)	55.9–58.99 мкг/кг	–	Молоко; волоконная ТФЭ, 44.0–81.4	[120]
4 АФ	ВЭЖХ-МС/МС, Acquity VEN C18 (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент метанол – вода	0.03–0.5 мкг/кг	0.1–2.0 мкг/кг	Курица; ЖЖЭ (субкритическая вода), 86.8–101.5	[121]
3 АФ	ВЭЖХ-УФ, ODS-AP (4.6 × 250 мм, 5 мкм), λ = 224–277 нм	АЦН/вода (30/70)	0.08–0.16 мкг/кг	0.27–0.5 мкг/кг	Вода, кровь, яйца; магнитная МИ-ТФЭ, 88.3–99.1	[122]
Хлорамфеникол	ВЭЖХ-УФ, PerfectSil ODS-2 (250 × 4.0 мм, 5 мкм), ВЭЖХ-МС, λ = 280 нм	АЦН/вода (30/70) Метанол/вода (40/60)	17 мкг/кг 0.1 мкг/кг	50 мкг/кг 0.3 мкг/кг	Молоко; МИ-ТФЭ, 85.0–106.0	[123]

Таблица 4. Продолжение

Антибиотик	Метод определения, детектор, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа; степень извлечения, %	Литература
Флорфеникол	ВЭЖХ-МС/МС, XBridge VEN C18 XR (100 × 2.1 мм, 2.5 мкм)	АЦН/вода (20/80)	0.98 мкг/кг	3.2 мкг/кг	Курица; ДТФЭ, ~94.6	[124]
Гликопептиды						
5 ГП	ВЭЖХ-МС/МС, VEN-C18 (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	–	≥ 0.33 мкг/кг	1 мкг/кг	Яйца, курица, молоко; ЖЖЭ + ТФЭ-очистка, 83.0–102.0	[125]
3 ГП	ВЭЖХ-АД, циано-капиллярная колонка (50 × 375 мкм, 3 мкм)	Градиент 0.1% МК – АЦН	1.0–8.0 мкг/л	–	Корма; ЖЖЭ + капиллярная микроэкстракция, 80.0–120.0	[126]
3 ГП	ВЭЖХ-МС, GOLD C18 (150 × 2.1 мм, 5 мкм)	Градиент 0.1% МК – АЦН	5.02–10 мкг/л	–	Корма, свинина; ЖЖЭ + капиллярная микроэкстракция, 76.0–109.7	[127]
2 ГП	ВЭЖХ-МС/МС, Phenomenex Kinetex Biphenyl (50 × 2.1 мм, 5 мкм)	Градиент 0.1% МК + АЦН – 0.1% МК	0.5 мкг/кг	1 мкг/кг	Молоко; МИ-ТФЭ, 83.3–92.1	[128]
Диаминопиримидины						
3 ДП	ВЭЖХ-МС/МС, Eclipse Plus C18 (3.0 × 100 мм, 1.8 мкм)	Изократическое элюирование 0.2% МК/метанол (80/20)	20 мкг/кг	40 мкг/кг	Корма; ЖЖЭ, фильтрация, 74.4–105.2	[129]
Ионофоры						
5 ИФ	ВЭЖХ-МС/МС, Zorbax Eclipse XDB-C8 (3 × 150 мм, 3.5 мкм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% МК + АЦН	–	0.01–1.0 мкг/кг	Молочная продукция; ЖЖЭ + ТФЭ-очистка, 86.8–111.2	[130]
20 кокси-диостатиков, в т.ч. 7 ИФ	УВЭЖХ-МС/МС, Acquity VEN C8 (2.1 × 50 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% МК + метанол	–	0.13–0.42 мг/кг	Мышечная ткань; ЖЖЭ + фильтрация, 80.0–125.0; Молоко; QuEChERS, 84.0–120.0	[131]
4 ИФ	ВЭЖХ-МС/МС, Hypersil Gold (2.1 × 150 мм, 5 мкм)	Градиент 0.1% МК + 1 мМ АА – АЦН + 0.1% МК	0.01–0.3 мкг/кг	0.4–1 мкг/кг	Молоко, мышечная ткань, яйца, печень; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка 68.2–113.8	[132]

Таблица 4. Продолжение

Антибиотик	Метод определения, детектор, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа; пробоподготовка, степень извлечения, %	Литература
5 ИФ	ВЭЖХ-МС/МС, ACQUITY UPLC VEN HILIC (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент АЦН – 1 мМ ФА + 0.1% МК	0.004–0.56 мкг/кг	0.021–0.13 мкг/кг	Мышечная ткань, яйца; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, 92.0–114.0	[133]
6 ИФ	ВЭЖХ-МС/МС, C18 Phenomenex Luna (100 × 2 мм, 3 мкм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% МК + метанол	0.004–0.07 мкг/кг	–	Печень, молоко, курица, говядина, почки, яйца, жир; ЖЖЭ (СПМР), ДТФЭ, 71.0–112.0	[134]
Линкозамиды						
Линкомицин	ВЭЖХ-УФ, ODSA C18 (4.6 × 150 мм, 5 мкм), λ = 208 нм	Градиент фосфатный буферный раствор (рН 6) – АЦН	0.02 мкг/мл	0.08 мкг/мл	Молоко; МИ-ТФЭ, 80.0–89.0	[135]
Макролиды						
Натамицин	ВЭЖХ-ДМД, Kromasil ODS (C18) (150 × 3.2 мм, 5 мкм), λ = 304 нм	Градиент АЦН – вода	0.01 мкг/мл	0.05 мкг/мл	Сыр, сосиски; ЖЖЭ, фильтрация, 90.3 ± 11.4, 92.4 ± 6.5	[136]
6 МЛ	ВЭЖХ-УФ, SunFire™ C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 210 нм	Градиент АЦН – 25 мМ КН ₂ РO ₄ (рН 3)	0.015–0.075 мкг/кг	0.075–0.5 мкг/кг	Свинина, рыба, креветки; МИ-ТФЭ, >89.1	[137]
Азитромицин	ВЭЖХ-МС/МС, Ecosil C8-SH (250 × 4.6 мм, 5 мкм)	Градиент АЦН – 0.1% МК	0.03 мкг/кг	0.1 мкг/кг	Свинина; МИ-ТФЭ, 85.8–96.5	[138]
7 МЛ	ВЭЖХ-МС/МС, XCharger-C18 (100 × 2.1 мм, 5 мкм)	Градиент 0.2% МК + АЦН – 0.2% МК	0.003–0.017 мкг/кг	0.012–0.057 мкг/кг	Мед; МИ-ТФЭ, 88.0–117.0	[139]
11 МЛ	УВЭЖХ-МС/МС, Acquity CSH C18 (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.2% МК – 0.2% МК + АЦН	0.1–2.0 мкг/кг	2.0–5.0 мкг/кг	Мышечная ткань, печень, почки, жир, яйца; ДТФЭ, 83.5–111.4	[140]
Нитроимидазолы						
9 НИ и 3 метаболита	ВЭЖХ-МС/МС, C18 Zorbax Eclipse Plus (50 × 2.1 мм, 1.8 мкм)	Градиент 0.1% МК – метанол	0.04–0.11 мкг/кг	0.11–2.79 мкг/кг	Икра; ЖЖЭ с добавлением высаливателей, ≥68.9	[113]

Таблица 4. Продолжение

Антибиотик	Метод определения, детектор, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа; пробоподготовка, степень извлечения, %	Литература
3 НИ и 2 метаболита	ВЭЖХ-МС/МС, Eclipse C18 HPLC (150 × 4.6 мм, 3 мкм)	Градиент МК – АЦН	0.08–0.25 мкг/кг	–	Мышечная ткань КРС; ЖЖЭ, фильтрация, –	[141]
4 НИ и 3 метаболита	ВЭЖХ-МС/МС, Kinetex XB (150 × 2.1 мм, 2.6 мкм)	Градиент 0.1% МК + АЦН – 0.1% МК	–	<3 мкг/кг	Молоко; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, 96.6–105.2	[142]
8 НИ и 3 метаболита	ВЭЖХ-УФ, Zorbax XDB-C18 (150 мм × 0.5 мм, 5 мкм)	Градиент вода – АЦН	0.9–3.2 мкг/кг	–	Аквакультура; МИ-ТФЭ, >67.0	[143]
3 НИ	ВЭЖХ-ДРР, Kinetex® C18 100 Å (250 × 4.60 мм, 5 мкм)	АЦН, фосфатный буферный раствор рН 3	0.013–0.27 мкг/мл	–	Мед; ТФЭ, 96.8–102.2	[144]
Нитрофураны и их метаболиты						
4 метаболита НФ	УВЭЖХ-МС/МС, Kinetex C18 (50 × 2.1 мм, 2.6 мкм)	Градиент метанол – 10 мМ ФА	0.5–0.8 мкг/кг	1 мкг/кг	Морепродукты; гидролиз, дериватизация, ТФЭ, фильтрация, 73.0–103.0	[145]
Семикарбазид	ВЭЖХ-УФ, BDS HYPERSIL C18 (4.6 × 150 мм, 5 мкм)	Градиент метанол – 25 мМ фосфатный буферный раствор	0.59 нг/мл	50 нг/мл	Рыба; МИ-ТФЭ, дериватизация, 96.2–105.1	[146]
4 метаболита НФ	УВЭЖХ-МС/МС, Eclipse Plus C18 (2.1 × 50 мм, 5 мкм)	Градиент 0.04% МК + АЦН/вода (1/99) – АЦН/вода (99/1)	–	0.4 мкг/кг	Рыба; гидролиз, дериватизация, 55.0–75.8	[147]
2 НФ и 4 метаболита	УВЭЖХ-МС/МС, Atlantis C18 (150 × 2.1 мм, 5 мкм)	Градиент 10 мМ АА + АЦН + гидроксид аммония – АЦН	0.01–0.2 мкг/кг	0.04–0.5 мкг/кг	Моллюски и рыба; гидролиз, дериватизация, ЖЖЭ (все процедуры без доступа света), 91.6–107.3	[148]
4 метаболита НФ	ВЭЖХ-МС/МС, ACCLAIM 120C18 (2.1 × 100 мм, 3 мкм)	Градиент 0.5% МК – 0.5% МК + АЦН/метанол (50/50)	0.1–0.3 мкг/кг	0.3–1.0 мкг/кг	Мед; гидролиз, дериватизация, магнитная ТФЭ, >85.0	[149]

Таблица 4. Продолжение

Антибиотик	Метод определения, детектор, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа; степень извлечения, %	Литература
5 метаболитов НФ	ВЭЖХ-МС/МС, Symmetry C18 (100 × 2.1 мм, 3.5 мкм)	Градиент 2 мМ АА + 0.01% УК – метанол	0.1–0.2 мкг/кг	–	Мясо и аквакультура; гидролиз, дериватизация, ЖЖЭ, фильтрация, 86.5–108.2	[150]
Полипептиды						
7 ПП	УВЭЖХ-МС/МС, Poroshell 120 (100 × 2.1 мм, 2.7 мкм)	Градиент 0.1% МК – метанол	9–22 мкг/мкг	30–74 мкг/кг	Мышечная ткань курицы; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, 41.0–52.0 (эффективность экстракции)	[151]
5 ПП	ВЭЖХ-МС/МС, Hypersil GOLD C18 (100 × 2.1 мм, 5 мкм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% муравьиная кислота + АЦН	–	25 мкг/кг	Корма; ДТФЭ, 75.9–87.9	[152]
Колистин Б	УВЭЖХ-МС/МС, Hypersil GOLD C18 (100 × 2.1 мм, 1.9 мкм)	Градиент 1% МК – 1% МК + АЦН	–	5–10 мкг/кг	Мышечная ткань курицы, яйца; ЖЖЭ, фильтрация, 70.0–107.0	[153]
Плевромутилины						
Вальнемулин	УВЭЖХ-МС/МС, Acquity VEN C18 (50 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.1% вода – 0.1% АЦН	0.2 мкг/кг	1.0 мкг/кг	Мышечная ткань, печень, почки КРС и свиней; ТФЭ, 93.4–104.3	[112]
Вальнемулин	ВЭЖХ-УФ, Diamonsil TM C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 210 нм	Градиент фосфатный буферный раствор (рН 2.5) – АЦН	0.1 мг/кг	0.25 мг/кг	Свинина; МИ-ТФЭ, 80.5–94.8	[154]
Сульфаниламиды						
17 СА и 4 их метаболита	ВЭЖХ-МС/МС, ZORBAX Eclipse AAA (150 × 4.6 мм, 3.5 мкм)	Градиент 0.02% МК – 0.02% МК + АЦН	–	≤7.5 нг/г	Свинина, курица, рыба, Мед, молоко; ЖЖЭ, ДТФЭ, фильтрация, 71.0–109.0	[155]

Таблица 4. Продолжение

Антибиотик	Метод определения, детектор, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа; степень извлечения, %	Литература
22 СА	ВЭЖХ-МС/МС, Shim-pack XR-ODS II (100 × 2 мм, 2.2 мкм)	Градиент 0.01% МК – 0.01% МК + АЦН	0.004–0.028 нг/г	0.013–0.099 нг/г	Курица; дисперсионная МИ-ТФЭ, 85.0–112.2	[156]
5 СА	ВЭЖХ-УФ, ZORBAX SB-C18 (150 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 272 нм	АЦН + 0.5% УК	0.71–0.98 нг/г	–	Яйца, Мед; ЖЖЭ, мини-ТФЭ, 75.3–105.2	[157]
9 СА	ВЭЖХ-МС, ZORBAX C18 (50 × 2.1 мм, 3.5 мкм)	Градиент 0.5% УК + 5% метанол – метанол	5.04–6.59 мкг/кг	–	Мед; гидролиз, ТФЭ, 89.0–118.0	[158]
27 СА и метаболитов	УВЭЖХ-МС-ВР, Huregisil Gold aQ C18 (100 × 2.1 мм, 1.9 мкм)	Градиент вода + МК + 4 мМ ФА – метанол + МК + 4 мМ ФА	0.07–2.33 мкг/кг	–	Рыба; онлайн-ТФЭ, 83.0–109.0	[159]
5 СА	ВЭЖХ-УФ, Ultimate AQ-C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 270 нм	АЦН/вода (30/70)	0.32–1.7 нг/мл	–	Курица, свинина, рыба, печень; ТФЭ, 76.0–102.0	[160]
8 СА	ВЭЖХ-МС-ВР, Poroshell 120 HILIC (150 × 3 мм, 2.7 мкм)	Градиент 20 мМ ФА + метанол – АЦН	§	5.0–20.0 мкг/кг	Детская смесь; преципитация, ДТФЭ, 72.9–109.2	[161]
4 СА	ВЭЖХ-УФ, C18 (4.6 × 150 мм, 5 мкм), λ = 270 нм	Вода/АЦН (75/25)	0.11–2.24 мкг/кг	0.37–7.47 мкг/кг	Молоко, мясо; магнитная ДТФЭ, 77.2–118.0	[162]
18 СА	УВЭЖХ-МС/МС, Phenomenex Torgance F5 (50 × 3.0 мм, 2.6 мкм)	Градиент 0.1% МК – АЦН + 0.1% МК	1.46–15.5 нг/кг	4.9–51.6 нг/кг	Рыба, креветки, крабы; онлайн-ТФЭ, 71.5–102.0	[163]
10 СА	ВЭЖХ-МС/МС, Phenomenex Kinetex C18 LC (100 × 3.0 мм, 2.6 мкм)	Градиент АЦН – вода	0.31–2.3 нг/л	1.0–7.6 нг/л	Мед, природные воды; микро-ТФЭ, 83.5–119.0	[164]
4 СА	ВЭЖХ-УФ, C18 column (4.6 × 150 мм, 5.0 мкм), λ = 270 нм	Градиент 0.2% УК – АЦН	2.5–5.0 мкг/кг	5.0–10.0 мкг/кг	Молоко; магнитная ДТФЭ, 83.0–99.2	[165]

Таблица 4. Продолжение

Антибиотик	Метод определения, детектор, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа; пробоподготовка, степень извлечения, %	Литература
2 СА	ВЭЖХ-УФ, —	—	0.9–1.3 нг/мл	3.0 нг/мл	Молоко; магнитная МИ-ТФЭ, >90.0	[166]
Тетрациклины						
4 ТЦ	ВЭЖХ-МС/МС, Symmetry C18 (150 × 2.1 мм, 3.5 мкм)	Градиент 0.05% УК – 0.05% УК + АЦН	5.45–9.24 мкг/кг	—	Мед; гидролиз, фильтрация, ТФЭ, фильтрация, 83.5–109.7	[167]
7 ТЦ	ВЭЖХ-УФ, ZORBAX SB-C18 (150 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 355 нм	Градиент метанол/АЦН/0.01 М ШЦ	5.0–10.0 мкг/кг	10.0–15.0 мкг/кг	Яйца, рыба, креветки; ASE, 75.6–103.5	[168]
5 ТЦ	УВЭЖХ-МС/МС, Zorbax RRHD Eclipse Plus C18 (2.1 × 50 мм, 1.8 мкм)	Градиент 0.05% МК – метанол	0.05–0.14 мкг/кг	0.16–0.48 мкг/кг	Детское питание; ЖЖЭ, 89.2–96.8	[169]
4 ТЦ	ВЭЖХ-УФ, VP-ODS C18 (150 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 350 нм	Метанол/АЦН/0.01 М ШЦ	1.02–1.21 мкг/л	3.56–4.32 мкг/л	Молоко; магнитная МИ-ТФЭ, 84.1–95.8	[170]
Тетрациклин	ВЭЖХ-ДМД, Luna Omega C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 276 нм, λ = 358 нм	Изократическое элюирование рН 4.0 оксалатный буферный раствор/ метанол/АЦН (70/10/20)	9.56–21.11 нг/мл	28.8 нг/мл – 1.01 мкг/мл	Молоко, печень, куриное мясо; ЖЖЭ, фильтрация, 93.9–104.8	[171]
4 ТЦ	ВЭЖХ-УФ, ZORBAX SB-C18 (4.6 × 150 мм, 5 мкм), λ = 360 нм	Градиент 0.01 М ШЦ – АЦН/метанол (1/1)	8.0–16.8 мкг/кг	22.6–55.9 мкг/кг	Молоко, яйца, куриная печень; ТФЭ, 81.3–98.7	[172]
3 ТЦ	ВЭЖХ-ФДД, C18 (250 × 4.6 мм, 3.5 мкм)	0.05 М ШЦ/АЦН/метанол (70/20/10)	0.015–0.062 мкг/г	0.125–0.175 мкг/г	Морепродукты; преципитация, ЖЖЭ, фильтрация, 95.0–105.0	[173]
4 ТЦ	ВЭЖХ-МС/МС, ACQUITY UPLC® HSS T3 (1.0 × 150 мм, 1.8 мкм)	0.4% МК/АЦН (72/28)	0.073–0.435 нг/г	0.239–1.449 нг/г	Мед; ДТФЭ, 88.1–126.2	[174]
Хинолоны						
2 ХН и 2 метаболита	ВЭЖХ-МС/МС, Hypersil ODS (150 × 4.6 мм, 5 мкм)	Градиент 1% УК – метанол + 1% УК	0.12–0.41 мкг/кг	—	Мышечная ткань и печень КРС и свиней; гидролиз, ТФЭ, 92.0–101.0, 60.0–62.0 (метаболиты)	[175]

Таблица 4. Продолжение

Антибиотик	Метод определения, детектор, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа; пробоподготовка, степень извлечения, %	Литература
2 ХН и 11 метаболитов	УВЭЖХ-МС/МС, Acquity VEN C18 (50 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.1% МК – АЦН + градиент 0.1% МК	0.05–5.2 мкг/кг	0.15–16.0 мкг/кг	Курица, свинина; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, 69.1–113.3	[176]
2 ХН	ВЭЖХ-МС/МС, Lichrospher C18 (3 × 250 мм, 5 мкм)	Градиент метанол – АЦН – вода	9.0–80.0 мкг/кг	12.0–110.0 мкг/кг	Корма для кур и свиней; ЖЖЭ, ДТФЭ-очистка, 99.41–104.62	[177]
3-Метил-хиноксалин-2-карбоновая кислота	ВЭЖХ-УФ, Zorbax Eclipse XDB C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 320 нм	0.1% МК/АЦН (40/60)	1.0–3.0 мкг/кг	4.0–10.0 мкг/кг	Съедобные ткани животных; УЗ-ЖЭ, ТФЭ, 80.1–87.7	[178]
Метил-3-хиноксалин-2-карбоновая кислота	УВЭЖХ-МС/МС, VEN C18 (2.1 × 50 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.1% МК – метанол	0.2 мкг/кг	0.5 мкг/кг	Ткани животных; гидролиз, ЖЖЭ, иммуноаффинная колоночная ТФЭ, 90.2–103.5	[179]
Хинолоны и фторхинолоны						
6 ХЛ	ВЭЖХ-ФЛД, Kinetex C18 (150 × 4.6 мм, 2.6 мкм), λ = 280–297/450–507 нм	Градиент 0.01 М ШК рН 4.0 – АЦН	–	0.08–0.13	Корма для животных; ЖЖЭ, 80.0–105.0	[180]
6 ХЛ	ВЭЖХ-ДМД, Zorbax SB-C18 (150 × 0.5 мм, 5 мкм), λ = 250–300 нм, ВЭЖХ-МС	Градиент АЦН – 5 мМ ФА	6.0–30.0 мкг/кг, 2.4–6.0 мкг/кг	22.0–110.0 мкг/кг, 8.0–20.0 мкг/кг	Молоко; депротеинизация, фильтрация, 64.0–96.0	[181]
7 ХЛ	ВЭЖХ-УФ, Perfectsil ODS-2 (250 × 4 мм, 5 мкм), λ = 255–275 нм	Градиент 0.1% ТФК – АЦН – метанол	1.9–11.6 мкг/кг	5.7–35.0 мкг/кг	Рыба; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, 95.7–102.7	[182]
9 ХЛ	ВЭЖХ-ФЛД, Zorbax Eclipse XDB C18 (150 × 3 мм, 5 мкм), λ = 280–312/360–450 нм	Градиент 0.1% МК – АЦН – метанол	3–50 мкг/кг	7.5–100.0 мкг/кг	Яйца, молоко, рыба, мясо, почки; ЖЖЭ, ТФЭ-очистка, 77.0–120.0	[183]
9 ХЛ	ВЭЖХ-МС/МС, XTerra C18 (100 × 2.1 мм, 3.5 мкм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% МК + АЦН	5 мкг/кг	10 мкг/кг	Говядина, свинина, курица, рыба; ЖЖЭ, низкотемпературная очистка, 79.0–115.0	[184]
Флумеквин	ВЭЖХ-ФЛД, монолитная колонка, λ = 325/360 нм	Метанол/0.01 М Н ₃ Р ₄ (65/35)	<0.32 нг/г	–	Рыба; МИ-ТФЭ, >95.2	[185]

Таблица 4. Продолжение

Антибиотик	Метод определения, детектор, колонка	Подвижная фаза	Предел обнаружения	Предел определения	Объект анализа; пробоподготовка, степень извлечения, %	Литература
β-Лактамы						
3 БЛ	ВЭЖХ-УФ, XbridgeTM C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 215 нм	Изократическое элюирование фосфатный буферный раствор (рН 6.6)/АЦН (75/25)	1.0–2.0 нг/мл	3.0–7.0 нг/мл	Говядина и молоко; ЖЖЭ, >85.0	[186]
3 БЛ	ВЭЖХ-МС/МС, Ultimate XB-C18 (100 × 2.1 мм, 5 мкм)	Градиент 0.1% МК – 0.1% МК + АЦН	0.06–0.09 нг/мл	0.23–0.26 нг/мл	Молоко; магнитная ТФЭ, 87.55–88.38	[187]
Бензилпенициллин	УВЭЖХ-МС/МС, UPLC BEH C18, 100 × 2.1 мм, 1.7 мкм	Градиент вода/АЦН (95/5) + 0.3% УК – АЦН/вода (95/5) + 0.3% УК	6.2–14.4 мкг/кг	12.3–28.8 мкг/кг	Мясо; МИ-ТФЭ, 94.63–108.2	[188]
22 БЛ	ВЭЖХ-МС/МС, ZOR-BAH Eclipse XDB-C18 (150 × 4.6 мм, 5 мкм)	Градиент 0.1% УК – 0.1% УК + АЦН	0.04–3.0 мкг/л	0.06–10.0 мкг/л	Свинина; ЖЖЭ, фильграфия, 83.6–113.0	[189]
15 БЛ	УВЭЖХ-МС/МС, ACQUITY UPLC HSS T3 C18 (2.1 × 100 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.01% МК – 0.01% МК + АЦН	0.02–0.63 мкг/кг	0.07–0.7 мкг/кг	Свинина; ДТФЭ, 92.0–111.0	[190]
15 БЛ	УВЭЖХ-МС/МС, Kinetex Biphenyl Core-Shell (50 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент 0.05% УК – метанол	0.02–2.7 мкг/кг	<9.0 мкг/кг	Детская молочная продукция; ЖЖЭ, 79.0–93.0	[191]
Клоксациллин	ВЭЖХ-УФ, Kromasil ODS (150 × 4.6 мм, 5 мкм), λ = 225 нм	АЦН + ацетатный буферный раствор (рН 6)	0.03 мкг/г	0.1 мкг/г	Креветки; МИ-ТФЭ, 76.0–84.3	[192]
5 БЛ	УВЭЖХ-МС/МС, AcquityTM BEH Shield C18 (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	Градиент 50 мМ ФА – метанол	0.03–0.2 мкг/кг	0.17–0.68 мкг/кг	Молоко; микро-ДТФЭ, 87.0–107.0	[193]
Цефтиофур	ВЭЖХ-УФ, МИ-ТФЭ колонка (4.6 × 150 мм), λ = 292 нм	АЦН/0.2% УК (30/70)	0.0015 мг/л	0.005 мг/л	Молоко, курица, свинина, говядина; МИ-ТФЭ, 91.9–106.8	[194]

Обозначения: АА – ацетат аммония; АГ – аминокислоты; АЦН – ацетонитрил; ВЭЖХ-АД – высокоэффективная жидкостная хроматография с амперометрическим детектированием; ГП – гликопептиды; ДРР – детектор рассеяния Рэлея; ЖЖЭ – жидкостно-жидкостная экстракция; ИРС – испарительный детектор рассеяния света; ИФ – ионофоры; МК – муравьиная кислота; НФПК – наонафторпентановая кислота; ПП – полипептиды; СПМР – супрамолекулярные растворители; УК – уксусная кислота; ФА – формилат аммония; ХН – хинокальцин; ЦК – шавелевая кислота

Таблица 5. Пробоподготовка QuEChERS при определении остаточных количеств антибиотиков

Антибиотик	Матрица	Степень извлечения, %	Метод определения, детектор, колонка	Предел обнаружения	Предел определения	Литература
6 ХЛ и хлорамфеникол	Мясо, рыба, корма, яйца, молоко	62.0–100.0	ВЭЖХ-ДМД, XTerra RP18 (150 × 3.9 мм, 3 мкм)	0.002–0.04 мг/кг	0.008–0.12 мг/кг	[199]
7 СА, 8 ХЛ, 4 ТЦ	Мясо	19.0–29.0	ВЭЖХ-МС/МС, Symmetry C18 (75 × 4.6 мм, 3.5 мкм)	–	25–50 мкг/кг	[200]
8 ХЛ	Продукты пчеловодства	40.0–100.0	УВЭЖХ-МС/МС, Zorbax Eclipse Plus C18 (50 × 2.1 мм, 1.8 мкм)	0.2–4.1 мкг/г	0.8–13 мкг/г	[201]
31 препарат, в т.ч. ХЛ, ПЦ, СА, ДП, ТЦ, МЛ	Рыба садкового содержания	69.0–125.0	УВЭЖХ-МС/МС, Acquity UPLC VEN C18 (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	7.5–15.0 мкг/кг	25–50 мкг/кг	[202]
Более 50 препаратов, в т.ч. АГ, ХЛ, ИФ, ПЦ, МЛ, АФ, СА, ТЦ	Молоко, мед	50.0–120.0	УВЭЖХ-МС-ВП, Acquity UPLC VEN C18, (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	<1 мкг/кг	–	[203]
20 препаратов, в т.ч. ХЛ, СА, МЛ, ДП	Курица	65.6–120.0	УВЭЖХ-МС/МС, Acquity UPLC VEN C18, (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	3.0–6.0 мкг/кг	10.0–20.0 мкг/кг	[204]
20 запрещенных препаратов, в т.ч. ХН	Корма	56.7–103.0	ВЭЖХ-МС/МС, Zorbax SB-Aq C18 (150 × 2.1 мм, 3.5 мкм)	5.70–9.81 мкг/кг	–	[205]
55 препаратов, в т.ч. ХЛ, СА, МЛ	Мышечная ткань (КРС и МРС)	70.0–120.0	ВЭЖХ-МС/МС, ZORBAX SB-C18	–	0.1–18.4 мкг/кг	[206]
22 СА	Съедобные ткани животных	88.0–112.0	ВЭЖХ-МС-ВР, Zorbax Eclipse XDB-C8 (2.1 × 100 мм, 3.5 мкм)	3–26 мкг/кг	11–88 мкг/кг	[207]
50 препаратов, в т.ч. МЛ, ХЛ, СА, ТЦ	Сыр	70.0–120.0	ВЭЖХ-МС/МС, ZORBAX-SB-C18	–	0.05–20.0 мкг/кг	[208]

Таблица 5. Продолжение

Антибиотик	Матрица	Степень извлечения, %	Метод определения, детектор, колонка	Предел обнаружения	Предел определения	Литература
90 препаратов, в т.ч. ЛА, МЛ, СА, ХЛ, ТЦ, БЛ, НИ, НФ	Молоко	72.62–122.2	УВЭЖХ-МС-ВП, ВЕН С18 (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	0.03–5.20 мкг/кг	0.1–17.3 мкг/кг	[209]
492 загрязнителя, в т.ч. АГ, АФ, ИФ, ЛА, МЛ, ХЛ, ХН и метаболиты, НИ, СА, ТЦ, БЛ, НФ и метаболиты, ПМ, ПП	Молоко, мясо, яйца, рыба, корма и зерно, овощи, фрукты	–	ВЭЖХ-МС-ВР, Acclaim 120 C18 (150 × 2.1 мм, 2.2 мкм)	0.002–50.0 нг/мл	0.006–250.0 нг/мл	[210]
90 препаратов, в т.ч. ЛА, МЛ, СА, ХЛ, ТЦ, БЛ, НИ и НФ	Маточное молочко	70.21–121.0	УВЭЖХ-МС/МС, ACQUITY® UPLC ВЕН С18 (100 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	0.13–6.0 мкг/кг	0.21–20.0 мкг/кг	[211]
4 метаболита НФ, 2 НИ	Мед	90.96–104.80	ВЭЖХ-МС/МС, ZORBAX Eclipse XDB C-18 (4.6 × 150 мм, 5 мкм)	0.21–1.27 мкг/кг	–	[212]
8 СА	Курица, яйца	65.9–88.1	ВЭЖХ-ФЛД, постколоночная дериватизация, λ = 240/350 нм	4.1–19.9 мкг/кг	14–85 мкг/кг	[213]
23 антибиотика, в т.ч. МЛ, ТЦ, СА, НИ, ДП, АФ	Морепродукты	28.0–71.0	УВЭЖХ-МС/МС, Acquity HSS T3 (50 × 2.1 мм, 1.8 мкм)	0.01–0.31 нг/г	0.02–1.03 нг/г	[214]
26 препаратов, в т.ч. НИ	Мышечная ткань КРС	84.3–111.6	УВЭЖХ-МС/МС, Acquity UPLC® ВЕН С18 (50 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	0.007–66.715 мкг/кг	0.011–113.674 мкг/кг	[215]
11 СА и 5 метаболитов	Детское питание	60.9–85.9	УВЭЖХ-МС-ВР, Hypersil Gold aQ (100 × 2.1 мм, 1.9 мкм)	0.03–0.17 мкг/кг	0.10–0.55 мкг/кг	[216]

Таблица 5. Окончание

Антибиотик	Матрица	Степень извлечения, %	Метод определения, детектор, колонка	Предел обнаружения	Предел определения	Литература
5 ТЦ	Рыба	>80.0	УВЭЖХ-МС/МС, Zorbax Eclipse plus RRHD (50 × 2.1 мм, 1.8 мкм)	0.5–1.2 мкг/кг	1.7–4.4 мкг/кг	[217]
13 препаратов, в т.ч. ПЦ, АФ, СА, ДП	Молоко	62.0–125.0	ВЭЖХ-МС/МС, XTerra C18 (50 × 3 мм, 3.5 мкм)	0.3–16.6 мкг/кг	1.0–50.0 мкг/кг	[218]
13 пестицидов, 13 микотоксинов и 48 антибиотиков в т.ч. СА, БЛ, МЛ, НИ, ЛА, АФ	Яйца	60.5–114.6	УВЭЖХ-МС/МС, Shim-pack XR-ODS III (150 × 2.0 мм, 2.2 мкм)	–	0.1–17.3 мкг/кг	[219]
238 пестицидов и 78 препаратов, в т.ч. ПЦ, ХЛ, ТЦ, МЛ, НИ, БЛ, СА, АФ, ИФ	Молоко	70.0–120.0	УБЖХ-МС/МС, Atlantis T3 (100 × 2.1 мм, 5 мкм), ГХ-МС/МС, HP-5 MS (30 м × 250 мкм, 0.25 мкм)	–	0.02–25.0 нг/г	[220]
26 препаратов, в т.ч. СА, ХЛ, ТЦ, МЛ, ЛА, НФ, НИ, АФ	Морепродукты	56.0–108.0 (<19.0 для ТЦ)	УВЭЖХ-МС/МС, Hypersil Gold C18 (100 × 2.1 мм, 1.9 мкм)	0.002–3.00 мкг/кг	–	[221]
30 микотоксинов и 24 фарм. активные субстанции, в т.ч. ЦС, ИФ, СА, ХЛ	Молоко	79.0–86.0	УВЭЖХ-МС-ВР, Luna Omega (50 × 2.1 мм, 1.6 мкм)	–	0.01–0.5 нг/мл	[222]
65 пестицидов, 41 препарат, в т.ч. СА, БЛ, МЛ, ЛА, ХЛ	Рыба	56.0–115.0	УВЭЖХ-МС/МС, Eclipse Plus C18 (2.1 × 100 мм, 1.8 мкм)	–	0.02–3.7 мкг/кг	[223]
2 ГП	Рыба	86.7–98.6	УВЭЖХ-МС/МС, C18 (50 × 2.1 мм, 1.7 мкм)	0.51 мкг/кг	1.73 мкг/кг	[224]

Обозначения: АГ – аминокликозиды; АФ – амфениколы; БЛ – β-лактамы; ГП – гликопептиды; ДП – диаминопиримидины; ИФ – ионофоры; ЛА – линкозамиды; МЛ – макролиды; НИ – нитроимидазолы; НФ – нитрофураны; ПМ – плевромулины; ПП – полипептиды; ПЦ – пенициллины; СА – сульфаниламиды; ТЦ – тетрациклины; ХЛ – хинолоны; ХН – хиноксалины; ЦС – цефалоспорины; ЭДМК – этилендиметакрилат

та. Остаток повторно растворяли в смеси вода–ацетонитрил–муравьиная кислота (88 : 10 : 2), фильтровали и анализировали методом УВЭЖХ-МС/МС. Степени извлечения антибиотиков составили 40.0–100.0%, пределы обнаружения 0.2–4.1 мкг/кг, пределы определения 0.8–13 мкг/кг. Предложена высокочувствительная УВЭЖХ-МС/МС-методика определения гликопептидов ванкомицина и норванкомицина в рыбе [224]. В работе использовали сорбент из катионообменной смолы (степень извлечения составила 86.7–98.6%) и 96-луночный планшет для реализации способа пробоподготовки QuEChERS. Предел обнаружения – 0.51 мкг/кг, предел определения – 1.73 мкг/кг.

Разработана методика определения 23 сульфаниламидов и их метаболитов (сульфагуанидина, сульфациетамида, дапсона, сульфадиазина, сульфисомидина, сульфатиазола, сульфациридина, сульфамеразина, сульфаметра (сульфаметоксидиазина), сульфаметизола, сульфаметазина, сульфаметоксипиридазина, сульфаклоропиридазина, сульфаметоксазола, сульфамонетоксина, сульфадоксина, сульфисоксазола, сульфабензамида, сульфафеназола, сульфадиметоксина, сульфахиноксалина, сульфаклозина и сульфанитрана) в тканях животных, которая включает экстракцию метанолом с уксусной кислотой, добавление буферизирующих солей, очистку экстракта первичными вторичными аминами (QuEChERS) и фильтрацию [207]. Степени извлечения антибиотиков составили 88.0–112.0%. Последующие идентификацию, подтверждение и количественный анализ проводили методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием высокого разрешения (ВЭЖХ-МС-ВР) на колонке с фазой C₈ (размер частиц 3.5 мкм). Предел обнаружения 3.0–26.0 мкг/кг. Оптимизированная методика успешно применена к анализу 30 образцов тканей животных. Сульфаниламиды обнаружены в восьми образцах.

Простая, селективная, экспрессная и многокомпонентная УВЭЖХ-МС/МС-методика разработана для определения 32 остатков лекарственных препаратов, применяемых в ветеринарии, в том числе антибиотиков пяти разных классов, в рыбе садкового содержания [202]. Степени извлечения варьировались от 69.0 до 125.0%. Относительное стандартное отклонение – 20–30%. Пределы обнаружения составили 7.5–15.0 мкг/кг, пределы определения – 25–50 мкг/кг.

Методика, совмещающая пробоподготовку QuEChERS и времяпролетную (ВП) УВЭЖХ-МС, разработана для определения 90 препаратов 20 различных классов (включая антибиотики: линкозамиды, макролиды, сульфаниламиды, хинолоны, тетрациклины, β-лактамы, нитроимидазолы, нитрофураны) в молоке [209]. Экстракцию

проводили 1%-ной уксусной кислотой в ацетонитриле с добавлением буферизирующих солей с последующей очисткой экстракта насыпными сорбентами. Упаривали в токе азота досуха. Остаток повторно растворяли в 25%-ном ацетонитриле. Восстановленный экстракт фильтровали через мембранный фильтр в микрофлаконе и хроматографировали. Эта методика обеспечила пределы обнаружения в диапазоне 0.03–5.20 мкг/кг. Степени извлечения антибиотиков в зависимости от матрицы составили от 72.62 до 122.20%.

Разработан способ одновременного ВЭЖХ-МС/МС-определения 65 пестицидов и 41 препарата в лососе [223]. В работе адаптирован официальный метод АОАС 2007.01 определения пестицидов в жировых матрицах. В качестве привычных для QuEChERS насыпных сорбентов использовали их улучшенные варианты для очистки липидов. Сульфациридин, как и в других подобных исследованиях, показал низкую степень извлечения. Наиболее полярные соединения, включая и сульфациридин, оставались в водной фазе и не переходили в ацетонитрильную, для остальных степень извлечения составила 70.0–120.0%. Пределы определения находились в диапазоне 0.02–3.7 мкг/кг.

Методики, описанные в табл. 5, зачастую характеризуются низкими степенями извлечения антибиотиков из мяса [200] и морепродуктов [214], высокими пределами обнаружения и определения аналитов в мясе [200, 204, 207, 213], рыбе [202] и яйцах [213]. Кроме того, эти способы не всегда дают возможность совместного определения антибиотиков различных классов [201], а также не являются универсальными для нескольких типов матриц [200, 202]. При этом метод QuEChERS продолжает развиваться, и не стоит забывать, что появляются более современные материалы и для решения перечисленных проблем исследуются возможности использования различных сочетаний растворителей, буферизирующих солей и новых сорбентов [198]. Например, при одновременном ВЭЖХ-МС/МС-определении в молоке 57 препаратов для ветеринарного применения (в том числе сульфаниламидов, хинолонов, макролидов, нитроимидазолов, амфениколов) экстракт очищали с использованием меламина губки [225]. Хитозан из отходов панцирей креветок предложен в качестве сорбента при одновременном определении в молоке остаточных содержаний 13 препаратов, включая амоксициллин, кларитромицин, хлорамфеникол, эритромицин, пенициллин G, сульфадиазин, сульфаметазин, сульфаметоксазол и триметоприм с пределом определения 1.0–50.0 мкг/кг и степенью извлечения 62.0–125.0% [218]. Хитозан обеспечивает хорошее извлечение аналитов, снижает матричный эффект, при этом является нетоксичным, возобновляемым биополимером и более дешевой и

экологичной альтернативой традиционным сорбентам. Таким образом, востребованность и перспективность дальнейшего использования QuEChERS в рутинном анализе продуктов питания и продовольственного сырья сохраняется.

Методы ЖЭ и ТФЭ эффективны для концентрирования аналитов и подавления матричных эффектов, но большой расход токсичных органических растворителей является их основным недостатком. “Зеленая химия” предлагает варианты их замены на более экологичные, такие как субкритическая вода и сверхкритический диоксид углерода, супрамолекулярные растворители (СПМР), ионные жидкости (ИЖ) и глубокие эвтектические растворители (ГЭР) [10]. СПМР – фаза, обогащенная наноструктурным поверхностно-активным веществом (ПАВ), образующаяся путем последовательной самосборки на нано- и молекулярном уровнях. В зависимости от типа, состояния и концентрации ПАВ могут быть получены водные неионные, ионные и смешанные, а также обратные мицеллы и везикулы (пузырьки).

Ионные жидкости представляют собой соли, состоящие из органических катионов и органических или неорганических анионов, которые остаются жидкими при температуре ниже 100°C (и даже при комнатной) [10]. Ионные жидкости считаются экологически чистыми растворителями из-за низкого давления пара, нелетучести, настраиваемой кислотности/основности, гидрофобности/гидрофильности, (их называют “дизайнерскими растворителями” в связи с возможностью изменять физические и химические свойства, выбирая катионы и анионы).

Применению СПМР для извлечения антибиотиков из пищевых продуктов посвящено несколько исследований, хотя с момента их внедрения прошло много времени. Везикулярный супрамолекулярный растворитель (смесь катионного ПАВ с добавлением для коацервации NaCl) использовали для извлечения тетрациклиновых антибиотиков из образцов молока, яиц и меда, при этом образцы молока и яиц депротеинизировали и обезжиривали добавлением ацетонитрила и трифторуксусной кислоты, а образцы меда просто разбавляли водой и фильтровали [226]. Достигнуты высокий коэффициент предварительного концентрирования (48–198) и низкие пределы обнаружения (0.7–3.4 мкг/л). Сочетание СПМР (индуцирован добавлением воды к коллоидной системе гексанол–тетрагидрофуран) и дисперсионной ТФЭ обеспечило хорошее извлечение ионофоров из образцов яиц, молока, жира, печени, почек и мышечной ткани (71.0–112.0%) без дополнительных процедур, а пределы обнаружения находились в диапазоне 0.004–0.07 мкг/кг [227].

Функционализированные адсорбенты с иммобилизованными на поверхности магнитных

твердых материалов ИЖ использованы в магнитной ТФЭ, но в основном при определении антибиотиков в природных водах [228]. Глубокие эвтектические растворители более успешно применяются в анализе продуктов питания. Предложено несколько методов с их использованием на стадии пробоподготовки при определении пенициллина G, стрептомицина и эритромицина в прополисе [229], окситетрациклина, пенициллина G и тилмикозина в колбасных изделиях [230], гамбургерах и печени КРС [231].

Таким образом, хотя ИЖ считаются “зелеными растворителями”, процедура синтеза, устойчивость к биоразложению и, более того, токсичность многих из них, противоречат концепции “зеленой химии”. А вот СПМР и ГЭР обладают уникальными свойствами и могут быть идеальной заменой обычным органическим растворителям.

Методы определения антибиотиков в пищевых продуктах. Для определения остаточных количеств антибиотиков в пищевых продуктах животного происхождения предложен ряд методов, в том числе микробиологические [232], иммуноферментный анализ [233], тонкослойная хроматография [234], капиллярный электрофорез [235], газовая хромато-масс-спектрометрия (ГХ-МС) [236], ВЭЖХ и ВЭЖХ-МС (табл. 1–5). Методы ГХ не получили широкого распространения, несмотря на то что они очень чувствительны и специфичны. Сложность их использования заключается в необходимости предварительной дериватизации для подготовки летучего соединения перед ГХ-анализом. Методы капиллярного электрофореза имеют ряд преимуществ перед ВЭЖХ: малый объем органического растворителя в рабочем буферном растворе, короткое время разделения, высокая эффективность разделения. Однако капиллярный электрофорез ограниченно применим для определения остаточных количеств препаратов, так как некоторые из них не могут быть разделены, поскольку являются незаряженными или незначительно отличающимися по электрофоретической подвижности. ВЭЖХ стала наиболее широко используемым методом для определения остаточных количеств антибиотиков.

При определении *аминогликозидов* чаще всего для подготовки образцов используют ТФЭ [115–117], являющуюся наиболее эффективным способом очистки и концентрирования экстрактов, но требующую относительно больших затрат времени. Жидкостно-жидкостная экстракция (ЖЖЭ) в данном случае дает слишком низкую степень извлечения аналитов (36.8–98.0%) [114], поскольку молекулы аминогликозидов достаточно крупные, с двумя и более аминсахарами, связанными с центральной гексозой/пентозой гликозидными

связями. Они крайне высокополярны из-за наличия нескольких амино- и многочисленных гидроксильных групп, поэтому их определение в рамках многокомпонентного анализа проблематично — резко отличаются физико-химические свойства, а соответственно и необходимые условия пробоподготовки [84]. Определение следовых количеств аминокликозидов одновременно с другими группами антибиотиков методом обращенно-фазовой (ОФ) ВЭЖХ-МС/МС практически невозможно — они не задерживаются на ОФ-колонках и имеют асимметричную форму пика из-за сильных ионных взаимодействий с остаточными группами силанолов на поверхности неподвижной фазы. Единственный способ добиться разделения в данном случае — это добавление агентов для ионного сопряжения, например фторированных кислот, или дериватизация, но в случае сочетания с МС-детектированием использование ион-парных реагентов приводит к загрязнению источника. Среди методов определения аминокликозидов наиболее распространена ВЭЖХ-МС/МС (табл. 4). В предложенных методиках одновременного определения аминокликозидов и других препаратов (табл. 3) проблема разделения решается использованием ион-парных реагентов, например гептафтормасляной кислоты, добавляемой в подвижную фазу, либо применением гидрофильного разделения (HILIC) [84].

Для определения остаточных количеств *амфениколов* в настоящее время используют два основных метода пробоподготовки: жидкостную [119, 121, 140, 236] и твердофазную экстракцию [120, 124], а в последнее время МИ-ТФЭ [122, 123]. Наиболее подходящими экстрагентами являются этилацетат, ацетонитрил, гексан и хлороформ. Остаточные содержания амфениколов часто определяют методами жидкостной хроматографии с УФ- [122] и ДМД-детектированием [120] (табл. 4), хотя также используют ГХ с электронно-захватным детектированием и ГХ-МС [236]. Максимум поглощения хлорамфеникола 278 нм, тогда как тиамфеникола и флорфеникола он лежит в диапазоне 225–230 нм. Однако чувствительности данных методов не хватает для достижения необходимых пределов определения амфениколов в связи с их низкими максимально допустимыми уровнями (МДУ), поэтому в данном случае необходимо использование ВЭЖХ-МС/МС [119, 121].

Ограниченное количество методик по сравнению с другими группами антибиотиков предложено для определения *гликопептидов* в пищевых продуктах и кормах для животных [125–128], в том числе совместно с другими циклопептидами [100], а также в сыворотке и плазме крови [237]. Пробоподготовка в основном предполагает жидкостную экстракцию в сочетании с ТФЭ, кроме того, для очистки предложена капилляр-

ная микроэкстракция (полимерная монолитная колонка) [126, 127]. Гликопептиды запрещены для использования в ветеринарии на территории ЕС, США, Китая, однако в связи с их высокой эффективностью они нелегально используются в качестве кормовых добавок для лечения бактериальных инфекций животных и обнаруживаются в продукции животноводства [100, 128, 224].

Диаминопиримидины, а чаще всего триметоприм, определяют в растительной и животноводческой продукции, а также в сточных и природных водах в основном совместно с другими антибиотиками методом ВЭЖХ-МС/МС [51, 79, 88, 94, 238]. Они являются потенциаторами сульфаниламидов и используются в комбинированных препаратах. Предложена методика определения диаверидина, триметоприма и орметоприма в кормах [129].

Ионофорные антибиотики широко используются в ветеринарии для борьбы с кокцидиозами. В продукции животноводства их в основном определяют методом ВЭЖХ-МС/МС после жидкостной экстракции и ТФЭ-очистки; разработанные методики отличаются высокой чувствительностью: предел обнаружения на уровне сотых долей мкг/кг, а в самых поздних работах — тысячных [130–134]. Совершенствование предлагаемых методик связано с модификацией пробоподготовки: от трудоемкой жидкостной экстракции, дополненной стадией ТФЭ-очистки, а в некоторых случаях еще и обезжириванием образца и испарением растворителя, до простой в исполнении и высокоэффективной СПМР-ЖЖЭ в сочетании с ДТФЭ [231].

Основными представителями группы *линкозамидов* являются линкомицин — природный антибиотик — и клиндамицин — его полусинтетический аналог [239]. Однако их индивидуальное определение в пищевой продукции хроматографическими методами ограничено в последнее десятилетие лишь несколькими работами, в том числе с использованием на стадии пробоподготовки МИ-полимеров для ТФЭ [135]. В основном же предложены многокомпонентные методики их определения совместно с макролидами [74] и представителями других групп (табл. 1, 3, 5).

При определении *макролидов* преобладают методики ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС/МС (табл. 4). Макролиды и линкозамиды являются липофильными соединениями. Как правило, для их извлечения из образцов пищевой продукции используют различные варианты ТФЭ, хотя в последнее время при их определении большое внимание уделяют ДЖЖМЭ, позволяющей добиться высокого концентрирования аналитов при минимальных затратах растворителей и времени [1]. Для совместного определения с другими препаратами в основном

предложены ВЭЖХ- и УВЭЖХ-МС/МС, в том числе высокого разрешения (табл. 1, 3, 5).

Для определения *нитроимидазолов* одновременно с сульфаниламидами, фторхинолонами, тетрациклинами, макролидами, нитрофуранами и другими антибиотиками предложено несколько УВЭЖХ-МС/МС-методик с пробоподготовкой QuEChERS [209, 211, 214, 219]. В большинстве же случаев используют либо жидкостно-жидкостную экстракцию либо ее сочетание с последующей ТФЭ-очисткой [87, 90, 102, 104, 105]. При групповом определении нитроимидазолов наиболее распространена ТФЭ с последующим ВЭЖХ-УФ- и ВЭЖХ-МС/МС-определением [113, 143, 144].

Нитрофураны быстро трансформируются, образуя канцерогенные и мутагенные метаболиты 3-амино-5-морфолинометил-1,3-оксазолидинон (АМОЗ), 3-амино-2-оксазолидинон (АОЗ), 1-аминогидантоин (АГД) и семикарбазид (СЕМ), сохраняющиеся в органах и тканях от нескольких недель до нескольких месяцев, в связи с чем нитрофураны запрещены к применению в животноводстве многих стран [145]. Метаболиты, ковалентно связанные с белками, сложно разрушить, поэтому пробоподготовка для их определения является одной из самых сложных и многостадийных и в основном предполагает гидролиз и дериватизацию [145, 147, 150, 240]. В случае нитрофуранов методик для определения исходных соединений крайне мало в связи с их быстрой метаболизацией. Дериватизация необходима при использовании жидкостной хроматографии, так как гидролизованные метаболиты нитрофуранов высокополярны, слабо удерживаются на обращенно-фазовых колонках и обладают плохими ионизационными характеристиками [147]. При ВЭЖХ-МС/МС-определении нитрофуранов и их метаболитов в большинстве случаев используют изотопно-меченные стандарты, что позволяет учесть влияние матрицы и обеспечить необходимую специфичность и правильность анализа. Использование МИ-ТФЭ позволяет миновать стадию гидролиза при определении метаболитов нитрофуранов и при этом обеспечить хорошее извлечение аналита (>96%), но стадия дериватизации сохраняется и в случае использования ВЭЖХ-УФ [146].

В работе [149] в качестве дериватирующего агента предложен 5-нитро-2-фуральдегид. АОЗ, АМОЗ, АГД и СЕМ взаимодействуют с этим альдегидом, образуя исходные нитрофураны, что существенно ускоряет анализ и снижает его стоимость, поскольку позволяет выбрать условия пробоподготовки и определения с использованием доступных и недорогих стандартов нитрофуранов. Разработано ограниченное количество методик определения нитрофуранов и их метаболитов

одновременно с другими группами препаратов [80, 97, 209, 211, 221], что связано с необходимостью гидролиза и дериватизации образцов, которое может привести к разрушению остальных аналитов. Возможны и альтернативные пути попадания метаболитов нитрофуранов в продукты питания. В случае СЕМ не до конца изучен вопрос его естественного образования в организме живых животных, а также в результате разложения азодикарбонамида, используемого в качестве вспенивающего агента при производстве прокладок для крышек пищевых банок. В связи с этим возможно обнаружение его фоновых концентраций, но исследований в этой области недостаточно [240].

Пенициллины и цефалоспорины относятся к β -лактамам антибиотикам, уникальной структурной особенностью которых является наличие четырехчленного β -лактамного (2-азетидинового) кольца [241]. Они довольно полярны, объемны и умеренно чувствительными к нагреванию [242]. β -Лактамы, как правило, демонстрируют значительно меньшую по сравнению с другими антибиотиками стабильность в условиях пробоподготовки. Органические растворители и кислоты гидролизуют β -лактамное кольцо и приводят к образованию неактивной формы, что усложняет их определение [242]. Для решения этой проблемы используют дериватизацию. Результаты показали, что дериватизация пиперидином снижает деградацию пенициллинов и повышает точность и анализа. В связи с этими особенностями наиболее частыми методами определения пенициллинов и цефалоспоринов в пищевой продукции являются ВЭЖХ-УФ [154, 186, 192, 194], ВЭЖХ-МС/МС [187, 189] и УВЭЖХ-МС/МС [190, 191, 193]. Для повышения степени извлечения и селективности используют ионные жидкости [186, 193], а также широко представлена МИ-ТФЭ [192, 194].

Бацитрацин, колистин и вирджиниамицин относятся к группе *полипептидных антибиотиков*, их часто добавляют в корма для животных в качестве стимуляторов роста [116]. Хотя бацитрацин и вирджиниамицин запрещены для применения в продуктивном животноводстве ЕС, они разрешены в Китае [100]. С 2016 г. правительство Китая запретило использовать колистин в связи с появлением колистин-резистентных штаммов бактерий, однако при этом Китай – лидирующий производитель и экспортер колистина во Вьетнам, Индию и Южную Корею [153]. Для определения полипептидов предложены ВЭЖХ- и УВЭЖХ-МС/МС-методики [151–153].

Всего несколько работ за последнее десятилетие посвящено индивидуальному определению *плевромутилинов* [112, 154], хотя они широко используются в ветеринарии, в том числе в качестве

стимуляторов роста. Большинство методик применяют для их одновременного определения с фторхинолонами, сульфаниламидами, макролидами, линкозамидами, тетрациклинами и β -лактамами [18, 34, 85, 101, 109].

Сульфаниламиды – самая обширная группа антибиотиков, для определения которых предложено очень большое количество методик (табл. 4). Методы ВЭЖХ с УФ-, ФЛД- и МС-детектированием успешно применяют при определении сульфаниламидов в продуктах животного происхождения и кормах, однако среди разработанных преобладают ВЭЖХ-УФ-методики. В качестве пробоподготовки широко используется ТФЭ, в том числе магнитная и дисперсионная. Сульфаниламиды положительно заряжены в кислой среде при $\text{pH} < 2$, нейтральны при $\text{pH} 3\text{--}5$ и отрицательно заряжены при $\text{pH} > 5$. Легко извлекаются молекулярные формы сульфаниламидов, поэтому важно поддерживать определенное значение pH при экстракции [158]. Для извлечения сульфаниламидов из мяса, рыбы, меда используют ацетонитрил, метанол, этилацетат или дихлорметан, а также супрамолекулярные растворители на основе обратных мицелл [243]. Стадия кислотного гидролиза требуется, как правило, при их определении в образцах пищевых продуктов богатых сахарами, таких как мед [242]. При определении сульфаниламидов с помощью ВЭЖХ-ФЛД необходимым этапом подготовки является дериватизация [69, 213], что также неизбежно ведет к усложнению анализа. Предложено большое количество методик определения сульфаниламидов одновременно с другими антибактериальными препаратами (табл. 3). ВЭЖХ-МС/МС широко применяется как в групповом, так и в многокомпонентном анализе.

Тетрациклины обладают высокой хелатирующей способностью по отношению к ионам переходных и щелочноземельных металлов, поэтому использование солей ЭДТА с буфером Макилвейна (или без него) повышает эффективность экстракции [242]. Экстракция тетрациклинов улучшается в кислых средах с добавлением трихлоруксусной, муравьиной и щавелевой кислот, подкисленного метанола и при увеличении времени встряхивания [242]. Кроме того, в своей структуре они содержат несколько хромофорных групп и интенсивно поглощают свет в ультрафиолетовой области между 270 и 360 нм как в кислой, так и в нейтральной среде. Чаще всего при определении тетрациклинов используют ВЭЖХ. ВЭЖХ-УФ является официальным методом АОАС для определения остаточного содержания тетрациклинов в молоке и тканях свиней и КРС, и большинство методик, разработанных в последние 10 лет, основано именно на его применении (табл. 4). ВЭЖХ-МС/МС-методики в основ-

ном предложены для одновременного определения тетрациклинов и других антибиотиков (табл. 3).

Хиноксалины используют в качестве стимуляторов роста, в организме животных они очень быстро трансформируются. В 1998 г. в ЕС отозваны лицензии на карбадокс и олаквиндокс в связи с возможным канцерогенным, мутагенным и фотоаллергенным действием препаратов и их дезоксиметаболитов [241]. Карбадокс быстро метаболизируется через моно- и дезоксисоединения до хиноксалин-2-карбоновой кислоты (**ХКК**), которая длительно сохраняется в тканях и поэтому является маркером для карбадокса. Путь метаболизма олаквиндокса аналогичен, при этом образуется 3-метилхиноксалин-2-карбоновая кислота, структура которой схожа с ХКК. Для определения в кормах для животных карбадокса (запрещенного в ЕС, Китае и Японии) и олаквиндокса (запрещенного в ЕС) [241] разработана ВЭЖХ-МС/МС-методика с экстракцией смесью вода–ацетонитрил (1 : 1) и последующей очисткой экстракта С18 [177]. Определение метаболитов, как правило, сложнее, чем исходных соединений. Наиболее эффективны в данном случае ВЭЖХ-МС/МС [175] и УВЭЖХ-МС/МС [176, 179] (табл. 4). Пробоподготовка для большинства разработанных методик – ЖЖЭ с последующей ТФЭ-очисткой. ВЭЖХ-МС/МС предложена для одновременного определения хиноксалинов с другими препаратами [87, 107], при этом использовали УЗ-ЖЭ с последующей ТФЭ и экстракцию под давлением (табл. 3).

Хинолоны широко используют в ветеринарии и аквакультуре. Они имеют амфотерную природу, поскольку содержат и кислотные, и основные группы [242], нестабильны в сильно кислой среде. Хинолоны хорошо растворимы в полярных органических растворителях, поэтому в большинстве случаев проводят общую экстракцию растворителем с последующей ТФЭ-очисткой [183, 242]. Как правило, хинолоны в пищевой матрице связаны с белками, и необходима депротенизация во время подготовки образца [181]. При экстракции используют ацетонитрил, поскольку он демонстрирует высокую эффективность осаждения белков [183]. Большинство методов позволяют проводить одновременное определение только нескольких хинолонов, а при использовании ВЭЖХ с УФ- и ФЛД-детектированием зачастую требуется сложная пробоподготовка, сочетающая ЖЖЭ и ТФЭ [182, 183]. Процедуры перед хроматографическим анализом предполагают использование больших количеств органических растворителей, трудоемки и финансово затратны. ВЭЖХ-МС/МС применяется преимущественно при одновременном определении в пищевых продуктах хинолонов и других антибиотиков (табл. 3).

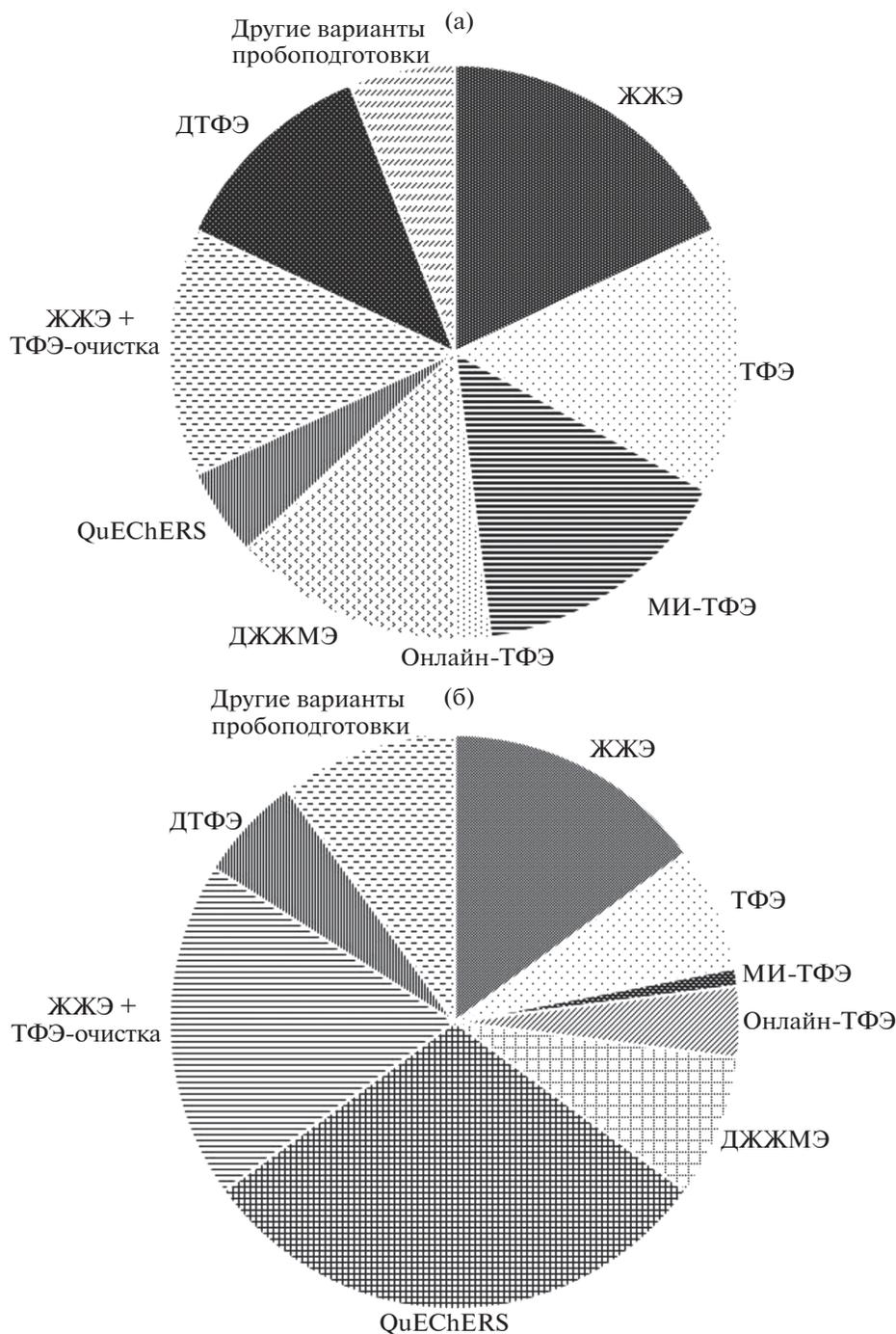


Рис. 1. Доли (%) применяемых способов пробоподготовки при определении остаточных количеств антибиотиков в объектах окружающей среды и продуктах питания. Индивидуальное и групповое определение (а) и многокомпонентный анализ (б).

Методики одновременного определения антибиотиков, включая метаболиты, представляют наибольший интерес в случае мониторинга остаточных содержаний препаратов в пищевой продукции и продовольственном сырье [88, 244]. Разнообразие и количество органических загряз-

нителей в объектах окружающей среды и продуктах питания неуклонно растет, и в этом контексте разработка УВЭЖХ-методик позволяет сократить продолжительность анализа, а при совмещении с МС/МС разработать простые, недорогие методики, характеризующиеся высокой точностью [245]. Принимая во внимание различия в

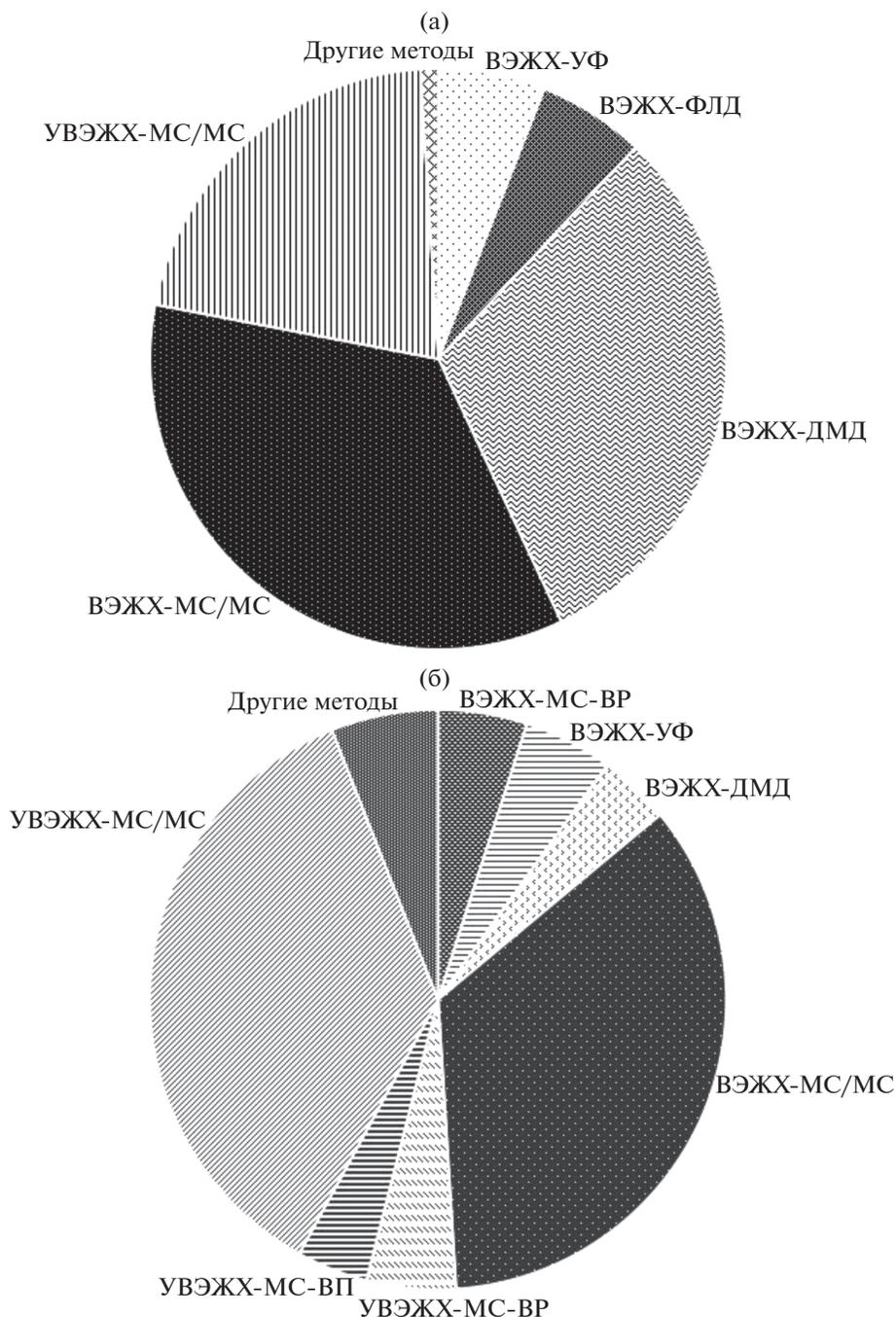


Рис. 2. Распространенность (%) методов определения антибиотиков в объектах окружающей среды и продуктах питания на основе различных вариантов ВЭЖХ. Индивидуальное и групповое определение (а) и многокомпонентный анализ (б).

физико-химических свойствах, необходимо использовать общие условия экстракции, хроматографического разделения и обнаружения. Твердофазная экстракция и QuEChERS – наиболее распространенные подходы к пробоподготовке в многокомпонентном анализе [244]. Анализ литературы за последнее десятилетие позволил проследить основные тенденции в определении оста-

точных количеств антибиотиков в объектах окружающей среды и пищевых продуктах. В пробоподготовке для индивидуального и группового анализа лидируют ЖЖЭ (18%), ТФЭ (15%) и МИ-ТФЭ (15%), однако не менее востребованы ЖЖЭ с ТФЭ-очисткой, ДЖЖМЭ и ДТФЭ (14, 13 и 12% соответственно) (рис. 1а). Разработано наибольшее количество ВЭЖХ-МС/МС- и ВЭ-

ЖХ-ДМД-методик (35 и 31%) (рис. 2а). При одновременном определении препаратов разных групп в пробоподготовке преобладают QuEChERS (30%), ЖЖЭ в сочетании с последующей ТФЭ-очисткой (19%) и ЖЖЭ (15%) (рис. 1б), предложено больше УВЭЖХ- и ВЭЖХ-МС/МС-методик (36 и 35%) (рис. 2б). Выбор методов пробоподготовки и определения антибиотиков обусловлен, во-первых, особенностями их физико-химических свойств: большинство соединений полярны и гидрофильны, некоторые группы неустойчивы в агрессивных средах или быстро метаболизируются, поэтому предпочтительны ЖЖЭ и ТФЭ (в различных вариантах исполнения) с последующим использованием ВЭЖХ. Во-вторых, имеет значение сложность матриц и необходимость одновременного многокомпонентного анализа: данные задачи предполагают универсальность пробоподготовки (QuEChERS) и высокую специфичность метода (ВЭЖХ- и УВЭЖХ-МС/МС). В-третьих, следует учитывать необходимость определения остаточных содержаний антибактериальных препаратов на уровне МДУ, значения которых могут быть крайне низкими: для решения данной проблемы требуются высокочувствительные методы в основном с масс-спектрометрическим детектированием, в том числе МС-ВР.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hu C., Zhang Y., Zhou Y., Liu Z.F., Meng Q., Feng X.S. A review of pretreatment and analysis of macrolides in food (Update Since 2010) // *J. Chromatogr. A*. 2020. V. 1634. Article 461662.
- Zhao F., Chen L., Yang L., Li S., Sun L., Yu X. Distribution, dynamics and determinants of antibiotics in soils in a peri-urban area of Yangtze River Delta, Eastern China // *Chemosphere*. 2018. V. 211. P. 261.
- Cycon M., Mrozik A., Piotrowska-Seget Z. Antibiotics in the soil environment – Degradation and their impact on microbial activity and diversity // *Front. Microbiol.* 2019. V. 10. Article 338.
- Ronquillo M.G., Hernandez J.C.A. Antibiotic and synthetic growth promoters in animal diets: Review of impact and analytical methods // *Food Control*. 2017. V. 72. Part B. P. 255.
- Conde-Cid M., Ferreira-Coelho G., Núñez-Delgado A., Fernández-Calviño D., Arias-Estévez M., Álvarez-Rodríguez E., Fernández-Sanjurjo M.J. Competitive adsorption of tetracycline, oxytetracycline and chlortetracycline on soils with different pH value and organic matter content // *Environ. Res.* 2019. V. 178. Article 108669.
- Szymańska U., Wiergowski M., Sołtyszewski I., Kuzemko J., Wiergowska G., Woźniak M.K. Presence of antibiotics in the aquatic environment in Europe and their analytical monitoring: Recent trends and perspectives // *Microchem. J.* 2019. V. 147. P. 729.
- Lyu J., Yang L., Zhang L., Ye B., Wang L. Antibiotics in soil and water in China – A systematic review and source analysis // *Environ. Pollut.* 2020. V. 266. Part 1. Article 115147.
- Wegst-Uhrich S., Navarro D., Zimmerman L., Aga D. Assessing antibiotic sorption in soil: A literature review and new case studies on sulfonamides and macrolides // *Chem. Cent. J.* 2014. V. 8. P. 5.
- Leal R.M., Figueira R.F., Tornisielo V.L., Regitano J.B. Occurrence and sorption of fluoroquinolones in poultry litters and soils from São Paulo State, Brazil // *Braz. J. Sci. Total Environ.* 2012. V. 432. P. 344.
- Khataei M.M., Epi S.B.H., Lood R., Spégel S.P., Yamini Y., Turner C. A review of green solvent extraction techniques and their use in antibiotic residue analysis // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2021. V. 209. Article 114487.
- Zheng W.-L., Zhang L.-F., Zhang K.-Y., Wang X.-Y., Xue F.-Q. Determination of tetracyclines and their epimers in agricultural soil fertilized with swine manure by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry // *J. Integr. Agric.* 2012. V. 11. № 7. P. 1189.
- Yu W.-H., Chin T.-S., Lai H.-T. Detection of nitrofurans and their metabolites in pond water and sediments by liquid chromatography (LC)-photodiode array detection and LC-ion spray tandem mass spectrometry // *Int. Biodeterior. Biodegradation*. 2013. V. 85. P. 517.
- Bourdat-Deschamps M., Leang S., Bernet N., Daudin J.-J., Nélieu S. Multi-residue analysis of pharmaceuticals in aqueous environmental samples by online solid-phase extraction–ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry: Optimisation and matrix effects reduction by quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction // *J. Chromatogr. A*. 2014. V. 1349. P. 11.
- Sollic M., Roy-Lachapelle A., Sauvé S. Quantitative performance of liquid chromatography coupled to Q-Exact high resolution mass spectrometry (HRMS) for the analysis of tetracyclines in a complex matrix // *Anal. Chim. Acta*. 2015. V. 853. P. 415.
- Guo C., Wang M., Xiao H., Huai B., Wang F., Pan G., Liao X., Liu Y. Development of a modified QuEChERS method for the determination of veterinary antibiotics in swine manure by liquid chromatography tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B*. 2016. V. 1027. P. 110.
- Lian Z., Wang J. Determination of ciprofloxacin in Jiaozhou Bay using molecularly imprinted solid-phase extraction followed by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection // *Mar. Pollut. Bull.* 2016. V. 111. № 1–2. P. 411.
- Li X., Guo P., Shan Y., Ke Y., Li H., Fu Q., Wang Y., Liu T., Xia X. Determination of 82 veterinary drugs in swine waste lagoon sludge by ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A*. 2017. V. 1499. P. 57.
- Campos-Mañas M.C., Plaza-Bolaños P., Sánchez-Pérez J.A., Malato S., Agüera A. Fast determination of pesticides and other contaminants of emerging concern in treated wastewater using direct injection coupled to highly sensitive ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A*. 2017. V. 1507. P. 84.

19. Pérez R.A., Albero B., Ferriz M., Tadeo J.L. Analysis of macrolide antibiotics in water by magnetic solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2017. V. 146. P. 79.
20. Cai Q., Zhang L., Zhao P., Lun X., Li W., Guo Y., Hou X. A joint experimental-computational investigation: Metal organic framework as a vortex assisted dispersive micro-solid-phase extraction sorbent coupled with UPLC-MS/MS for the simultaneous determination of amphenicols and their metabolite in aquaculture water // *Microchem. J.* 2017. V. 130. P. 263.
21. González-Gaya B., Cherta L., Nozal L., Rico A. An optimized sample treatment method for the determination of antibiotics in seawater, marine sediments and biological samples using LC-TOF/MS // *Sci. Total Environ.* 2018. V. 643. P. 994.
22. Lian L., Lv J., Wang X., Lou D. Magnetic solid–phase extraction of tetracyclines using ferrous oxide coated magnetic silica microspheres from water samples // *J. Chromatogr. A.* 2018. V. 1534. P. 1.
23. Wang Z., Wang X.-Y., Tian H., Wei Q.-H., Liu B.-S., Bao G.-M., Liao M.-L., Peng J.-L., Huang X.-Q., Wang L.-Q. High through-put determination of 28 veterinary antibiotic residues in swine wastewater by one-step dispersive solid phase extraction sample cleanup coupled with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *Chemosphere.* 2019. V. 230. P. 337.
24. Yuan S.-F., Liu Z.-H., Yin H., Dang Z., Wu P.-X., Zhu N.-W., Lin Z. Trace determination of sulfonamide antibiotics and their acetylated metabolites via SPE-LC-MS/MS in wastewater and insights from their occurrence in a municipal wastewater treatment plant // *Sci. Total Environ.* 2019. V. 653. P. 815.
25. Mokhtar H.I., Abdel-Salam R.A., Hadad G.M. Tolerance intervals modeling for design space of a salt assisted liquid-liquid microextraction of trimethoprim and six common sulfonamide antibiotics in environmental water samples // *J. Chromatogr. A.* 2019. V. 1586. P. 18.
26. Liang Y., Liu J., Zhong Q., Yu D., Yao J., Huang T., Zhu M., Zhou T. A fully automatic cross used solid-phase extraction online coupled with ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry system for the trace analysis of multi-class pharmaceuticals in water samples // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2019. V. 174. P. 330.
27. Wang J., Xu J., Ji X., Wu H., Yang H., Zhang H., Zhang X., Li Z., Ni X., Qian M. Determination of veterinary drug/pesticide residues in livestock and poultry excrement using selective accelerated solvent extraction and magnetic material purification combined with ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2020. V. 1617. Article 460808.
28. Rashid A., Mazhar S.H., Zeng Q., Kiki C., Yu C.-P., Sun Q. Simultaneous analysis of multiclass antibiotic residues in complex environmental matrices by liquid chromatography with tandem quadrupole mass spectrometry // *J. Chromatogr. B.* 2020. V. 1145. Article 122103.
29. Mahmoudian M.H., Fazlzadeh M., Niari M.H., Azari A., Lima E.C. A novel silica supported chitosan/glutaraldehyde as an efficient sorbent in solid phase extraction coupling with HPLC for the determination of Penicillin G from water and wastewater samples // *Arab. J. Chem.* 2020. V. 13. № 9. P. 7147.
30. Duan R., Sun L., Yang H.-Y., Ma Y.-R., Deng X.-Y., Peng C., Zheng C., Dong L.-Y., Wang X.-H. Preparation of phenyl–boronic acid polymeric monolith by initiator-free ring-opening polymerization for microextraction of sulfonamides prior to their determination by ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2020. V. 1609. Article 460510.
31. Lu D., Liu C., Qin M., Deng J., Shi G., Zhou T. Functionalized ionic liquids-supported metal organic frameworks for dispersive solid phase extraction of sulfonamide antibiotics in water samples // *Anal. Chim. Acta.* 2020. V. 1133. P. 88.
32. Zhang Y., Duan L., Wang B., Liu C.S., Jia Y., Zhai N., Blaney L., Yu G. Efficient multiresidue determination method for 168 pharmaceuticals and metabolites: Optimization and application to raw wastewater, wastewater effluent, and surface water in Beijing, China // *Environ. Pollut.* 2020. V. 261. Article 114113.
33. Yu R., Chen L., Shen R., Li P., Shi N. Quantification of ultratrace levels of fluoroquinolones in wastewater by molecularly imprinted solid phase extraction and liquid chromatography triple quadrupole mass // *Environ. Technol. Innov.* 2020. V. 19. Article 100919.
34. Goessens T., Huysman S., De Troyer N., Deknock A., Goethals P., Lens L., Vanhaecke L., Croubels S. Multi-class analysis of 46 antimicrobial drug residues in pond water using UHPLC-Orbitrap-HRMS and application to freshwater ponds in Flanders, Belgium // *Talanta.* 2020. V. 220. Article 121326.
35. Da Cunha C.C.R.F., Freitas M.G., da Silva Rodrigues D.A., de Barros A.L.C., Ribeiro M.C., Sanson A.L., de Cássia Franco Afonso R.J. Low-temperature partitioning extraction followed by liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of multiclass antibiotics in solid and soluble wastewater fractions // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1650. Article 462256.
36. Senta I., Terzic S., Ahel M. Analysis and occurrence of macrolide residues in stream sediments and underlying alluvial aquifer downstream from a pharmaceutical plant // *Environ. Pollut.* 2021. V. 273. Article 116433.
37. Martínez-Piernas A.B., Plaza-Bolaños P., Gilabert A., Agüera A. Application of a fast and sensitive method for the determination of contaminants of emerging concern in wastewater using a quick, easy, cheap, effective, rugged and safe-based extraction and liquid chromatography coupled to mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1653. Article 462396.
38. Ofrydopoulou A., Nannou C., Evgenidou E., Lambropoulou D. Sample preparation optimization by central composite design for multi class determination of 172 emerging contaminants in wastewaters and tap water using liquid chromatography high-resolution mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1652. Article 462369.
39. Sereshti H., Karami F., Nouri N. A green dispersive liquid-liquid microextraction based on deep eutectic sol-

- vents doped with β -cyclodextrin: Application for determination of tetracyclines in water samples // *Microchem. J.* 2021. V. 163. Article 105914.
40. Zhao G., Ouyang X.-K., Yang L.-Y., Jin M.-C. Facile fabrication of surface molecularly imprinted magnetic polydopamine for selective adsorption of fluoroquinolone from aqueous solutions // *J. Mol. Struct.* 2021. V. 1243. Article 130894.
 41. Białk-Bielińska A., Kumirska J., Borecka M., Caban M., Paszkiewicz M., Pazdro K., Stepnowski P. Selected analytical challenges in the determination of pharmaceuticals in drinking/marine waters and soil/sediment samples // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2016. V. 121. P. 271.
 42. Rykowska I., Ziemlińska J., Nowak I. Modern approaches in dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) based on ionic liquids: A review // *J. Mol. Liq.* 2018. V. 259. P. 319.
 43. Mousavi L., Tamiji Z., Khoshayand M.R. Applications and opportunities of experimental design for the dispersive liquid-liquid microextraction method – A review // *Talanta.* 2018. V. 190. P. 335.
 44. Yao T., Du K. Simultaneous determination of sulfonamides in milk: In-situ magnetic ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC // *Food Chem.* 2020. V. 331. Article 127342.
 45. Shishov A., Gorbunov A., Baranovskii E., Bulatov A. Microextraction of sulfonamides from chicken meat samples in three-component deep eutectic solvent // *Microchem. J.* 2020. V. 158. Article 105274.
 46. Pochivalov A., Cherkashina K., Shishov A., Bulatov A. Microextraction of sulfonamides from milk samples based on hydrophobic deep eutectic solvent formation by pH adjusting // *J. Mol. Liq.* 2021. V. 339. Article 116827.
 47. Gao J., Wang H., Qu J., Wang H., Wang X. Development and optimization of a naphthoic acid-based ionic liquid as a “non-organic solvent microextraction” for the determination of tetracycline antibiotics in milk and chicken eggs // *Food Chem.* 2017. V. 215. P. 138.
 48. Moema D., Nindi M.M., Dube S. Development of a dispersive liquid-liquid microextraction method for the determination of fluoroquinolones in chicken liver by high performance liquid chromatography // *Anal. Chim. Acta.* 2012. V. 730. P. 80.
 49. Herrera-Herrera A.V., Hernández-Borges J., Borges-Miquel T.M., Rodríguez-Delgado M.Á. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with ultra-high performance liquid chromatography for the simultaneous determination of 25 sulfonamide and quinolone antibiotics in water samples // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2013. V. 75. P. 130.
 50. Gao S., Yang X., Yu W., Liu Z., Zhang H. Ultrasound-assisted ionic liquid/ionic liquid-dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of sulfonamides in infant formula milk powder using high-performance liquid chromatography // *Talanta.* 2012. V. 99. P. 875.
 51. Teglia C.M., Gonzalo L., M.J. Culzoni, Goicoechea H.C. Determination of six veterinary pharmaceuticals in egg by liquid chromatography: Chemometric optimization of a novel air assisted-dispersive liquid-liquid microextraction by solid floating organic drop// *Food Chem.* 2019. V. 273. P. 194.
 52. Parrilla Vázquez M.M., Parrilla Vázquez P., Martínez Galera M., Gil García M.D. Determination of eight fluoroquinolones in groundwater samples with ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction prior to high-performance liquid chromatography and fluorescence detection // *Anal. Chim. Acta.* 2012. V. 748. P. 20.
 53. Karami-Osboo R., Shojaee M.H., Miri R., Kobarfard F., Javidnia K. Simultaneous determination of six fluoroquinolones by validated QuEChERS-DLLME HPLC-FLD in milk // *Anal. Methods.* 2014. V. 6. № 15. P. 1.
 54. Dorival-García N., Junza A., Zafra-Gómez A., Barrón D., Ballesteros O., Barbosa J., Navalón A. Multiclass method for the determination of quinolones and β -lactams, in raw cow milk using dispersive liquid-liquid microextraction and ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2014. V. 1356. P. 10.
 55. Mookantsa S.O., Dube S., Nindi M.M. Development and application of a dispersive liquid-liquid microextraction method for the determination of tetracyclines in beef by liquid chromatography mass spectrometry // *Talanta.* 2016. V. 148. P. 321.
 56. Huang P., Zhao P., Dai X., Hou X., Zhao L., Liang N. Trace determination of antibacterial pharmaceuticals in fishes by microwave-assisted extraction and solid-phase purification combined with dispersive liquid-liquid microextraction followed by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B.* 2016. V. 1011. P. 136.
 57. Sereshti H., Jazani S.S., Nouri N., Shams G. Dispersive liquid-liquid microextraction based on hydrophobic deep eutectic solvents: Application for tetracyclines monitoring in milk // *Microchem. J.* 2020. V. 158. Article 105269.
 58. Liang N., Huang P., Hou X., Li Z., Tao L., Zhao L. Solid-phase extraction in combination with dispersive liquid-liquid microextraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis: The ultra-trace determination of 10 antibiotics in water samples// *Anal. Bioanal. Chem.* 2016. V. 408. № 6. P. 1701
 59. Крылов В.А., Волкова В.В., Савельева О.А. Микроэкстракционное концентрирование примесей из воды с ультразвуковым диспергированием экстрагента // *Аналитика и контроль.* 2013. Т. 17. № 1. С. 82.
 60. Bottoni P., Caroli S. Presence of residues and metabolites of pharmaceuticals in environmental compartments, food commodities and workplaces: A review spanning the three-year period 2014–2016 // *Microchem. J.* 2018. V. 136. P. 2.
 61. Conde-Cid M., Núñez-Delgado A., Fernández-Sanjurjo M.J., Álvarez-Rodríguez E., Fernández-Calviño D., Arias-Estévez M. Tetracycline and sulfonamide antibiotics in soils: Presence, fate and environmental risks // *Processes.* 2020. V. 8. № 11. Article 1479.
 62. Ho Y.B., Zakaria M.P., Latif P.A., Saari N. Simultaneous determination of veterinary antibiotics and hormone in broiler manure, soil and manure compost by

- liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A*. 2012. V. 1262. P. 160.
63. *Mehrtens A., Licha T., Burke V.* Occurrence, effects and behaviour of the antibiotic lincomycin in the agricultural and aquatic environment – A review // *Sci. Total Environ.* 2021. V. 778. Article 146306.
64. *Cha J., Carlson K.H.* Occurrence of β -lactam and polyether ionophore antibiotics in lagoon water and animal manure // *Sci. Total Environ.* 2018. V. 640–641. P. 1346.
65. *Li X.W., Xie Y.F., Li C.L., Zhao H.N., Zhao H., Wang N., Wang J.F.* Investigation of residual fluoroquinolones in a soil-vegetable system in an intensive vegetable cultivation area in Northern China // *Sci. Total Environ.* 2014. V. 468–469. P. 258.
66. *Mejías C., Martín J., Santos J.L., Aparicio I., Alonso E.* Occurrence of pharmaceuticals and their metabolites in sewage sludge and soil: A review on their distribution and environmental risk assessment // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2021. V. 30. Article e00125.
67. *Berendsen B., Pikkemaat M., Römkens P., Wegh R., van Sisseren M., Stolker L., Nielen M.* Occurrence of chloramphenicol in crops through natural production by bacteria in soil // *J. Agr. Food Chem.* 2013. V. 61. № 17. P. 4004.
68. Commission Regulation (EU) 2019/1871 of 7 November 2019 on reference points for action for non-allowed pharmacologically active substances present in food of animal origin and repealing Decision 2005/34/EC (Text with EEA relevance) C/2019/7908. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/TXT/?uri=CELEX%3A2019R1871> (дата обращения 22.02.2022).
69. *Toaldo I.M., Gamba G.Z., Picinin L.A., Rubensam G., Hoff R., Bordignon-Luiz M.* Multiclass analysis of antibacterial residues in milk using RP-liquid chromatography with photodiode array and fluorescence detection and tandem mass spectrometer confirmation // *Talanta*. 2012. V. 99. P. 616.
70. *Tao Y., Yu G., Chen D., Pan Y., Liu Z., Wei H., Peng D., Huang L., Wang Y., Yuan Z.* Determination of 17 macrolide antibiotics and avermectins residues in meat with accelerated solvent extraction by liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B*. 2012. V. 897. P. 64.
71. *Aguilera-Luiz M.M., Romero-Gonza R., Plaza-Bolan P., Mart J.L., Frenich A.G.* Rapid and semiautomated method for the analysis of veterinary drug residues in honey based on turbulent-flow liquid chromatography coupled to ultrahigh-performance liquid chromatography–orbitrap mass spectrometry (TFC-UHPLCOrbitrap-MS) // *Agric. Food Chem.* 2013. V. 61. P. 829.
72. *Economou A., Petraki O., Tsipi D., Botitsi E.* Development of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of sulfonamides, trimethoprim and dapsone in honey and validation according to Commission Decision 2002/657/EC for banned compounds [corrected] // *Talanta*. 2012. V. 97. P. 32.
73. *Zhang Q., Xiao X., Li G.* Porous molecularly imprinted monolithic capillary column for on-line extraction coupled to high-performance liquid chromatography for trace analysis of antimicrobials in food samples // *Talanta*. 2014. V. 123. P. 63.
74. *Dickson L.C.* Performance characterization of a quantitative liquid chromatography–tandem mass spectrometric method for 12 macrolide and lincosamide antibiotics in salmon, shrimp and tilapia // *J. Chromatogr. B*. 2014. V. 967. P. 203.
75. *Storey J.M., Clark S.B., Johnson A.S., Andersen W.C., Turnipseed S.B., Lohne J.J., Burger R.J., Ayres P.R., Carr J.R., Madson M.R.* Analysis of sulfonamides, trimethoprim, fluoroquinolones, quinolones, triphenylmethane dyes and methyltestosterone in fish and shrimp using liquid chromatography-mass spectrometry // *J. Chromatogr. B*. 2014. V. 972. P. 38.
76. *Hou X.-L., Chen G., Zhu L., Yang T., Zhao J., Wang L., Wu Y.-L.* Development and validation of an ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of sulfonamides, quinolones and benzimidazoles in bovine milk // *J. Chromatogr. B*. 2014. V. 962. P. 20.
77. *Yang X., Zhang S., Yu W., Liu Z., Lei L., Li N., Zhang H., Yu Y.* Ionic liquid-anionic surfactant based aqueous two-phase extraction for determination of antibiotics in honey by high-performance liquid chromatography // *Talanta*. 2014. V. 124. P. 1.
78. *Freitas A., Barbosa J., Ramos F.* Multidetected of antibiotics in liver tissue by ultra-high-pressure-liquid-chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B*. 2015. V. 976–977. P. 49.
79. *Gbylik-Sikorska M., Posyniak A., Sniegocki T., Zmudzki J.* Liquid chromatography–tandem mass spectrometry multiclass method for the determination of antibiotics residues in water samples from water supply systems in food-producing animal farms // *Chemosphere*. 2015. V. 119. P. 8.
80. *Kaufmann A., Butcher P., Maden K., Walker S., Widmer M.* Determination of nitrofurans and chloramphenicol residues by high resolution mass spectrometry versus tandem quadrupole mass spectrometry // *Anal. Chim. Acta*. 2015. V. 862. P. 41.
81. *Chung S.W.C., Lam C.-H.* Development of a 15-class multiresidue method for analyzing 78 hydrophilic and hydrophobic veterinary drugs in milk, egg and meat by liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *Anal. Methods*. 2015. V. 7. P. 6764.
82. *Gómez-Pérez M.L., Romero-González R., Luis Martínez V.J., Frenich A.G.* Analysis of pesticide and veterinary drug residues in baby food by liquid chromatography coupled to Orbitrap high resolution mass spectrometry // *Talanta*. 2015. V. 131. P. 1.
83. *Zhu W.-X., Yang J.-Z., Wang Z.-X., Wang C.-J., Liu Y.-F., Zhang L.* Rapid determination of 88 veterinary drug residues in milk using automated TurborFlow online clean-up mode coupled to liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *Talanta*. 2016. V. 148. P. 401.
84. *Dasenaki M.E., Michali C.S., Thomaidis N.S.* Analysis of 76 veterinary pharmaceuticals from 13 classes including aminoglycosides in bovine muscle by hydrophilic interaction liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A*. 2016. V. 1452. P. 67.
85. *Moretti S., Dusi G., Giusepponi D., Pellicciotti S., Rossi R., Saluti G., Cruciani G., Galarini R.* Screening and con-

- firmatory method for multiclass determination of 62 antibiotics in meat // *J. Chromatogr. A*. 2016. V. 1429. P. 175.
86. Tian H., Wang J., Zhang Y., Li S., Jiang J., Tao D., Zheng N. Quantitative multiresidue analysis of antibiotics in milk and milk powder by ultra-performance liquid chromatography coupled to tandem quadrupole mass spectrometry // *J. Chromatogr. B*. 2016. V. 1033–1034. P. 172.
 87. Chen D., Yu J., Tao Y., Pan Y., Xie S., Huang L., Peng D., Wang X., Wang Y., Liu Z., Yuan Z. Qualitative screening of veterinary anti-microbial agents in tissues, milk, and eggs of food-producing animals using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B*. 2016. V. 1017–1018. P. 82.
 88. Jia W., Chu X., Chang J., Wang P.G., Chen Y., Zhang F. High-throughput untargeted screening of veterinary drug residues and metabolites in tilapia using high resolution orbitrap mass spectrometry // *Anal. Chim. Acta*. 2017. V. 957. P. 29.
 89. Wang G.N., Zhang L., Song Y.P., Liu J.X., Wang J.P. Application of molecularly imprinted polymer based matrix solid phase dispersion for determination of fluoroquinolones, tetracyclines and sulfonamides in meat // *J. Chromatogr. B*. 2017. V. 1065–1066. P. 104.
 90. Zhao F., Gao X., Tang Z., Luo X., Wu M., Xu J., Fu X. Development of a simple multi-residue determination method of 80 veterinary drugs in *Oplegnathus punctatus* by liquid chromatography coupled to quadrupole orbitrap mass spectrometry // *J. Chromatogr. B*. 2017. V. 1065–1066. P. 20.
 91. Zhang Y., Guo W., Yue Z., Lin L., Zhao F., Chen P., Wu W., Zhu H., Yang B., Kuang Y., Wang J. Rapid determination of 54 pharmaceutical and personal care products in fish samples using microwave-assisted extraction-hollow fiber-liquid/solid phase microextraction // *J. Chromatogr. B*. 2017. V. 1051. P. 41.
 92. Louppis A.P., Kontominas M.G., Papastephanou C. Determination of antibiotic residues in honey by high-performance liquid chromatography with electron-spray ionization tandem mass spectrometry // *Food Anal. Methods*. 2017. V. 10. P. 3385.
 93. Xie Y., Hu Q., Zhao M., Cheng Y., Guo Y., Qian H., Yao W. Simultaneous determination of erythromycin, tetracycline, and chloramphenicol residue in raw milk by molecularly imprinted polymer mixed with solid-phase extraction // *Food Anal. Methods*. 2017. V. 11. P. 374.
 94. Chiesa L., Panseri S., Pasquale E., Malandra R., Pavlovic R., Arioli F. Validated multiclass targeted determination of antibiotics in fish with high performance liquid chromatography–benchtop quadrupole orbitrap hybrid mass spectrometry // *Food Chem*. 2018. V. 258. P. 222.
 95. Saxena S.K., Rangasamy R., Krishnan A.A., Singh D.P., Uke S.P., Malekadi P.K., Sengar A.S., Mohamed D.P., Gupta A. Simultaneous determination of multi-residue and multi-class antibiotics in aquaculture shrimps by UPLC-MS/MS // *Food Chem*. 2018. V. 260. P. 336.
 96. Zhao L., Lucas D., Long D., Richter B., Stevens J. Multi-class multi-residue analysis of veterinary drugs in meat using enhanced matrix removal lipid cleanup and liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A*. 2018. V. 1549. P. 14.
 97. Li J., Ren X., Diao Y., Chen Y., Wang Q., Jin W., Zhou P., Fan Q., Zhang Y., Liu H. Multiclass analysis of 25 veterinary drugs in milk by ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *Food Chem*. 2018. V. 257. P. 259.
 98. Ribeiro C.B., Martins M.T., Jank L., Barreto F., Hoff R.B., Arsand J.B. Development and validation of a simple and fast method for sulfonamides, tetracyclines and macrolides in honey using LC-MS/MS // *Drug Anal. Res*. 2018. № 2. P. 21–
 99. Albero B., Tadeo J.L., Miguel E., Pérez R.A. Rapid determination of antibiotic residues in cereals by liquid chromatography triple mass spectrometry // *Anal. Bioanal. Chem*. 2019. V. 411. № 23. P. 6129.
 100. Song X., Huang Q., Zhang Y., Zhang M., Xie J., He L. Rapid multiresidue analysis of authorized/banned cyclopolypeptide antibiotics in feed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry based on dispersive solid-phase extraction // *J. Pharm. Biomed. Anal*. 2019. V. 170. P. 234.
 101. Gbylik-Sikorska M., Gajda A., Nowacka-Kozak E., Pospyniak A. Simultaneous determination of 45 antibacterial compounds in mushrooms – *Agaricus bisporus* by ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A*. 2019. V. 1587. P. 111.
 102. Susakate S., Poapolathep S., Chokejaroenrat C., Tanhan P., Hajslova J., Giorgi M., Saimek K., Zhang Z., Poapolathep A. Multiclass analysis of antimicrobial drugs in shrimp muscle by ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Food Drug Anal*. 2019. V. 27. № 1. P. 118.
 103. Khaled A., Gionfriddo E., Acquaro V., Singh V., Pawliszyn J. Development and validation of a fully automated solid phase microextraction high throughput method for quantitative analysis of multiresidue veterinary drugs in chicken tissue // *Anal. Chim. Acta*. 2019. V. 1056. P. 34.
 104. Pugajeva, I., Ikkere L.E., Judjallo E., Bartkevics V. Determination of residues and metabolites of more than 140 pharmacologically active substances in meat by liquid chromatography coupled to high resolution orbitrap mass spectrometry // *J. Pharm. Biomed. Anal*. 2019. V. 166. P. 252.
 105. Li X., Chi Q., Xia S., Pan Y., Chen Y., Wang K. Untargeted multi-residue method for the simultaneous determination of 141 veterinary drugs and their metabolites in pork by high-performance liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry // *J. Chromatogr. A*. 2020. V. 1634. Article 461671.
 106. Magalhães D., Freitas A., Pouca A.S.V., Barbosa J., Ramos F. The use of ultra-high-pressure-liquid-chromatography tandem time-of-flight mass spectrometry as a confirmatory method in drug residue analysis: Application to the determination of antibiotics in piglet liver // *J. Chromatogr. B*. 2020. V. 1153. Article 122264.
 107. Hoff R.B., Molognoni L., Deolindo C.T.P., Vargas M.O., Kleemann C.R., Daguer H. Determination of 62 veterinary drugs in feedingstuffs by novel pressurized liquid

- extraction methods and LC-MS/MS // *J. Chromatogr. B*. 2020. V. 1152. Article 122232.
108. *Zhan J., Shi X.-Z., Xu X.-W., Cao G.-Z., Chen X.-F.* Generic and rapid determination of low molecular weight organic chemical contaminants in protein powder by using ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B*. 2020. V. 1138. Article 121967.
109. *Wang C., Li X., Yu F., Wang Y., Ye D., Hu X., Zhou L., Du J., Xia X.* Multi-class analysis of veterinary drugs in eggs using dispersive-solid phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *Food Chem.* 2021. V. 334. Article 127598.
110. *Xu X., Zhao W., Ji B., Han Y., Xu G., Jie M., Wu N., Wu Y., Li J., Li K., Zhao D., Bai Y.* Application of silylated melamine sponges in matrix purification for rapid multi-residue analysis of veterinary drugs in eggs by UPLC-MS/MS // *Food Chem.* 2022. V. 369. Article 130894.
111. *Liang S., Dai H., Wang C., Zhang H., Li J., Xu Q., Zhang Q.* Application of polydopamine fibers mat for simultaneous detection of multi-class drug residues in various animal-original foods // *Food Control.* 2022. V. 132. Article 108523.
112. *Li H., Wang Y., Li X., Fu Q., Shan Y., Liu T., Xia X.* Determination of valnemulin in swine and bovine tissues by ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B*. 2016. V. 1014. P. 102.
113. *Hernández-Mesa M., Cruces-Blanco C., García-Campaña A.M.* Simple and rapid determination of 5-nitroimidazoles and metabolites in fish roe samples by salting-out assisted liquid liquid extraction and UHPLC-MS/MS // *Food Chem.* 2018. V. 252. P. 294.
114. *Arsand J.B., Jank L., Martins M.T., Hoff R.B., Barreto F., Pizzolato T.M., Sirtori C.* Determination of aminoglycoside residues in milk and muscle based on a simple and fast extraction procedure followed by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry and time of flight mass spectrometry // *Talanta.* 2016. V. 154. P. 38.
115. *Wang J., Zhao Q., Jiang N., Li W., Chen L., Lin X., Xie Z., You L., Zhang Q.* Urea–formaldehyde monolithic column for hydrophilic in-tube solid-phase microextraction of aminoglycosides // *J. Chromatogr. A*. 2017. V. 1485. P. 24.
116. *Moreno-González D., Hamed A.M., García-Campaña A.M., Gámiz-Gracia L.* Evaluation of hydrophilic interaction liquid chromatography tandem mass spectrometry and extraction with molecularly imprinted polymers for determination of aminoglycosides in milk and milk-based functional foods // *Talanta.* 2017. V. 171. P. 74.
117. *Yang B., Wang L., Luo C., Wang X., Sun C.* Simultaneous determination of 11 aminoglycoside residues in honey, milk, and pork by liquid chromatography with tandem mass spectrometry and molecularly imprinted polymer solid phase extraction // *J. AOAC Int.* 2017. V. 100. P. 1869.
118. *Li D., Li T., Wang L., Ji S.* A polyvinyl alcohol-coated core-shell magnetic nanoparticle for the extraction of aminoglycoside antibiotics residues from honey samples // *J. Chromatogr. A*. 2018. V. 1581–1582. P. 1.
119. *Barreto F., Ribeiro C., Hoff R.B., Costa T.D.* Determination and confirmation of chloramphenicol in honey, fish and prawns by liquid chromatography–tandem mass spectrometry with minimum sample preparation: Validation according to 2002/657/EC Directive // *Food Addit. Contam.* 2012. V. 29. № 4. P. 550.
120. *Samanidou V., Galanopoulos L.-D., Kabir A., Furton K.G.* Fast extraction of amphenicols residues from raw milk using novel fabric phase sorptive extraction followed by high-performance liquid chromatography–diode array detection // *Anal. Chim. Acta.* 2015. V. 855. P. 41.
121. *Xiao Z., Song R., Rao Z., Wei S., Jia Z., Suo D., Fan X.* Development of a subcritical water extraction approach for trace analysis of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol, and florfenicol amine in poultry tissue // *J. Chromatogr. A*. 2015. V. 1418. P. 29.
122. *Wei S., Li J., Liu Y., Ma J.* Development of magnetic molecularly imprinted polymers with double templates for the rapid and selective determination of amphenicol antibiotics in water, blood, and egg samples // *J. Chromatogr. A*. 2016. V. 1473. P. 19.
123. *Samanidou V., Kehagia M., Kabir A., Furton K.G.* Matrix molecularly imprinted mesoporous sol–gel sorbent for efficient solid-phase extraction of chloramphenicol from milk // *Anal. Chim. Acta.* 2016. V. 914. P. 62.
124. *Imran M., Fazal-e-Habib, Tawab A., Rauf W., Rahman M., Khan Q.M., Asi M.R., Iqbal M.* LC-MS/MS based method development for the analysis of florfenicol and its application to estimate relative distribution in various tissues of broiler chicken // *J. Chromatogr. B*. 2017. V. 1063. P. 163.
125. *Deng F., Yu H., Pan X., Hu G., Wang Q., Peng R., Tan L., Yang Z.* Ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of five glycopeptide antibiotics in food and biological samples using solid-phase extraction // *J. Chromatogr. A*. 2018. V. 1538. P. 54.
126. *Tang Y., Zhang N., Zhang B., Lei X., Wu X.* On-line coupling of hydrophilic ionic liquids-based polymer monolith microextraction to capillary liquid chromatography with amperometric detection: An ultrasensitive residue analysis method for glycopeptide antibiotics // *J. Chromatogr. A*. 2018. V. 1556. P. 10.
127. *Lei X., Cui J., Wang S., Huang T., Wu X.* Preparation of a biomimetic ionic liquids hybrid polyphosphorylcholine monolithic column for the high efficient capillary microextraction of glycopeptide antibiotics // *J. Chromatogr. A*. 2020. V. 1623. Article 461175.
128. *Zhou H., Liu R., Chen Q., Zheng X., Qiu J., Ding T., He L.* Surface molecularly imprinted solid-phase extraction for the determination of vancomycin and norvancomycin in milk by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry // *Food Chem.* 2022. V. 369. Article 130886.
129. *Yang Y.-J., Liu X.-W., Li B., Li S.-H., Kong X.-J., Qin Z., Li J.-Y.* Simultaneous determination of diaveridine, trimethoprim and ormetoprim in feed using high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry // *Food Chem.* 2016. V. 212. P. 358.

130. *Nász S., Károlyiné E.M.* Determination of coccidiostats in milk products by LC–MS and its application to a fermentation experiment // *Chromatographia*. 2012. V. 75. № 11–12. P. 645.
131. *Clarke L., Moloney M., O'Mahony J., O'Kennedy R., Danaher M.* Determination of 20 coccidiostats in milk, duck muscle and non-avian muscle tissue using UH-PLC-MS/MS // *Food Addit. Contam. Part A*. 2013. V. 30. № 6. P. 958.
132. *Jing H., Ge S., Lian-Feng A., Jian-Chen L.* Determination of six polyether antibiotic residues in foods of animal origin by solid phase extraction combined with liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B*. 2016. V. 1017. P. 187.
133. *Dasenaki M.E., Thomaidis N.S.* Multi-residue methodology for the determination of 16 coccidiostats in animal tissues and eggs by hydrophilic interaction liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *Food Chem.* 2019. V. 275. P. 668.
134. *González-Rubio S., García-Gómez D., Ballesteros-Gómez A., Rubio S.* A new sample treatment strategy based on simultaneous supramolecular solvent and dispersive solid-phase extraction for the determination of ionophore coccidiostats in all legislated foodstuffs // *Food Chem.* 2020. V. 326. Article 126987.
135. *Negarian M., Mohammadinejad A., Mohajeri S.A.* Preparation, evaluation and application of core-shell molecularly imprinted particles as the sorbent in solid-phase extraction and analysis of lincomycin residue in pasteurized milk // *Food Chem.* 2019. V. 288. P. 29.
136. *Paseiro-Cerrato R., Otero-Pazos P., Rodríguez-Bernaldo de Quirós A., Sendón R., Angulo I., Paseiro-Losada P.* Rapid method to determine natamycin by HPLC-DAD in food samples for compliance with EU food legislation // *Food Control*. 2013. V. 33. № 1. P. 262.
137. *Zhou Y., Zhou T., Jin H., Jing T., Song B., Zhou Y., Mei S., Lee Y.I.* Rapid and selective extraction of multiple macrolide antibiotics in foodstuff samples based on magnetic molecularly imprinted polymers // *Talanta*. 2015. V. 137. P. 1.
138. *Zhou T., Yang H., Jin Z., Liu Q., Song X., He L., Fang B., Meng C.* Determination of azithromycin residue in pork using a molecularly imprinted monolithic microcolumn coupled to liquid chromatography with tandem mass spectrometry // *J. Sep. Sci.* 2016. V. 39. P. 1339.
139. *Ji S., Li T., Yang W., Shu C., Li D., Wang Y., Ding L.* A hollow porous molecularly imprinted polymer as a sorbent for the extraction of 7 macrolide antibiotics prior to their determination by HPLC-MS/MS // *Mikrochim Acta*. 2018. V. 185. P. 203.
140. *Du J., Li X., Tian L., Li J., Wang C., Ye D., Zhao L., Liu S., Xu J., Xia X.* Determination of macrolides in animal tissues and egg by multi-walled carbon nanotube-based dispersive solid-phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *Food Chem.* 2021. V. 365. Article 130502.
141. *Granja R.H.M.M., Nino A.M.M., Reche K.V.G., Giannotti F.M., Lima A.C., Wanschel A.C.B.A., Salerno A.G.* Determination and confirmation of metronidazole, dimetridazole, ronidazole and their metabolites in bovine muscle by LC-MS/MS // *Food Addit. Contam. Part A: Chem.* 2013. V. 30. P. 970.
142. *Mitrowska K., Antczak M., Posyniak A.* Confirmatory method for the determination of nitroimidazoles in milk by liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *Bull. Vet. Inst. Pulawy*. 2014. V. 58. P. 581.
143. *Hernández-Mesa M., Moreno-González D., Cruces-Blanco C., García-Campaña A.M.* Evaluation of a selective approach for the determination of 5-nitroimidazoles in aquaculture products by capillary liquid chromatography using molecularly imprinted solid-phase extraction // *Food Anal. Methods*. 2017. V. 10. P. 3647.
144. *Chen F., Li S., Peng J., Wang X., Peng H., Chen Y., He Y.* Study on simultaneous determination of three nitroimidazole residues in honey by high performance liquid chromatography–resonance Rayleigh scattering spectra // *Microchem. J.* 2018. V. 141. P. 423.
145. *Valera-Tarifa N.M., Plaza-Bolaños P., Romero-González R., Martínez-Vidal J.L., Garrido-Frenich A.* Determination of nitrofurans metabolites in seafood by ultra-high performance liquid chromatography coupled to triple quadrupole tandem mass spectrometry // *J. Food Compos. Anal.* 2013. V. 30. № 2. P. 86.
146. *Tang T., Wei F., Wang X., Ma Y., Song Y., Ma Y., Song Q., Xu G., Cen Y., Hu Q.* Determination of semicarbazide in fish by molecularly imprinted stir bar sorptive extraction coupled with high performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. B*. 2018. V. 1076. P. 8.
147. *Wu S., Yang B., Yu H., Li Y.* A rapid derivatization method for analyzing nitrofurans metabolites in fish using ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *Food Chem.* 2020. V. 310. Article 125814.
148. *Yuan G., Zhu Z., Yang P., Lu S., Liu H., Liu W., Liu G.* Simultaneous determination of eight nitrofurans residues in shellfish and fish using ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Food Compos. Anal.* 2010. V. 92. Article 103540.
149. *Melekhina A.O., Tolmacheva V.V., Shubina E.G., Dmitrienko S.G., Apyari V.V., Grudev A.I.* Determination of nitrofurans metabolites in honey using a new derivatization reagent, magnetic solid-phase extraction and LC–MS/MS // *Talanta*. 2021. V. 230. Article 122310.
150. *Guichard P., Laurentie M., Hurtaud-Pessel D., Verdon E.* Confirmation of five nitrofurans metabolites including nifursol metabolite in meat and aquaculture products by liquid chromatography–tandem mass spectrometry: Validation according to European Union Decision 2002/657/EC // *Food Chem.* 2021. V. 342. Article 128389.
151. *Boison J.O., Lee S., Matus J.* A multi-residue method for the determination of seven polypeptide drug residues in chicken muscle tissues by LC-MS/MS // *Anal. Bioanal. Chem.* 2015. V. 407. № 14. P. 4065.

152. *Tao Y., Xie S., Zhu Y., Chen D., Pan Y., Wang X., Liu Z., Huang L., Peng D., Yuan Z.* Analysis of major components of bacitracin, colistin and virginiamycin in feed using matrix solid-phase dispersion extraction by liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. Sci.* 2018. V. 56. № 3. P. 285.
153. *Kumar H., Kumar D., Nepovimova E., Oulkar D., Kumar A., Azad R.M.R., Budakoti S.K., Upadhyay N.K., Verma R., Kuča K.* Determination of colistin B in chicken muscle and egg using ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2021. V. 18. Article 2651.
154. *Guo H., Liu Y., Fang B., Ding H., Wang M., He L.* Determination of valnemulin residues in porcine tissues by molecularly imprinted solid-phase extraction coupling with high-performance liquid chromatography // *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 2014. V. 37. P. 1597.
155. *Huang C., Guo B., Wang X., Li J., Zhu W., Chen B., Ouyang S., Yao S.* A generic approach for expanding homolog-targeted residue screening of sulfonamides using a fast matrix separation and class-specific fragmentation-dependent acquisition with a hybrid quadrupole-linear ion trap mass spectrometer // *Anal. Chim. Acta.* 2012. V. 737. P. 83.
156. *Zhao Y.-G., Zhou L.-X., Pan S.-D., Zhan P.-P., Chen X.-H., Jin M.-C.* Fast determination of 22 sulfonamides from chicken breast muscle using core-shell nanoring amino-functionalized superparamagnetic molecularly imprinted polymer followed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2014. V. 1345. P. 17.
157. *Li Y., Li Z., Wang W., Zhong S., Chen J., Wang A.J.* Miniaturization of self-assembled solid phase extraction based on graphene oxide/chitosan coupled with liquid chromatography for the determination of sulfonamide residues in egg and honey // *J. Chromatogr. A.* 2016. V. 1447. P. 17.
158. *Guillén I., Guardiola L., Almela L., Núñez-Delgado E., Gabaldón J.A.* Simultaneous determination of nine sulphonamides by LC-MS for routine control of raw honey samples // *Food Anal. Methods.* 2017. V. 10. P. 1430.
159. *Jia W., Shi L., Chu X.* Untargeted screening of sulfonamides and their metabolites in salmon using liquid chromatography coupled to quadrupole orbitrap mass spectrometry // *Food Chem.* 2018. V. 239. P. 427.
160. *Li Y., Zhu N., Chen T., Ma Y., Li Q.* A green cyclodextrin metal-organic framework as solid-phase extraction medium for enrichment of sulfonamides before their HPLC determination // *Microchem. J.* 2018. V. 138. P. 401.
161. *Petrarca M.H., Braga P.A.C., Reyes F.G.R., Bragotto A.P.A.* Hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry as a potential combination for the determination of sulfonamide residues in complex infant formula matrices // *J. Chromatogr. A.* 2020. V. 1633. Article 461606.
162. *Liu X., Tong Y., Zhang L.* Tailorable yolk-shell Fe₃O₄@graphitic carbon submicroboxes as efficient extraction materials for highly sensitive determination of trace sulfonamides in food samples // *Food Chem.* 2020. V. 303. Article 125369.
163. *Li T., Wang C., Xu Z., Chakraborty A.* A coupled method of on-line solid phase extraction with the UH-PLC–MS/MS for detection of sulfonamides antibiotics residues in aquaculture // *Chemosphere.* 2020. V. 254. Article 126765.
164. *Wu J., Li Y., Li W., Gong Z., Huang X.* Preparation of a novel monolith-based adsorbent for solid-phase microextraction of sulfonamides in complex samples prior to HPLC-MS/MS analysis // *Anal. Chim. Acta.* 2020. V. 1118. P. 9.
165. *Jullakan S., Bunkoed O.* A nanocomposite adsorbent of metallic copper, polypyrrole, halloysite nanotubes and magnetite nanoparticles for the extraction and enrichment of sulfonamides in milk // *J. Chromatogr. B.* 2021. V. 1180. Article 122900.
166. *Dil E.A., Ghaedi M., Mehrabi F., Tayebi L.* Highly selective magnetic dual template molecularly imprinted polymer for simultaneous enrichment of sulfadiazine and sulfathiazole from milk samples based on syringe-to-syringe magnetic solid-phase microextraction // *Talanta.* 2021. V. 232. Article 122449.
167. *Tarapoulouzi M., Papachrysostomou C., Constantinou S., Kanari P., Hadjigeorgiou M.* Determinative and confirmatory method for residues of tetracyclines in honey by LC-MS/MS // *Food Addit. Contam. Part A.* 2013. V. 30. № 10. P. 1728.
168. *Liu Y., Yang H., Yang S., Hu Q., Cheng H., Liu H., Qiu Y.* High-performance liquid chromatography using pressurized liquid extraction for the determination of seven tetracyclines in egg, fish and shrimp // *J. Chromatogr. B.* 2013. V. 917–918. P. 11.
169. *Moreno-González D., García-Campaña A.M.* Salting-out assisted liquid–liquid extraction coupled to ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of tetracycline residues in infant foods // *Food Chem.* 2017. V. 221. P. 1763.
170. *Xu Y., Tang Y., Zhao Y., Gao R., Zhang J., Fu D., Li Z., Li H., Tang X.* Bifunctional monomer magnetic imprinted nanomaterials for selective separation of tetracyclines directly from milk samples // *J. Colloid Interface Sci.* 2018. V. 515. P. 18.
171. *Saridal K., Ulusoy H.İ.* A simple methodology based on cloud point extraction prior to HPLC-PDA analysis for tetracycline residues in food samples // *Microchem. J.* 2019. V. 150. Article 104170.
172. *Zhao W., Zuo H., Guo Y., Liu K., Wang S., He L., Jiang X., Xiang G., Zhang S.* Porous covalent triazine-terphenyl polymer as hydrophilic–lipophilic balanced sorbent for solid phase extraction of tetracyclines in animal derived foods // *Talanta.* 2019. V. 201. P. 426.
173. *Alanazi F., Almugbel R., Maher H.M., Alodaib F.M., Alzoman N.Z.* Determination of tetracycline, oxytetracycline and chlortetracycline residues in seafood products of Saudi Arabia using high performance liquid chromatography–photo diode array detection // *Saudi Pharm. J.* 2021. V. 29. № 6. P. 566.
174. *Pang Y.-H., Lv Z.-Y., Sun J.-C., Yang C., Shen X.-F.* Collaborative compounding of metal–organic frame-

- works for dispersive solid-phase extraction HPLC–MS/MS determination of tetracyclines in honey // *Food Chem.* 2021. V. 355. Article 129411.
175. Merou A., Kaklamanos G., Theodoridis G. Determination of carbadox and metabolites of carbadox and olaquinox in muscle tissue using high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B.* 2012. V. 881–882. P. 90.
 176. Li Y., Liu K., Beier R.C., Cao X., Shen J., Zhang S. Simultaneous determination of mequinox, quinoxone, and their major metabolites in chicken and pork by UPLC–MS/MS // *Food Chem.* 2014. V. 160. P. 171.
 177. Lutero W., Dibai S., de Alkimin Filho J.F., da Silva Oliveira F.A., de Assis D.C.S., Lara L.J.C., de Figueiredo T.C., de Vasconcelos Cañado S. HPLC-MS/MS method validation for the detection of carbadox and olaquinox in poultry and swine feedingstuffs // *Talanta.* 2015. V. 144. P. 740.
 178. Peng D., Zhang X., Wang Y., Pan Y., Liu Z., Chen D., Sheng F., Yuan Z. An immunoaffinity column for the selective purification of 3-methyl-quinoxaline-2-carboxylic acid from swine tissues and its determination by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection and a colloidal gold-based immunochromatographic assay // *Food Chem.* 2017. V. 237. P. 290.
 179. Li P., Zhang X., Zhang J., Yan Z., Zhang S., Chen S., Fang Y. A sensitive and selective immunoaffinity column clean up coupled to UPLC–MS/MS for determination of trace methyl-3-quinoxaline-2-carboxylic acid in animal tissues // *J. Chromatogr. B.* 2018. V. 1074–1075. P. 39.
 180. Borrás S., Gabriel J., Companyo R., Prat M.-D. Analysis of fluoroquinolones in animal feeds by liquid chromatography with fluorescence detection // *J. Sep. Sci.* 2012. V. 35. № 1. P. 1.
 181. Ruiz-Viceo J.A., Rosales-Conrado N., Guillén-Casla V., Pérez-Arribas L.V., León-González M.E., Polo-Díez L.M. Fluoroquinolone antibiotic determination in bovine milk using capillary liquid chromatography with diode array and mass spectrometry detection // *J. Food Compos. Anal.* 2012. V. 28. № 2. P. 99.
 182. Evaggelopoulou E.N., Samanidou V.F. HPLC confirmatory method development for the determination of seven quinolones in salmon tissue (*Salmo salar* L.) validated according to the European Union Decision 2002/657/EC // *Food Chem.* 2013. V. 136. № 2. P. 479.
 183. Stoilova N.A., Surleva A.R., Stoev G. Simultaneous determination of nine quinolones in food by liquid chromatography with fluorescence detection // *Food Anal. Methods.* 2013. V. 6. № 3. P. 803.
 184. Barreto F., Ribeiro C.B.D., Hoff R.B., Costa T.D. Development and validation of a high-throughput method for determination of nine fluoroquinolones residues in muscle of different animal species by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry with low temperature clean up // *J. Chromatogr. A.* 2017. V. 1521. P. 131.
 185. Zhai H., Liang G., Guo X., Chen Z., Yu J., Lin H., Zhou Q. Novel coordination imprinted polymer monolithic column applied to the solid-phase extraction of flumequine from fish samples // *J. Chromatogr. B.* 2019. V. 1118–1119. P. 55.
 186. Kukusamude C., Burakham R., Chailapakul O., Srijaranai S. High performance liquid chromatography for the simultaneous analysis of penicillin residues in beef and milk using ion-paired extraction and binary water–acetonitrile mixture // *Talanta.* 2012. V. 92. P. 38.
 187. Liu X., Yu Y., Zhao M., Zhang H., Li Y., Duan G. Solid phase extraction using magnetic core mesoporous shell microspheres with C18-modified interior pore-walls for residue analysis of cephalosporins in milk by LC–MS/MS // *Food Chem.* 2014. V. 150. P. 206.
 188. Van Royen G., Dubruel P., Van Weyenberg S., Daeseleire E. Evaluation and validation of the use of a molecularly imprinted polymer coupled to LC–MS for benzylpenicillin determination in meat samples // *J. Chromatogr. B.* 2015. V. 1025. P. 48.
 189. Li W., Shen H., Hong Y., Zhang Y., Yuan F., Zhang F. Simultaneous determination of 22 cephalosporins drug residues in pork muscle using liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B.* 2016. V. 1022. P. 298.
 190. Huang Z., Pan X.-D., Huang B.-F., Xu J.-J., Wang M.-L., Ren Y.-P. Determination of 15 β -lactam antibiotics in pork muscle by matrix solid-phase dispersion extraction (MSPD) and ultra-high pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry // *Food Control.* 2016. V. 66. P. 145.
 191. Moreno-González D., Rodríguez-Ramírez R., del Olmo-Iruela M., García-Campaña A.M. Validation of a new method based on salting-out assisted liquid-liquid extraction and UHPLC-MS/MS for the determination of betalactam antibiotics in infant dairy products // *Talanta.* 2017. V. 167. P. 493.
 192. Du W., Sun M., Guo P., Chang C., Fu Q. Molecularly imprinted membrane extraction combined with high-performance liquid chromatography for selective analysis of cloxacillin from shrimp samples // *Food Chem.* 2018. V. 259. P. 73.
 193. Sahebi H., Konož E., Ezabadi A., Niazi A., Ahmadi S.H. Simultaneous determination of five penicillins in milk using a new ionic liquid-modified magnetic nanoparticle based dispersive micro-solid phase extraction followed by ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *Microchem. J.* 2020. V. 154. Article 104605.
 194. Cheng G., Zhao J., Wang X., Yang C., Li S., Lu T., Li X., Wang X., Zhu G. A highly sensitive and selective method for the determination of ceftiofur sodium in milk and animal-origin food based on molecularly imprinted solid-phase extraction coupled with HPLC–UV // *Food Chem.* 2021. V. 347. Article 129013.
 195. Ansari S., Karimi M. Novel developments and trends of analytical methods for drug analysis in biological and environmental samples by molecularly imprinted polymers // *Trends Anal. Chem.* 2017. V. 89. P. 146.
 196. Valsecchi S., Polesello S., Mazzoni M., Rusconi M., Petrovic M. On-line sample extraction and purification for the LC–MS determination of emerging contaminants in environmental samples // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2015. V. 8. P. 27.

197. *Socas-Rodríguez B., González-Sálamo J., Herrera-Herrera A.V., Hernández-Borges J., Rodríguez-Delgado M.Á.* Chapter eleven – Recent advances and developments in the QuEChERS method / Eds. Ibáñez E., Cifuentes A. // *Compr. Anal. Chem.* 2017. V. 76. P. 319.
198. *Perestrelo R., Silva P., Porto-Figueira P., Pereira J.A.M., Silva C., Medina S., Câmara J.S.* QuEChERS – Fundamentals, relevant improvements, applications and future trends // *Anal. Chim. Acta.* 2019. V. 1070. P. 1.
199. *Волкова Н.М., Амелин В.Г., Третьяков А.В., Абраменкова О.И., Тимофеев А.А.* Пробоподготовка QuEChERS при одновременном определении остаточных количеств антибиотиков хинолонового ряда и хлорамфеникола в пищевых продуктах методом ВЭЖХ-ДМД // *Изв. Саратов. ун-та Новая сер. Сер. Химия. Биология. Экология.* 2013. № 2. С. 30.
200. *Bittencourt M.S., Martins M.T., de Albuquerque F.G.S., Barreto F., Hoff R.* High-throughput multiclass screening method for antibiotic residue analysis in meat using liquid chromatography-tandem mass spectrometry: A novel minimum sample preparation procedure // *Food Addit. Contam.* 2012. V. 29. P. 508.
201. *Lombardo-Aguí M., García-Campaña A.M., Gamiz-Gracia L., Cruces-Blanco C.* Determination of quinolones of veterinary use in bee products by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry using a QuEChERS extraction procedure // *Talanta.* 2012. V. 93. P. 193.
202. *Pereira-Lopes R., Cazorla-Reyes R., Romero-González R., Martínez-Vidal J.L., Garrido-Frenich A.* Multiresidue determination of veterinary drugs in aquaculture fish samples by ultra high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B.* 2012. V. 895–896. P. 39.
203. *Wang J., Leung D.* The challenges of developing a generic extraction procedure to analyze multi-class veterinary drug residues in milk and honey using ultra-high pressure liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry // *Drug Test. Anal.* 2012. V. 4. P. 103.
204. *Lopes R.P., Reyes R.C., Romero-González R., Frenich A.G., Vidal J.L.M.* Development and validation of a multi-class method for the determination of veterinary drug residues in chicken by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *Talanta.* 2012. V. 89. P. 201.
205. *Zhang G.-J., Fang B.-H., Liu Y.-H., Wang X.-F., Xu L.-X., Zhang Y.-P., He L.-M.* Development of a multi-residue method for fast screening and confirmation of 20 prohibited veterinary drugs in feedstuffs by liquid chromatography tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B.* 2013. V. 936. P. 10.
206. *Kang J., Fan C.-L., Chang Q.-Y., Bu M.-N., Zhao Z.-Y., Wang W., Pang G.-F.* Simultaneous determination of multi-class veterinary drug residues in different muscle tissues by modified QuEChERS combined with HPLC-MS/MS // *Anal. Methods.* 2014. V. 6. Article 6285.
207. *Abdallah H., Arnaudguilhem C., Jaber F., Lobinski R.* Multiresidue analysis of 22 sulfonamides and their metabolites in animal tissues using quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction and high resolution mass spectrometry (hybrid linear ion trap-Orbitrap) // *J. Chromatogr. A.* 2014. V. 1355. P. 61.
208. *Cao Y., Kang J., Chang Q., Hu X., Wang Z., Fan C., Wang M.* Multi-residue determination of veterinary drugs in cheese by QuEChERS and liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *Se Pu.* 2015. V. 33. P. 132.
209. *Zhang Y., Li X., Liu X., Zhang J., Cao Y., Shi Z., Sun H.* Multi-class, multi-residue analysis of trace veterinary drugs in milk by rapid screening and quantification using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry // *J. Dairy Sci.* 2015. V. 98. P. 8433.
210. *Amelin V., Korotkov A., Andoralov A.* Identification and determination of 492 contaminants of different classes in food and feed by high-resolution mass spectrometry using the standard addition method // *J. AOAC Int.* 2016. V. 99. P. 1600.
211. *Zhang Y., Liu X., Li X., Zhang J., Cao Y., Su M., Shi Z., Sun H.* Rapid screening and quantification of multi-class multi-residue veterinary drugs in royal jelly by ultra performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry // *Food Control.* 2016. V. 60. P. 667.
212. *Shendy A.H., Al-Ghobashy M.A., Gad Alla S.A., Lofly H.M.* Development and validation of a modified QuEChERS protocol coupled to LC-MS/MS for simultaneous determination of multi-class antibiotic residues in honey // *Food Chem.* 2016. V. 190. P. 982.
213. *Huertas-Pérez J.F., Arroyo-Manzanares N., Havlíková L., Gámiz-Gracia L., Solich P., García-Campaña A.M.* Method optimization and validation for the determination of eight sulfonamides in chicken muscle and eggs by modified QuEChERS and liquid chromatography with fluorescence detection // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2016. V. 124. P. 261.
214. *Serra-Compte A., Álvarez-Muñoz D., Rodríguez-Mozaz S., Barceló D.* Multi-residue method for the determination of antibiotics and some of their metabolites in seafood // *Food Chem. Toxicol.* 2017. V. 104. P. 3.
215. *Silva G.R., Lima J.A., Souza L.F., Santos F.A., Lana M.A.G., Assis D.C.S., Cançado S.V.* Multiresidue method for identification and quantification of avermectins, benzimidazoles and nitroimidazoles residues in bovine muscle tissue by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) using a QuEChERS approach // *Talanta.* 2017. V. 171. P. 307.
216. *Konak Ü.İ., Certel M., Şık B., Tongur T.* Development of an analysis method for determination of sulfonamides and their five acetylated metabolites in baby foods by ultra-high performance liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry (orbitrap-MS) // *J. Chromatogr. B.* 2017. V. 1057. P. 81.
217. *Grande-Martínez Á., Moreno-González D., Arrebola-Liébanas E.J., Garrido-Frenich A., García-Campaña A.M.* Optimization of a modified QuEChERS method for the determination of tetracyclines in fish muscle by UHPLC-MS/MS // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2018. V. 155. P. 27.
218. *De Oliveira Arias J.L., Schneider A., Batista-Andrade J.A., Vieira A.A., Caldas S.S., Primel E.G.* Chitosan from

- shrimp shells: A renewable sorbent applied to the clean-up step of the QuEChERS method in order to determine multi-residues of veterinary drugs in different types of milk // *Food Chem.* 2018. V. 240. P. 1243.
219. Xu X., Xu X., Han M., Qiu S., Hou X. Development of a modified QuEChERS method based on magnetic multiwalled carbon nanotubes for the simultaneous determination of veterinary drugs, pesticides and mycotoxins in eggs by UPLC-MS/MS // *Food Chem.* 2019. V. 276. P. 419.
220. Jadhav M.R., Pudale A., Raut P., Utture S., Shabeer T.P.A., Banerjee K. A unified approach for high-throughput quantitative analysis of the residues of multi-class veterinary drugs and pesticides in bovine milk using LC-MS/MS and GC-MS/MS // *Food Chem.* 2019. V. 272. P. 292.
221. Dinh Q.T., Munoz G., Duy S.V., Do D.T., Bayen S., Sauv e S. Analysis of sulfonamides, fluoroquinolones, tetracyclines, triphenylmethane dyes and other veterinary drug residues in cultured and wild seafood sold in Montreal, Canada // *J. Food Compos. Anal.* 2020. V. 94. Article 103630.
222. Izzo L., Rodríguez-Carrasco Y., Tolosa J., Graziani G., Gaspari A., Ritiene A. Target analysis and retrospective screening of mycotoxins and pharmacologically active substances in milk using an ultra-high-performance liquid chromatography/high-resolution mass spectrometry approach // *J. Dairy Sci.* 2020. V. 103. № 2. P. 1250.
223. Castilla-Fernández D., Moreno-González D., Bouza M., Saez-Gómez A., Ballesteros E., García-Reyes J.F., Molina-Díaz A. Assessment of a specific sample cleanup for the multiresidue determination of veterinary drugs and pesticides in salmon using liquid chromatography/tandem mass spectrometry // *Food Control.* 2021. V. 130. Article 108311.
224. Shen Q., Zhu X., Zhao Q., Li S., Wang Y., Xue J., Wang P. QuEChERS and 96-well plate solid phase extraction for determination of vancomycin and norvancomycin in fish meat by UPLC-MS/MS // *Food Chem.* 2021. V. 342. Article 128326.
225. Ji B., Zhao W., Xu X., Han Y., Jie M., Xu G., Bai Y. Development of a modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method based on melamine sponge for multi-residue analysis of veterinary drugs in milk by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1651. Article 462333.
226. Gissawong N., Boonchiangma S., Mukdasai S., Srijaranai S. Vesicular supramolecular solvent-based microextraction followed by high performance liquid chromatographic analysis of tetracyclines // *Talanta.* 2019. V. 200. P. 203.
227. González-Rubio S., García-Gómez D., Ballesteros-Gómez A., Rubio S. A new sample treatment strategy based on simultaneous supramolecular solvent and dispersive solid-phase extraction for the determination of ionophore coccidiostats in all legislated foodstuffs // *Food Chem.* 2020. V. 326. 1 Article 26987.
228. Yao T., Yao S. Magnetic ionic liquid aqueous two-phase system coupled with high performance liquid chromatography: A rapid approach for determination of chloramphenicol in water environment // *J. Chromatogr. A.* 2017. V. 1481. P. 12.
229. Shahi M., Javadi A., Mogaddam M.R.A., Mirzaei H., Nemati M. Extraction of some antibiotics from propolis samples using homogenous liquid-liquid extraction coupled with deep eutectic solvent-based hollow fibre protected preconcentration // *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2020. P. 1.
230. Saei A., Javadi A., Mogaddam M.R.A., Mirzaei H., Nemati M. Development of homogeneous liquid-liquid extraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating droplets of a ternary component deep eutectic solvent for the analysis of antibiotic residues in sausage samples prior to ion mobility spectrometry // *Anal. Methods.* 2020. V. 12. № 34. P. 4220.
231. Saei A., Javadi A., Mogaddam M.R.A., Mirzaei H., Nemati M. Determination of three antibiotic residues in hamburger and cow liver samples using deep eutectic solvents-based pretreatment method coupled with ion mobility spectrometry // *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2020. P. 1.
232. Wu Q., Shabbir M.A.B., Peng D., Yuan Z., Wang Y. Microbiological inhibition-based method for screening and identifying of antibiotic residues in milk, chicken egg and honey // *Food Chem.* 2021. V. 363. Article 130074.
233. Xiao X., Hu S., Lai X., Peng J., Lai W. Developmental trend of immunoassays for monitoring hazards in food samples: A review // *Trends Food Sci. Technol.* 2021. V. 111. P. 68.
234. Anyakudo F., Adams E., Van Schepdael A. Analysis of amikacin, gentamicin and tobramycin by thin layer chromatography-flame ionization detection // *Microchem. J.* 2020. V. 157. Article 105032.
235. Semail N.-F., Keyon A.S.A., Saad B., Kamaruzaman S., Zain N.N.M., Lim V., Miskam M., Abdullah W.N.W., Yahaya N., Chen D.D.Y. Simultaneous preconcentration and determination of sulfonamide antibiotics in milk and yoghurt by dynamic pH junction focusing coupled with capillary electrophoresis // *Talanta.* 2022. V. 236. Article 122833.
236. Guidi L.R., Tette P.A.S., Fernandes C., Silva L.H.M., Gloria M.B.A. Advances on the chromatographic determination of amphenicols in food // *Talanta.* 2017. V. 162. P. 324.
237. Tan L., Deng F., Luo X., Pan X., Zhang L., Marina M.L., Jiang Z. Glycosyl imprinted mesoporous microspheres for the determination of glycopeptide antibiotics using ultra-high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1659. Article 462630.
238. Vardanyan R., Hruby V. Chapter 30 – Antibiotics / Eds. Vardanyan R., Hruby V. / *Synthesis of Best-Seller Drugs.* Academic Press, 2016. 868 p.
239. Jank L., Martins M.T., Arsand J.B., Motta T.M.C., Hoff R.B., Barreto F., Pizzolato T.M. High-throughput method for macrolides and lincosamides antibiotics residues analysis in milk and muscle using a simple liquid-liquid extraction technique and liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry analysis (LC-MS/MS) // *Talanta.* 2015. V. 144. P. 686.

240. *Kwon J.-W.* Semicarbazide: Natural occurrence and uncertain evidence of its formation from food processing // *Food Control*. 2017. V. 72. Part B. P. 268.
241. *Pang G.-F.* Analytical Methods for Food Safety by Mass Spectrometry / Ed. Pang G.-F. Academic Press, 2018. 880 p.
242. *Manimekalai M., Rawson A., Sengar A.S., Kumar K.S.* Development, optimization, and validation of methods for quantification of veterinary drug residues in complex food matrices using liquid-chromatography – A review // *Food Anal. Methods*. 2019. V. 12. P. 1823.
243. *Dmitrienko S.G., Kochuk E.V., Apyari V.V., Tolmacheva V.V., Zolotov Y.A.* Recent advances in sample preparation techniques and methods of sulfonamides detection – A review // *Anal. Chim. Acta*. 2014. V. 850. P. 6.
244. *Regal P., Lamas A., Franco C.M., Cepeda A.* Veterinary drugs: Progress in multiresidue technique / Eds. Melton L., Shahidi F., Varelis P. / *Encyclopedia of Food Chemistry*. Academic Press, 2019. 2194 p.
245. *Frenich A.G., Romero-González R., del Mar Aguilera-Luiz M.* Comprehensive analysis of toxics (pesticides, veterinary drugs and mycotoxins) in food by UHPLC-MS // *Trends Anal. Chem*. 2014. V. 63. P. 158.

УДК 543:615.31:543.05:519.254

ОСОБЕННОСТИ ОБРАБОТКИ И ИНТЕРПРЕТАЦИИ АНАЛИТИЧЕСКИХ ДАННЫХ С ВЫСОКОЙ СТЕПЕНЬЮ НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ

© 2022 г. И. Г. Зенкевич^{а, *}, Д. А. Никитина^а, А. С. Кушакова^б^аСанкт-Петербургский государственный университет, Институт химии
Университетский просп., 26, Санкт-Петербург, 198504 Россия^бЗАО “Биокад”

ул. Связи, 34 лит. А, Санкт-Петербург, 198515 Россия

*e-mail: izenkevich@yandex.ru

Поступила в редакцию 08.12.2021 г.

После доработки 08.01.2022 г.

Принята к публикации 28.03.2022 г.

Рассмотрены некоторые аналитические задачи, которые по объективным причинам часто считают некорректными. Главная из таких причин – аномально большой разброс исходных данных. Он может быть обусловлен либо низкой воспроизводимостью характеристик веществ, их количеств, интенсивностей аналитических сигналов, условий процессов и др., либо вариабельностью, обусловленной различиями природы самих объектов. В последнем случае на характер интерпретации данных влияют особенности принятых для их рассмотрения аналитических гипотез. В число рассмотренных задач входят вариации компонентного состава проявителей для черно-белых негативных фотоматериалов, сравнение параметров температурных режимов газохроматографического разделения различных органических соединений, характеристика токсичности (LD_{50}) гомологов на примере 1-алканолов C_3 – C_{12} и возможности предсказания операций подготовки проб при определении лекарственных препаратов в плазме крови на основании их физико-химических характеристик. Выявлены основные особенности интерпретации данных, отличающихся высокой степенью неопределенности. Отмечено, что важные заключения могут быть получены на основании даже самих фактов низкой воспроизводимости (одномерные массивы) или неудовлетворительной корреляции переменных (двумерные массивы).

Ключевые слова: массивы данных, высокая неопределенность, особенности интерпретации, примеры различных задач, лекарственные препараты, плазма крови, подготовка проб, факторы гидрофобности.

DOI: 10.31857/S0044450222090146

К числу важнейших требований к аналитическим методам (часто используемым термином является “валидация”) помимо точности, робастности, и др. традиционно относят такую характеристику, как прецизионность результатов измерений, подразделяемую на их повторяемость и воспроизводимость. Критерием оценок являются минимальные стандартные отклонения получаемых значений (или коэффициенты вариации). Двумерные массивы данных (прежде всего, градуировочные зависимости) характеризуют линейностью, критерием которой являются максимальные значения коэффициентов корреляции (R) или минимальные значения генеральных дисперсий (S_0) [1]. Во многих практических руководствах указаны конкретные требования к характеристикам правильности. Часто это относят к биоаналитическим методам и контролю лекарственных препаратов [2–4]. Например, в соответствии с правилами [4] допусти-

мые отклонения результатов для не менее 67% образцов должны находиться в пределах $\pm 15\%$ от их номинальных значений; в противном случае необходимо выяснение причин отклонений.

Однако в реальной аналитической практике встречается большое число примеров массивов данных, отличающихся низкой воспроизводимостью или плохой корреляцией переменных (иначе – высокой степенью неопределенности). Это может быть обусловлено либо большим разбросом непосредственных результатов измерений, либо вариабельностью, обусловленной различиями в природе объектов. Примером объективно большого разброса интенсивностей сигналов является электроискровая масс-спектрометрия [5, 6]; такие же особенности часто присущи определениям на уровне следов. Общим подходом к устранению подобных неопределенностей представляется совершенствование техники опреде-

лений. Вариабельность второго типа иногда оказывается принципиально неустранимой, но зависит от принятых формулировок аналитических задач (иначе – от принимаемых аналитических гипотез). В качестве примера разброса данных, обусловленного особенностями выборки данных, можно привести интенсивности слабых сигналов так называемых масс-спектров ионных серий [7]¹. Их стандартные отклонения могут превышать средние значения.

Еще один пример достаточно слабой корреляции величин – оценки индексов удерживания (RI) в обращенно-фазовой ВЭЖХ на основании факторов гидрофобности ($\lg P$) аналитов [8, 9]. Коэффициенты корреляции зависимостей RI– $\lg P$, как правило, оказываются на уровне 0.9, а S_0 (средняя точность получаемых оценок) – не менее 50–70 ед. инд. Тем не менее, этот подход применяют до настоящего времени из-за относительной доступности значений $\lg P$ (преимущественно расчетных). Подобные корреляции часто расценивают как имеющие лишь ограниченное применение либо даже как неудовлетворительные. Однако многочисленность примеров большого разброса данных не только не позволяет ими пренебречь, но и заслуживает специального рассмотрения особенностей интерпретации подобной информации, что и является целью настоящей работы.

Для иллюстрации многообразия таких примеров подробно проанализированы четыре разнообразные задачи. Все они относятся к вариабельности, обусловленной различиями в природе (свойствах, характеристиках) объектов и во всех проявляется сильная зависимость особенностей интерпретации данных от формулировок рассматриваемых задач. В качестве простейшего примера (одномерный массив данных) рассмотрены вариации состава проявителей для черно-белых негативных фотоматериалов. К более сложным задачам относятся вариации температурных режимов газохроматографического анализа, так как при объединении данных для разных аналитов задача становится двумерной. Еще одним примером большого разброса является токсичность гомологов. И, наконец, подробнее всего рассмотрена аналитически важная проблема выбора операций подготовки проб при определении следов лекарственных препаратов в плазме крови на основании физико-химических характеристик определяемых соединений.

¹ Спектры ионных серий объединяют данные для отдельных гомологов в усредненные характеристики гомологических рядов [7].

ВЫБОР ИСХОДНЫХ ДАННЫХ И ПОДГОТОВКА ПРОБ К АНАЛИЗУ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ)

Общая характеристика четырех рассматриваемых примеров. Для исключения поиска и сравнения информации из недостаточно систематизированных источников разного времени издания сведения о составе проявителей для черно-белых негативных фотоматериалов (пример 1) заимствованы из руководства [10], относящегося к периоду большого разнообразия как самих негативных фотоматериалов, так и рецептов растворов для их обработки (1964 г.). В качестве источника сведений о режимах газохроматографического анализа с программированием температуры для пяти аналитов (нитробензол, бензонитрил, 2-хлорфенол, 1,4-диметоксибензол и 1,3,5-трихлорбензол) выбрана база данных Национального института стандартов и технологии (NIST, США) (сайт <http://webbook.nist.gov>) [11], содержащая подробные сведения обо всех соединениях, индексы удерживания которых в нее включены (пример 2). Выбранные параметры включают начальную температуру (T_0 , °C), продолжительность начального изотермического участка ($t(T_0)$, мин) и скорость нагрева (r , град/мин). Данные о токсичности (величины LD₅₀, пример 3) 1-алканолов C₃–C₁₂ заимствованы из различных литературных источников [12–18]. Многие из них содержат дублирующие друг друга значения LD₅₀, выявление и отбраковку которых не проводили. И, наконец, описания процедур подготовки проб лекарственных препаратов (51 соединение различной химической природы) резюмированы на основании оригинальных публикаций и данных, полученных в ЗАО “Биокад” (см. ниже) (пример 4). Экспериментальные данные, соответствующие каждому из рассматриваемых примеров, и необходимые ссылки приведены в табл. 1–4, номера которых согласованы с номерами примеров. Значения факторов гидрофобности ($\lg P$) и степени связывания лекарственных препаратов с белками указаны на сайте Drugbank [62].

Подготовка проб к анализу. Данные табл. 4, соответствующей последнему рассматриваемому примеру и содержащей сведения об операциях подготовки проб плазмы крови для ВЭЖХ-определения лекарственных препаратов, дополнены информацией для нескольких препаратов, методики анализа которых разработаны в ЗАО “Биокад” (Санкт-Петербург). Их стандартные растворы с концентрацией 1 мг/мл готовили растворением навесок анализируемых субстанций в подвижной фазе (состав растворовителей соответствовал начальным составам элюентов в режимах градиентного элюирования). В качестве матрицы для приготовления модельных растворов использовали плазму крови здоровых добровольцев,

Таблица 1. Содержание компонентов в некоторых метол-гидрохиноновых проявителях для негативных черно-белых фотоматериалов (по данным [10])

Тип проявителя	Содержание компонентов, г/л					
	метол	гидрохинон	сульфит натрия (кристаллический)	карбонат натрия (безводный)*	бромид калия	прочие добавки
НП-1	2.5	2.5	60	5	0.5	—
Подкрепляющий раствор к НП-1	7	10	60	20	—	—
НП-2	1	5	52	20	1	—
НП-3	5	6	80	40	3	—
Контрастный	—	30	120	—	20	19 (NaOH)
Контрастный КЦ-1	2	10	104	40	4	—
Для высоких температур	6	—	180	—	2	23 (бура), 100 (Na ₂ SO ₄)
Мелкозернистый НП-15	2	5	200	—	—	2 (бура)
Подкрепляющий раствор к НП-15	3	7.5	200	—	—	20 (бура)
Стандартный	8	—	250	5.75	2.5	—
НП-19А	10	—	120	90	2	—
Мелкозернистый Д-23	7.5	—	200	—	—	—
ДК-20	5	—	200	—	0.5	2 (бура), 1 (KNCS)
Для выравнивания контраста изображения	5	6	40	25	4.5	—
Для исправления недодержек	14	14	50	—	9	9 (NaOH)
Для увеличения светочувствительности	1	5	52	20	1	0.2 (сульфат гидразина), 0.01 (бензотриазол)
Для передержанных фотоматериалов	7	—	50	12	5	—
Для быстрого проявления	5	45	180	—	10	40 (NaOH), 1 (бензотриазол)
Средние значения ± s	5 ± 4	8 ± 12**	120 ± 70	15 ± 23**	4 ± 5**	—
Асимметрия выборок (A)	1.6	3.5	1.5	2.3	2.9	—

* В более поздних рецептурах проявителей гигроскопичный карбонат натрия заменен негигроскопичным карбонатом калия (коэффициент пересчета количеств 1.30).

** Компоненты, для которых стандартные отклонения превышают средние арифметические значения их содержания в растворе.

хранящуюся в замороженном виде при температуре не выше -70°C .

Образцы для ВЭЖХ-анализа готовили по одной из следующих схем. 1). Жидкостно-жидкостную экстракцию (ЖЖЭ) проводили путем добавления к аликвотам образцов экстрагента (1 : 3), полученные растворы перемешивали, центрифугировали, органические экстракты упаривали в токе азота, сухие остатки вновь растворяли в подвижной фазе. 2). Для осаждения белков плазмы крови в качестве осадителя использовали ацетонитрил в соотношении 1 : 3; полученные растворы перемешивали, центрифугировали, надоса-

дочные слои переносили в вials для хроматографического анализа. 3) Твердофазную экстракцию (ТФЭ) проводили с использованием картриджей (Oasis, Waters, США); наносили на них пробы и пропускали через картриджи различные растворители для элюирования примесей и целевых аналитов по отдельности. 4) Для фильтрации белков плазмы использовали центрифужные ультрафильтры Amicon® Ultra 3K (Millipore, США). В пробирки с фильтрами вносили заданные объемы образцов, центрифугировали; прошедшие через мембраны количества растворов отбирали для хроматографического анализа.

Таблица 2. Сравнение параметров температурных режимов газохроматографического анализа некоторых органических соединений (по данным [11]).

Соединение	T_0 , °C	$t(T_0)$, мин	r , град/мин	Соединение	T_0 , °C	$t(T_0)$, мин	r , град/мин
Нитробензол	40	0	5	1,4-Диметоксибензол	60	2	10
	60	1	5		60	5	3
	75	0	6		35	3	4
	50	2	8		60	1	6
	40	1	10		40	7	6
Средние значения	55 ± 13	1 ± 1	7 ± 2		60	0	3
Бензонитрил	0	12	12		40	5	3
	40	0	5		70	2	3
	40	0	3		35	4	2
	50	0	2.5		60	0	4
	50	0	6		50	0	4
	35	2	2		70	5	4
Средние значения	36 ± 19	2 ± 5	5 ± 4		80	0	3
2-Хлорфенол	40	0	3		50	2	3
	35	0	8		40	10	3
	50	0	10	Средние значения	54 ± 14	3 ± 3	4 ± 2
	50	0	5	1,3,5-Трихлорбензол	50	0	2
	50	4	6		50	0	2
	100	0	10		100	0	10
	100	0	2		100	0	5
	100	0	6		50	0	10
	100	0	10		50	0	5
	100	0	5		30	0	1
	50	0	10		80	0	2
	50	0	5		80	0	3
	50	3	3		40	3	2
	80	0	2	80	0	2	
	50	2	8	50	5	5	
40	3	8	Средние значения	63 ± 23	1 ± 2	4 ± 3	
50	4	6					
Средние значения	64 ± 25	1 ± 2	6 ± 3				

Общие средние значения: $T_0 = (57 \pm 22)^\circ\text{C}$ ($A = 1.6$), $t(T_0) = (2 \pm 3)$ мин ($A = 2.5$), $r = (5 \pm 3)$ град/мин ($A = 1.7$).

Во всех перечисленных примерах исходная информация отличалась значительной вариабельностью, а разброс числовых данных настолько велик, что какая-либо коррекция единичных значений в подобных массивах (выявление выбросов) [63] представляется невозможной. Для статистической обработки исходных данных и построения графиков использовали ПО ORIGIN (версии 4.1 и 8.1). Именно значительная вариабельность исходных данных ограничивает применение более сложных методов их интерпретации

(факторный или кластерный анализ). Кроме того, во всех примерах число доступных значений недостаточно для корректного применения таких методов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Особенности компонентного состава метол-гидрохиноновых проявителей для негативных черных фотоматериалов. Начать рассмотрение совокупностей данных с большим разбросом целе-

Таблица 3. Некоторые данные по токсичности 1-алканолов C₃–C₁₂ (LD₅₀, мг/кг, перорально; отсутствие указания животного соответствует использованию крыс)

1-Алканол	LD ₅₀	Источник
1-Пропанол	1870 2160, 2800 (кролик), 1870 1870, 5700 (для человека) 4400, 7000 2825 (кролик), 6800 (мышь), 1870, 2200	SDS* (Thermo Fisher Scientific, 2018) PubChem SDS (ChemSupply, Australia) SDS (Thermo Fisher Scientific) SDS (ACC № 01356)
Среднее значение (A)	3400 ± 2000 (2.2)	
1-Бутанол	2680, 2510, 2020, 790, 1200 (хомяк), 2500 (птица), 3500 (кролик), 1782 (собака) 4360, 2290, 2510, 2020, 790, 2680 (мышь), 3500 (кролик), 1200 (хомяк), 1782 (собака) 700, 790 2292, 3430 (кролик) 790–4360 2500, 3400 (кролик), 790, 2680 (мышь), 3484, 2500 (птица) 1200 (хомяк), 2680 (мышь), 3400 (кролик), 3500 (кролик), 2100, 800–2000, 700 2292 (крыса) 2290, 2510, 2680 (мышь), 3500 (кролик), 1200 (хомяк), 1782 (собака), <2000	[12] [13] SDS (Thermo Fisher Scientific) SDS (Carl Roth, 2021) PubChem SDS (Sigma-Aldrich) [14] [15] [16]
Среднее значение (A)	2200 ± 1000 (0.90)	
1-Пентанол	200 (мышь). 370 >2000 >2000 3645 3670, 200 (мышь) >2000 2200–3000 2200, 3600, 140–4585	SDS (Thermo Fisher Scientific) SDS (Carl Roth) SDS (Acros Organics) SDS (Agilent) SDS (Sigma-Aldrich) SDS (ChemSupply, Australia) SDS (Calderon Lab Chemicals) [17]
Среднее значение (A)	2100 ± 1500 (0.97)	
1-Гексанол	1950 (мышь) 720, >2000 4590, 4870, 103–4870 200–2000 500–5000 >2000	[12] SDS (Carl Roth) [17] [18] SDS (Cameo Chemicals) ChemBook
Среднее значение (A)	2400 ± 1900 (1.8)	
1-Гептанол	3250, 6200, 5500, 500–6200 4300 (мышь) 1870 500 (кролик), >2000 500	[17] PubChem SDS (Cameo Chemicals) ChemBook Green Chemistry
1-Октанол	>3200 >5000, 1790 →>5000 >2000	[12] [11] ChemBook
1-Нонанол	3560, 800–6400	[17]
1-Деканол	4720, 1000–5000	[17]
1-Ундеканол	3000, 3000→15800**	[17]
1-Додеканол	>2000, 1500–26530**	[17]

* SDS (Safety Data Sheet) или MSDS (Material Safety Data Sheet) – обозначение веб-сайтов различных фирм, содержащих токсикологические характеристики химических соединений.

** Аномально большие значения LD₅₀, исключенные при графическом представлении данных (рис. 2).

Таблица 4. Основные характеристики операций подготовки проб некоторых лекарственных препаратов в зависимости от их факторов гидрофобности ($\lg P$) (оединения расположены по убыванию расчетных значений $\lg P$ (ChemAxon))

Название	Мол. масса	CAS №	$\lg P$	Связывание с белками плазмы, %	Вариант подготовки проб*, ссылка	Литература
Everolimus	958	159351-69-6	7.4 (ChemAxon)	~74%	ЖЖЭ**	
Eltrombopag	443	496775-61-2	6.03 (ChemAxon)	~99%	Осаждение	[19]
Atorvastatin	559	134523-00-5	5.39 (ChemAxon) 6.36 (эксп)	~98%	ЖЖЭ	[20]
Bosentan	552	147536-97-8; 157212-55-0 (моногидрат)	4.94 (ChemAxon) 3.7 (эксп)	~98%	Осаждение**	
Dapoxetine	305	119356-77-3	4.67 (ChemAxon)	~99%	ЖЖЭ	[21]
Vinorelbine	779	71486-22-1	4.65 (ChemAxon) 4.0 (эксп)	~90%	ЖЖЭ	[22]
Simeprevir	750	923604-59-5	4.56 (ChemAxon)	~99%	ЖЖЭ	[23]
Loratadine	383	79794-75-5	4.55 ChemAxon	99%	ЖЖЭ	[24]
Pyronaridine	518	74847-35-1	4.22 (ChemAxon)	~92%	ЖЖЭ	[25]
Nateglinide	317	105816-04-4	4.03 ChemAxon	~98%	Микро-ЖЖЭ	[26]
Abiraterone	392	154229-18-2	3.97 (ChemAxon)	~99%	ЖЖЭ**	
Chloroquine	320	54-05-7	3.93 (ChemAxon) 4.63 (эксп)	~74%	Осаждение	[25]
Gefitinib	447	184475-35-2	3.75 (ChemAxon) 3.2 (эксп)	~90%	ЖЖЭ**	
Crizotinib	450	877399-52-5	3.57 (ChemAxon)	~91%	Осаждение	[27, 28]
Pazopanib	438	444731-52-6 635702-64-6 (гидрохлорид)	3.55 (ChemAxon) 3.2 (эксп)	~99%	Осаждение**	
Mycophenolic acid	320	24280-93-1	3.53 (ChemAxon) 2.8 (эксп)	~98%	ЖЖЭ	[29]
Canagliflozin	444	842133-18-0	3.52 (ChemAxon)	~99%	ЖЖЭ	[30]
Artemether	298	71963-77-4	3.48 (ChemAxon)	~95%	Осаждение	[25]
Olanzapine	312	132539-06-1	3.39 (ChemAxon)	~ 93%	ЖЖЭ	[31]
Asunaprevir	748	630420-16-5	3.37 (ChemAxon)	~ 99%	ЖЖЭ	[32]
Bupropion	276	34911-55-2	3.27 (ChemAxon) 3.6 (эксп)	~85%	ЖЖЭ	[33]
Erlotinib	393	183321-74-6	3.2 (ChemAxon)	~95%	Осаждение**	
Stiripentol	234	49763-96-4	3.12 (ChemAxon)	~99%	ЖЖЭ	[34]
					Осаждение	[35]
Diazepam	285	439-14-5	3.08 (ChemAxon)	~98%	ЖЖЭ	[36]
Sunitinib	398.5	557795-19-4	2.93 (ChemAxon)	~95%	ЖЖЭ	[37]
Docetaxel	808	114977-28-5	2.92 (ChemAxon) 2.4 (эксп)	~97%	ЖЖЭ	[38]

Таблица 4. Окончание

Название	Мол. масса	CAS №	lgP	Связывание с белками плазмы, %	Вариант подготовки проб*, ссылка	Литература
Fluvoxamine	318	54739-18-3	2.8 (ChemAxon) 3.2 (эксп)	~80%	ЖЖЭ	[39]
Gilteritinib	553	1254053-43-4	2.79 ChemAxon	~94%	ТФЭ	[40]
Retigabine	303	150812-12-7	2.7 (ChemAxon)	~80%	ЖЖЭ	[41]
Eslicarbazepine acetate	296	236395-14-5	2.17 (ChemAxon)	~40%	Осаждение + + высаливание	[42]
Teriflunomide	270	163451-81-8	2.14 (ChemAxon) 1.536 (эксп)	~99%	Осаждение**	
Dapagliflozin	409	461432-26-8	2.11 (ChemAxon) 2.7 (эксп)	~91%	ЖЖЭ	[30]
Oxcarbazepine	252	28721-07-5	1.82 (ChemAxon)	~40%	ЖЖЭ	[43]
Empagliflozin	451	864070-44-0	1.66 (ChemAxon)	~86%	ЖЖЭ	[30]
Dolutegravir	419	1051375-16-6	1.1 (ChemAxon)	~99%	Осаждение + ТФЭ	[44]
Doxorubicin	544	23214-92-8	0.92 (ChemAxon)	~74%	Осаждение	[45]
Monomethyl fumarate	130	2756-87-8	0.34 (ChemAxon)	~40%	Осаждение**	
Zonisamide	212	68291-97-4	0.11 (ChemAxon) 0.5 (эксп)	~40%	ЖЖЭ	[46, 47]
Cisplatin***	300	15663-27-1	-2.19 (Hansch, 1995) -0.04 (ALOGPS)	~95%	Дериватизация + + ЖЖЭ	[48]
Mercaptopurine	152	50-44-2	-0.12 (ChemAxon)	~19%	Осаждение	[49]
Sulthiame	290	61-56-3	-0.27 (ChemAxon)	~60%	Осаждение	[50]
Didanosine	236	69655-05-6	-0.35 (ChemAxon)	~5%	ТФЭ	[51]
Metronidazole	171	443-48-1	-0.46 (ChemAxon)	~20%	Осаждение	[52]
Isoniazid	137	54-85-3	-0.69 (ChemAxon)	~10%	Осаждение	[53]
Lenalidomide	259	191732-72-6	-0.71 (ChemAxon) -0.4 (эксп)	~30%	Осаждение**	
Entecavir	277	142217-69-4 209216-23-9 (моногидрат)	-1.4 (ChemAxon) -0.8 (эксп)	~13%	Ультрафильтрация**	
Cytarabine	243	147-94-4	-2.8 (ChemAxon) -2.8 (эксп)	~13%	Катионообменная ТФЭ	[54]
Azacitidine	244	320-67-2	-3.1 (ChemAxon) -3.5 (эксп)	N/A	Ионообменная ТФЭ Осаждение	[55] [56]
Tigecycline	585.6	220620-09-7	-3.9 (ChemAxon) 0.8 (эксп)	~89%	Осаждение	[57]
Ceftazidime	547	72558-82-8	-4.1 (ChemAxon)	~10%	Ультрафильтрация	[58]
Meropenem	384	96036-03-2	-4.4 (ChemAxon) -0.6 (эксп)	~2%	Осаждение ТФЭ	[59, 60] [61]

* Аббревиатуры операций подготовки проб: ЖЖЭ – жидкостно-жидкостная экстракция, ТФЭ – твердофазная экстракция.

** Ссылки не указаны для препаратов, охарактеризованных в ЗАО “Биокад”.

*** Неорганическое комплексное соединение; экспериментальные значения lgP неизвестны.

сообразно с одномерных массивов, для которых применима обычная статистическая обработка. По современным представлениям наилучшие результаты обработки фотоматериалов обеспечивает строгое воспроизведение условий, в том числе состава растворов, продолжительности обработки и ее температурного режима (максимальная стандартизация). Однако 50–60 лет назад ситуация была принципиально иной: для многочисленных негативных фотоматериалов (с разной спектральной чувствительностью) использовали большое число проявителей различного назначения, в том числе нормальных (стандартных), мелкозернистых, контрастных, для снижения контраста, для увеличения светочувствительности, для передержанных фотоматериалов, для высоких температур обработки и т.д. Все такие проявители различались сочетаниями компонентов и их содержанием. Если ограничиться только метол-гидрохиноновыми проявителями² для негативных фотоматериалов, то содержание компонентов в 19 из них по данным руководства [10] приведено в табл. 1.

Назначение такого многообразия составов в том, чтобы в зависимости от особенностей конкретного фотоматериала или условий съемки выбрать оптимальный вариант его обработки. Однако можно представить иную вполне реальную ситуацию: тип фотоматериала, особенности его экспозиции и, следовательно, априорные требования к обработке неизвестны. Иными словами, здесь мы имеем дело с иной формулировкой исходной гипотезы. В подобных случаях выбор конкретной рецептуры проявителя из числа ранее известных явно нерационален, и, следовательно, требуется изменение логической схемы действий. Из неопределенности формулировки задачи следует предпочтительное использование рецептуры, состав которой соответствует усредненным количествам всех компонентов (средние арифметические значения приведены в последней строке табл. 1).

Вариации содержания отдельных компонентов (размах) весьма велики и составляют 0–14 (метол), 0–45 (гидрохинон), 40–250 (сульфит натрия), 0–90 (карбонат натрия) и 0–20 г/л (бромид калия). Неудивительно, что для некоторых из них (гидрохинон, карбонат натрия и бромид калия) формальное вычисление стандартных отклонений приводит к величинам, превышающим их средние арифметические значения. Для двух остальных компонентов относительные стандартные отклонения (коэффициенты вариации) составляют 80% (метол) и 58% (сульфит натрия). Если стандартное отклонение некоторой величины больше ее среднего значения, то в практике

математической обработки результатов измерений [64] это означает, что такая величина статистически незначима, и ее можно полагать равной нулю. Однако применительно к рассматриваемой задаче подобная интерпретация неприемлема и должна быть изменена: это подтверждает возможность отсутствия такого компонента в составе проявителя в отдельных случаях.

Если рассматриваемые наборы данных $\{x_i\}$ очевидно асимметричны (как в данном случае), то они могут быть охарактеризованы фактором асимметрии (A). Один из способов оценки этого параметра подразумевает независимое вычисление двух стандартных отклонений. Первое характеризует данные, превышающие среднее арифметическое значение, $s(+)$, а второе соответственно меньшие, $s(-)$. Их отношение $A = s(+)/s(-)$ и является характеристикой асимметрии [65]. В нашем случае все значения A (указаны в последней строке табл. 1) значительно превышают единицу (от 1.5 до 3.5). Это типично для всех массивов данных, ограниченных “снизу” нулем, тогда как “сверху” таких ограничений нет.

Подобный разброс данных по составу проявителей заслуживает комментариев. Прежде всего, он соответствует некоторой среднестатистической рецептуре. Если рассмотреть 11 перечисленных в табл. 1 конкретных составов, то вычисленные средние значения лучше всего соответствуют проявителям НП-3 и “для выравнивания контраста изображения”. Кроме того, небезынтересно заметить, что если оценить точность задания требуемых количеств ингредиентов “на глаз” приблизительно как ± 50 отн. %, то стандартные отклонения полученных средних значений превышают эту величину. Это означает, что при приготовлении подобных проявителей вполне можно исключить такую операцию, как взятие точных навесок компонентов, что тем не менее обеспечивает вполне приемлемый уровень качества обработки фотоматериалов.

Как отмечено выше, аналогичные примеры статистической обработки данных, характеризующихся заметным разбросом, встречаются при вычислении масс-спектров ионных серий [7], что определяется характером выбранной гипотезы (решение задач групповой масс-спектрометрической идентификации органических соединений).

Сравнение температурных режимов газохроматографического анализа различных органических соединений. Следующий по сложности пример совокупностей данных, характеризующихся большим разбросом, может быть представлен и как одномерный, и как двумерный массив. Это — параметры газохроматографического разделения различных аналитов с программированием температуры, а именно начальная температура (T_0 , °C), продолжительность начального изотермического

² Метол — сульфат 4-(метиламино)фенола, гидрохинон — 1,4-дигидроксibenзол.

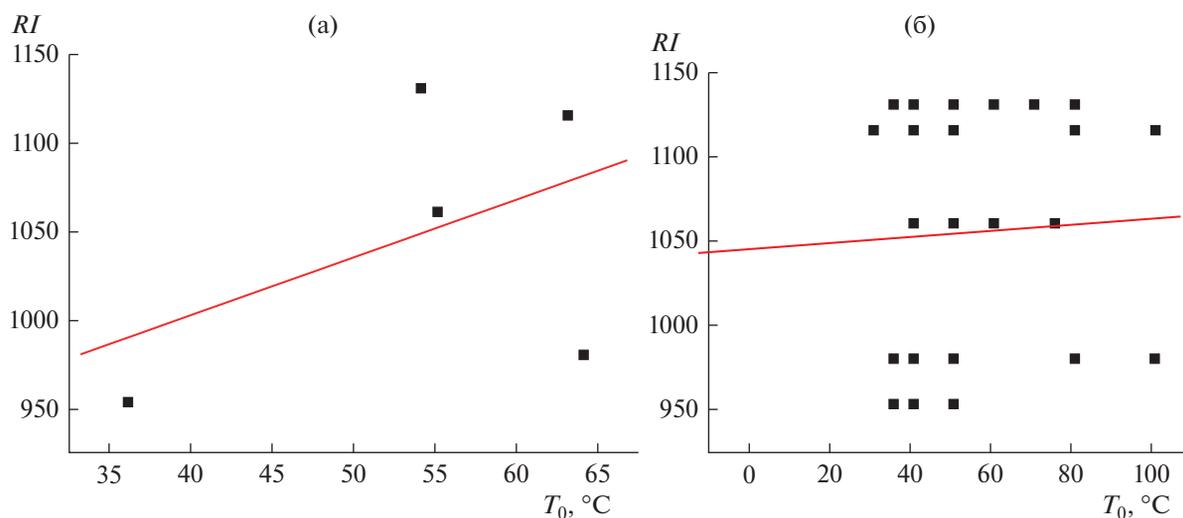


Рис. 1. График, иллюстрирующий отсутствие линейной зависимости индексов удерживания (RI) некоторых аналитов от выбранных для их газохроматографического разделения начальных температур режима программирования (T_0): (а) – для средних значений T_0 , (б) – по всем данным табл. 2. Параметры линейной регрессии $RI = aT_0 + b$: $a = 0.18 \pm 0.45$, $b = 1047 \pm 28$, $R = 0.053$, $S_0 = 73$.

участка ($t(T_0)$, мин) и скорость нагрева (r , град/мин). Подобные сведения из разных источников информации доступны на сайте Национального института стандартов и технологии (NIST, США) (<http://webbook.nist.gov>) [11], где они приведены для всех соединений, охарактеризованных индексами удерживания. Для иллюстрации особенностей такой информации можно выбрать любые соединения, однако для сокращения объема обсуждения ограничимся пятью аналитами: нитробензолом, бензонитрилом, 2-хлорфенолом, 1,4-диметоксибензолом и 1,3,5-трихлорбензолом. Некоторые из значений T_0 , $t(T_0)$ и r для них приведены в табл. 2.

Как и в предыдущем примере, обращают на себя внимание заметные вариации всех характеристик режимов программирования. При этом стандартные отклонения параметров T_0 и r не превышают соответствующих средних величин, чего нельзя сказать о продолжительности начального изотермического участка (r). Из общих положений можно было бы полагать, что начальные температуры T_0 могли бы быть как-то связаны с химической природой аналитов, например, со значениями их индексов удерживания. Однако проверка зависимости $RI - T_0$ показывает, что эти параметры слабо коррелируют между собой (рис. 1) и речь может идти всего лишь о некоторой слабо выраженной тенденции увеличения начальных температур режимов программирования для аналитов с большими индексами удерживания. Особенно это заметно, если предварительно не усреднять значения T_0 , $t(T_0)$ и r для каждого соединения (рис. 1а), а нанести на график точки,

соответствующие всем значениям этих параметров (рис. 1б). Коэффициент корреляции (R) в случае (б) составляет всего 0.075, что подтверждает отсутствие линейной связи переменных.

Если так, то вместо средних значений T_0 , $t(T_0)$ и r для каждого из аналитов вполне можно вычислять и использовать общие средние значения и стандартные отклонения этих аналитических параметров, приведенные в последней строке табл. 2. Поскольку в интервалы $\pm 2s_{RI}$ должно попадать приблизительно 95% значений выборки, то эти данные соответствуют интервалу T_0 от 10 до 100 °C (нет выбросов), $t(T_0)$ до 8 мин (один выброс, 10 мин) и r до 11 град/мин (нет выбросов). Коэффициенты асимметрии (A) всех указанных параметров по той же причине, как и в предыдущем случае составляет от 1.6 до 3.5 (последняя строка табл. 2). Из этого следует достаточно неожиданный вывод: при выборе режимов программирования температуры для различных соединений величины T_0 , $t(T_0)$ и r можно задавать в широких интервалах, что не сказывается на разделении аналитов. Наибольшее, на что может повлиять неоптимальный выбор условий разделения (например, слишком малые значения T_0 , большие $t(T_0)$ и малые r) – это неоправданное увеличение продолжительности анализа. Иногда применительно к выбору режимов разделения можно встретить употребление выражения “разработка методики” (хроматографического анализа или, точнее, разделения). Однако с учетом сделанного вывода относительно больших вариаций параметров T_0 , $t(T_0)$ и r следует признать, что пра-

вильнее было бы говорить о выборе некоторых значений из допустимых диапазонов.

Характеристика токсичности (LD_{50}) гомологов на примере 1-алканолов C_3-C_{12} . Следующий пример также может рассматриваться и как одномерная, и как двумерная совокупность данных. Для значений LD_{50} конкретных соединений обычная статистическая обработка формально возможна (если это согласуется с принятой гипотезой), а сравнение таких данных для нескольких гомологов превращает массив в двумерный, когда для вычисления параметров регрессионных уравнений необходимо применение метода наименьших квадратов. Токсичность различных химических соединений представляют собой одну из их важнейших характеристик, однако ее определение (особенно *in vivo*) представляет собой весьма длительную, трудоемкую и дорогостоящую операцию. Известны многочисленные попытки теоретической оценки параметров токсичности (LC_{50} или LD_{50}), однако поскольку это не является предметом рассмотрения настоящей работы, ограничимся лишь несколькими ссылками [66–70]. При этом важно заметить, что расчетные методы, так или иначе, базируются на экспериментальных данных, но если их разброс велик, то из этого неизбежно следует низкая точность всех получаемых оценок [63].

В табл. 3 приведены некоторые данные по токсичности (LD_{50} , мг/кг, перорально) 1-алканолов C_3-C_{12} для различных теплокровных животных (крыса, кролик, мышь, хомяк, собака, (без уточнения породы), птица (то же) и одно значение для человека (1-пропанол)). И здесь обращает на себя внимание значительный разброс данных. Если попытаться усреднить значения LD_{50} для спиртов C_3-C_6 (охарактеризованы наиболее подробно) по отдельности, то получаем оценки, для которых коэффициенты вариации составляют 45–80% (указаны в табл. 3). Кроме того, примечательно, что выборки данных для спиртов C_4 и C_5 практически симметричны: значения фактора асимметрии для них близки к единице и составляют 0.90 и 0.97 соответственно. Если ограничиться только одним видом животных (подробнее всего представлены крысы), то ситуация с разбросом данных принципиально не изменяется. По этой причине в дальнейшем можно рассматривать всю совокупность объектов без какого-либо дополнительного подразделения. При цитировании литературных источников в табл. 3 использован тот же принцип, что и в публикации [71]: указаны ссылки на конкретные работы, но иногда упомянуты доступные в Интернете SDS-страницы компаний, выпускающих те или иные химические реактивы.

Этот пример позволяет проиллюстрировать, к каким парадоксам может приводить интерпретация данных, характеризуемых высокой вари-

бельностью. Если вычислить средние арифметические значения LD_{50} для каждого из спиртов C_3-C_{12} , то на графике им соответствует гладкая синусоидальная кривая с двумя экстремумами (рис. 2а). Если же рассматривать всю совокупность данных без предварительной обработки (рис. 2б), то их графическое представление иллюстрирует значительный разброс. Авторы не могут не отметить тот факт, что мнения специалистов относительно возможности и невозможности характеристики токсичности гомологов средними значениями разделяются приблизительно в равной пропорции. Однако здесь важно подчеркнуть, что этот выбор также является следствием той или иной исходной гипотезы. Если учесть, что исходные значения LD_{50} для каждого из спиртов получены для разных животных, то их усреднение недопустимо. Если же пренебречь такой информацией, то приемлемо не только усреднение данных для каждого из гомологов, но и для всей их совокупности. В таком случае весь набор значений LD_{50} можно охарактеризовать общим средним значением и его стандартным отклонением: (2600 ± 1600) мг/кг и на основании этого заключить, что имеющиеся данные не подтверждают зависимость токсичности 1-алканолов C_3-C_{12} от числа атомов углерода в молекуле. Этот вывод имеет общий характер: если для линейной регрессии $y = ax + b$ стандартное отклонение коэффициента “ a ” превышает его абсолютную величину, $s_a > |a|$, то следует предпочесть обычное усреднение данных.

Выбор операций подготовки проб при определении лекарственных препаратов в плазме крови в зависимости от их гидрофобно-гидрофильных свойств. Последний рассматриваемый пример обработки и интерпретации данных, характеризующихся большим разбросом, наиболее сложен. Во-первых, он относится к двумерным массивам, причем одну из переменных необходимо выбрать искусственно (ввести ранги операций подготовки проб). Второй фактор – актуальность рассматриваемой проблемы. Определение лекарственных препаратов в биологических жидкостях представляет собой весьма трудоемкую задачу, прежде всего, из-за сложности матрицы и, как следствие, стадии подготовки проб. Поскольку предпочтительным аналитическим методом при решении подобных задач является обращенно-фазовая ВЭЖХ, то на этой стадии необходимо обеспечить не только концентрирование целевых аналитов, но и удаление мешающих компонентов, в первую очередь – белков. Подготовка проб чаще всего включает следующие операции: жидкостно-жидкостную и твердофазную экстракцию, осаждение белковых компонентов, в том числе ультрафильтрацию, ионный обмен и, реже, другие. Выбор и оптимизацию операций подготовки проб (или их

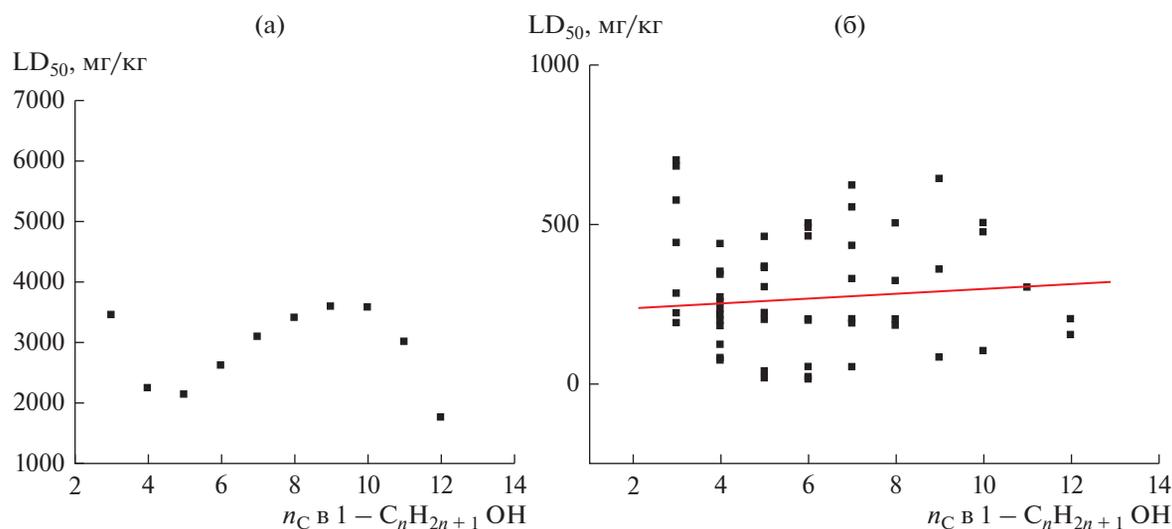


Рис. 2. (а): Графическая иллюстрация зависимости средних арифметических значений LD₅₀ каждого спирта от числа атомов углерода в молекуле 1-алканола; (б): то же для всех исходных данных табл. 3: параметры линейной регрессии (линия тренда) $LD_{50} = an_C + b$: $a = 78 \pm 73$, $b = 2200 \pm 400$, $R = 0.10$, $S_0 = 1600$.

сочетаний) до настоящего времени проводят на основании общих представлений о природе определяемых соединений. Это приводит к большим затратам времени, которые можно было бы минимизировать, если бы удалось связать характер операций подготовки проб с физико-химическими характеристиками аналитов.

Из таких характеристик в первую очередь заслуживают внимания факторы гидрофобности, $\lg P$. Однако экспериментальные значения $\lg P$ известны не для всех характеризующих соединений. Их можно заменить расчетными оценками, в нашем случае вычисленными с использованием ПО ChemAxon [62]. При получении таких оценок из рассмотрения можно исключить значения $\lg P(\text{ChemAxon}) < -2$, так как примеров применения ЖЖЭ для столь гидрофильных соединений нет. Проверка эквивалентности расчетных (указаны в табл. 4 для некоторых препаратов) и экспериментальных величин (13 пар значений), которую иллюстрирует рис. 3, показывает, что коэффициент “ a ” линейной регрессии $\lg P(\text{эксп}) = a \lg P(\text{ChemAxon}) + b$ лишь незначительно меньше единицы (0.89 ± 0.09), а коэффициент “ b ” – статистически незначим (0.27 ± 0.31). Следовательно, экспериментальные и расчетные значения $\lg P$ в некотором приближении можно полагать эквивалентными. Однако средняя точность получаемых оценок невелика, так как значение S_0 для представленной на рис. 3 линейной регрессии составляет 0.69. Кроме того, при использовании расчетных значений $\lg P$ нежелательно использовать значения $\lg P$, вычисленные другими способами (например, с использованием ПО ACD).

В табл. 4 сопоставлены важнейшие условия подготовки проб 51 лекарственного препарата, для каждого из которых указаны молекулярная масса, CAS №, значение $\lg P$ (ChemAxon) и доля препарата, связываемая с белками плазмы. Для каждого варианта подготовки проб приведена ссылка на оригинальную публикацию; отсутствие ссылки (10 препаратов) означает, что методика была разработана и валидирована в ЗАО “Биокад”.

Прежде всего, прокомментируем такую характеристику, как доли аналитов, связываемые с белками плазмы (варьируют от 2 до 99%), что не-

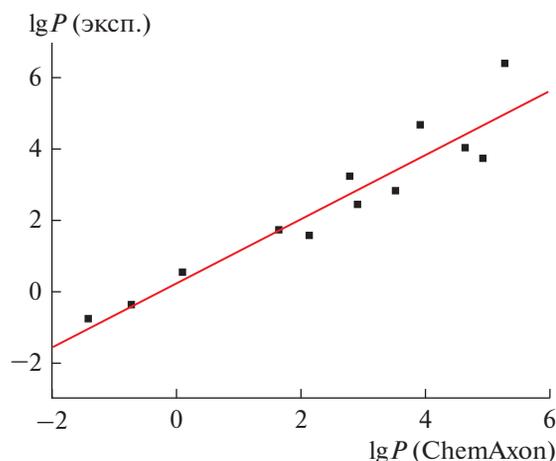


Рис. 3. Корреляция экспериментальных и вычисленных (ChemAxon) значений $\lg P$. Параметры линейной регрессии $\lg P(\text{эксп}) = a \lg P(\text{ChemAxon}) + b$: $a = 0.89 \pm 0.09$, $b = 0.28 \pm 0.31$, $R = 0.944$, $S_0 = 0.69$.

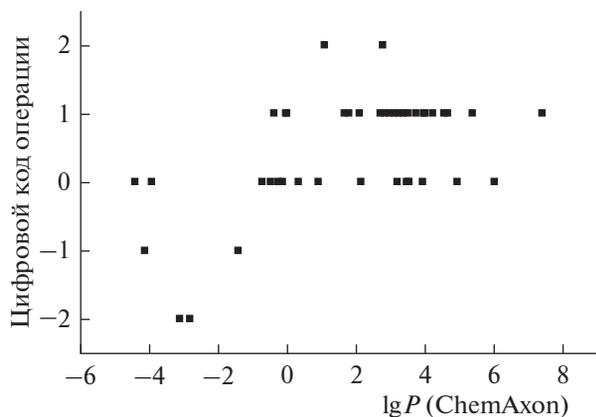


Рис. 4. Графическая иллюстрация корреляции цифровых кодов основных операций подготовки проб при определении следов лекарственных препаратов в плазме крови со значениями $\lg P$ (ChemAxon).

посредственно влияет на их пределы обнаружения. Проверка возможной взаимосвязи этой характеристики с такой операцией подготовки проб, как осаждение белков показывает, что значимой корреляции здесь не наблюдается. Сред-

Операция подготовки проб	ТФЭ	ЖЖЭ	Осаждение	Ультрафильтрация	Ионный обмен
Цифровой код	+2	+1	0	-1	-2

Как и в предыдущих примерах, результаты проверки возможной связи значений $\lg P$ и предлагаемых цифровых кодов нагляднее всего представлять графически (рис. 4). Из рис. 4 следует, во-первых, что два варианта экстракции (ЖЖЭ и ТФЭ) – значительно более популярные способы подготовки проб по сравнению с остальными, что, правда, обусловлено преимущественно гидрофобными свойствами характеризующихся лекарственных препаратов. Однако даже при таком неравномерном распределении точек, как на рис. 4, можно заключить, что при значениях $\lg P > -1$ примеров применения ультрафильтрации и ионного обмена нет или (альтернативная формулировка) на стадии подготовки проб используют только ЖЖЭ или ТФЭ. Операции ЖЖЭ и ТФЭ принципиально неразделимы и выбор между ними определяется, прежде всего, доступностью соответствующего оборудования, материалов и растворителей. Следует отметить, что ЖЖЭ при $\lg P < 0$ принципиально возможна, но существенно сложнее, а примеров применения такой экстракции в области $\lg P < -1$ среди рассматриваемых лекарственных препаратов нет.

нее значение связываемой доли аналита при использовании осаждения составляет $(89 \pm 16)\%$, а при отсутствии этой операции – $(70 \pm 33)\%$ (по данным табл. 4). Таким образом, речь идет лишь о слабо выраженной тенденции, которую можно не принимать во внимание.

Для последующей интерпретации данных различными операциями подготовки проб необходимо присвоить некоторые условные коды (ранги), что позволит применить метод, в некоторой степени сходный с ранговой корреляцией Спирмена. Условно нулевое значение цифрового кода можно приписать операции осаждения белков, так как она по своей сути менее всего имеет отношение к гидрофобно-гидрофильным свойствам целевых аналитов. Для концентрирования наиболее гидрофобных соединений используют ТФЭ (код +2), а в случае менее гидрофобных, когда допустимо использование ЖЖЭ (возможно варьирование растворителей), код можно приравнять +1. Такая операция, как ионный обмен применима только к соединениям, существующим в ионной форме (наиболее гидрофильные, код -2). Тогда процедура ультрафильтрации получает код (-1). Таким образом, получаем следующий набор переменных для ранговой корреляции:

Таким образом, примеры массивов данных, отличающихся большим разбросом, распространены достаточно широко. Самыми сложными представляются примеры вариабельности, обусловленной различиями в природе самих объектов. В таких случаях интерпретация данных осложняется влиянием характера принимаемых аналитических гипотез. Подобные массивы данных с высокими степенями неопределенности нередко исключают из рассмотрения, что не всегда оправданно. Обработке таких данных присущи свои особенности. Одномерные совокупности $\{x_i\}$, как правило, отличаются высокой асимметрией. Большие значения относительных стандартных отклонений $\delta_i = s_x / \langle x \rangle$ могут быть проинтерпретированы как отсутствие необходимости точного контроля значений переменных “ x ”, который можно заменить выбором из широких диапазонов их возможных значений. Условие $s_x > \langle x \rangle$, в отличие от правил обычной статистической обработки, означает не равенство нулю средней величины $\langle x \rangle$, а то, что некоторые из значений $\{x_i\}$ выборки могут быть равными нулю. Если в резуль-

тате обработки некоторых массивов данных методом наименьших квадратов для линейной регрессии $y = ax + b$ стандартное отклонение коэффициента “ a ” превышает его величину ($s_a > |a|$), то следует предпочесть обычное усреднение данных с оценкой $\langle x \rangle \pm s_x$. Вероятностный характер выводов, основанных на данных с высокими степенями неопределенности, как правило, выше, чем для данных с “нормальной” воспроизводимостью. При этом важные заключения могут быть получены даже из самих фактов высокой вариабельности переменных. Так, например, при характеристике зависимости индексов удерживания аналитов в обращенно-фазовой ВЭЖХ от содержания метанола в элюенте, dRI/dc [72], установлено, что эти параметры, в отличие от самих индексов удерживания, не коррелируют со значениями $\lg P$, что позволяет в дальнейшем исключить подобную корреляцию из рассмотрения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аналитическая химия. Т. 3. Химический анализ / Под ред. Москвина Л.Н. Москва: Академия, 2010. 366 с.
2. Guideline on bioanalytical method validation. London: Eur. Med. Agency, 2011. 22 p.
3. The US Pharmacopeia 35. Section Chromatographia / Physical Tests / System Suitability. New York: The USP Convention, 2012. P. 262.
4. Об утверждении правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза. № 85. Астана: Евразийская экономическая комиссия, 2016. 161 с.
5. Adams F., Thomas J.M. Recent advances in analytical spark source mass spectrometry // Phil. Trans. R. Soc. Lond. A. 1981. V. 305. P. 509. <https://doi.org/10.1098/rsta.1982.0048>
6. Becker S., Dietze H.-J. Inorganic mass spectrometric methods for trace, ultratrace, isotope, and surface analysis // Int. J. Mass Spectrom. 2000. V. 197. № 1–3. P. 1. [https://doi.org/10.1016/S1387-3806\(99\)00246-8](https://doi.org/10.1016/S1387-3806(99)00246-8)
7. Зенкевич И.Г., Иоффе Б.В. Интерпретация масс-спектров органических соединений. Л.: Химия, 1986. 176 с.
8. Lochmuller C.H., Hui M. Calculated $\lg k_{ow}$ as a guide for key set mobile phase selection in retention prediction // J. Chromatogr. Sci. 1998. V. 36. P. 11.
9. Hanai T., Koizumi K., Kinoshita T. Prediction of retention factors of phenolic and nitrogen containing compounds in reversed-phase liquid chromatography based on $\lg P$ and pK_a obtained by computational chemical calculation // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 2000. V. 23. P. 363. <https://doi.org/10.1081/JLC-100101457>
10. Яштолд-Говорко В.А. Фотосъемка и обработка. М.: Искусство, 1964. 444 с.
11. NIST 20 (2020) Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH EI MS Library, 2020 Release). Software/Data Version; NIST Standard Reference Database, Number 69, May 2020. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899: <http://webbook.nist.gov> (дата обращения: декабрь 2021 г.).
12. Patochka J., Kuca K. Toxic alcohols: Aliphatic saturated alcohols // Mil. Med. Sci. Lett. 2012. V. 81. № 4. P. 142. <https://doi.org/10.31482/mml.2012.022>
13. *n*-Butyl Alcohol. CAS No: 71-36-3. SIDS Initial Assessment Report. Bern: UNEP Publ. 2001. 14 p.
14. Butanols: Four isomers. Environ. Health Criteria no. 65. New York: World Health Organization, 1987. 76 p.
15. ГОСТ 30333-2007. Паспорт безопасности химической продукции. Общие требования. М.: Изд. стандартов, 2008. 8 с.
16. Substance Evaluation Conclusion for Butan-1-ol. EC No. 200-751-6. Budapest: Ministry for Human Capacities, 2018. 33 p.
17. Case study on the use of integrated approaches for testing and assessment of 90-day rat oral repeated-dose toxicity for selected *n*-alkanols: read across. OECD Environ. Health and Safety Publ. No. 273. Paris: Organization for Economic Co-operation and Development, 2017. 44 p.
18. Вурыч А., Вурыч Г. Databook of Solvents. 2nd Ed. Amsterdam: Elsevier, 2019. 800 p.
19. Yanagimachi N., Obara N., Sakata-Yanagimoto M., Chiba S., Doki K., Homma M. A simple HPLC assay for determining eltrombopag concentration in human serum // Biomed. Chromatogr. 2021. V. 35. № 5. Article e5049. <https://doi.org/10.1002/bmc.5049>
20. Bahrami G., Mohammadi B., Mirzaeei S., Kiani A. Determination of atorvastatin in human serum by reversed-phase high-performance liquid chromatography with UV detection // J. Chromatogr. B. 2005. V. 826. № 1–2. P. 41. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2005.08.008>
21. Said R., Arafat B., Arafat T. High performance liquid chromatography – Mass spectrometric bioanalytical method for the determination of dapoxetine in human plasma: Application for bioequivalence study // J. Chromatogr. B. 2020. V. 1149. P. 122. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122154>
22. Qian J., Wang Y., Chang J., Zhang J., Wang J., Hu X. Rapid and sensitive determination of vinorelbine in human plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry and its pharmacokinetic application // J. Chromatogr. B. 2011. V. 879. № 9. P. 662. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.01.039>
23. Vanwelkenhuysen I., de Vries R., Timmerman P., Verhaeghe T. Determination of simeprevir: A novel, hepatitis C protease inhibitor in human plasma by high-performance liquid chromatography–tandem mass spec-

- trometry // *J. Chromatogr. B.* 2014. V. 958. P. 43.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.02.028>
24. Patel B. N., Sharma N., Sanyal M., Shrivastav P. S. LC-MS-ESI for the determination of loratadine and des-carboethoxyloratadine in human plasma // *J. Chromatogr. Sci.* 2010. V. 48. № 1. P. 35.
<https://doi.org/10.1093/chromsci.48.1.35>
25. Casas M., Hansen M., Krogh K., Styrihave B., Björklund E. Analytical sample preparation strategies for the determination of antimalarial drugs in human whole blood, plasma and urine // *J. Chromatogr. B.* 2014. V. 962. P. 109.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.02.048>
26. Hammad M., Kamal A., Kannouma R., Mansour F. Vortex-assisted dispersive liquid–liquid microextraction coupled with deproteinization for determination of nateglinide in human plasma using HPLC/UV // *J. Chromatogr. Sci.* 2021. V. 59 № 3. P. 297.
<https://doi.org/10.1093/chromsci/bmaa096>
27. Qiu F., Gu Y., Wang T., Gao Y., Li X., Gao X., Cheng S. Quantification and pharmacokinetics of crizotinib in rats by liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *Biomed. Chromatogr.* 2016. V. 30. P. 962.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10040221>
28. Wong A., Xiang X., Ong P., Mitchell E., Syn N., Wee I., Kumar A., Yang W., Sethi G., Goh B., Ho P., Wang L. A review of liquid chromatography – tandem mass spectrometry methods for rapid quantification of oncology drugs // *Pharmaceutics.* 2018. V. 10. № 4. P. 221.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10040221>
29. Bahrami G., Mohammadi B. An isocratic high performance liquid chromatographic method for quantification of mycophenolic acid and its glucuronide metabolite in human serum using liquid–liquid extraction: Application to human pharmacokinetic studies // *Clin. Chim. Acta.* 2006. V. 370. № 1–2. P. 185.
<https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.02.017>
30. Mabrouk M., Soliman S., El-Agizy H., Mansour F. Ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction for determination of three gliflozins in human plasma by HPLC/DAD // *J. Chromatogr. B.* 2020. V. 1136.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.121932>
31. Aravagiri M., Ames D., Wirshing W.C., Marder S.R. Plasma level monitoring of olanzapine in patients with schizophrenia: Determination by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection // *Ther. Drug Monit.* 1997. V. 19. № 3. P. 307.
<https://doi.org/10.1097/00007691-199706000-00011>
32. Yuan L., Jiang H., Ouyang Z., Xia Y., Zeng J., Peng Q., Lange R., Deng Y., Arnold M., Aubry A. A rugged and accurate liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of asunaprevir, an NS3 protease inhibitor, in plasma // *J. Chromatogr. B.* 2013. V. 921. P. 81.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.01.029>
33. Lobo K, Gross A, Ray J, McLachlan A. HPLC assay for bupropion and its major metabolites in human plasma // *J. Chromatogr. B.* 2005. V. 823. № 2. P. 115.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2005.06.009>
34. Peigné S., Chhun S., Tod M., Rey E., Rodrigues C., Chiron C., Pons G., Jullien V. Population pharmacokinetics of stiripentol in paediatric patients with dravet syndrome treated with stiripentol, valproate and clobazam combination therapy // *Clin Pharmacokinet.* 2018. V. 57. № 6. P. 739.
<https://doi.org/10.1007/s40262-017-0592-7>
35. Takahashi R., Imai K., Yamamoto Y. Determination of stiripentol in plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection // *Jpn. J. Pharm. Health Care Sci.* 2015. V. 41. P. 643.
<https://doi.org/10.5649/jjphcs.41.643>
36. Rouini M., Ardakani Y., Moghaddam K., Solatani F. An improved HPLC method for rapid quantitation of diazepam and its major metabolites in human plasma // *Talanta.* 2008. V. 75. № 3. P. 671.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.11.060>
37. Minkin P., Zhao M., Chen Z., Ouwerkerk J., Gelderblom H., Baker S.D. Quantification of sunitinib in human plasma by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B.* 2008. V. 874. P. 84.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2008.09.007>
38. Wang L, Goh B, Grigg M, Lee S, Khoo Y, Lee H. A rapid and sensitive liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for determination of docetaxel in human plasma // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2003. V. 17. № 14. P. 1548.
<https://doi.org/10.1002/rcm.1091>
39. Bahrami G., Mohammadi B. Rapid and sensitive bioanalytical method for measurement of fluvoxamine in human serum using 4-chloro-7-nitrobenzofurazan as pre-column derivatization agent: Application to a human pharmacokinetic study // *J. Chromatogr. B.* 2007. V. 857. № 2. P. 322.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2007.07.044>
40. Yasu T., Sugi T., Momo K., Hagihara M., Yasui H. Determination of the concentration of gilteritinib in human plasma using HPLC // *Biomed. Chromatogr.* 2021. V. 35. № 4. Article e5028.
<https://doi.org/10.1002/bmc.5028>
41. Perez H., Boram S., Evans C. Development and validation of a quantitative method for determination of retigabine and its N-acetyl metabolite; overcoming challenges associated with circulating labile N-glucuronide metabolites // *Anal. Methods.* 2015. V. 7. № 2. P. 723.
<https://doi.org/10.1039/C4AY02599G>
42. Mohamed F., Ali M., Marwa F.B., Rageh A., Mostafa A. A highly sensitive HPTLC method for estimation of oxcarbazepine in two binary mixtures with two metabolically related antiepileptic drugs: Application to pharmaceutical and biological samples // *Microchem. J.* 2019. V. 146. P. 414. /
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.01.031>
43. Wang L., Wang J., Zhang J., Jiang Q., Zhao L., Zhang T. Simultaneous determination of topiramate, carbamaz-

- epine, oxcarbazepine and its major metabolite in human plasma by SFC-ESI-MS/MS with polarity switching: Application to therapeutic drug monitoring // *Arab. J. Chem.* 2019. V. 12. № 8. P. 4775.
<https://doi.org/10.1016/j.arabjch.2016.09.016>
44. Charbe N., Baldelli S., Cozzi V., Castoldi S., Cattaneo D., Clementi E. Development of an HPLC–UV assay method for the simultaneous quantification of nine antiretroviral agents in the plasma of HIV-infected patients // *J. Pharm. Analysis.* 2016. V. 6. № 6. P. 396.
<https://doi.org/10.1016/J.JPHA.2016.05.008>
45. Dharmalingam S.R., Ramamurthy S., Chidambaram K., Nadaraju S. A Simple HPLC bioanalytical method for the determination of doxorubicin hydrochloride in rat plasma: Application to pharmacokinetic studies // *Tropical J. Pharm. Res.* 2014. V. 13. № 3. P. 409.
<https://doi.org/10.4314/tjpr.v13i3.15>
46. Lourenço D., Sarraguça M., Alves G., Coutinho P., Araújo A., Rodrigues M. A novel HPLC method for the determination of zonisamide in human plasma using microextraction by packed sorbent optimized by experimental design // *Anal. Methods.* 2017. V. 9. № 40. P. 5910.
<https://doi.org/10.1039/C7AY01912B>
47. Majnooni M.B., Mohammadi B., Jalili R., Bahrami G.H. Rapid and sensitive high performance liquid chromatographic determination of zonisamide in human serum application to a pharmacokinetic study // *Indian J. Pharm. Sci.* 2012. V. 74. № 4. P. 360.
<https://doi.org/10.4103/0250-474X.107073>
48. Kaushik K., Sripuram V., Bedada S., Reddy N., Priyadarshini G., Devarakonda K. A simple and sensitive validated HPLC method for quantitative determination of cisplatin in human plasma // *Clin. Res. Reg. Affairs.* 2010. V. 27. № 1. P. 1.
<https://doi.org/10.3109/10601330903490462>
49. Naik K., Nandibewoor S. RP-HPLC Method for the Estimation of 6-mercaptopurine in spiked human plasma and pharmaceutical formulations // *J. Anal. Chem.* 2013. V. 68. № 12. P. 1212.
<https://doi.org/10.7868/S0044450213120049>
50. Madej K., Paprotny Ł., Wianowska D., Kasprzyk J., Herman M., Piekoszewski W. A fully validated HPLC–UV method for determination of sulthiame in human serum/plasma samples // *Biomed. Chromatogr.* 2021. V. 35. № 3. Article e5002.
<https://doi.org/10.1002/bmc.5002>
51. Hemasree S., Sumadhuri B., Murthy T. Quantization of didanosine in human plasma using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *J. Adv. Pharm. Edu. Res.* 2013. V. 3. № 3. P. 187
52. Galmier M., Frasey A., Bastide M., Beyssac E., Petit J., Aiache J., Lartigue-Mattei C. Simple and sensitive method for determination of metronidazole in human serum by high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. App.* 1998. V. 720. № 1–2. P. 239.
[https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(98\)00443-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(98)00443-5)
53. Dasht Bozorg B., Goodarzi A., Fahimi F., Tabarsi P., Shahsavari N., Kobarfard F., Dastan F. Simultaneous determination of isoniazid, pyrazinamide and rifampin in human plasma by high-performance liquid chromatography and UV detection // *Iran. J. Pharm. Res.* 2019. V. 18. № 4. P. 1735.
<https://doi.org/10.22037/ijpr.2019.1100849>
54. Hilhorst M., Hendriks G., van Hout M., Sillén H., van de Merbel N. HPLC–MS/MS method for the determination of cytarabine in human plasma // *Bioanalysis.* 2011. V. 3. № 14. P. 1603.
<https://doi.org/10.4155/bio.11.140>
55. Anders N., Wanjiku T., He P., Azad N., Rudek M. A robust and rapid liquid chromatography tandem mass spectrometric method for the quantitative analysis of 5-azacytidine // *Biomed. Chromatogr.* 2016. V. 30. № 3. P. 494.
<https://doi.org/10.1002/bmc.3562>
56. European Medicines Agency / Assessment report for vidaza (international nonproprietary name: azacytidine) // № 593162. 2008. P. 1.
57. D’Avolio A., Peila E., Simiele M., Pensi D., Baietto L., Cusato J., Cinnirella G., De Rosa F., Di Perri G. Ultra performance liquid chromatography PDA method for determination of tigecycline in human plasma // *Ther. Drug Monit.* 2013. V. 35. № 6. P. 853.
<https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e31829403b1>
58. Bergman J., Harvill L., Hawkins S., Sladky K., Cox S. Determination of ceftazidime in plasma by RP-HPLC and ultraviolet detection // *Biomed. Chromatogr.* 2021. V. 35. № 7. Article e5104.
<https://doi.org/10.1002/bmc.5104>
59. Dincel D., Sagirli O., Topcu G. A high-performance liquid chromatographic method for the determination of meropenem in serum // *J. Chromatogr. Sci.* 2020. V. 58. № 2. P. 144.
<https://doi.org/10.1093/chromsci.bmz087>
60. Paal M., Zoller M., Schuster C., Vogeser M., Schütze G. Simultaneous quantification of cefepime, meropenem, ciprofloxacin, moxifloxacin, linezolid and piperacillin in human serum using an isotope-dilution HPLC–MS/MS method // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2018. V. 152. P. 102.
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.01.031>
61. Roth T., Fiedler S., Mihai S., Parsch H. Determination of meropenem levels in human serum by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection // *Biomed. Chromatogr.* 2017. V. 31. № 5.
<https://doi.org/10.1002/bmc.3880>
62. Электронный ресурс: <https://go.drugbank.com/drugs> (дата обращения: ноябрь 2021 г.).
63. Зенкевич И.Г. Контроль, коррекция и восстановление значений физико-химических свойств органических соединений с использованием рекуррентных зависимостей // *Журн. физ. химии.* 2021. Т. 95. № 5. С. 700.
<https://doi.org/10.1134/S0036024421040294>

64. *Линник Ю.В.* Метод наименьших квадратов и основы теории обработки наблюдений. М.: Физматгиз, 1958. 334 с.
65. *Зенкевич И.Г.* Модификация параметра “стандартное отклонение” для выявления и характеристики асимметричных выборок данных // Вестн. СПбГУ. Сер. физ.-хим. 1998. Вып. 2. С. 84.
66. *Wu K., Wei G.-W.* Quantitative toxicity prediction using topology based multitask deep neural networks // J. Chem. Soc. Int. Model. 2018. V. 58. № 2. P. 520. <https://doi.org/10.1021/acs.jvum.7b00558>
67. *Pu L., Naderi M., Liu T., Wu H.-C., Mukhopadhyay S., Brylinski M.* eToxPred: A machine learning-based approach to estimate the toxicity of drug candidate // Pharmacol. Toxicol. Online version: <https://doi.org/10.1186/s40360-018-0282-6>
68. *Semenova E., Lazic S.E.* A Bayesian neural network for toxicity prediction // Computat. Toxicol. 2020. V. 16. P. 100. <https://doi.org/10.1016/j.comtox.2020.100133>
69. *Xia X.* Drug efficacy and toxicity prediction: An innovative application of transcriptomic data // Cell Biol. Toxicol. 2020. Online version: <https://doi.org/10.1007/s10565-020-09552-2>
70. *Rim K.-T.* In silico prediction of toxicity and its application for chemicals at work // Toxicol. Environ. Health Sci. 2020. V. 15. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s13530-020-00056-4>
71. *Зенкевич И.Г., Никитина Д.А., Деруиш А.* Особенности образования и хроматографического детектирования гидратов органических соединений // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 4. С. 331. <https://doi.org/10.1134/S1061934821040146>
72. *Зенкевич И.Г., Деруиш А.* Аналитические аспекты зависимости индексов удерживания органических соединений в обращенно-фазовой ВЭЖХ от содержания метанола в составе элюента // Аналитика и контроль. 2022. Т. 26. № 1. С. 41. <https://doi.org/10.15826/analitika.2022.26.1.004>

УДК 543.39

СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММАРНОГО СОДЕРЖАНИЯ ОДНОТИПНЫХ АНАЛИТОВ С ПОМОЩЬЮ ОБРАЩЕННЫХ МНОГОМЕРНЫХ ГРАДУИРОВОК

© 2022 г. И. В. Власова^а, *, В. И. Вершинин^а^аОмский государственный университет им. Ф.М. Достоевского
просп. Мира, 55а, Омск, 644077 Россия

*e-mail: vlaso-iri@yandex.ru

Поступила в редакцию 01.02.2022 г.

После доработки 11.02.2022 г.

Принята к публикации 13.02.2022 г.

Для спектрометрического определения суммарного содержания (c_{Σ}) однопипных веществ в объектах окружающей среды и пищевых продуктах применяют обращенные многомерные градуировки. Они представляют c_{Σ} в виде суммы обобщенных сигналов (A_j), измеренных при разных длинах волн (λ_j) и домноженных на соответствующие регрессионные коэффициенты (k_j). Значения k_j находят с помощью хемометрических алгоритмов, исходя из спектров поглощения смесей известного состава, входящих в обучающую выборку. При аддитивном светопоглощении смесей такой способ группового анализа дает довольно точные результаты. Возможность определять этим способом суммарные содержания аналитов, имеющих неаддитивное поглощение, не очевидна и не изучена. Цель данного исследования – проверка применимости обращенных градуировок при неаддитивном светопоглощении аналитов. В качестве модельных объектов использовали смеси комплексных соединений Cu, Co, Ni, Zn и Pb с фотометрическим реагентом 4-(2-пиридилазо)резорцином (ПАР). Водные растворы этих комплексов при pH 10 имеют довольно близкие спектры поглощения с максимумами в области 490–530 нм. Установлено, что в спектрах поглощения многих растворов, содержащих ионы указанных металлов и избыток ПАР, наблюдаются статистически значимые (до 30 отн. %) положительные отклонения от аддитивности. Для построения обращенной градуировки использовали 14 смесей с известным суммарным содержанием металлов (c_{Σ} от 8 до 25 мкмоль/л), светопоглощение измеряли при шести длинах волн. МНК-оценки регрессионных коэффициентов находили с помощью программы Microsoft Excel. По полученной градуировке рассчитывали значения c_{Σ} для смесей из тест-выборок. Относительные погрешности определения c_{Σ} не превышали 8 отн. % при $s_r < 4\%$, причем систематические погрешности статистически незначимы. Дальнейшее увеличение числа АДВ и объема обучающей выборки не приводило к существенному снижению погрешностей. Таким образом, обращенные градуировки применимы для определения суммарных содержаний однопипных веществ не только при аддитивном, но и при неаддитивном светопоглощении пробы.

Ключевые слова: групповой анализ, многоволновая спектрофотометрия, обращенные многомерные градуировки, суммарное содержание металлов, отклонения от аддитивности светопоглощения.

DOI: 10.31857/S0044450222110159

Для спектрометрического определения суммарного содержания (c_{Σ}) однопипных веществ, например аренов или полифенолов, применяют многомерные градуировки [1]. Этот способ дает лучшие результаты, чем использование интегральных показателей [2]. Как показано в нашем предыдущем сообщении [3], в групповом анализе применяют линейные многомерные градуировки двух типов.

Градуировки первого типа (“традиционные градуировки”) – развитие классического метода Фиордта [4]. Их общая формула $(A_{\Sigma})_j = \sum k_{ij} c_i$, где

$(A_{\Sigma})_j$ – обобщенный сигнал присутствующих в пробе аналитов искомой группы при j -ой длине волны, k_{ij} – коэффициент поглощения i -го аналита при j -ой длине волны, c_i – концентрация i -го аналита. Значения c_i рассчитывают с помощью хемометрических алгоритмов, а затем суммируют. Примером может быть анализ гексановых растворов, содержащих от 3 до 6 аренов [3]. Измерения проводили на 11 аналитических длинах волн (АДВ) в УФ-области спектра. Коэффициенты поглощения индивидуальных аренов определяли по их однокомпонентным модельным

растворам. Значения c_i рассчитывали методом множественной линейной регрессии (МЛР). Суммирование найденных c_i приводило к довольно точным оценкам c_{Σ} ; в интервале значений c_{Σ} от 0.1 до 0.5 мг/л относительная погрешность оценки не превышала 5 отн. %. Условием применимости таких методик является аддитивность светопоглощения смесей аналитов. Главный недостаток градуировок первого типа – трудоемкость составления матрицы коэффициентов поглощения для всех используемых АДВ. Как правило, число АДВ превышает число аналитов в пробе. В настоящей работе градуировки первого типа не применяли.

Градуировки второго типа (обращенные градуировки) отвечают общей формуле $c_{\Sigma} = \sum k_j A_j$. Они связывают суммарное содержание аналитов исходной группы с их обобщенными сигналами (A_{Σ}), измеренными при разных АДВ. Коэффициенты поглощения аналитов не определяют, значения c_i не вычисляют и не суммируют, а регрессионные коэффициенты k_j заранее находят по спектрам модельных смесей с известными значениями c_{Σ} , образующим обучающую выборку. Для расчетов часто используют хемометрический алгоритм PLS и пакет программ “Unscrambler” [5]. Можно применять и другие алгоритмы (MLR, OLS), реализуемые с помощью более доступных программ [6]. Методики определения суммарного содержания однотипных аналитов с помощью обращенных градуировок приведены, например, в статьях [6–9] и нормативных документах [10, 11]. Разработать такие методики проще и быстрее, чем составлять градуировки первого типа. Дело в том, что при построении обращенных градуировок число АДВ может быть меньше ожидаемого числа аналитов в пробе [1]. Так, суммарное содержание множества углеводов в водах определяют, используя всего три АДВ [11]. При аддитивном светопоглощении применение обращенных градуировок дает весьма точные результаты группового анализа [8, 9]. Возможность применения обращенных градуировок для определения суммы аналитов, имеющих неаддитивное светопоглощение, не изучена.

Поскольку в обучающую выборку вводят модельные смеси, состав которых близок к ожидаемому составу пробы, отклонения от аддитивности (ΔA_j) при фотометрировании пробы должны быть примерно такими же, как и при фотометрировании градуировочных смесей, что должно приводить к компенсации погрешностей. Поэтому при использовании обращенных градуировок отклонения от аддитивности не должны сильно влиять на результаты анализа. Это предположение следовало проверить в ходе анализа смесей однотипных и устойчивых веществ, поглощающих свет в одной и той же области спектра. Светопоглощение этих веществ должно подчиняться

закону Бугера–Ламберта–Бера, а в спектрах смесей должны проявляться отклонения от аддитивности.

Перечисленным требованиям отвечают комплексные соединения, образующиеся при взаимодействии ионов металлов с фотометрическими реагентами, например окрашенные комплексы катионов Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} и Pb^{2+} с неселективным фотометрическим реагентом 4-(2-пиридилазо)резорцином (ПАР). Их состав отвечает стехиометрическим формулам MR и MR_2 , комплексы устойчивы ($\lg \beta_1 > 10$) и имеют высокие молярные коэффициенты поглощения ($n \times 10^4$ л моль⁻¹ см⁻¹) [12]. Известно, что светопоглощение смесей, одновременно содержащих разные металлы и избыток ПАР, может быть неаддитивным [13]. Это обстоятельство определило выбор объектов данного исследования.

Цель настоящего исследования – оценка аналитических возможностей обращенных многомерных градуировок при определении суммарного содержания однотипных аналитов по их неаддитивному светопоглощению. Положительный результат проверки позволит разрабатывать экспрессные методики анализа реальных объектов и определять с их помощью суммарные содержания тяжелых металлов, антиоксидантов, белков и других аналитов, светопоглощение которых нередко неаддитивно [4].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исходные водные растворы, содержащие (порознь) нитраты меди, цинка, никеля, кобальта и свинца на уровне 10^{-3} – 10^{-2} М, готовили из реактивов квалификации х. ч. Концентрацию этих растворов уточняли, проводя комплексонометрическое титрование по стандартным методикам [14]. Рабочие растворы солей каждого металла готовили в день эксперимента, разбавляя исходные дистиллированной водой в 10 раз. Исходный раствор ПАР (6.67×10^{-3} М) готовили по точной навеске реактива марки х. ч. Одно- и многокомпонентные окрашенные растворы, содержащие металлы в виде их соединений с ПАР, готовили в день эксперимента в мерной колбе емк. 100.0 мл. Для этого вводили заранее рассчитанные объемы рабочих растворов, содержащих ионы металлов, затем 1.50 мл раствора ПАР, 10 мл децимолярного аммиачного буферного раствора (рН 10.0), довели до метки дистиллированной водой, перемешивали и через 15–20 мин фотометрировали. Приготовление и фотометрирование каждого раствора повторяли трижды. Молярные соотношения разных металлов в многокомпонентных растворах (“смесях”) не превышали 20 : 1. Суммарные содержания металлов в таких смесях на-

ходились в диапазоне от 8 до 25 мкмоль/л. Примеры смесей приведены в табл. 1.

Общая концентрация ПАР во всех приготовленных смесях составляла 100 мкмоль/л, т.е. ПАР всегда находился в избытке. Тривиальные расчеты, учитывающие состав образующихся комплексов, показывают, что концентрация свободного ПАР во всех смесях была не ниже 50 мкмоль/л, что в отсутствие конкурирующих реакций обеспечивает полное связывание металлов. При pH 10 в водных растворах ПАР доминирует реакционноспособная форма – анионы HR^- [12]. Всего было приготовлено более 50 пятикомпонентных смесей, из которых формировали обучающую выборку, включавшую 14 смесей. В отдельных опытах использовали обучающие выборки другого объема (от 8 до 20 смесей). Из оставшихся смесей были сформированы две тест-выборки, содержавшие 12 и 36 смесей.

Спектры поглощения окрашенных растворов регистрировали на спектрофотометре СФ-2000-01 в области 300–600 нм с шагом 1 нм. Использовали кварцевые кюветы толщиной 1.0 см. Раствор сравнения – дистиллированная вода + аммиачный буферный раствор. Как правило, измеряли оптические плотности растворов при шести АДВ (485, 490, 495, 500, 505 и 510 нм). Поглощение избытка ПАР в этой области длин волн намного меньше, чем поглощение комплексов (рис. 1). При фотометрировании растворов вводили поправки на поглощение холостого раствора с той же концентрацией ПАР, но без металлов. Скорректированные результаты повторных измерений усредняли. Результат фотометрирования i -ой смеси на j -ой АДВ обозначали символом A_{ij} . В дополнительных опытах использовали другие наборы АДВ, содержавшие от 4 до 11 АДВ. При всех АДВ повторные измерения оптической плотности одного раствора характеризовались величиной $s_r \approx 0.5\%$, а измерения оптической плотности повторно приготовленных растворов давали $s_r \approx 1.5\%$.

Аддитивность поглощения смесей металлов при выбранных АДВ проверяли по методике [15]. Абсолютные значения отклонений от аддитивности (ΔA) находили, вычитая из оптической плотности модельной смеси (A_Σ) сумму скорректированных оптических плотностей (ΣA) растворов, содержащих компоненты смеси (окрашенные комплексы) по отдельности, в соответствующих концентрациях. Абсолютные (ΔA) и относительные (δA) значения отклонений от аддитивности светопоглощения при выбранной АДВ рассчитывали по формулам

$$\Delta A = A_\Sigma - \Sigma A, \quad (1)$$

$$\delta A = \frac{A_\Sigma - \Sigma A}{\Sigma A} \times 100\%. \quad (2)$$

Таблица 1. Состав (c_i , мкмоль/л) некоторых модельных смесей

Номер смеси	Cu ²⁺	Co ²⁺	Zn ²⁺	Ni ²⁺	Pb ²⁺	c_Σ
1	0.95	2.44	2.81	2.06	0.53	8.79
2	0.97	0.97	1.05	7.04	0.99	11.02
3	3.01	3.01	3.03	2.98	0.51	12.53
4	5.89	0.98	6.06	0.99	0.83	14.74
5	0.97	6.98	6.99	0.99	0.30	16.24
6	6.01	6.01	1.98	1.99	0.39	16.39
7	6.01	6.98	1.05	1.99	0.81	16.84
8	6.98	6.98	1.05	0.99	0.99	17.00
9	6.01	6.01	6.06	1.99	0.39	20.47
10	6.98	6.98	6.99	0.99	0.30	22.25

Абсолютное значение отклонения сопоставляли с утроенным стандартным отклонением при фотометрировании повторно приготовленных смесей при данной АДВ. Отклонения считали статистически значимыми, если $|\Delta A| > 3s$.

Регрессионные коэффициенты (k_j) рассчитывали при шести АДВ по усредненным значениям A_{ij} N растворов, составлявших обучающую выборку. Как правило, $N = 14$. Переопределенную систему из N линейных уравнений вида $(c_\Sigma)_i = \sum k_j A_{ij}$ решали методом наименьших квадратов (МНК) с применением пакета Microsoft Excel (Анализ данных → Регрессия). МНК-оценки регрессионных коэффициентов включали в искомую градуировку, которую затем использовали

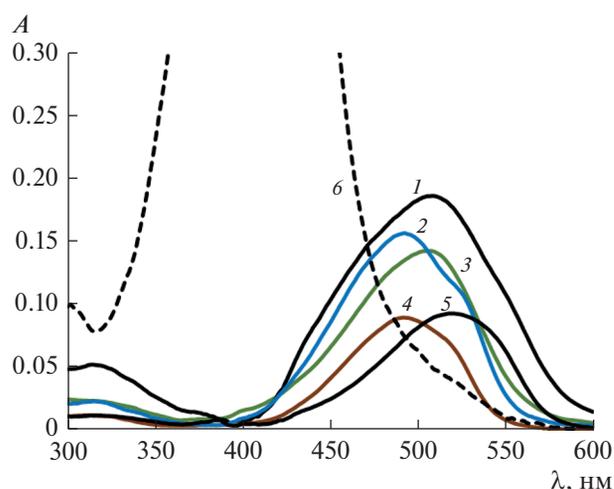


Рис. 1. Спектры поглощения водных растворов, содержащих ионы металлов (порознь), избыток ПАР и аммиачный буферный раствор (pH 10). Концентрации, мкмоль/л: 1 – $c_{Co} = 3.01$; 2 – $c_{Ni} = 2.98$; 3 – $c_{Cu} = 3.01$; 4 – $c_{Zn} = 3.03$; 5 – $c_{Pb} = 2.51$; 6 – $c_{ПАР} = 100$. Кривые 1–5 скорректированы с учетом поглощения ПАР.

Таблица 2. Характеристики градуировочных зависимостей при определении ионов металлов в однокомпонентных ПАР-содержащих растворах

Ион металла	λ , нм	Диапазон линейности, мкмоль/л	Градуировочная зависимость	R
Cu^{2+}	500	1–18	$A = 0.004 + 0.0378c$	0.999
Co^{2+}	520	1–20	$A = 0.017 + 0.0600c$	0.999
Zn^{2+}	500	1–7	$A = 0.004 + 0.0549c$	0.997
Ni^{2+}	500	1–7	$A = 0.009 + 0.0513c$	0.993
Pb^{2+}	500	0.3–38	$A = 0.005 + 0.0290c$	0.998

для анализа смесей из тест-выборок. Результаты анализов далее обозначены символом c_{Σ}^* . Значения c_{Σ}^* , полученные для повторно приготовленных проб одинакового состава, обрабатывали по стандартному алгоритму Стьюдента ($n = 3$, $P = 0.95$), записывали в виде доверительных интервалов, а затем рассчитывали относительную погрешность (δc , %) и относительное стандартное отклонение (s_r , %) данной выборки. Обобщенную погрешность анализа смесей из тест-выборки характеризует параметр RMSEP, выраженный в мкмоль/л:

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=t} (c_{\Sigma}^* - c_{\Sigma})^2}{t}}, \quad (3)$$

где t – общее число проанализированных смесей (объем тест-выборки), $1 \leq i \leq t$. По той же формуле рассчитывали обобщенную погрешность градуировки (RMSEC), обрабатывая данные по обучающей выборке. Данный способ оценки обоб-

щенных погрешностей широко применяют при использовании многомерных градуировок [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Спектры однокомпонентных растворов. Спектры поглощения растворов, содержащих разные металлы (по отдельности) и избыток ПАР, довольно близки (рис. 1). Наблюдается не только наложение спектров, но и линейная корреляция взятых попарно спектральных кривых. Так, для спектров поглощения комплексов Pb и Co в области 400–600 нм коэффициент линейной корреляции (R) равен 0.958.

Доминирующие при pH 10 комплексы исследуемых металлов имеют максимальное светопоглощение в области 480–530 нм, что совпадает с литературными данными [12]. По нашим данным, молярные коэффициенты поглощения разных комплексов при фиксированной длине волны различаются не более чем в два раза. Низкая селективность аналитических сигналов способствует точной спектрометрической оценке суммарного содержания металлов.

Светопоглощение комплексов ПАР с металлами подчиняется закону Бугера–Ламберта–Бера, коэффициенты линейной корреляции для всех одномерных градуировок превышают 0.99 (табл. 2). Искривления градуировок для Ni^{2+} и Zn^{2+} наблюдаются, начиная с концентрации 7 мкмоль/л. Для других металлов диапазоны линейности градуировок намного шире. Содержание любого из индивидуальных металлов во всех модельных смесях находилось в границах их диапазонов линейности.

Спектры поглощения смесей и отклонения от аддитивности. Спектры поглощения разных модельных смесей довольно похожи друг на друга (рис. 2).

Для определения суммарного содержания металлов наиболее пригодна область 480–530 нм. При меньших длинах волн измерению сигналов мешает сильное поглощение избытка реагента

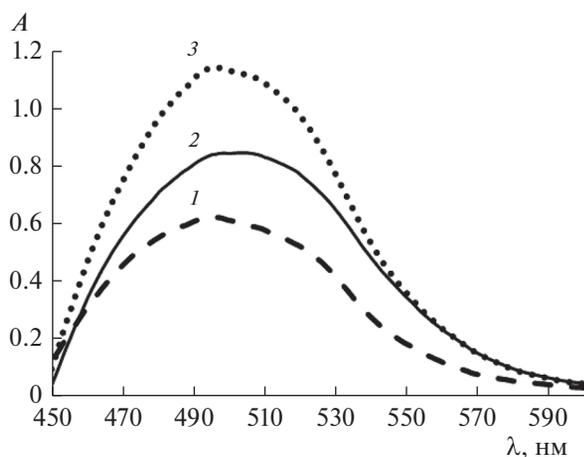


Рис. 2. Спектры поглощения растворов, содержащих смеси металлов и избыток ПАР. 1 – смесь № 1, 2 – смесь № 6, 3 – смесь № 9. Составы смесей и значения c_{Σ} приведены в табл. 1.

Таблица 3. Отклонения от аддитивности светопоглощения некоторых модельных смесей из обучающей выборки

Номер смеси	λ , нм	A_{Σ}	ΣA	ΔA	δA , отн. %
2	490	0.663	0.526	0.137	26
	500	0.668	0.525	0.143	27
	510	0.616	0.484	0.132	27
3	490	0.735	0.565	0.170	30
	500	0.750	0.579	0.171	30
	510	0.716	0.558	0.158	28
7	490	0.822	0.824	-0.002	-0.2
	500	0.874	0.865	0.009	1.0
	510	0.862	0.862	0.000	0.0

(см. рис. 1, кривая б), при больших длинах волн снижается чувствительность определения металлов.

Аддитивность светопоглощения модельных смесей проверяли при трех АДВ. Значения δA , вычисленные для единичной смеси на разных АДВ, были близки между собой. Для разных смесей значения δA существенно различались. В качестве примера в табл. 3 представлены данные по трем смесям. Большая часть проверенных смесей имела статистически значимые отклонения от аддитивности светопоглощения (пример – смеси №№ 2 и 3). Эти отклонения были положительными и достигали 30% от ΣA . Для нескольких смесей отклонения оказались статистически незначимыми (пример – смесь № 7). Такие смеси были выявлены и в составе обучающей выборки (3 смеси из 14), и в составе тест-выборок. Спектры поглощения “аддитивных” и “неаддитивных” смесей по своему виду были одинаковыми. Образование в системе металлы–ПАР и “аддитивных”, и “неаддитивных” смесей является ее интересной особенностью. Очевидно, на величину δA влияют даже небольшие различия в составе модельных смесей (качественный состав всех смесей был одинаков, но соотношения компонентов существенно различались).

Причиной выявленных отклонений могло быть образование димерных комплексов, однако типичной для этого механизма тенденции к снижению δA при уменьшении c_{Σ} мы не наблюдали. Действительные причины неаддитивности светопоглощения в системе металлы–ПАР пока не выявлены. Этот вопрос интересен в теоретическом отношении, но он не связан с целью данной работы и требует специального изучения с применением бинарных смесей разного состава.

Определение суммарного содержания металлов по многомерной градуировке. При использовании обучающей выборки из 14 пятикомпонентных смесей и измерении значений A_{ij} при шести АДВ мы получили градуировку:

$$c_{\Sigma}^* = -79.35A_{485} + 96.57A_{490} - 43.27A_{495} - 0.10A_{500} + 21.31A_{505} + 20.32A_{510}. \quad (4)$$

Подстановка в формулу (4) набора значений A_{ij} для любого из приготовленных модельных растворов приводит к значениям c_{Σ}^* , близким к c_{Σ} . Например, для смеси № 17

$$c_{\Sigma}^* = -79.2 \times 0.967 + 96.57 \times 0.984 - 43.27 \times 0.986 - 0.10 \times 0.961 + 21.31 \times 0.917 + 20.32 \times 0.867 = 12.81.$$

Этот результат близок к действительному значению c_{Σ} этой смеси (13.46 мкмоль/л), но занижен на 4.8%. Результаты и погрешности анализа всех смесей из малой тест-выборки (12 смесей) приведены в табл. 4. Погрешности δc (%) были как положительными, так и отрицательными, по модулю они не превышали 8 отн.%. Величина RMSEP равна 0.51 мкмоль/л. Так как среднее значение c_{Σ} по этой выборке составляло 15.85 мкмоль/л, относительная величина RMSEP равна 3.2%. Аналогичные, но чуть худшие результаты были получены и для большой тест-выборки (36 смесей). В этом случае единичные погрешности изредка доходили до 10 отн. %, а величина RMSEP составляла 0.73 мкмоль/л, т.е. 4.8% от среднего значения c_{Σ} . Для сравнения укажем, что обобщенная погрешность градуировки (RMSEC) составляет 0.81 мкмоль/л, т.е. обобщенные погрешности для всех выборок являются величинами одного порядка.

Как отмечают авторы обзора [16], метрологические характеристики методик анализа, основанных на применении многомерных градуировок, недостаточно исследованы. В частности, почти не изучена прецизионность результатов анализа и их устойчивость к случайным погрешностям исходных измерений. Для изучения сходности результатов группового анализа в настоящем исследовании в формулу (4) подставляли

Таблица 4. Результаты (мкмоль/л) и погрешности анализа модельных смесей из малой тест-выборки

Номер смеси	c_{Σ}	c_{Σ}^*	Доверительный интервал c_{Σ}^*	Δc	$\delta c, \%$	$s_r, \%$
15	11.02	10.25	9.2–11.2	–0.77	–7.0	3.7
16	11.39	11.72	11.3–12.3	0.33	2.9	1.6
17	13.46	12.81	12.0–13.7	–0.65	–4.8	2.7
18	14.74	14.61	13.5–15.7	–0.13	–0.9	3.0
19	15.49	14.99	14.0–16.0	–0.50	–3.2	2.7
20	16.39	15.41	14.3–16.6	–0.98	–6.0	3.0
21	16.49	16.61	15.9–17.3	0.12	0.7	1.5
22	16.97	16.39	15.2–17.7	–0.58	–3.4	3.0
23	17.00	17.29	16.7–17.9	0.29	1.7	1.4
24	17.89	18.05	17.8–18.3	0.16	0.9	0.5
25	18.94	18.77	18.6–19.0	–0.17	–0.9	0.5
26	20.47	20.06	19.7–21.5	–0.41	–2.0	2.5

полученные при фотометрировании повторно приготовленных растворов (неусредненные) значения A_{ij} . Полученные результаты повторных анализов статистически обрабатывали, предполагая нормальное распределение вариантов. Относительные стандартные отклонения ($s_r, \%$) для единичных выборок (см. последний столбец в табл. 5) доходили до 4 отн. %. Проверка по критерию Кохрена [17] показала статистическую однородность соответствующих дисперсий, что позволяет их усреднять. Среднее значение s_r для смесей из малой тест-выборки равно 2.2%. Границы доверительных интервалов рассчитывали для уровня значимости $\alpha = 0.05$ по формуле Стьюдента. Для всех проб из малой тест-выборки действительные значения c_{Σ} находились внутри соответствующих доверительных интервалов, т.е. систематические погрешности анализа модельных смесей были статистически незначимыми. Это подтверждает адекватность обращенной градуировки (4) и ее применимость для определения суммарного содержания металлов. Продолжительность анализа единичной пробы по готовой градуировке не превышает 10 мин, применение компьютера в данном случае не обязательно (достаточно калькулятора). Компьютер нужен лишь для расчета обращенной градуировки. Отметим, что переход к другому спектрофотометру может привести к изменению исходных данных для построения градуировки. Поэтому не следует использовать готовые градуировки типа (4), в каждой лаборатории их следует рассчитывать заново, используя те же приборы и реагенты, которые будут здесь применяться для группового анализа реальных объектов.

Влияние объема обучающей выборки и числа аналитических длин волн на точность оценки c_{Σ} .

Как показано выше, единичные погрешности оценки c_{Σ} с помощью градуировки (4) для неаддитивных модельных смесей обычно не превышают 8 отн. %. При аддитивном светопоглощении смесей аналитов погрешности оценки c_{Σ} с помощью обращенных градуировок иногда удается снизить до (3–5)% [9]. Чтобы снизить погрешности группового анализа, наши предшественники рекомендовали увеличивать объем обучающей выборки [1, 8], увеличивать число АДВ [6, 9] или менять способ расчета регрессионных коэффициентов [7]. Можно также перейти к измерениям в другой области длин волн [18] или использовать спектрометры более высокого класса, обеспечивающие прецизионность исходных данных.

В ходе настоящего исследования сначала меняли объем обучающей выборки (N) при неизменном наборе АДВ. Результаты показаны в верхней части табл. 5. Во второй серии опытов меняли число АДВ (m) при неизменном объеме обучающей выборки. Так как расстояние между соседними АДВ при этом не менялось ($\Delta\lambda = 5$ нм), увеличение числа АДВ приводило к небольшому расширению интервала длин волн, используемому для построения обращенной градуировки. Результаты этих опытов приведены в нижней части табл. 5. Во всех случаях рассчитывали результаты и погрешности анализа одного и того же набора модельных смесей (большая тест-выборка). Значения RMSEP выражали как в мкмоль/л, так и в процентах от среднего значения c_{Σ} в тест-выборке. Любое изменение N или m приводило к изменению регрессионных коэффициентов, т.е. к новой обращенной градуировке. Однако результаты группового анализа модельных смесей с применением новой градуировки почти не отличались от прежних, как и погрешности анализа. Есте-

Таблица 5. Влияние объема обучающей выборки (N) и числа аналитических длин волн на обобщенную погрешность (RMSEP) оценки суммарного содержания металлов по однотипным многомерным градуировкам

N	Диапазон АДВ, нм	Число АДВ	RMSEP	
			мкмоль/л	% от c_{Σ}
8	485–510	6	1.57	10.4
10	485–510	6	1.19	7.9
12	485–510	6	1.14	7,5
14	485–510	6	0.73	4.8
20	485–510	6	0.72	4.7
14	490–505	4	0.86	5.7
14	480–500	5	0.73	4.8
14	485–510	6	0.73	4.8
14	480–510	7	0.89	5.9
14	480–530	11	1.22	8.1

ственно, обобщенные погрешности (значения RMSEP) менялись намного меньше, чем единичные.

Полученные нами данные подтвердили желательность увеличения объема обучающей выборки (при прочих постоянных условиях). При увеличении N от 7 до 14 величина RMSEP монотонно снижалась, а далее почти не менялась. Подтвердилась и зависимость точности группового анализа от числа используемых АДВ. При постоянном объеме выборки (N = 14) минимальные значения RMSEP получали при повышении числа АДВ до 5–6. Дальнейшее увеличение числа АДВ ухудшало результаты анализа модельных смесей. Это не соответствует рекомендациям других авторов [9 и др.]. Вероятно, причиной повышения RMSEP при использовании 10–11 АДВ является одновременное расширение спектрального интервала, используемого в ходе группового анализа.

* * *

Подводя итоги, укажем, что поставленные цели исследования в основном достигнуты. На примере комплексов разных металлов с ПАР доказано, что обращенные градуировки можно применять для определения суммарного содержания однотипных аналитов даже при их неаддитивном светопоглощении. Альтернативные варианты анализа (применение интегральных показателей или прямых градуировок традиционного типа) в подобных случаях приводят к большим систематическим погрешностям [19, 20]. В данном случае этого не наблюдалось. Хотя все отклонения от аддитивности светопоглощения в системе металлы–ПАР были положительными, а по модулю доходили до 30 отн. %, единичные погрешности группового анализа разных проб имели разные

знаки, а по модулю не превышали 8–10 отн. %. При оптимальном способе построения градуировки систематическая составляющая общей погрешности для всех проб оказалась статистически незначимой.

Известные приемы повышения точности группового анализа (повышение числа АДВ и объема обучающей выборки) не привели к дальнейшему снижению погрешностей. Для определения суммы металлов с помощью обращенной градуировки мы рекомендуем первоначально выбранный вариант ее построения. А именно, измерять оптические плотности 14 модельных смесей при шести АДВ в области 485–510 нм, а затем находить МНК-оценки регрессионных коэффициентов, решая переопределенную систему линейных уравнений с помощью программы Microsoft Excel. Состав модельных смесей из обучающей выборки должен быть близок к ожидаемому составу пробы. Вероятно, дальнейшее снижение погрешностей может быть достигнуто в результате применения алгоритма PLS и специализированного программного обеспечения, а также путем увеличения числа АДВ при неизменной ширине используемого интервала длин волн.

Возможность группового анализа “неаддитивных” смесей с применением обращенных градуировок открывает путь к разработке методик определения суммы тяжелых металлов в объектах окружающей среды и пищевых продуктах. Хотя ПДК тяжелых металлов сильно различаются, экспрессная методика определения их суммарного содержания была бы весьма полезна (хотя бы на стадии скрининга проб). Для разработки таких методик необходимы дополнительные исследования, связанные с варьированием качественного состава проб и концентрации посторонних веществ, оценкой метрологических характеристик, а также выяснением причин неаддитивности сиг-

налов. Эти вопросы будут рассмотрены в следующем сообщении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Brereton R.G.* Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry // *The Analyst*. 2000. V. 125. № 11. P. 2125.
2. *Vershinin V.I.* Total indices as a tool to estimate sum content of similar analytes. Review // *Talanta*. 2015. V. 131. № 1. P. 293.
3. *Власова И.В., Вершинин В.И.* Спектрометрическое определение суммарного содержания однотипных аналитов с помощью многомерных градуировок традиционного типа // *Журн. аналит. химии*. 2022. Т. 77. № 1. С. 22. (*Vlasova I.V., Vershinin V.I.* Spectrometric determination of the total concentration of similar analytes using conventional multidimensional calibrations // *J. Anal. Chem.* 2022. V. 77. № 1. P. 35.)
4. *Берштейн И.Я., Каминский Ю.А.* Спектрофотометрический анализ в органической химии. Л.: Химия, 1986. 200 с.
5. *Esbensen K.H.* Multivariate Data Analysis – in Practice. An Introduction to Multivariate Data Analysis and Experimental Design. 5th Ed. Woodbridge: Camo Process AS, 2004. 588 p.
6. *Антонова Т.В., Вершинин В.И., Власова И.В.* УФ-спектрометрическое определение суммарного содержания аренов в сточных водах // *Журн. аналит. химии*. 2021. Т. 76. № 7. С. 603. (*Antonova, T.V., Vershinin, V.I., Vlasova, I.V.* UV-spectrometric determination of total concentration of arenes in wastewaters // *J. Anal. Chem.* 2021. V. 76. № 7. P. 815.)
7. *Quansheng C., Jiewen Z., Muhua L., Jianrong C., Jianchua L.* Determination of total polyphenols content in green tea using FT-NIR spectroscopy and different PLS algorithms // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2008, V. 46. № 3. С. 568.
8. *Вершинин В.И., Коптева Е.В., Троицкий В.В.* Определение суммарных содержаний парафинов, нафтенных и аренов по светопоглощению бензинов в ближней ИК-области // *Заводск. лаборатория. Диагностика материалов*. 2005. Т. 71. № 11. С. 10.
9. *Vershinin V.I., Petrov S.V.* The estimation of total petroleum hydrocarbons in waste waters by multiwave IR spectrometry with multivariate calibrations // *Talanta*. 2016. V. 148. P. 163.
10. DIN 38409-H18. Bestimmung von Kohlenwasserstoffen. Ausgabe 02-1981.
11. ГОСТ 51797-2001. Вода питьевая. Метод определения содержания нефтепродуктов / Контроль качества воды. Сб. ГОСТов. М.: Стандартинформ, 2010. 15 с
12. *Иванов В.М.* Гетероциклические азотсодержащие азосоединения. М.: Наука, 1982. 229 с.
13. *Бурюкина П.А., Власова И.В., Спиридонова К.А.* Применение хемометрических алгоритмов в спектрофотометрическом анализе смесей с подобными спектрами поглощения // *Аналитика и контроль*. 2013. Т. 17. № 3. С. 333.
14. ГОСТ 10398-2016. Реактивы и особо чистые вещества. Комплексонометрический метод определения содержания основного вещества. М.: Стандартинформ, 2019. 20 с. (Russian standard GOST 10398-2016. Reagents and superpure substances. Complexometric method for determination of main substance. 2019. 20 p.)
15. *Вершинин В.И., Власова И.В., Цюпко Т.Г.* Выявление отклонений от аддитивности в спектрофотометрическом анализе неразделенных смесей // *Методы и объекты химического анализа*. 2010. Т. 5. № 4. С. 226.
16. *Olivieri A.C., Faber N. M., Ferre J., Boque R.* Uncertainty estimation and figures of merit for multivariate calibration (IUPAC Technical Report) // *Pure Appl. Chem.* 2006. V. 78. № 4. P.633. <https://doi.org/10.1351/pac200678030633>
17. *Дерффель К.* Статистика в аналитической химии. М.: Мир, 1994. 268 с. (*Doerffel K.* Statistics in the Analytical Chemistry. Leipzig: VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, 1987. 192 p.)
18. *Вострокнутова Е.В., Ябуров М.А., Голик В.М., Сапрыгин А.В.* Определение массовой доли эпоксидных групп в эпоксидной смоле ДЭГ-1 методом спектрометрии в ближней ИК-области // *Аналитика и контроль*. 2011. Т. 15. № 2. С. 209.
19. *Цюпко Т.Г., Петракова И.С., Бриленок Н.С., Николаева Н.А., Чупрынина Д.А., Темердашев З.А., Вершинин В.И.* Определение суммарного содержания антиоксидантов методом FRAP // *Аналитика и контроль*. 2011. Т. 15. № 3. С. 287.
20. *Власова И.В., Вершинин В.И., Цюпко Т.Г.* Методология спектрофотометрического анализа смесей органических соединений. Проблема неаддитивности светопоглощения // *Журн. аналит. химии*. 2011. Т. 66. № 1. № 11. С. 25.

УДК 543.054

ГАЗОХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ВОДНЫХ ЭКСТРАКТАХ *HYPERICUM PERFORATUM* L. С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТВЕРДОФАЗНОЙ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ДЕРИВАТИЗАЦИИ

© 2022 г. З. А. Темердашев^а, *, Е. А. Веницкая^а, В. В. Коробкова^а^аКубанский государственный университет, факультет химии и высоких технологий
ул. Ставропольская, 149, Краснодар, 350040 Россия

*e-mail: temza@kubsu.ru

Поступила в редакцию 21.03.2022 г.

После доработки 31.03.2022 г.

Принята к публикации 31.03.2022 г.

Показана возможность газохроматографического определения и идентификации фенольных соединений в водных экстрактах зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.) с использованием твердофазной аналитической дериватизации при подготовке проб к анализу и масс-спектрометрического детектирования. Дано сравнение результатов определения фенольных соединений с применением общепринятой аналитической дериватизации в растворе и твердофазной аналитической дериватизации в водных экстрактах зверобоя продырявленного. Установлено, что получение дериватов на сорбенте сокращает продолжительность пробоподготовки, позволяет снизить объем экстракта и расширить перечень определяемых компонентов. Установлены оптимальные условия сорбции фенольных веществ из водных экстрактов на сорбенте Strata C18-E, а также твердофазной аналитической дериватизации с N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамидом. Определены газохромато-масс-спектрометрические характеристики для идентификации соединений в водном экстракте зверобоя продырявленного. Полученная удовлетворительная сходимость данных с результатами идентификации соединений методом ВЭЖХ-ДМД с применением стандартных веществ позволила заключить, что твердофазная аналитическая дериватизация фенольных соединений сопоставима по аналитическим возможностям с дериватизацией в растворе.

Ключевые слова: зверобой продырявленный, фенольные соединения, Strata C18-E, твердофазная аналитическая дериватизация, газовая хромато-масс-спектрометрия.

DOI: 10.31857/S0044450222110123

Фенольные соединения, входящие в состав водных экстрактов зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.), обладают противовоспалительной, антиоксидантной и антимикробной активностью [1], что обуславливает интерес к ним со стороны косметологических и фармацевтических производств. Эти свойства в сочетании со специфическими вкусоароматическими параметрами стали причиной их распространения в пищевой промышленности [2, 3].

Изучение компонентного состава лекарственных растений начинается с извлечения искомого соединения в жидкую форму подходящим растворителем с помощью различных техник экстракции (ультразвуковая и микроволновая экстракция, извлечение при повышенных температуре и давлении и т.д.) [4]. Для определения фенольных соединений в экстрактах зверобоя продырявленного на сегодняшний день приме-

няют хроматографические методы анализа, а именно: высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) с различными вариантами детектирования и газовую хромато-масс-спектрометрию (ГХ-МС) [5]. С другой стороны, ВЭЖХ не всегда позволяет достоверно идентифицировать и определять компоненты. Газовая хромато-масс-спектрометрия дает возможность в основном решать такого рода задачи, появляется возможность расширить спектр идентифицируемых и определяемых компонентов благодаря не только стандартным образцам, но и возможности применения библиотек масс-спектров в сочетании с параметрами удерживания [1]. Ряд фенольных соединений, входящих в состав экстрактов растительного сырья, являются нелетучими, а фенольные кислоты деградируют при температурах выше 200°C [6], в связи с чем для их определения требуется предварительная дериватизация,

усложняющая подготовку проб к анализу. Поскольку фенольные соединения являются полярными соединениями, их ГХ-МС-определение возможно после экстракции с последующей дериватизацией ацилирующими, алкилирующими или силилирующими агентами.

Механизм силилирования фенольных соединений включает замену активного водорода (в группах $-OH$, $-COOH$, $-NH$, $-NH_2$) на триметилсилильную группу $-Si(CH_3)_3$ [7, 8]. В соответствии с механизмом нуклеофильного замещения

SN_2 силилирование протекает тем успешнее, чем легче отщепляется уходящая группа. Для силилирования фенольных веществ чаще всего применяют N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамид (БСТФА) или N-метил-N-(триметилсилил)трифторацетамид [9], обладающий легко отщепляемой трифторацетамидной уходящей группой и взаимодействующий с большим количеством функциональных групп с высокими выходами продуктов [8]. В качестве примера на схеме 1 представлена реакция дериватизации кофейной кислоты с использованием БСТФА:

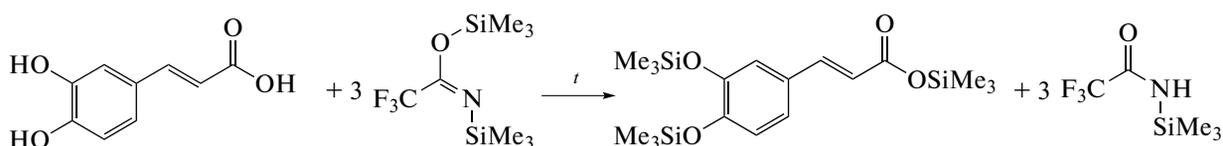


Схема 1. Силилирование кофейной кислоты N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамидом (БСТФА).

Уменьшение объема образца и оптимизация времени пробоподготовки могут быть достигнуты за счет применения гибридных техник подготовки проб, например твердофазной аналитической дериватизации [10, 11]. Твердофазная экстракция способствует экспрессному извлечению аналита при значительном снижении объема экстракта и легко поддается автоматизации [12]. Аналитическая дериватизация обеспечивает селективность, повышение чувствительности определения и хроматографическое разделение аналитов [13]. При твердофазной аналитической дериватизации процессы экстракции и дериватизации протекают на твердой фазе или на границе раздела твердой и жидкой фаз [10]. Данный подход широко применяется для обнаружения жирных кислот, фенолов, аминов и др. [11]. Подход, представленный в работах [10, 11], может обеспечить эффективное применение твердофазной аналитической дериватизации фенольных соединений, входящих в состав растительных материалов.

Цель данной работы – газохроматомакс-спектрометрическое определение и идентификация фенольных соединений в водных экстрактах зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.) с применением техники твердофазной аналитической дериватизации.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Растительный материал. Объектом исследования была трава зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.) (“Травы Кавказа”, Краснодарский край, г. Горячий Ключ, 58 м над уровнем моря). Перед исследованием растительного материала сырье предварительно измельчали до раз-

мера частиц 0.5–1.0 мкм с учетом рекомендации Фармакопейной статьи [14].

Реактивы и стандартные образцы. Для приготовления растворов использовали деионизованную воду с удельным сопротивлением 18.2 МОм/см (25°C), полученную с помощью установки Milli-Q-UV (Millipore, Франция), ацетонитрил (HPLC-S, Biosolve BV, Нидерланды), муравьиную кислоту (85%, ЛенРеактив, Россия), стандартную смесь *n*-алканов $C_{10}-C_{40}$ (Sigma-Aldrich, Германия). Соединения идентифицировали с применением стандартных образцов протокатеховой, 3-О-хлорогеновой, 5-О-хлорогеновой кислот, (–)-эпикатехина, рутина, гиперозида, изокверцитрина, кверцитрина и кверцетина (Sigma-Aldrich, Германия). Дериватизацию компонентов осуществляли N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамидом (Sigma-Aldrich, Германия).

Экстракцию фенольных соединений из зверобоя продырявленного проводили с использованием микроволновой системы ETHOS EX (Milestone, Италия). Навеску сухой измельченной пробы 0.5 г помещали в ячейку-экстрактор, куда добавляли 25 мл деионизованной воды. Экстракцию проводили в течение 30 мин при мощности микроволнового излучения 300 Вт и температуре 75°C [15]. Полученный экстракт фильтровали через вату в мерную колбу емк. 25 мл и доводили до метки экстрагентом. Перед ВЭЖХ-анализом экстракт дополнительно пропускали через фильтр с диаметром пор 45 мкм (Millipore, Франция).

Твердофазная аналитическая дериватизация фенольных соединений зверобоя продырявленного. Сорбент для твердофазной экстракции Strata C18-E (масса 100 мг, размер частиц 55 мкм, диаметр пор 7 нм) (Phenomenex, США) предварительно кондиционировали деионизованной во-

Таблица 1. Метрологические характеристики ВЭЖХ-определения фенольных соединений в экстрактах зверобоя продырявленного ($n = 6$, $s_r \leq 0.05$)

Соединение	Диапазон определяемых концентраций, мкг/мл	c_H , мкг/мл	$c_{мин}$, мкг/мл
Протокатеховая кислота	0.8–100	0.78	0.13
5-О-Кофеилхинная кислота	0.5–100	0.49	0.10
3-О-Кофеилхинная кислота	0.6–100	0.60	0.10
(-)-Эпикатехин	0.5–100	0.49	0.07
Рутин	0.4–200	0.43	0.10
Гиперозид	0.7–100	0.73	0.10
Изокверцитрин	0.3–100	0.34	0.07
Кверцитрин	0.3–100	0.32	0.10
Кверцетин	1.2–100	1.2	0.20

дой и ацетонитрилом, далее сорбировали целевые компоненты из водного экстракта, после чего тщательно сушили в токе азота. Стадию промывки сорбента после сорбции компонентов исключили во избежание возможной потери целевых соединений на этой стадии. Затем на сорбент наносили 100 мкл БСТФА с последующей инкубацией в твердотельном нагревателе Fisher Scientific isotemp 2001-1FS (Fisher Scientific, США). После дериватизации полученные производные элюировали 200 мкл ацетонитрила. Перед ГХ-МС-определением собранный элюат разбавляли ацетонитрилом в пять раз во избежание перегрузки детектора.

Оборудование и условия определения фенольных соединений в экстрактах зверобоя продырявленного хроматографическими методами. Для ВЭЖХ-определения фенольных соединений использовали хроматограф LC 20 Prominence (Shimadzu, Япония), включающий дегазатор DGU-20A₅, насос LC20AD, автоматический дозатор SIL-20A, термостат колонок CTO-20AC, спектрофотометрический детектор с диодной матрицей (ДМД) SPD-M20A. Разделение компонентов осуществляли на колонке Luna C18 100 Å, 250 × 2.0 мм, 5 мкм (Phenomenex, США) с предколонкой C18 4 × 2.0 мм, 5 мкм (Phenomenex, США), температура термостатирования колонки 40°C, диапазон сканирования диодной матрицы 190–800 нм. В качестве подвижной фазы для разделения компонентов использовали ацетонитрил и воду с добавкой 0.1%-ной муравьиной кислоты. Более подробно методики определения фенольных соединений обсуждены в работе [15]. Данные обрабатывали в программной среде LCMS Solution (Shimadzu, Япония).

Газохроматографический анализ экстрактов зверобоя продырявленного проводили на хроматографе Shimadzu GC-2010 с масс-спектрометри-

ческим детектором GCMS-QP2010 Plus. Для разделения аналитов использовали кварцевую капиллярную колонку HP-ULTRA 1 (50 м × 0.20 мм, 0.33 мкм) (Agilent Technologies, США) в режиме программируемого нагрева колонки: 100°C (0–3 мин), линейный подъем температуры до 300°C со скоростью 9 град/мин (3–26 мин) и выдерживание при данной температуре в течение 25 мин. Объем вводимой пробы 1 мкл. Режим ввода – с делением потока 1 : 5. Температура термостата колонки – 100°C, инжектора – 280°C. В качестве газа-носителя использовали гелий марки А (НИИ КМ, Россия), линейная скорость потока 25.1 см/мин. Оптимизированные параметры работы масс-спектрометра: температура ионного источника 200°C, температура интерфейса 280°C, напряжение на детекторе 1.3 кВ, режим сканирования SCAN, скорость сканирования масс-спектра 2000 а.е.м./с, диапазон сканируемых масс 34–900 m/z . Полученные производные фенольных соединений идентифицировали сопоставлением полученных масс-спектров со спектрами, имеющимися в базах данных NIST05 и WILEY8.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования водных экстрактов зверобоя продырявленного методом ВЭЖХ-ДМД подтвердили наличие в них протокатеховой, 5-О-кофеилхинной и 3-О-кофеилхинной кислот, (–)-эпикатехина, рутина, гиперозида, изокверцитрина, кверцитрина и кверцетина (рис. 1). Соединения в водных экстрактах зверобоя продырявленного идентифицировали с помощью стандартных образцов, метрологические характеристики ВЭЖХ-определения аналитов приведены в табл. 1.

Для твердофазного извлечения фенольных соединений из экстрактов растительных матриц часто используют сорбенты на основе октадецилсиликагеля [16–18]. Оптимальный объем водного

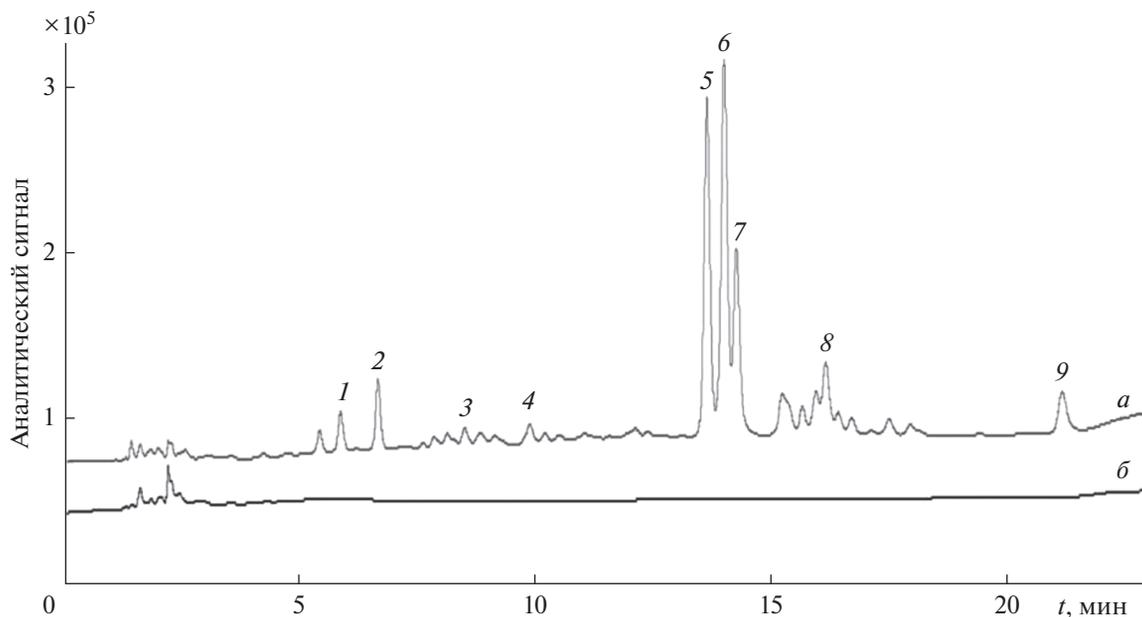


Рис. 1. Хроматограммы исходного (а) и пропущенного через сорбент Strata C18-E (б) водного экстракта зверобоя продырявленного: 1 – протокатеховая кислота; 2 – 5-О-кофеилхинная кислота; 3 – 3-О-кофеилхинная кислота; 4 – (-)-эпикатехин; 5 – рутин; 6 – гиперозид; 7 – изокверцитрин; 8 – кверцитрин; 9 – кверцетин.

экстракта зверобоя продырявленного, обеспечивающий концентрирование и извлечение компонентов сорбентом Strata C18-E, составил 0.1 мл. Контроль содержания фенольных соединений в элюате проводили с помощью системы ВЭЖХ-ДМД. Целевые фенольные соединения в пропущенных через сорбент элюатах не наблюдали, что свидетельствовало об отсутствии “проскока” аналитов и возможности использования сорбента Strata C18-E для сорбционного концентрирования компонентов (рис. 1).

Оптимизация времени и температуры инкубации сорбента Strata C18-E. Авторами работ [10, 11, 19] показана возможность силилирования различных классов соединений с использованием техники твердофазной аналитической дериватизации. В качестве основных факторов, обеспечивающих успешную дериватизацию, отмечены отсутствие влаги в реакционной смеси, температура и продолжительность инкубации сорбента. Отсутствие влаги на сорбенте Strata C18-E после сорбции аналитов из водного экстракта зверобоя продырявленного обеспечивали путем пропускания через него потока азота в течение фиксированного времени.

Влияние температуры на дериватизацию фенольных соединений изучали в диапазоне 40–70°C с шагом в 10°C (рис. 2). Для фенольных и коричневых кислот дериватизация протекала успешно при 40°C. Тем не менее из данных табл. 1 и рис. 2 следует, что для подавляющего числа триметилсилильных (ТМС) производных фенольных соедине-

ний, в том числе кумароилхинных (3-О-, 4-О- и 5-О-кумароилхинная) и кофеилхинных (3-О- и 5-О-кофеилхинная) кислот, оптимальным для проведения реакции является температурный диапазон 50–60°C. В этих условиях интенсивность сигналов перечисленных выше компонентов стабильна. Для *para*-гидроксибензойной, феруловой кислот и флавоноидов инкубация сорбента при 60°C также оказалась оптимальной. Для представителей жирных кислот (производные пальмитиновой и стеариновой кислот) приемлемой оказалась более высокая температура (70°C), при этом наблюдали резкое возрастание интенсивности сигнала их ТМС-производных (рис. 2). Дальнейшее повышение температуры дериватизации ограничивал материал корпуса патронов для твердофазной экстракции.

Дериватизация компонентов в растворе позволяет работать и при более высоких температурах, но с дальнейшим ее повышением не исключена деградация аналитов. Аналитическую дериватизацию компонентов водного экстракта зверобоя продырявленного проводили с учетом рекомендаций [20] по дериватизации фенольных соединений экстракта тысячелистника обыкновенного, содержащего в своем составе ряд гликозидов флавоноидов, фенольных и коричневых кислот. Дериватизацию ацетонитрильного элюата, полученного после пропускания экстракта зверобоя продырявленного через сорбент Диапак C18, проводили при 70°C [20]. По степени извлечения фенольных соединений из экстрактов лекар-

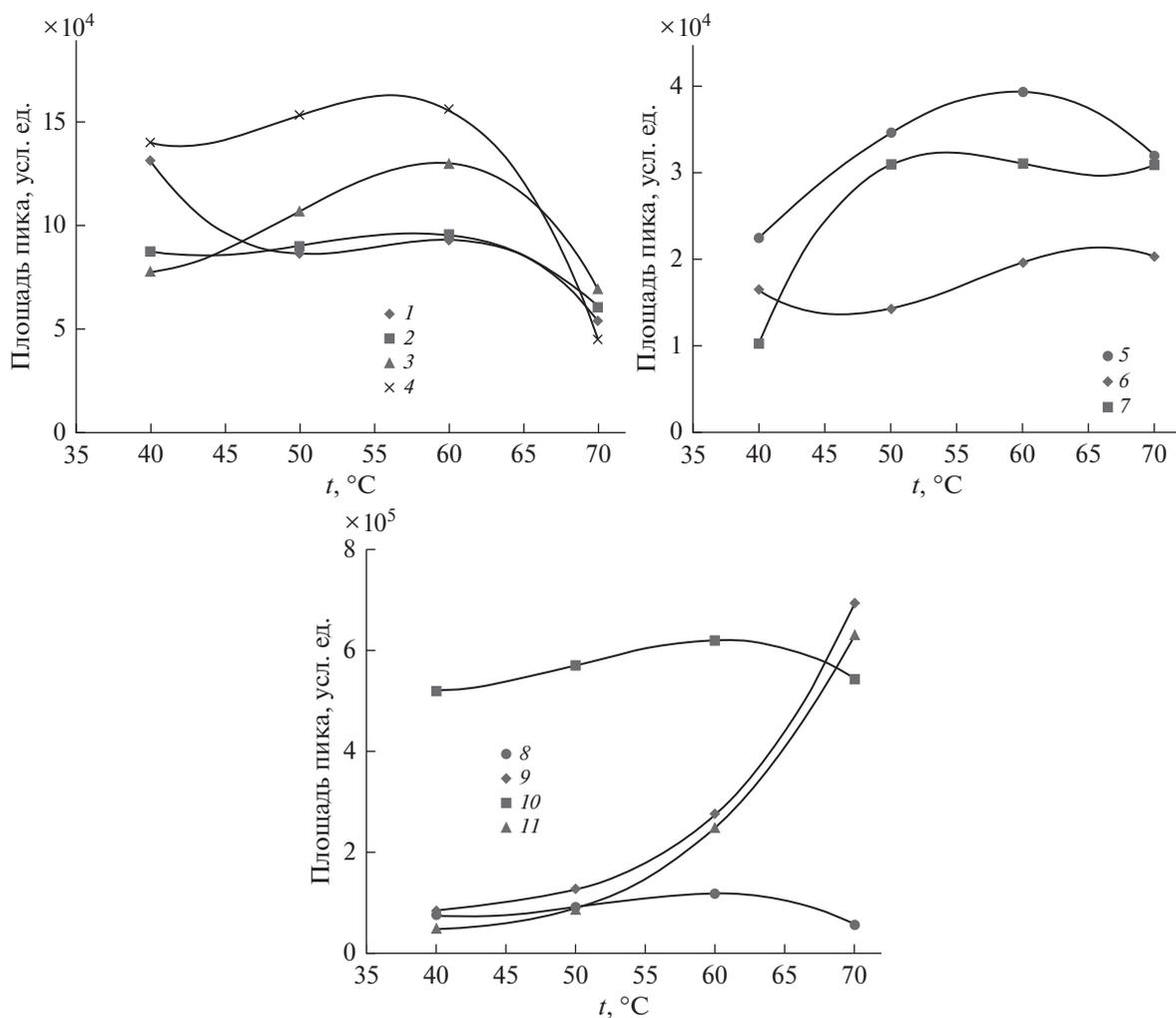


Рис. 2. Зависимость площади пиков компонентов водного экстракта зверобоя продырявленного от температуры инкубации сорбента: 1 – *транс*-4-О-кумароилхинная кислота, 5 ТМС; 2 – *транс*-3-О-кумароилхинная кислота, 5 ТМС; 3 – *транс*-5-О-кофеилхинная кислота, 6 ТМС; 4 – *транс*-3-О-кофеилхинная кислота, 6 ТМС; 5 – феруловая кислота, ТМС; 6 – бензойная кислота, ТМС; 7 – *пара*-гидроксibenзойная кислота, 2 ТМС; 8 – кофейная кислота, ТМС; 9 – пальмитиновая кислота, ТМС; 10 – эпикатехин, 5 ТМС; 11 – стеариновая кислота, ТМС.

ственных растений сорбенты Диапак С18 и Strata С18-Е сопоставимы, что следует из экспериментальных данных и литературы [16, 21, 22]. Степени извлечения ряда фенольных кислот (протокатеховая и хлорогеновые кислоты) сорбентами Диапак С18 и Strata С18-Е составили 25–30% и 35–40%, а флавоноидов (рутина, гиперозида, (–)-эпикатехина и др.) – 90–100% и 80–100% соответственно [16]. Дериватизация в растворе позволила обнаружить ТМС-производные β-резорциловой, ванилиновой и сиринговой кислот, не регистрируемые ВЭЖХ-ДМД, а также соединения, отнесенные по данным библиотек к спиртам – треитолу, рибитолу и ксилитолу. По-видимому, это связано с присутствием в составе сорбента Диапак С18 в отличие от Strata С18-Е свободных силанольных групп, способствующих извлече-

нию и концентрированию этих соединений из раствора. Перечень присутствующих в составе элюатов производных перечисленных выше соединений представлен в табл. 2. В элюатах не обнаружили производные кумароилхинных и кофеилхинных кислот, кроме 6 ТМС 3-О-кофеилхинной кислоты. Вероятнее всего, это связано с неподходящими условиями сорбции данных компонентов на Диапак С18.

За исключением производных кумароилхинных и кофеилхинных кислот, инкубация целевых соединений при 70 °С показала сопоставимый с полученным при оптимальной температуре для того или иного анализа результат, поэтому дальнейшие исследования проводили при этой температуре.

Таблица 2. Компонентный состав извлечений после дериватизации в растворе и твердофазной аналитической дериватизации водного экстракта зверобоя продырявленного

Соединение	Дериватизация в растворе	Твердофазная аналитическая дериватизация	
		экстракт с pH 5	экстракт с pH 2
Галловая кислота, 3 ТМС	–	+	+
β-L-Арабинопираноза, 4 ТМС	–	–	+
Рамноза, 4 ТМС	–	–	+
D-Рибофураноза, 4 ТМС	–	–	+
γ-Резорциловая кислота, 3 ТМС	–	–	+
Флороглюцинол, 3 ТМС	–	–	+
Салициловая кислота, 2 ТМС	–	–	+
Бензойная кислота, ТМС	–	–	+
Треитол, 4 ТМС	+	–	–
<i>para</i> -Гидроксibenзойная кислота, 2 ТМС	+	+	+
β-Резорциловая кислота, 3 ТМС	+	–	–
Рибитол, 5 ТМС	+	–	–
Ксилитол, 5 ТМС	+	–	–
Ванилиновая кислота, 2 ТМС	+	–	–
Глюконовая кислота, 6 ТМС	–	+	–
Протокатеховая кислота, ТМС	+	+	+
D-Фруктоза, 5 ТМС	+	+	+
D-Ксилофураноза, 4 ТМС	+	+	+
Метил-α-D-глюкофуранозид, 4 ТМС	+	–	–
Сиринговая кислота, 2 ТМС	+	–	–
D-Глюкопираноза, 5 ТМС	+	+	–
D-Маннитол, 6 ТМС	+	–	–
Пальмитиновая кислота, ТМС	+	+	+
Кофейная кислота, ТМС	+	+	+
Стеариновая кислота, ТМС	+	+	–
Эпикатехин, 5 ТМС	+	+	+
<i>транс</i> -3-О-Кофеилхинная кислота, 6 ТМС	+	–	+
<i>транс</i> -5-О-Кумароилхинная кислота, 5 ТМС	–	+	–
<i>транс</i> -4-О-Кумароилхинная кислота, 5 ТМС	–	+	+
Арабинофураноза, 4 ТМС	–	+	–
β-D-Галактофураноза, 5 ТМС	–	+	–
Кверцетин, 5 ТМС	–	–	+
<i>транс</i> -5-О-Кофеилхинная кислота, 6 ТМС	–	–	+
<i>транс</i> -3-О-Кумароилхинная кислота, 5 ТМС	–	–	+
Феруловая кислота, 2 ТМС	–	–	+
D-Галактоза, 5 ТМС	–	–	+
Пирогаллолкарбоновая кислота, 4 ТМС	–	–	+
α-Рамноза, 4 ТМС	–	–	+

Таблица 3. Влияние времени инкубации сорбента Strata C18-E на качественный состав производных соединений водного экстракта зверобоя

Соединение	Время инкубации, мин					
	5	10	15	25	30	40
<i>пара</i> -Гидроксibenзойная кислота, 2 ТМС	–	+	+	+	+	+
Протокатеховая кислота, ТМС	+	+	+	+	+	+
D-Фруктоза, 5 ТМС	+	+	+	+	+	+
D-Глюкопираноза, 5 ТМС	+	+	+	+	+	+
Пальмитиновая кислота, ТМС	+	+	+	+	+	+
Кофейная кислота, ТМС	+	+	+	+	+	+
Стеариновая кислота, ТМС	–	+	+	+	+	+
Эпикатехин, 5 ТМС	+	+	+	+	+	+
<i>транс</i> -5-О-Кумароилхинная кислота, 5 ТМС	+	+	+	+	+	+
<i>транс</i> -4-О-Кумароилхинная кислота, 5 ТМС	+	+	+	+	+	+
β -L-Арабинопираноза, 4 ТМС	–	+	+	+	+	+
β -D-Галактофураноза, 5 ТМС	+	+	+	+	+	+

Поиск оптимальной *продолжительности* инкубации сорбента Strata C18-E с БСТФА при твердофазной аналитической дериватизации компонентов осуществляли в диапазоне 5–40 мин. Зависимости концентрации производных соединений от времени инкубации сорбента оказалась различными (рис. 3). Интенсивности сигнала производных 5-О- и 4-О-кумароилхинных кислот не зависят от продолжительности инкубации сорбента. Выход соединений максимален при инкубации сорбента в течение 5 мин. Выходы ТМС-производных β -D-галактофуранозы и β -L-арабинофуранозы оптимальны при 10 и 15 мин инкубирования соответственно (табл. 3). Наибольшую концентрацию ТМС-производного кофейной кислоты в элюате наблюдали при инкубации сорбента в течение 10 мин, затем происходило постепенное снижение его содержания. Такой характер зависимости, возможно, обусловлен протекающими под действием температуры процессами деструкции соединения и его производных во времени. Для соединений, принадлежащих к классам жирных кислот и флавоноидов, эффективнее более продолжительная инкубация сорбента. Так, концентрации производных пальмитиновой и стеариновой кислот, а также эпикатехина возрастали вплоть до 25 мин инкубации, после чего наблюдали незначительное их уменьшение. Концентрации ТМС протокатеховой и 2 ТМС *пара*-гидроксibenзойной кислот максималны при инкубации сорбента Strata C18-E в термостате в течение 30 мин.

Полученные данные (табл. 3, рис. 3) позволили заключить, что для качественной оценки компонентного состава водных экстрактов зверобоя продырявленного достаточно инкубирования сорбента в течение 15 мин. При более продолжи-

тельной инкубации сорбента качественный состав элюатов оставался неизменным.

Особенности дериватизации водного экстракта зверобоя при различных значениях pH. Снижение pH водного экстракта зверобоя продырявленного изменяет значение емкости сорбента Strata C18-E по отношению к фенольным соединениям за счет перехода аналитов в молекулярную форму [16]. Сравнение компонентного состава элюатов с сорбента Strata C18-E проводили путем нанесения на него 0.1 мл водного экстракта зверобоя при pH 2 и 5 (табл. 2, рис. 4). В элюате, полученном при нанесении водного экстракта зверобоя продырявленного с pH 2, обнаружили 3 ТМС флороглюцинол, 2 ТМС салициловую и ТМС феруловую кислоты, которые не были идентифицированы в элюатах водного экстракта зверобоя с pH 5. Отметим, что, при ВЭЖХ-ДМД-анализе флороглюцинол и его производные не зарегистрированы в водных экстрактах зверобоя. Полученный в данном случае результат, вероятно, связан с эффектом концентрирования данного соединения на сорбенте Strata C18-E.

В сравнении с экстрактом с pH 5, при pH 2 регистрировали 5 ТМС 3-О- и 4-О-кумароилхинные кислоты и 6 ТМС 3-О- и 5-О-кофеилхинные кислоты с более выраженными хроматографическими пиками. Данный факт, по-видимому, связан с большей устойчивостью данных соединений в кислой среде.

По данным ВЭЖХ-ДМД-анализа водного экстракта зверобоя продырявленного выявили значительное количество флавонолгликозидов, преимущественно являющихся гликозидами кверцетина [5, 15]. В этих же условиях на ГХ-МС хроматограммах должен регистрироваться 5 ТМС

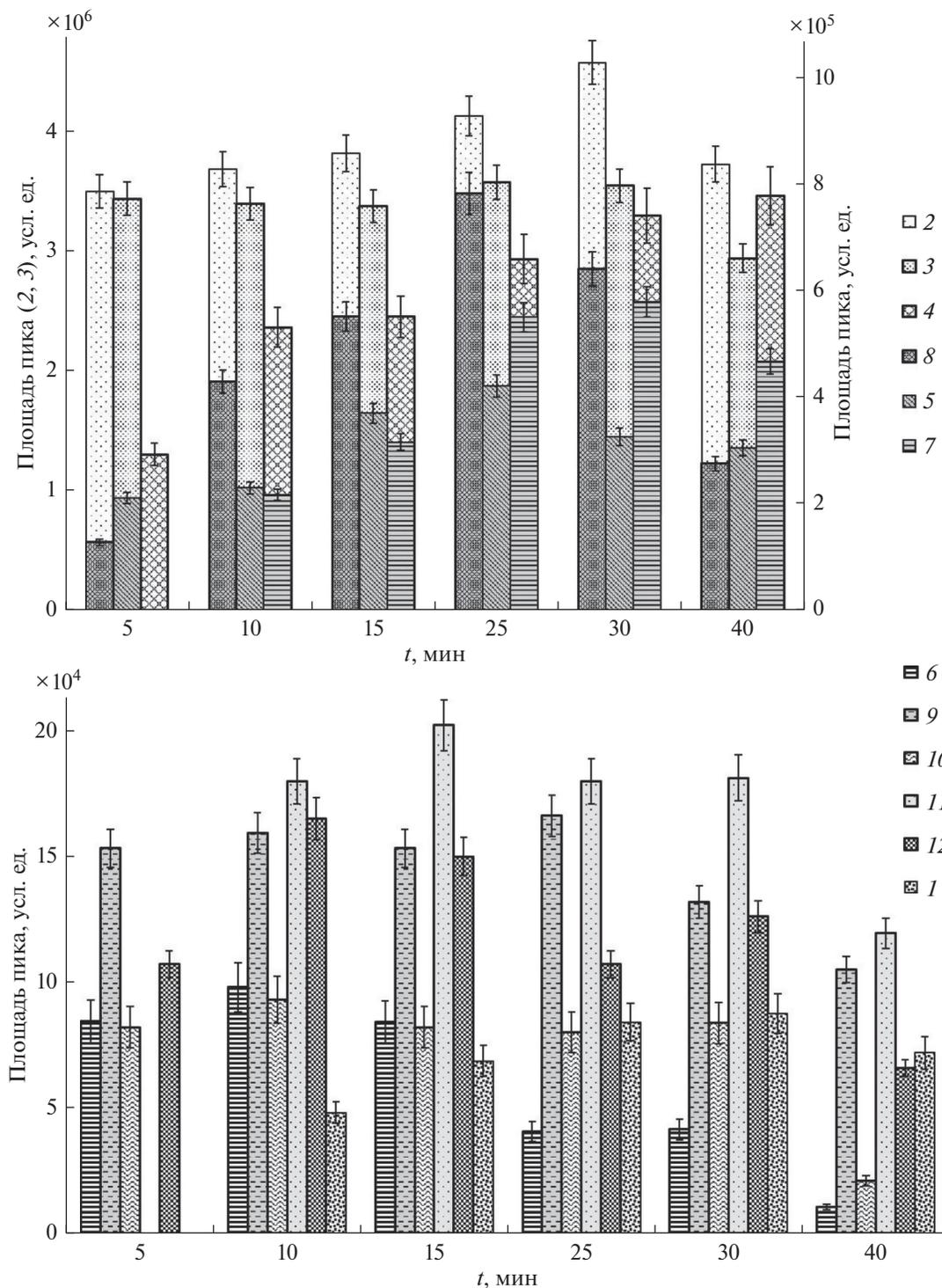


Рис. 3. Зависимость площади пиков компонентов водного экстракта зверобоя продырявленного от времени инкубации сорбента: 1 – *para*-гидроксibenзойная кислота, 2 ТМС; 2 – протокатеховая кислота, ТМС; 3 – D-фруктоза, 5 ТМС; 4 – D-глюкопираноза, 5 ТМС; 5 – пальмитиновая кислота, ТМС; 6 – кофейная кислота, ТМС; 7 – стеариновая кислота, ТМС; 8 – эпикатехин, 5 ТМС; 9 – *транс*-5-O-кумаронилхинная кислота, 5 ТМС; 10 – *транс*-4-O-кумаронилхинная кислота, 5 ТМС; 11 – β -L-арабинофураноза, 4 ТМС; 12 – β -D-галактофураноза, 5 ТМС.

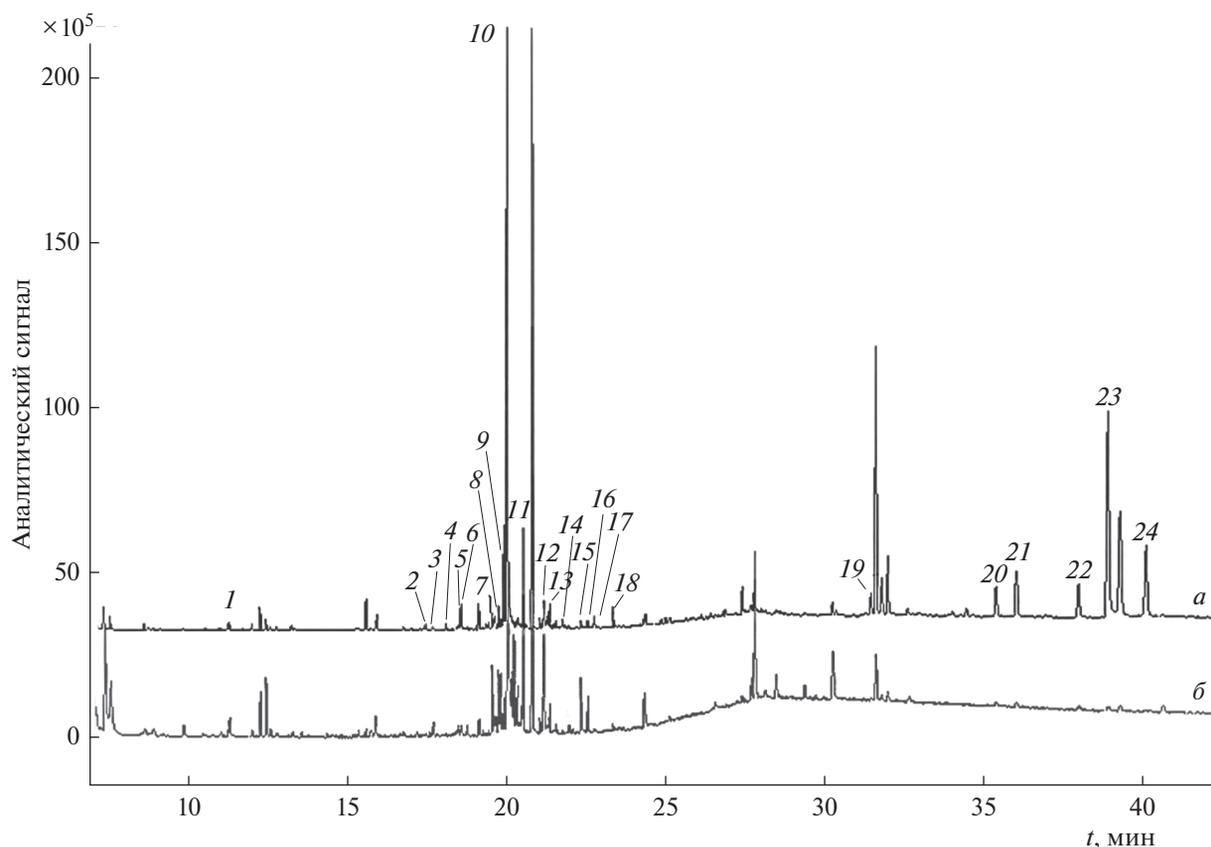


Рис. 4. Хроматограмма элюата, полученного после пропускания 0.1 мл водного экстракта зверобоя продырявленного с рН 2 (*а*) и рН 5 (*б*) через сорбент Strata C18-E: 1 – бензойная кислота, ТМС; 2 – салициловая кислота, 2 ТМС; 3 – *para*-гидроксибензойная кислота, ТМС; 4 – флороглюцинол, 3 ТМС; 5 – γ -резорциловая кислота, 3 ТМС; 6 – β -L-арабинопираноза, 4 ТМС; 7 – рамноза, 4 ТМС; 8 – D-рибофураноза, 4 ТМС; 9 – протокатеховая кислота, ТМС; 10 – D-фруктоза, 5 ТМС; 11 – D-ксилофураноза, 4 ТМС; 12 – галловая кислота, 3 ТМС; 13 – пирогаллолкарбоновая кислота, 4 ТМС; 14 – α -рамноза, 4 ТМС; 15 – пальмитиновая кислота, ТМС; 16 – глюконовая кислота, 6 ТМС; 17 – феруловая кислота, 2 ТМС; 18 – кофейная кислота, ТМС; 19 – эпикатехин, 5 ТМС; 20 – *trans*-4-O-кумаройлхинная кислота, 5 ТМС; 21 – *trans*-3-O-кумаройлхинная кислота, 5 ТМС; 22 – *trans*-5-O-кофеилхинная кислота, 6 ТМС; 23 – кверцетин, 5 ТМС; 24 – *trans*-3-O-кофеилхинная кислота, 6 ТМС.

кверцетин, который не был обнаружен после дериватизации компонентов экстракта в растворе, а также при твердофазной аналитической дериватизации экстракта с рН 5. Однако данный компонент обнаружили на хроматограммах элюатов экстрактов зверобоя с рН 2 (рис. 4). Полученный результат связан с изменением сорбционных свойств кверцетина и его гликозидов при переходе к их молекулярным формам. Вероятно, под воздействием высоких температур протекала деградация гликозидов (рутина, гиперозида и изо-кверцитрина) с образованием свободного кверцетина и остатка сахара, которые в дальнейшем подверглись силилированию. Тем не менее данное предположение носит предварительный характер и требует дальнейшего изучения.

Исходя из сказанного выше, заключили, что изменение рН экстракта с 5 до 2 расширяет ком-

позиционный профиль водных экстрактов зверобоя продырявленного за счет перевода фенольных соединений в их молекулярную форму.

Идентификацию анализируемых соединений в элюатах проводили сопоставлением их времен удерживания, линейных индексов удерживания и масс-спектральных характеристик с данными литературы [9] и библиотек NIST05 и WILEY8. В табл. 4 представлены линейные индексы удерживания (ИУ) целевых соединений, рассчитанные относительно стандартной смеси *n*-алканов. Как видно, ИУ компонентов, присутствующих в библиотеках данных, не согласуются с нашими экспериментальными данными, что, по-видимому, связано с иными условиями их определения.

Для уточнения сопоставленных соединений рассмотрели полученные МС-спектры производных соединений (рис. 5). На спектрах отмечены

Таблица 4. Хроматомасс-спектрометрические параметры фенольных соединений, обнаруженных в водном экстракте зверобоя продырявленного ($n = 3$)

Соединение	t_R , мин	ИУ*	ИУ**	$[M]^+$	m/z (интенсивность)
<i>пара</i> -Гидроксibenзойная кислота, 2 ТМС	17.425	1467	1503 ± 2	282	193 (20), 207 (7), 223 (98), 267 (100), 282 (25)
Флороглюцинол, 3 ТМС	17.629	1574	1618 ± 2	342	73 (100), 342 (67), 327 (61), 253 (13)
γ -Резорциловая кислота, 2 ТМС	18.985	—	1621 ± 2	370	73 (100), 193 (18), 249 (23), 355 (66)
Протокатеховая кислота, ТМС	19.885	1765	1795 ± 3	370	370 (52), 355 (34), 281 (11), 266 (8), 223 (15), 193 (100)
Галловая кислота, 3 ТМС	21.466	2063	2064 ± 3	458	281 (100), 458 (66), 443 (32)
Феруловая кислота, 2 ТМС	22.726	1863	1915 ± 3	338	73 (100), 219 (27), 249 (58), 279 (17), 308 (54), 323 (53), 338 (63)
Кофейная кислота, ТМС	23.315	1972	1936 ± 3	396	396 (41), 381 (15), 307 (6), 249 (11), 219 (100)
Эпикатехин, 5 ТМС	31.568	2228	2372 ± 5	650	368 (100), 650 (13), 561 (3)
<i>транс</i> -4-О-Кумароилхинная кислота, 5 ТМС	35.352	—	2510 ± 4	698	219 (100), 255 (47), 401 (21) 698 (15)
<i>транс</i> -3-О-Кумароилхинная кислота, 5 ТМС	35.983	—	2528 ± 4	698	219 (100), 255 (44), 345 (81)
<i>транс</i> -5-О-Кофеилхинная кислота, 6 ТМС	37.940	—	2583 ± 4	786	219 (30), 307 (42), 345 (100), 397 (11), 786 (10)
Кверцетин, 5 ТМС	38.859	—	2609 ± 4	662	73 (43), 575 (100), 487 (17), 207 (12), 662 (10)
<i>транс</i> -3-О-Кофеилхинная кислота, 6 ТМС	40.061	—	2654 ± 4	786	255 (28), 307 (100), 345 (95), 447 (38), 396 (14), 786 (10)

* Согласно данным библиотеки NIST05; **расчетное значение относительно стандартной смеси *n*-алканов.

ионы $[M]^+$, $[M-104]^+$, $[M-89]^+$ и $[M-15]^+$, соответствующие молекулярному иону, иону триметилсилилового эфира и одной метильной группы $[(OSi(CH_3)_3) + CH_3]$, расщеплению фрагмента триметилсилилового эфира $(OSi(CH_3)_3)$ и отщеплению метильной группы [23]. На спектрах всех изучаемых соединений наблюдали пик с m/z 73 ($Si(CH_3)_3$) и триплет в области молекулярного иона, вероятно, обусловленный наличием у кремния изотопов ^{29}Si и ^{30}Si . Для производных кофейной и протокатеховой кислот наблюдали фрагменты $[M-147]^+$ и $[M-177]^+$. Исходя из этого, для искомым соединений обозначили характеристичные m/z , позволяющие использовать их не только для качественной характеристики, но и для количественной оценки (табл. 4). Например, для кофейной кислоты это m/z 396, 381, 307, 292, 249 и 219; протокатеховой кислоты – m/z 370, 355, 281, 266, 223 и 193; флороглюцинола – m/z 342, 327, 253, а эпикатехина – m/z 650, 561 и 368 (рис. 5).

Таким образом, твердофазная аналитическая дериватизация фенольных соединений сопоставима с дериватизацией в растворе, имеет свои недостатки и преимущества. Данный способ позволил сократить пробоподготовку образцов перед газохроматомасс-спектрометрическим определением, значительно уменьшил расход экстракта, а также обеспечил концентрирование соединений. Предложенный подход применим для идентификации фенольных и иных соединений в водных экстрактах зверобоя продырявленного. Сочетание классической аналитической дериватизации и твердофазной экстракции с ГХ-МС-детектированием позволило расширить спектр идентифицированных компонентов в водных экстрактах зверобоя продырявленного. Предпочтительные условия твердофазной аналитической дериватизации фенольных соединений с помощью БСТФА – инкубация сорбента Strata C18-E при 70°C в течение 30 мин. Полученные результаты удовлетворительно согласуются с ВЭЖХ-ДМД-данными о соединениях, содержащихся в водном экстракте

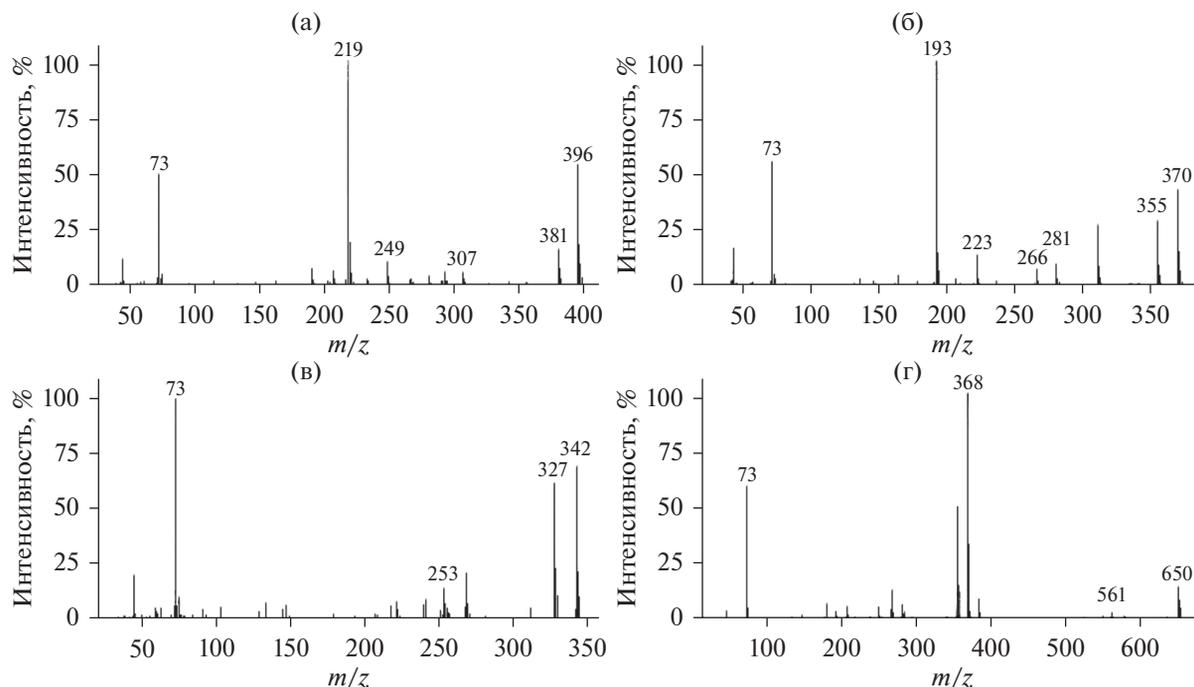


Рис. 5. Масс-спектры ТМС кофейной (а) и ТМС протокатеховой кислот (б), ТМС флороглицинола (в) и 5 ТМС эпигалатехина (г), идентифицированных в водных экстрактах зверобоя продырявленного.

зверобоя продырявленного и идентифицированных с применением стандартных веществ.

Исследования проводили при финансовой поддержке РФФИ (проект № 20-33-90045) с использованием научного оборудования ЦКП “Эколого-аналитический центр” Кубанского госуниверситета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ajila C.M., Brar S.K., Verma M., Tyagi R.D., Godbout S., Valero J.R. Extraction and analysis of polyphenols: Recent trends // *Crit. Rev. Biotechnol.* 2011. V. 31. P. 227.
2. Chaiyana W., Charoensup W., Sriyab S., Punyoyai C., Neimkhum W. Herbal extracts as potential antioxidant, anti-aging, anti-inflammatory, and whitening cosmetic ingredients // *Chem. Biodiversity.* 2021. V. 18.
3. Yeasmen N., Orsat V. Green extraction and characterization of leaves phenolic compounds: A comprehensive review // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2021. P. 1.
4. Avato P., Guglielmi C. Determination of major constituents in St. John’s Wort under different extraction conditions // *Pharm. Biol.* 2004. V. 42. P. 83.
5. Caccia S. Main active components of St. John’s Wort (*Hypericum perforatum* L.) extracts: Current analytical procedures for pharmacokinetics and concentration-response studies // *Curr. Pharm. Anal.* 2006. V. 2. P. 59.
6. Fiamegos Y.C., Nanos C.G., Vervoort J., Stalikas C.D. Analytical procedure for the in-vial derivatization – extraction of phenolic acids and flavonoids in methanolic and aqueous plant extracts followed by gas chromatography with mass-selective detection // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1041. P. 11.
7. Pan L., Pawliszyn J. Derivatization/solid-phase microextraction: New approach to polar analytes // *Anal. Chem.* 1997. V. 69. P. 196.
8. Orata F. Derivatization reactions and reagents for gas chromatography analysis / *Advanced Gas Chromatography – Progress in Agricultural, Biomedical and Industrial Applications.* InTech, 2012. P. 83.
9. Rohloff J. Analysis of phenolic and cyclic compounds in plants using derivatization techniques in combination with GC-MS-based metabolite profiling // *Molecules.* 2015. V. 20. P. 3431.
10. Atapattu S.N., Rosenfeld J.M. Solid phase analytical derivatization as a sample preparation method // *J. Chromatogr. A.* 2013. V. 1296. P. 204.
11. Atapattu S.N., Rosenfeld J.M. Solid phase analytical derivatization of anthropogenic and natural phenolic estrogen mimics with pentafluoropyridine for gas chromatography – mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2011. V. 1218. P. 9135.
12. Poole C.F., Poole S.K. Principles and practice of solid-phase extraction / *Comprehensive Sampling and Sample Preparation.* Academic Press, 2012. P. 273.
13. Smith R.M. Before the injection – Modern methods of sample preparation for separation techniques // *J. Chromatogr. A.* 2003. V. 1000. P. 3.
14. Государственная Фармакопея Российской Федерации. Москва, 2018. Изд. 14. Т. 4. С. 6074.
15. Милевская В.В., Статкус М.А., Темердашев З.А., Киселева Н.В., Бутыльская Т.С., Шилько Е.А. Экстракция и определение биологически актив-

- ных компонентов зверобоя и препаратов на его основе // Журн. аналит. химии. 2016. Т. 71. № 7. С. 768. (Milevskaya V.V., Statkus M.A., Temerdashev Z.A., Kiseleva N.V., Butyl'skaya T.S., Shil'ko E.A. Extraction and determination of biologically active components of St. John's wort and its pharmaceutical preparations // J. Anal. Chem. 2016. V. 71. № 7. P. 741.)
16. *Темердашев З.А., Веницкая Е.А., Милевская В.В., Киселева Н.В.* Твердофазное концентрирование фенольных соединений из водных экстрактов лекарственных растений семейств Зверобойные и Яснотковые на сорбентах различной природы // Аналитика и контроль. 2020. Т. 24. № 2. С. 86.
17. *Andrade-Eiroa A., Canle M., Leroy-Cancellieri V., Cerda V.* Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I) // Trends Anal. Chem. 2016. V. 80. P. 641.
18. *Zeng H., Liu Z., Zhao S., Shu Y., Song Y.* Preparation and quantification of the total phenolic products in citrus fruit using solid-phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography with diode array and UV detection // J. Sep. Sci. 2016. V. 39. № 19. P. 3806.
19. *Farajzadeh M.A., Nouri N., Khorram P.* Derivatization and microextraction methods for determination of organic compounds by gas chromatography // Trends Anal. Chem. 2014. V. 55. P. 14.
20. *Верниковская Н.А., Темердашев З.А.* Идентификация и хроматографическое определение фенольных соединений в тысячелистнике обыкновенном // Аналитика и Контроль. 2012. Т. 16. С. 188.
21. *Темердашев З.А., Милевская В.В., Киселева Н.В., Верниковская Н.А., Коробков В.А.* Сорбционно-хроматографическое определение галловой, кофейной кислот, рутина и эпикатехина в лекарственных растениях // Аналитика и контроль. 2013. Т. 17. № 2. С. 211.
22. *Дейнека В.И., Михеев А.Ю., Олейниц Е.Ю., Дейнека Л.А.* Очистка хлорогеновых кислот методом твердофазной экстракции // Сорбционные и хроматографические процессы. 2018. Т. 18. № 4. С. 488.
23. *Schummer C., Delhomme O., Appenzeller B., Wennig R., Millet M.* Comparison of MTBSTFA and BSTFA in derivatization reactions of polar compounds prior to GC/MS analysis // Talanta. 2009. V. 77. P. 1473.

УДК 543.056,543.64

КОНТРОЛЬ УСЛОВИЙ ПОЛНОТЫ МИНЕРАЛИЗАЦИИ (ПРОБОПОДГОТОВКИ) ПРОБ МХОВ-БИОМОНИТОРОВ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ В НИХ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ, ПОСТУПАЮЩИХ ПРИ ТРАНСГРАНИЧНОМ ПЕРЕНОСЕ ИЗ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА

© 2022 г. Е. С. Попова^{а, *}, С. В. Моржухина^а, А. С. Илюшкина^а, Б. К. Зуев^б,
А. М. Моржухин^а, Н. М. Омарова^с

^аУниверситет “Дубна”

ул. Университетская, 19, Дубна, Московская обл., 141980 Россия

^бИнститут геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук
ул. Косыгина, 19, Москва, 119991 Россия

^сЕвразийский Национальный Университет им. Л.Н. Гумилева
Астана, Казахстан

*e-mail: esporova18@gmail.com

Поступила в редакцию 28.12.2021 г.

После доработки 12.02.2022 г.

Принята к публикации 14.02.2022 г.

Работа посвящена подбору условий пробоподготовки мхов-биомониторов с использованием системы микроволнового разложения для определения в них тяжелых металлов, поступающих при трансграничном переносе из атмосферного воздуха. Полноту минерализации контролировали с помощью метода термоокислительной спектроскопии – окситермографии. Металлы определяли методом атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Правильность выполнения анализа контролировали с использованием образца сравнения мха Standard Reference Material M2.

Ключевые слова: микроволновая пробоподготовка, мхи-биомониторы, окситермография, тяжелые металлы, атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой.

DOI: 10.31857/S0044450222110081

При анализе проб образцов объектов окружающей среды спектральными и электрохимическими методами особую трудность представляет определение следовых количеств веществ, что обусловлено значительным влиянием на них матричного состава пробы [1].

В настоящее время активно развиваются методы оценки загрязнения атмосферного воздуха тяжелыми металлами и другими токсичными элементами, основанные на использовании мхов в качестве биомониторов [2–5]. Мхи аккумулируют тяжелые металлы и другие вещества непосредственно из воздуха, они не имеют корневой системы, тем самым вклад других источников чаще всего ограничен [6, 7]. Исследования загрязнения атмосферного воздуха тяжелыми металлами с использованием мхов-биомониторов реализуются Европейскими странами в рамках Конвенции ООН о трансграничном переносе воздуха на большие расстояния с 1970-х годов [8, 9].

При использовании метода атомно-эмиссионной спектрометрии для определения тяжелых металлов в сложных растительных образцах пробоподготовка является процедурой, лимитирующей длительность и трудоемкость аналитического цикла. Правильно подобранные условия пробоподготовки позволяют определить низкие концентрации элементов в исследуемой пробе [10]. Анализ литературных данных и проведенных экспериментальных исследований позволил выделить несколько основных способов подготовки мхов (табл. 1). Из данных табл. 1 очевидно, что наиболее эффективный и экспрессный способ минерализации органического вещества во мхах-биомониторах – использование системы микроволнового разложения.

В литературе приведены неполные и противоречивые данные по микроволновому разложению мхов, поэтому требуется подобрать условия минерализации с обязательным контролем полноты деструкции органического вещества в подготов-

Таблица 1. Методы минерализации мхов-биомониторов

Метод	Краткая характеристика метода	Недостатки	Литература
Способ “сухой” минерализации	Процессы протекают при высокой температуре, хорошо переводятся в раствор не только растворимые в воде соединения, но и нерастворимые	Длительная процедура, трудно контролировать температуру непосредственно в тигле и существует вероятность улетучивания некоторых металлов	[11]
Кислотное разложение при повышенной температуре при атмосферном давлении	Широко используется в практике минерализации мхов, за счет простоты с применением смесей на основе кислот и пероксида водорода	Многостадийная и длительная процедура с использованием большого количества реактивов, не всегда сохраняются легколетучие компоненты	[12–14]
Микроволновой нагрев проб различных объектов для определения их микроэлементного состава	Происходит при высоких температурах и давлениях, развивающихся внутри закрытых сосудов, что приводит к увеличению скорости реакций, а также позволяет устранить неконтролируемые потери следов элементов в виде легколетучих молекулярных соединений	Возможно выделение газообразных продуктов окисления, сопровождающееся резким увеличением давления, небольшие навески образцов (до 2 г)	[15–18]

ленных пробах для последующего анализа методом атомно-эмиссионной спектроскопии (АЭС-ИСП) с индуктивно связанной плазмой [1, 19]. Следует убедиться, что растительные фрагменты, аккумулирующие тяжелые металлы, разрушены, и все тяжелые металлы полностью извлечены и переведены в раствор. Кроме того, при определении элементов методом АЭС-ИСП в пробах, содержащих органическое вещество, существует вероятность осаждения углерода на узлах системы ввода пробы, вследствие чего подача анализируемой пробы в плазму может частично или полностью прекратиться, что приведет к уменьшению интенсивности аналитического сигнала и неправильным результатам измерения [20]. Особенно важно, чтобы минерализация проб была полной, при анализе большого количества образцов.

Для установления наличия органического вещества в пробе в процессе пробоподготовки можно использовать приборы, основанные на различных вариантах окисления: растворами сильных окислителей, высокотемпературном, окислении УФ- и ИК-излучением. К таким приборам, например, относится элементный анализатор углерода, водорода и азота (СНН-анализатор), однако его использование для анализа жидких проб, содержащих едкие химические реактивы, затруднено.

В настоящем исследовании предлагается контролировать наличие органических веществ в процессе разложения проб мхов методом термоокислительной спектроскопии – окситермографии, разрабатываемым в ГЕОХИ РАН при уча-

стии Государственного университета “Дубна” [21, 22].

Метод имеет ряд преимуществ по сравнению с другими методами:

- экспрессность анализа (не более 10 мин для одного определения);
- малый объем пробы (5–10 мкл);
- отсутствие необходимости использовать реагенты (только кислород воздуха);
- отсутствие химически вредных отходов, требующих утилизации.

Цель настоящей работы – оптимизация условий пробоподготовки проб мхов-биомониторов с использованием метода термоокислительной спектроскопии – окситермографии для определения тяжелых металлов, аккумулируемых из атмосферного воздуха.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектами исследования служили мхи-биомониторы. Рассматривали следующие виды мхов: *Philonotis marchica*, *Hylocomium splendens*, *Homalothecium philippeanum*, которые признаны хорошими аккумуляторами тяжелых металлов и других соединений [6]. Отобрали шесть проб мха *Philonotis marchica* (пробы №№ 1–6), четыре пробы *Hylocomium splendens* (пробы №№ 7–10) и пять проб *Homalothecium philippeanum* (пробы №№ 11–15).

Образцы мхов-биомониторов в районе п. Боровое Акмолинской области Республики Казахстан собирала студентка Евразийского Нацио-

нального университета имени Л.Н. Гумилева Махамбет А.Ж. [23]. Пробоотбор проводился в рамках программы ООН по воздуху Европы в соответствии с инструкцией [24].

Каждый вид мха обладает индивидуальными особенностями строения, которые влияют на его аккумулирующую способность и определяют условия проведения пробоподготовки.

Для пробоподготовки использовали высокоэффективную систему для микроволнового разложения, экстракции и синтеза MASTER (MDS-10) (Sineo, Китай), работающую на частоте 2.45 МГц с выходной мощностью микроволнового излучения до 1700 Вт. Программное обеспечение данной системы микроволнового разложения позволяет задавать либо температуру, мощность и время, либо давление, мощность и время. Разложение проводили в высокопрочных тефлоновых сосудах объемом 100 мл (14 сосудов + 1 контрольный).

Для минерализации проб применяли 67%-ную HNO_3 ос. ч., 30%-ный H_2O_2 “экстра” и 40%-ную HF ч. Температура разложения составляла $\sim 200^\circ\text{C}$. Полноту минерализации проб контролировали методом окситермографии. Метод основан на программированном высокотемпературном окислении органического вещества в потоке атмосферного воздуха и количественном определении молекулярного кислорода, затраченного на это окисление. При этом измеряется окисляемость анализируемого образца [21, 22].

В качестве окислительной среды использовали чистый атмосферный воздух. Жидкую пробу объемом 10 мкл дозировали в кварцевую лодочку. Лодочка последовательно, двухступенчато входила в реактор: сначала в его низкотемпературную зону ($T \approx 100^\circ\text{C}$), затем в высокотемпературную ($T = 750^\circ\text{C}$). Конструкция реактора позволяла проводить отгонку легколетучих жидких фракций в низкотемпературной зоне. Кислород воздуха в высокотемпературной зоне реактора взаимодействовал с жидкой пробой в лодочке. При наличии органического вещества в пробе происходило его окисление, на которое расходовался кислород. Датчик кислорода, находящийся в потоке воздуха, выходящего из высокотемпературной зоны реактора, регистрировал уменьшение содержания кислорода в потоке. В качестве датчика кислорода используется твердоэлектродный детектор, работающий в диффузионно-потенциометрическом токовом режиме [25]. Информация с датчика кислорода с помощью специально созданного электронного блока и программного обеспечения выводится на экран компьютера в виде зависимости концентрации кислорода (отн. ед. в мВ) от времени. Использование двухступенчатого нагрева пробы позволяет избавиться от мешающего влияния паров воды на стабильность газового потока и получить один пик, характеризую-

щий потребление кислорода, затраченного на окисление органических веществ в пробе.

В приборе заложен алгоритм нахождения базовой линии (исходное содержание кислорода), вычисления площади пика потребления кислорода и расчета химического потребления кислорода по этой площади при условии полного окисления органического вещества и регистрации количества кислорода, затраченного на это окисление.

Для определения содержания тяжелых металлов в минерализованных пробах использовали оптический эмиссионный спектрометр ICPE-9000 (Shimadzu, Япония) с автодозатором ASC-6100F (Shimadzu, Япония). Спектрометр с эшелле-дифракционной решеткой 79 штрихов/мм с диапазоном длин волн 167–800 нм. CCD детектор 1.024×1.024 пикселей. Возможности определения: 71 элемент.

Для построения градуировочного графика использовали стандарт на 23 элемента в 2%-ной HNO_3 (Merck KGaA, Германия), представляющий собой стандартный раствор с концентрацией 1000 мг/л элементов Ag, Al, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr, Tl, Zn. Этот же стандарт использовали для получения количественных характеристик методом добавки. Для разбавления градуировочных и анализируемых растворов использовали 0.1 н HNO_3 ос. ч., приготовленную на деионизованной воде. Перед определением элементного состава методом АЭС-ИСП анализируемые пробы разбавляли в 10 и 100 раз. Для получения деионизованной воды использовали MilliPAK Gamma gold Millipore.

Для контроля правильности процедуры пробоподготовки и результатов определения тяжелых металлов во мхах использовали образец сравнения мха Standard Reference Material M2 [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Мхи имеют различное строение, при этом процедура пробоподготовки должна гарантировать полное разложение всех образцов мхов. Задача первого этапа исследования – выбор реагентов для минерализации. Предварительно выбрали условия разложения проб мхов: массу навески и соотношение реагентов. Исследовали три режима разложения с использованием разных реагентов (табл. 2). Время разложения изменяли в диапазоне от 20 до 40 мин. Оказалось, что режим 1 (табл. 2) с использованием плавиковой кислоты реализовать сложно, поскольку при анализе проб методом АЭС-ИСП требуется применять специальную систему ввода пробы, позволяющую работать с плавиковой кислотой. В связи с этим для разложения мхов выбрали режимы 2 и 3 (табл. 2).

Таблица 2. Режимы микроволнового разложения

№	Масса навески, г	Время, мин	Давление, МПа	Используемые реактивы
1	0.5	20–40	1.2	2 мл H_2O_2 конц, 5 мл HNO_3 конц, 1 мл HF конц
2	0.2	20–40	1.2	1 мл H_2O_2 конц, 5 мл HNO_3 конц
3	0.5	20–40	2.0	2 мл H_2O_2 конц, 7 мл HNO_3 конц

Полноту разложения проб мхов в указанных режимах проверяли методом термоокислительной спектроскопии – окситермографии. Для определения органического вещества в жидких пробах использовали установку, описанную в работе [25]. Опираясь на результаты исследования [23], режим 3 выбрали в качестве оптимального, при этом достигнуто полное разложение образцов мхов-биомониторов.

Для оптимизации времени, необходимого для полного разложения органического вещества в любом виде мха, проводили следующий эксперимент. Выбрали вид мха *Philonotis marchica* (проба № 1), имеющий наиболее сложное для минерализации строение слоевища. В соответствии с условиями режима 3 (табл. 2) готовили растворы в закрытых тefлоновых сосудах, содержащих навески мха. Микроволновое разложение мха проводили, помещая сосуды на фиксированное время в микроволновую печь. Время микроволнового разложения каждой следующей пробы последовательно увеличивали на 3 мин. Общее время микроволнового разложения составило 36 мин. Таким образом подготовили 12 образцов, отличающихся продол-

жительностью минерализации. Эти пробы анализировали методом окситермографии на наличие в них органического вещества после минерализации в соответствии с режимом 3 (табл. 2). На рис. 1 показаны окситермограммы проб № 1 (время минерализации 3 мин), № 5 (время минерализации 15 мин), № 10 (время минерализации 30 мин) и холостой пробы. В качестве фоновой линии приняли аналитический сигнал холостой пробы – растворителя, используемого при минерализации (в данном случае конц. HNO_3). Отрицательные пики указывают на наличие органической матрицы в исследуемых образцах, на окисление которой затрачивается кислород. Положительные пики характеризуют выделение кислорода при термическом разложении азотной кислоты.

При помощи программного обеспечения окситермографа вычислили площади отрицательных пиков, характеризующие потребление кислорода на окисление органического вещества для 12 анализируемых проб. На основании полученных данных построили кривую зависимости площади пика от времени разложения исследуемых образцов (рис. 2). Из данных рис. 2 можно сделать

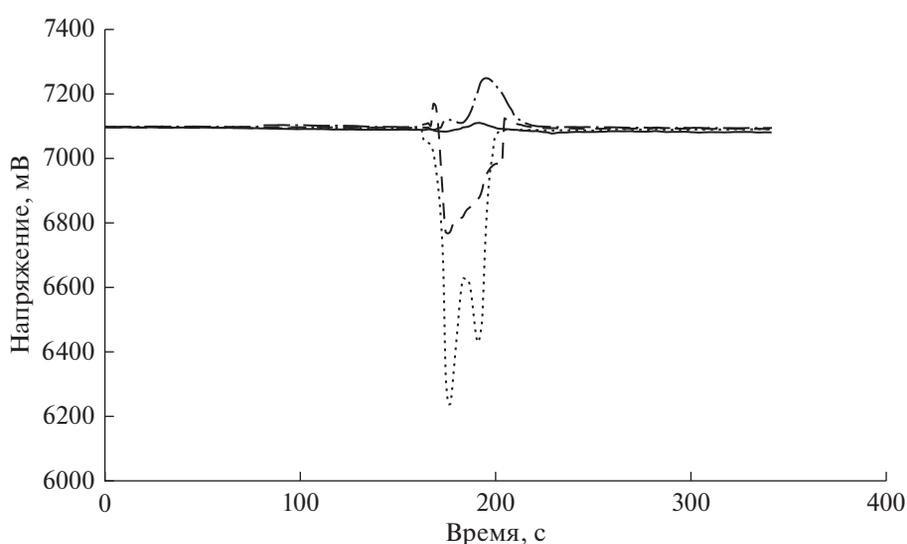


Рис. 1. Окситермограмма пробы № 1 (3 мин), № 10 (30 мин) и холостой пробы (до минерализации). (–) – холостая проба (до минерализации), (– –) – проба № 5 (15 мин), (· · ·) – проба № 1 (3 мин), (– · –) – проба № 10 (30 мин).

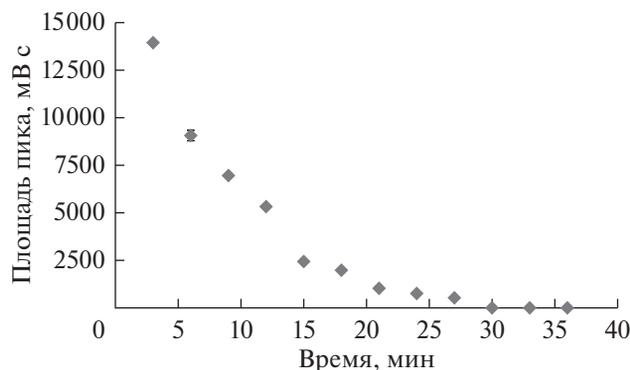


Рис. 2. Зависимости площади пика от времени.

вывод, что после 30 мин разложения достигается полная минерализация пробы. Данный эксперимент подтверждает, что оптимальное время разложения исследуемых образцов составляет 30 мин.

Перед переходом к анализу проб методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой оценили правильность подобранных условий пробоподготовки для различных видов мхов. Для этого исследовали полноту минерализации 15 проб мхов, различающихся по строению и аккумулярующей способности, методом окситермографии: *Philonotis marchica* (проба № 1), *Hylocomium splendens* (проба № 7), *Homalothecium philippeanum* (проба № 11). Разложение проб проводили в режиме 3 (табл. 2). Вре-

мя минерализации составило 30 мин. На рис. 3 представлены окситермограммы некоторых проанализированных образцов мхов, исходя из которых можно сделать вывод о том, что в пробах отсутствует органическая матрица и условия минерализации оптимальны и подходят для всех видов мхов.

Для контроля полноты извлечения тяжелых металлов проанализировали образец сравнения мха (Standard Reference Material M2) [8] методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой с построением градуировочного графика (табл. 3). Образец сравнения также разлагали с использованием микроволновой системы в режиме 3 (табл. 2), время минерализации – 30 мин. Погрешности измерений рас-

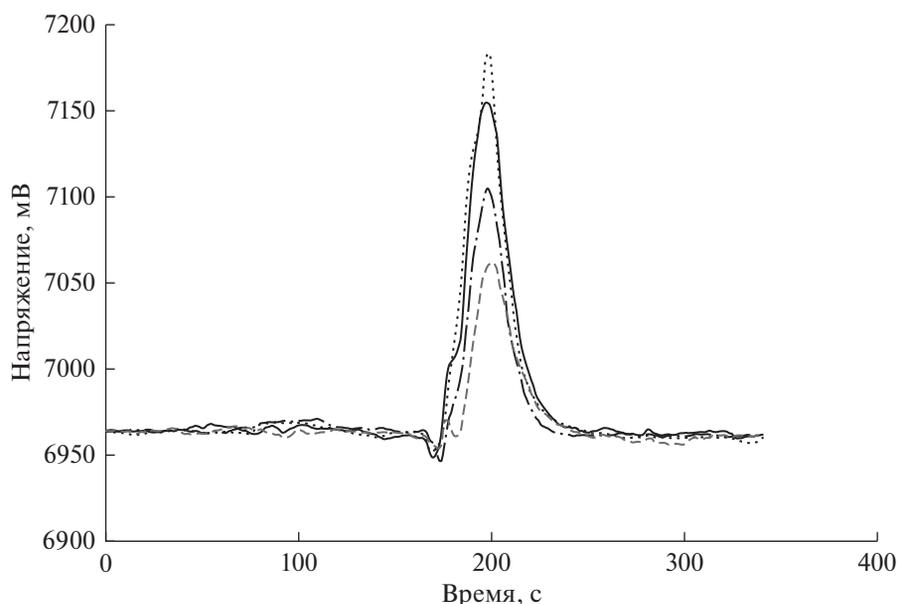


Рис. 3. Окситермограммы исследуемых образцов мхов. (· · ·) – холостая проба (после минерализации), (—) – проба № 7, (— · —) – проба № 1, (---) – проба № 11.

Таблица 3. Сопоставление результатов анализа (проверка правильности) стандарта (Standard Reference Material M2 [8])

Элемент	$c_{\text{в стандарте}}, \text{ МГ/КГ}$ [8]	$c_{\text{эксп}}, \text{ МГ/КГ}$
Al	178 ± 23	190 ± 25
B	16.1 ± 3.5	17.3 ± 3.8
Ba	17.6 ± 2.3	19.8 ± 2.6
Ca	1910 ± 325	1586 ± 270
Cu	68.7 ± 8.9	67.5 ± 8.8
Fe	262 ± 29	198 ± 22
K	6980 ± 910	5570 ± 730
Mg	826 ± 107	823 ± 107
Mn	342 ± 44	356 ± 46
Na	166 ± 22	167 ± 22
Ni	16.3 ± 2.1	20.1 ± 2.6
Pb	6.37 ± 0.77	8.16 ± 0.98
Sr	5.31 ± 1.17	5.5 ± 1.21
Zn	36.1 ± 6.1	36.8 ± 6.2

считывали в соответствии с рекомендациями [26]. Результаты анализа образца сравнения мха демонстрируют правильность полученных результатов.

Металлы в растворе после разложения определяли методом добавок к реальным пробам мха (пробы № 1 и № 7) (табл. 4). В качестве добавки

Таблица 4. Определение концентрации добавки в образце мха (проба № 1)

Элемент	$c_{\text{добавки расч}}, \text{ МГ/Л}$	$c_{\text{добавки эксп}}, \text{ МГ/Л}$
Cu	0.150	0.157
Zn	0.150	0.153
Pb	0.150	0.149
Cr	0.150	0.147
Ni	0.150	0.156

использовали мульти-стандарт Merck KGaA. Как видно из табл. 4, значения, полученные с использованием метода добавок, хорошо соотносятся с ожидаемыми значениями.

Результаты определения тяжелых металлов в исследуемых пробах мхов методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой представлены в табл. 5.

Таким образом, показано, что методом термоокислительной спектроскопии – окситермографии можно контролировать полноту разложения органического вещества в пробах мхов-биомониторов. Данную методику контроля процедуры пробоподготовки можно применять и для других растительных объектов.

Таблица 5. Содержание (мг/кг) тяжелых металлов во мхах-биомониторах

№ пробы	Co	Cu	Fe	Ni	Mn	Pb	Sr	Zn
1	<ПО	3.00 ± 0.57	940 ± 100	<ПО	314 ± 50	7.93 ± 1.11	15.9 ± 2.2	42.2 ± 7.6
2	0.51 ± 0.15	7.44 ± 1.41	2180 ± 240	<ПО	73.8 ± 11.8	16.9 ± 2.4	26.4 ± 3.7	36.8 ± 6.6
3	1.12 ± 0.32	11.7 ± 2.2	3860 ± 420	<ПО	208 ± 33	15.6 ± 2.2	23.1 ± 3.2	88.6 ± 16.0
4	0.31 ± 0.09	3.47 ± 0.66	1120 ± 120	<ПО	21.0 ± 3.4	6.84 ± 0.96	6.19 ± 0.87	19.0 ± 3.4
5	<ПО	3.05 ± 0.58	1390 ± 150	<ПО	207 ± 33	7.62 ± 1.07	13.2 ± 1.8	31.3 ± 5.6
6	<ПО	4.27 ± 0.81	1010 ± 110	<ПО	115 ± 18	2.93 ± 0.41	16.1 ± 2.2	28.1 ± 5.0
7	2.53 ± 0.73	9.75 ± 1.85	14700 ± 1600	26.8 ± 7.2	201 ± 32	9.84 ± 1.38	77.9 ± 10.9	190 ± 34
8	3.65 ± 1.06	11.2 ± 2.1	23200 ± 2600	5.64 ± 1.52	275 ± 44	14.1 ± 2.0	81.8 ± 11.4	46.7 ± 8.4
9	6.21 ± 1.80	18.0 ± 3.4	35300 ± 3900	26.5 ± 7.2	443 ± 71	22.9 ± 3.2	70.2 ± 9.8	176 ± 32
10	2.51 ± 0.73	11.4 ± 2.2	14600 ± 1600	<ПО	228 ± 36	11.0 ± 1.5	83.4 ± 11.7	13.8 ± 2.5
11	3.86 ± 1.12	14.6 ± 2.8	23100 ± 2500	0.11 ± 0.03	327 ± 52	15.9 ± 2.2	88.6 ± 12.4	25.6 ± 4.6
12	3.71 ± 1.08	13.5 ± 2.6	21700 ± 2400	13.3 ± 3.6	319 ± 51	14.9 ± 2.1	91.8 ± 12.8	120 ± 22
13	4.08 ± 1.18	14.9 ± 2.8	16600 ± 1800	1.79 ± 0.48	231 ± 37	12.4 ± 1.7	90.9 ± 12.7	11.9 ± 2.1
14	4.09 ± 1.19	18.0 ± 3.4	24000 ± 2600	29.3 ± 7.9	349 ± 56	16.4 ± 2.3	92.0 ± 12.9	222 ± 40
15	4.40 ± 1.28	17.9 ± 3.4	35400 ± 3900	62.8 ± 17.0	340 ± 54	16.5 ± 2.3	94.7 ± 13.2	251 ± 45

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Землянкина А.С., Коркина Д.А., Гринштейн И.Л. Комплексный подход к элементному анализу пробы с неизвестным составом // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2014. Т. 80. № 11. С. 19.
2. Fernández J.A., Boquete M.T., Caballero A., Aboal J.R. A critical review of protocols for moss biomonitoring of atmospheric deposition: sampling and sample preparation // *Sci. Total Environ.* 2015. P. 132.
3. Большунова Т.С., Рихванов Л.П., Барановская Н.В. К вопросу о выборе фоновых концентраций химических элементов в лишайниках-эпифитах // Изв. Томского политехн. ун-та. 2015. Т. 326. № 9. С. 33.
4. Lazo P., Steinnes E., Qarri F., Allajbeu S., Kane S., Stafilov T., Frontasyeva M., Harmens H. Origin and spatial distribution of metals in moss samples in Albania: A hotspot of heavy metal contamination in Europe // *Chemosphere.* 2018. V. 190. P. 337.
5. Schröder W., Nickel S., Schrönrock S., Meyer M., Wosniok W., Harmens H., Frontasyeva M., Alber R., Aleksiyenak Y., Barandovski L., Carballeira A., Danielsson H., Temmerman L., Godzik B., Jeran Z., Karlsson G., Lazo P., Leblond S., Lindroos A.-J., Liiv S., Magnusson S., Maňková B., Abaigar J., Piispanen J., Poikolainen J., Popescu I., Qarri F., Santamaria J., Skudnik M., Spiric Z., Stafilov T., Steinnes E., Stihl C., Thöni L., Uggerud H., Zechmeister H. Spatially valid data of atmospheric deposition of heavy metals and nitrogen derived by moss surveys for pollution risk assessments of ecosystems // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2016. V. 23. № 11. P. 10457.
6. Berg T., Steinnes E. Use of mosses (*Hylocomium splendens* and *Pleurozium schreberi*) as biomonitors of heavy metal deposition: From relative to absolute deposition values // *Environ. Pollut.* 1997. V. 98. № 1. P. 61.
7. Рогова Н.С., Рыжакова Н.К., Борисенко А.Л., Меркулов В.Г. Изучение аккумуляционных свойств мхов, используемых при мониторинге загрязнения атмосферы // *Оптика атмосферы и океана.* 2011. Т. 24. № 1. С. 79.
8. Steinnes E., Rühling A., Lippo H., Mäkinen A. Reference materials for large-scale metal deposition surveys // *Accreditation Qual. Assur.* 1997. V. 2. № 5. P. 243.
9. Steinnes E., Berg T., Uggerud H.T. Three decades of atmospheric metal deposition in Norway as evident from analysis of moss samples // *Sci. Total Environ.* 2011. V. 412. P. 351.
10. Ланко Е.Ю., Ланко И.В. Особенности методических подходов к разработке способов пробоподготовки объектов окружающей среды // *Вестник Костромского гос. ун-та.* 2014. Т. 20. С. 14.
11. Карпов Ю.А., Савостин А.П., Глинская И.В. Методы пробоотбора и пробоподготовки. М.: Бинум. Лаборатория знаний, 2003. Т. 243. С. 12.
12. Lazo P., Kusiku M. Analysis of mercurial preservatives in different vaccines by cold vapor atomic absorption spectrophotometry // *J. Anal. Sci. Technol.* 2012. V. 3. № 1. P. 121.
13. Bettiol C., Stievano L., Bertelle M., Delfino F. Evaluation of microwave-assisted acid extraction procedures for the determination of metal content and potential bio-availability in sediments // *Appl. Geochem.* 2008. V. 23. № 5. P. 1140.
14. Di Palma A., Capozzi F., Spagnuolo V., Giordano S. Atmospheric particulate matter intercepted by moss-bags: relations to moss trace element uptake and land use // *Chemosphere.* 2017. V. 176. P. 361.
15. Кубракова И.В. Микроволновое излучение в аналитической химии. Возможности и перспективы использования // *Успехи химии.* 2002. Т. 71. № 4. С. 327.
16. Sastre J., Sahuquillo A., Vidal M., Rauret G. Determination of Cd, Cu, Pb and Zn in environmental samples: microwave-assisted total digestion versus aqua regia and nitric acid extraction // *Anal. Chim. Acta.* 2002. V. 462. № 1. P. 59.
17. Карпов Ю.А., Орлова В.А. Современные методы автоклавной пробоподготовки в химическом анализе веществ и материалов // *Заводск. лаборатория. Диагностика материалов.* 2007. Т. 73. № 1. С. 4.
18. Dołęgowska S. Measurement uncertainty from physical sample preparation of moss samples: Estimation of mechanical cleaning vs. rinsing // *Ecol. Indic.* 2017. V. 76. P. 64.
19. Тютюник О.А., Гецина М.Л., Тороченова Е.С., Кубракова И.В. Микроволновая пробоподготовка природных объектов к атомно-абсорбционному определению ртути и других токсичных элементов // *Журн. аналит. химии.* 2013. Т. 68. № 5. С. 420.
20. Коркина Д.А., Делятинчук Н.Н., Гринштейн И.Л. Прямое определение примесных элементов в органических жидкостях методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой // *Лаборатория и производство. Нефтехимия и энергетика.* 2018. № 2. С. 118.
21. Зуев Б.К. Способ и устройство для определения концентрации органических веществ в жидкой пробе. Патент РФ № 2166753. Приоритет от 12.05.1998.
22. Зуев Б.К. Способ окситермографии. Патент РФ № 2411509. Приоритет от 15.01.2010.
23. Попова Е.С., Махамбет А.Ж., Моржухина С.В., Фронтасьева М.В., Омарова Н.М., Зуев Б.К., Александрова Е.О., Пеункова Е.С., Моржухин А.М., Нуркасымова М.У., Никольская Д.В. Определение содержания тяжелых металлов и ПАУ в пробах мхов—биомониторов с территории южного Казахстана // *Вестник Межд. ун-та природы, общества и человека "Дубна". Серия "Естественные и инженерные науки".* 2016. № 4 (36). С. 45.
24. Frontasyeva M., Harmens H. Monitoring of atmospheric deposition of heavy metals, nitrogen and POPs in Europe using bryophytes. United nations economic commission for Europe Convention on long-range transboundary air pollution. 2015. P. 26.
25. Зуев Б.К., Филоненко В.Г., Нестерович Д.С., Поликарпова Р.Д. Определение гиалуриновой кислоты в водных растворах с использованием воздуха в качестве окислителя // *Журн. аналит. химии.* 2018. Т. 73. № 10. С. 763.
26. Методика количественного химического анализа. Определение металлов в питьевой, минеральной, природной, сточной воде и в атмосферных осадках методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой с помощью спектрометра ICPE-9000. М-02-1109-08. СПб, 2009.

НОВЫЕ КНИГИ ИЗДАТЕЛЬСТВА SPRINGER

DOI: 10.31857/S0044450222110172

1. *Ng Xian Wen*. Concise Guide to Electrochemical Methods and Voltammetry. A Problem-Based Test Prep for Students. Springer, 2022. 122 p.
2. Tools and Trends in Bioanalytical Chemistry. Eds. Kubota L.T., Fracassi da Silva J. A., Sena M.M., Alves W.A. Springer, 2022. 558 p.
3. *Sharma R.K., Coniglio M.A., Laganà P.* Natural Inflammatory Molecules in Fruits and Vegetables. Springer, 2022. 55 p.
4. Handbook of Cell Biosensors. Ed. Thouand G. Springer, 2022. 992 p.
5. *Schwedt G.* Wilhelm Ostwald. Die wissenschaftlichen Grundlagen der analytischen Chemie. Springer, 2021. 289 p.
6. *Chen Q., Lin H., Zhao J.* Advanced Nondestructive Detection Technologies in Food. Springer, 2021. 333 p.
7. *Schwedt G.* Carl Remigius Fresenius. Anleitung zur Qualitativen Chemischen Analyse. Springer, 2021. 358 p.
8. *Miyagawa A.* Acoustic Levitation-Based Trace-Level Biosensing. Design of Detection Systems and Applications to Real Samples. Springer, 2021. 93 p.
9. *Sun N., Deng C., Shen X.* Applications of Nanomaterials in Proteomics. Springer, 2021. 423 p.
10. *Matissek R., Fischer M.* Lebensmittelanalytik. Springer, 2021. 905 p.
11. *Chotkowski M., Czerwiński A.* Electrochemistry of Technetium. Springer, 2021. 162 p.
12. *Gey M.H.* Instrumentelle Analytik und Bioanalytik. Biosubstanzen, Trennmethoden, Strukturanalytik, Applikationen. Springer, 2021. 563 p.
13. *Pretsch E., Bühlmann P., Badertscher M.* Spektroskopische Daten zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen. Springer, 2020. 479 p.
14. *Hinderer F.* UV/Vis-Absorptions- und Fluoreszenz-Spektroskopie. Einführung in die spektroskopische Analyse mit UV- und sichtbarer Strahlung. Springer, 2020. 45 p.
15. *Hecht T.* Elementare statistische Bewertung von Messdaten der analytischen Chemie mit Excel. Springer, 2020. 72 p.
16. *Pretsch E., Bühlmann P., Badertscher M.* Structure Determination of Organic Compounds. Tables of Spectral Data. Springer, 2020. 478 p.
17. *Scholz F., Kahlert H.* Chemische Gleichgewichte in der Analytischen Chemie. Die Theorie der Säure-Base-, Komplexbildungs-, Fällungs-, Redox- und Verteilungsgleichgewichte. Springer, 2020. 279 p.
18. *Vogel P.U.B.* Validierung bioanalytischer Methoden. Springer, 2020. 55 p.
19. New Developments in Adsorption/Separation of Small Molecules by Zeolites. Eds. Valencia S., Rey F. Springer, 2020. 229 p.
20. *Helmsen S.* Protein-Ligand-, Protein-Inhibitor- und Protein-Protein-Wechselwirkungen. Einsatz analytischer Methoden zu deren Bestimmung. Springer, 2020. 82 p.
21. Emerging Technologies for the Analysis of Forensic Traces. Ed. Francese S. Springer, 2019. 275 p.
22. Microfluidics for Single-Cell Analysis. Ed. Lin J.-M. Springer, 2019. 261 p.
23. Traceability, Validation and Measurement Uncertainty in Chemistry: V. 3. Practical Examples. Eds. Hrstelj N., Bettencourt da Silva R. Springer, 2019. 129 p.
24. *Gross J.H.* Massenspektrometrie. Spektroskopiekurs kompakt. Springer, 2019. 131 p.
25. Measurement Techniques and Practices of Colloid and Interface Phenomena. Ed. Abe M. Springer, 2019. 145 p.
26. Biomimetic Sensing. Methods and Protocols. Eds. Fitzgerald J.E., Fenniri H. Springer, 2019. 213 p.
27. *Scholz F., Kahlert H.* Chemical Equilibria in Analytical Chemistry. The Theory of Acid-Base, Complex, Precipitation and Redox Equilibria. Springer, 2019. 251 p.
28. Forensic Analysis of Fire Debris and Explosives. Eds. Evans-Nguyen K., Hutches K. Springer, 2019. 356 p.
29. *Díaz-Cruz J.M., Esteban M., Ariño C.* Chemometrics in Electroanalysis. Springer, 2019. 202 p.
30. *Inagawa A.* Ice Microfluidics. Ice as Size-Tunable Separation Field and Physicochemical Nature of Freeze Concentrated Solutions. Springer, 2019. 125 p.
31. Green Analytical Chemistry. Past, Present and Perspectives. Eds. Płotka-Wasyłka J., Namieśnik J. Springer, 2019. 449 p.
32. *Ritgen U.* Analytische Chemie I. Springer, 2019. 301 p.
33. *Xu C., Kuang H., Xu L.* Food Immunoassay. Springer, 2019. 363 p.

Н.Б. Зоров

Химический факультет МГУ
имени М.В. Ломоносова

**В НАУЧНОМ СОВЕТЕ РАН
ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

ОЧЕРЕДНОЕ ЗАСЕДАНИЕ БЮРО

DOI: 10.31857/S0044450222090055

1 марта 2022 г. в онлайн режиме состоялось заседание бюро совета, на котором подведены итоги конкурса на премии НСАХ РАН за 2021 г., обсуждались подготовка IV Съезда аналитиков России (Москва, 25 сентября–1 октября 2022 г.), план мероприятий совета на 2022–2024 гг., текущие дела.

В номинации “За существенный вклад в развитие аналитической химии” премии удостоен д.х.н., профессор В.И. Вершинин (Омский государственный университет), три молодежные премии получили м.н.с. С.А. Бабин и инженер-электроник А.А. Дзюба (Институт автоматизации и электротехники СО РАН, Новосибирск) – за создание новых спектрометров для метода сцинтилляционной атомно-эмиссионной спектроскопии; м.н.с. А.С. Ужель (МГУ им. М.В. Ломоносова, кафедра аналитической химии) – за разработку новых подходов к формированию ковалентно привитых функциональных слоев анионообменников с различной структурой; к.х.н., с.н.с. М.С. Ермолин и к.х.н., н.с. А.И. Иванеев (ГЕОХИ РАН) – за разработку и развитие комплексного подхода к выделению и анализу наночастиц окружающей среды¹.

Член-корр. РАН В.П. Колотов, сопредседатель оргкомитета IV Съезда аналитиков России, рассказал о состоянии подготовки мероприятия. Съезд планируется провести в НМЦ профсоюзов работников АПК (Москва) с 25 сентября по 1 октября 2022 г. Создан сайт съезда <http://analysts-congress.ru>. Готовится программа съезда, ведется работа по привлечению спонсоров.

О планах работы совета в 2022–2024 гг. рассказала ученый секретарь совета, к.х.н. И.Н. Киселева. Мероприятия 2022 г.:

– 13th Winter Symposium on Chemometrics (28 февраля–4 марта 2022 г., онлайн формат). Организатор со стороны совета – комиссия по хемотрике;

– 20-я Международная выставка “Аналитика-Экспо 2022” (19–22 апреля 2022 г., Москва, КВЦ “Крокус-Экспо”), в научной программе которой два семинара, организованных советом, – “Современные масс-спектрометрические методы для биомедицинских исследований” (ведущий – д.х.н. И.А. Родин, МГУ им. М.В. Ломоносова, кафедра аналитической химии) и “Аналитический контроль нефти и нефтепродуктов” (ведущие – д.х.н. Т.А. Марютина (ГЕОХИ РАН) и к.х.н. Е.А. Новиков (РГУ нефти и газа им. И.М. Губкина));

– IV Съезд аналитиков России (Москва, 25 сентября–1 октября);

– 46-я Годичная сессия совета в рамках IV Съезда аналитиков России.

В 2023 г. предполагается участие совета в очередной 21-ой международной выставке “Аналитика-Экспо 2023”.

В план мероприятий на 2024 г. включено проведение 11-ой Всероссийской конференции по электрохимическим методам анализа “ЭМА 2024” (Екатеринбург, май–июнь).

В 2022 г. исполняется 150 лет со дня рождения М.С. Цвета – автора хроматографического метода анализа. В совет поступило предложение о проведении молодежного конкурса работ по хроматографии, посвященного этой дате. Решено создать комиссию по выработке условий конкурса. Кроме того, предложено поднять вопрос об учреждении Золотой медали или премии имени М.С. Цвета РАН.

И.Н. Киселева

¹ Более детальная информация о премиях совета 2021 г. публикуется отдельно.

**В НАУЧНОМ СОВЕТЕ РАН
ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

ПРЕМИИ СОВЕТА ЗА 2021 г.

DOI: 10.31857/S0044450222090067

Научный совет РАН по аналитической химии в конце 2021 г. объявил конкурс на соискание премий совета в номинациях “За существенный вклад в развитие аналитической химии” и “Премии для молодых ученых РАН, других учреждений, организаций, студентов и аспирантов высших учебных заведений”. Поступившие на конкурс работы были рассмотрены жюри и его рекомендации представлены бюро.

Премия “За существенный вклад в развитие аналитической химии” присуждена д.х.н., профессору Вячеславу Исааковичу Вершинину — крупному специалисту в области молекулярной спектроскопии и хемометрических способов обработки аналитической информации. По данным РИНЦ, на работы В.И. Вершинина более 1200 ссылок. Он является соавтором широко известных учебных пособий: “История и методология аналитической химии” (совместно с Ю.А. Золотовым), “Планирование и математическая обработка результатов химического эксперимента” (совместно с Н.В. Перцевым), “Методы и достижения современной аналитической химии” (учебное пособие под ред. В.И. Вершинина и др.). В течение многих лет Вячеслав Исаакович заведует кафедрой аналитической химии Омского государственного университета им. Ф.М. Достоевского, много лет активно работает в Комиссии совета по преподаванию.

Молодежными премиями удостоены три работы: к.х.н., с.н.с. М.С. Ермолина и к.х.н., н.с. А.И. Иванеева (ГЕОХИ РАН) — за разработку комплексного подхода к выделению и анализу наночастиц окружающей среды; м.н.с. А.С. Ужель (МГУ им. М.В. Ломоносова) — за разработку новых подходов к формированию ковалентно привитых функциональных слоев анионообменников с различной структурой; м.н.с. С.А. Бабина и инженера-электроника А.А. Дзюбы (Институт автоматизации и электрометрии СО РАН) — за создание новых спектрометров для метода сцинтилляционной атомно-эмиссионной спектроскопии.

Михаил Сергеевич Ермолин и Александр Игоревич Иванеев представили цикл работ, посвященный выделению и анализу наночастиц окружающей среды, проблема изучения которых как носителей токсичных элементов, обладающих очень высокой подвижностью и проникающей способностью в живые организмы, очень акту-

альна. Авторами предложено использовать метод проточного фракционирования частиц в поперечном силовом поле во вращающейся спиральной колонке в сочетании с широким набором аналитических и диагностических методов. Установлен элементный состав наночастиц городской пыли и вулканического пепла, показано, что наночастицы накапливают токсичные элементы в количествах, в сотни раз превышающих их валовое содержание в пыли и вулканическом пепле. Авторами начата разработка стандартных образцов природных и техногенных наночастиц, создание которых является серьезной проблемой. В этом направлении научная группа в ГЕОХИ является мировым лидером. По теме опубликована 21 статья в ведущих российских и международных журналах, в том числе 12 с квартилем Q1, и один патент РФ.

Работы Анны Станиславовны Ужель, выполненные в команде с сотрудниками кафедры аналитической химии химического факультета МГУ, посвящены созданию высокоэффективных сорбентов для жидкостной хроматографии. По своим возможностям разработанные сорбенты превосходят мировые аналоги. Предложена общая концепция выбора способа синтеза анионообменников с повышенной разделяющей способностью. Разработаны способы получения гиперразветвленных анионообменников с различной структурой привитого слоя для безреагентной ионной хроматографии и управления их селективностью. С помощью полученных неподвижных фаз разделяют неорганические анионы и анионы органических кислот в режиме ионной хроматографии; сахара, аминокислоты, водорастворимые витамины, нуклеозиды и азотистые основания — в режиме гидрофильной хроматографии; алкилбензолы — в режиме обращенно-фазовой ВЭЖХ. По материалам исследований опубликовано 20 статей, 12 из них с Q1. А.С. Ужель — победитель нескольких конкурсов в МГУ, получила премию за лучший студенческий доклад на Международном симпозиуме по хроматографии во Франции (2018 г.), являлась руководителем молодежного гранта РФФИ.

Сергей Александрович Бабин и Анатолий Александрович Дзюба активно участвовали в разработке спектрометров для метода сцинтилляционной атомно-эмиссионной спектроскопии. Ав-

торами созданы аппаратный и программный комплексы для реализации способа вдувания–просыпки вещества в дуговой разряд. Сам метод известен достаточно давно и весьма удобен при анализе, в частности, минерального сырья, однако его реализация на устаревшей аппаратуре не отвечала современному уровню. Достижением соискателей является разработка новых систем детектирования (МФЭС) с высоким быстродействием (до 1000 спектров/с) и улучшенным пределом обнаружения (на уровне кларковых содержаний для многих элементов). На разработанных комплексах возможно одновременное определе-

ние элементного и вещественного составов порошковых проб, что открывает новые перспективы совершенствования метода. Авторам потребовалось сочетание знаний микроэлектроники, оптики, конструкторской и компьютерной технологии. По теме опубликовано 12 работ.

Научный совет РАН по аналитической химии и редакция “Журнала аналитической химии” поздравляют лауреатов премий НСАХ РАН за 2021 г. и желают им дальнейших творческих успехов.

И.Н. Киселева