

## ОТЗЫВ

председателя диссертационного совета на диссертацию Тимофеевой Ирины Игоревны на тему: «Новые способы микроэкстракционного концентрирования ксенобиотиков для их определения в пищевых продуктах», представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по научной специальности 1.4.2. Аналитическая химия

**Актуальным** направлением при анализе объектов со сложной матрицей является поиск новых экологически безопасных и селективных экстракционных систем и сорбентов и соответствие их критериям *зеленой* химии. Это в полной мере относится и к анализу пищевых продуктов, важным этапом которого является предварительная подготовка пробы, включающая извлечение, концентрирование и разделение целевых аналитов.

Активно востребованные методы микроэкстракции способствуют быстрому массопереносу и высокой скорости установления межфазового равновесия при минимальных расходах экстрагентов. Развитию этого направления и посвящено диссертационное исследование Тимофеевой Ирины Игоревны, **целью** которого явилась разработка новых подходов к микроэкстракционному выделению ксенобиотиков, включающему микроэкстракцию с *in-situ* образованием экстрагента, диспергированием экстрагента газовой фазой, микроэкстракцию в мицеллярную фазу, дисперсионную жидкостно-жидкостная микроэкстракцию, с применением наноматериалов и растворителей последнего поколения для определения целевых аналитов в жидких и твердофазных пробах пищевых продуктов спектральными и хроматографическими методами. Для реализации цели необходимо было решить ряд задач, среди которых выявление аналитических возможностей селективного извлечения летучих аналитов из жидких и твердофазных проб методами статической и динамической парофазной микроэкстракции, исключая влияние матричных компонентов, на ферромагнитных наночастицах; выявление возможности применения гидрофобных карбоновых кислот в качестве экстрагентов с переключаемой гидрофильностью; поиск новых экстракционных систем на основе первичного амина и карбоновой кислоты для мицеллярной микроэкстракции полярных органических аналитов и на основе гидрофобной карбоновой кислоты и её соли для неполярных органических аналитов; адаптация найденных подходов к анализу продуктов растительного и животного происхождения, биологически активных добавок, алкогольных и безалкогольных напитков и др.

### **Степень достоверности результатов**

Достоверность полученных результатов обусловлена значительным объемом экспериментальных данных, репрезентативностью выборки анализируемого материала, воспроизводимостью полученных результатов и использованием современных методов анализа и научного оборудования для хроматографических и масс-спектрометрических исследований (ВЭЖХ-УФ, ВЭЖХ-ФЛ, ВЭЖХ-МС, ГХ-МС, ГХПИД, ААС), а также применением математической статистики при обработке экспериментальных данных. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, строго аргументированы, достоверны и логически вытекают из полученных

автором экспериментальных данных и их анализа, а также сопоставления с литературными данными.

### **Соответствие паспорту специальности**

Диссертационная работа Тимофеевой Ирины Игоревны соответствует пункту 2 «Методы химического анализа», пункту 10 «Анализ органических веществ и материалов» и пункту 13 «Анализ пищевых продуктов» паспорта специальности 1.4.2 – Аналитическая химия.

### **Объем и структура работы. Оценка содержания диссертации.**

Диссертация представлена на 205 страницах печатного текста и включает оглавление, список сокращений и условных обозначений, введение, основную часть из 6 глав, заключение, список цитируемых литературных источников (207 наименований).

*Литературный обзор* диссертации посвящен химическому анализу пищевых продуктов. Особое внимание уделено вариантам жидкостно-жидкостной, твердофазной и парофазной микроэкстракции. В специальном разделе обсуждается автоматизация химического анализа пищевых продуктов. Тщательный анализ литературных данных позволил Тимофеевой И.И. сформулировать стратегию выполнения собственных экспериментов.

Диссертанту удалось реализовать принципиально новые подходы микроэкстракционного выделения и концентрирования ксенобиотиков из пищевых продуктов и разработать новые способы автоматизированной микроэкстракции аналитов для их определения хроматографическими методами. Так, автором диссертационной работы предложена схема on-line выделения неорганических веществ, способных образовывать летучие соединения, включающая реакционную газовую экстракцию аналитов и их последующее газо-адсорбционное выделение и концентрирование на магнитных железосодержащих НЧ, которые по сравнению с обычными сорбентами позволяют осуществлять элюирование аналита без центрифугирования и фильтрации. Разработанный динамический режим концентрирования селеноводорода на ферромагнитном сорбенте в сочетании с чувствительным методом ААС-ЭТА обеспечивает низкие ПО селена (IV), в среднем на порядок ниже, чем в ранее предложенных методах.

Весьма интересен предложенный диссертантом оригинальный способ мембранный микроэкстракции, основанный на извлечении целевых аналитов из суспендированных проб в карбоновую кислоту, находящуюся в порах гидрофобной мембраны. При этом отмечены и ограничения предлагаемого варианта: длительность установления межфазового равновесия и возможность осуществления такого подхода только для определения аналитов, способных к ионизации, например, антибиотиков фторхинолонового ряда. Для эффективного выделения ксенобиотиков из продуктов питания автором работы впервые предложены в качестве экстрагентов природные терпеноиды и убедительно показана возможность использования в качестве диспергатора легколетучего растворителя, удаление которого из системы происходит за счет нагревания.

Особое внимание в последние годы уделяется применению в качестве экстрагентов эвтектических растворителей (ЭР). Тимофеевой И.И. предложен новый комбинированный

способ, в основе которого микроэкстракционное извлечение целевых аналитов (офлоксацина и флероксацина) за счет *in situ* образования ЭР при нагревании его прекурсоров непосредственно в смеси с твердофазной пробой. Диссертант и в этом случае тщательно выделил не только достоинства, но и ограничение такого подхода: невозможность его автоматизации в связи с необходимостью стадии центрифугирования.

Интересна и продуктивна реализованная идея микроэкстракционного концентрирования норфлоксацина, офлоксацина и флероксацина в пробе молока и криветках, где роль диспергатора экстрагента (эвтектического растворителя) выполняет *in situ* образующийся углекислый газ, повышая эффективность массопереноса целевых аналитов в электронейтральной форме. Контроль состава выделенной после экстракции фазы проводился методами ГХ-ПИД и ИК-спектроскопии. Немаловажным обстоятельством является и то, что в этом случае возможна автоматизация, поскольку стадия центрифугирования отсутствует. Мицеллярная экстракция, основанная на извлечении и концентрировании полярных аналитов в фазу, образованную первичным амином (1-нониламин) и карбоновой кислотой (2,2-диметилпропановая кислоты), успешно реализована диссертантом при определении пестицидов в различных пищевых продуктах. Разделение фаз обеспечивалось за счёт высаливающего агента, а полученная в результате микроэкстракции фаза обладала низкой вязкостью.

Диссертант принимает во внимание, что наличие диспергатора может негативным образом сказываться на эффективности экстракции целевых аналитов, способствуя их лучшему растворению в водной фазе. В связи с этим разработана экспрессная дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция (ДЖЖМЭ), предполагающая ввод жидкой анализируемой пробы в заранее подготовленную экстракционную виалу, на дне которой слой застывшего ментола. Возможности разработанной ДЖЖМЭ с плавлением экстрагента продемонстрированы на примере ВЭЖХ-УФ определения консерванта бензойной кислоты в безалкогольных напитках. Преимущества разработанного варианта - отсутствие диспергатора и необходимости в разбавлении или фильтрации проб, центрифугирования, что существенно сокращает время анализа.

Заключительная глава диссертации Тимофеевой И.И. посвящена автоматизации микроэкстракции, где обсуждаются разработанные на принципах проточных методов автоматизированные способы пробоподготовки, основанные на методах дисперсионной жидкостно-жидкостной, гомогенной жидкостной и мицеллярной микроэкстракции, и востребованные при анализе жидких и твердофазных проб пищевых продуктов. Для автоматизации ДЖЖМЭ с диспергированием фазы экстрагента летучим растворителем (дихлорметаном) разработана гидравлическая схема на принципах циклического инъекционного анализа. Работоспособность схемы показана при анализе твердофазных пищевых продуктов с определением офлоксацина, флероксацина и норфлоксацина в воде и офлоксацина в курином мясе. Циклический инъекционный анализ обеспечивает возможность анализа твердофазных проб за счет включения в схему анализа смесительных камер.

Возможности разработанной автоматизированной схемы анализа продемонстрированы на примере ВЭЖХ-МС/МС определения четырех пестицидов (малатиона, диазинона, имидаклоприда и байлетона) в соках.

## **Научная новизна диссертационной работы**

Разработаны и реализованы принципиально новые подходы к анализу жидких и твердофазных проб пищевых продуктов в сочетании с новыми экстракционными системами. Предложены способы, основанные на фазовых переходах экстрагента (природного терпеноида), обеспечившие заметное повышение коэффициентов концентрирования аналитов. Реализован способ микроэкстракционного выделения аналитов, способных к ионизации (фторхинолонов), в эвтектический растворитель на основе карбоновой кислоты и терпеноида

Выявлены аналитические возможности применения ферромагнитных наночастиц в парофазной микроэкстракции для выделения летучих веществ из жидких и твердофазных проб пищевых продуктов. Предложены способы статической и динамической парофазной микроэкстракции для концентрирования летучих аналитов из пищевых продуктов на магнитных наночастицах с высокими степенями извлечения.

С целью удаления диспергатора из экстракционной системы в процессе дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции предложен способ, основанный на фазовом его переходе *жидкость – газ* при нагревании, что обеспечило диспергирование фазы экстрагента и при этом устранение мешающего влияния на массоперенос диспергатора. Предложены новые экстракционные системы на основе первичного амина и карбоновой кислоты и на основе гидрофобной карбоновой кислоты и её соли для мицеллярной микроэкстракции неполярных органических аналитов из водных проб пищевых продуктов.

Разработан способ мицеллярной микроэкстракции полярных органических аналитов из твердофазных проб. Предложен способ мембранной микроэкстракции, основанный на извлечении целевых аналитов из водной фазы в гидрофобные мембраны, импрегнированные карбоновыми кислотами. Предложен новый способ ДЖЖМЭ, основанный на диспергировании фазы эвтектического растворителя углекислым газом, образующимся *in-situ* в процессе химической реакции, что обеспечило экспрессное разделение фаз без стадии центрифугирования и автоматизацию на принципах проточных методов.

## **Теоретическая и практическая значимость работы**

Разработаны комбинированные способы экспрессного и высокочувствительного определения органических и неорганических ксенобиотиков (антибиотиков, пестицидов, консервантов, полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), фенолов, Se (IV)) в жидких и твердофазных пищевых продуктах (растительного и животного происхождения, детском питании, алкогольных и безалкогольных напитках, биологически активных пищевых добавках), включающие микроэкстракционное выделение аналитов и их детектирование хроматографическими и спектральными методами.

Для автоматизированного извлечения и концентрирования ксенобиотиков методами дисперсионной жидкостно-жидкостной, гомогенной жидкостной и мицеллярной

микроэкстракции разработаны гидравлические схемы, способствующие повышению прецизионности и производительности химического анализа пищевых продуктов.

Предложен комплекс новых экспрессных и эффективных подходов, основанных на принципах жидкостной и парофазной микроэкстракции и проточных методов, обеспечивающих миниатюризацию и автоматизацию химического анализа жидких и твердофазных пищевых продуктов. Предложены и исследованы новые экстракционные системы для реализации мембранной, мицеллярной и дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции. Для автоматизации ДЖЖМЭ с диспергированием фазы экстрагента летучим растворителем (дихлорметаном) разработана гидравлическая схема на принципах циклического инъекционного анализа. Работоспособность схемы показана при анализе твердофазных пищевых продуктов с определением офлоксацина, флероксацина и норфлоксацина в воде и офлоксацина в курином мясе.

По работе возник ряд вопросов и замечаний

1. Одна из задач диссертационной работы - предложить механизмы статической и динамической парофазной микроэкстракции летучих органических и неорганических веществ на ферромагнитных наночастицах, обеспечивающих селективное извлечение целевых аналитов. В чем суть выявленного механизма?
2. Для извлечения фенолов лучшие показатели сорбции обеспечили наночастицы состава  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Cr}(\text{OH})_3$ , а для селеноводорода  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ? Чем это объясняется?
3. Как объяснить тот факт, что наибольшие значения аналитических сигналов фторхинолонов наблюдали при использовании тетрабутиламмония бромида, в то время как в присутствии тетраметиламмония бромида образование эвтектического растворителя не происходило?
4. Использование моно- (фруктоза, глюкоза) и дисахаридов (сахароза) для разделения фаз оказалось гораздо эффективнее, нежели использование высаливающего агента (сульфат натрия), который приводил к уменьшению аналитического сигнала в случае выбранных аналитов (стр. 157). Каково объяснение этого факта?
5. Как проверялась полнота конверсии в селеноводород? Не являются ли ионы  $\text{Fe}^{3+}$  окислителями для органических соединений, например, при выделении селеноводорода на ферромагнитных наночастицах?
6. Все ли определяемые соединения в данной работе являются ксенобиотиками? Корректно ли отнесение к ксенобиотикам бензойной, сорбиновой, аскорбиновой, лимонной и т.д. кислот?
7. Вопрос по разработанной ДЖЖМЭ с плавлением экстрагента при определении бензойной кислоты в безалкогольных напитках методом ВЭЖХ-УФ.

Автор диссертационного исследования утверждает, что достоинством предлагаемого подхода является отсутствие диспергатора и необходимости в разбавлении и центрифугировании, но есть, как отмечает сам диссертант, и ограничение: возможное засорение системы ВЭЖХ-УФ фазой ментола, что требует растворение в органическом растворителе или в подвижной фазе перед анализом. Не происходит ли при этом нивелирование эффекта концентрирования?

8. Является ли применение экстрагентов с «переключаемой гидрофильностью» («switchable hydrophilicity solvents») приоритетом автора диссертационной работы? См. ссылки в тексте диссертации 82-84 (одна из них 2014 г.)
9. В Заключении автор утверждает, что ... *Разработаны новые экстракционные системы ...,обеспечивающие возможность повышения эффективности межфазного распределения целевых аналитов с ориентацией на особенности химического состава анализируемых проб.* Требуется комментарий.
10. Имеются замечания стилистического плана. *При подготовке пробы к анализу можно выделить **три** (?) основные стадии: высушивание, разложение (вскрытие) пробы, разделение и концентрирование* (лит. обзор, стр. 23); ... *0,025 г каждого фенола*( стр.50), хотя фенолом является один из компонентов смеси; есть не совсем удачные формулировки: ... *качественное определение аналитов* (стр.61); ...*гваякол содержит гидроксильные и метоксильные группы, которые могут повышать эффективность сорбции за счет двух точек связывания* (стр. 81); ...*карбоновая кислота со **средней** длиной углеродной цепи* (стр. 107); встречается использование возвратных глаголов... *определение аналитов проводилось* (стр.61), ... *количество выпаренной воды варьировалось* (стр.54); ... *влияние на определение в соке бензойной кислоты основных её компонентов: сорбиновой, аскорбиновой и т.д.*; некорректно использовать резонансную стрелку для описания равновесных систем  $A(в) \leftrightarrow A(о)$  (стр.66); полученные индексы экологичности (стр. 146) следовало бы прокомментировать.

Несмотря на возникшие вопросы и сделанные замечания диссертационная работа Тимофеевой Ирины Игоревны оставляет самое благоприятное впечатление.

Работа прошла очень широкую апробацию, результаты проведенных исследований опубликованы в 19 статьях (в том числе 5 обзорах по теме диссертации) в международных рецензируемых журналах преимущественно первого квартиля (Q1), индексируемых базами данных Scopus и Web of Science

С учетом всего вышесказанного полагаю:

Содержание диссертации Тимофеевой Ирины Игоревны на тему: «Новые способы микроэкстракционного концентрирования ксенобиотиков для их определения в пищевых продуктах» соответствует специальности 1.4.2. Аналитическая химия;

Диссертация Тимофеевой Ирины Игоревны является научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, связанную с приоритетными направлениями и программами развития отечественной фундаментальной и прикладной науки с использованием современных концепций и экспериментальных методологий. На основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение: разработка принципиально новых подходов к микроэкстракционному выделению ксенобиотиков, включающих микроэкстракцию с in-situ образованием экстрагента, диспергированием экстрагента газовой фазой, микроэкстракцию в мицеллярную фазу, дисперсионную жидкостно-жидкостная микроэкстракцию, с применением наноматериалов и растворителей

последнего поколения для определения целевых аналитов в жидких и твердофазных пробах пищевых продуктов спектральными и хроматографическими методами. Внедрение разработанных подходов вносит значительный вклад в развитие страны. Нарушений пунктов 9, 11 Порядка присуждения Санкт-Петербургским государственным университетом ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук соискателем ученой степени мною не установлено

Диссертация соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученой степени доктора наук, установленным приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете» и рекомендована к защите в СПбГУ.



Председатель диссертационного совета

Доктор химических наук, профессор, профессор

Карцова Людмила Алексеевна

21.02.2025