

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертационную работу **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

Диссертация И.И.Тимофеевой на соискание ученой степени доктора химических наук представляет собой исключительно дизайнерскую работу, посвященную созданию новых способов микроэкстракционного концентрирования ксенобиотиков для их определения в пищевых продуктах, что полностью соответствует ее названию. В важности контроля качества пищевых продуктов сомневаться невозможно, однако нельзя не отметить, что способы этого контроля известны не большинству химиков-аналитиков, а преимущественно узкому кругу специалистов. В особенности это касается таких операций, как подготовка проб; из необходимости их совершенствования следует **актуальность диссертационной работы**. Критерии оптимизации включают повышение производительности операций (снижение затрат времени), миниатюризацию, в том числе уменьшение расходов реагентов и экологически безопасных растворителей, а также возможность их автоматизации. Если говорить о физико-химических характеристиках операций, то целесообразно внедрение методов микроэкстракции, которые при работе со сложными матрицами обеспечивают ускорение процессов массопереноса и высокую скорость установления межфазных равновесий при минимальных расходах экстрагентов.

Отмеченные моменты актуальности полностью определяют **цель диссертационной работы**, которая сформулирована автором как «разработка новых экстракционных систем и материалов, а также приемов выделения аналитов из сложных матриц». **Задачи работы** логично подчинены такой цели и включают широкий набор предложений, посвященных развитию микроэкстракционных (жидкостных и парофазных) и проточных методов, каждый из которых характеризуется отчетливо выраженной **научной новизной**.

Некоторые из решенных в работе задач состояли в следующем. Для сорбционного концентрирования (парофазная микроэкстракция) селеноводорода и летучих фенолов в статическом и динамическом режимах были рекомендованы ферромагнитные наночастицы. Для жидкостной микроэкстракции бензойной и сорбиновой кислот были использованы два природных соединения с низкими температурами плавления – ментол и тимол. С целью диспергирования экстрагента и устранения мешающего влияния диспергатора на массоперенос в процессе дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции предложен способ, основанный на нагре-

вании образцов до температуры, превышающей температуру кипения диспергатора (дихлорметан). Показана возможность использования карбоновых кислот в порах гидрофобных мембран как экстрагентов для выделения и концентрирования органических соединений различной химической природы. Установлено, что эвтектические растворители на основе карбоновых кислот и терпеноидов, а также на основе четвертичной соли аммония и алифатических спиртов, способны к эффективной экстракции ионизируемых аналитов.

Ион-парное (конечно же, не «цвиттер-ионное») ПАВ на основе первичного амина и карбоновой кислоты проявляет высокую экстракционную способность к полярным аналитам, что было показано на примере мицеллярной микроэкстракции пестицидов из суспензий проб. Показано, что возможна автоматизация предлагаемых экстракционных методов. Один из наиболее интересных вариантов – дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция с диспергированием экстрагента газовой фазой, образованной в результате химической реакции (CO_2) или фазового перехода диспергатора (CH_2Cl_2), которая может быть автоматизирована на принципах циклического инъекционного анализа. Предложенные способы обеспечивают высокую производительность и воспроизводимость результатов.

На основании сделанных выводов и полученных результатов создано 14 оригинальных способов определения ксенобиотиков (антибиотиков, пестицидов, консервантов, полициклических ароматических углеводов, фенолов, неорганических форм селена) в различных пищевых продуктах растительного и животного происхождения, детском питании, алкогольных и безалкогольных напитках, биологически активных пищевых добавках.

Вполне можно согласиться с автором работы в оценке **теоретической и практической значимости** диссертации (без разделения этих критериев, что типично для работ в области аналитической химии). Предложен комплекс новых способов и подходов, основанных на принципах жидкостной и парофазной микроэкстракции, а также проточных методов, обеспечивающих миниатюризацию и автоматизацию химического анализа пищевых продуктов. Предложены и изучены новые экстракционные системы для реализации различных вариантов жидкостно-жидкостной микроэкстракции (мембранной, мицеллярной и дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции) отвечающие принципам «зеленой» химии. В качестве сорбентов для статической и динамической парофазной микроэкстракции летучих аналитов предложены ферромагнитные наноматериалы. Разработаны комбинированные способы для экспрессного и высокочувствительного определения органических и неорганических ксенобиотиков (антибиотиков, пестицидов, консервантов, полициклических ароматических углеводов, фенолов, неорганического селена) в пищевых продуктах, включающие микроэкстракционное выделение аналитов и их детектирование хроматографическими и спектральными методами.

Выносимые на защиту положения полностью отражают содержание работы и согласованы с выводами и полученными результатами. **Достоверность результатов** во всех случаях единообразно подтверждена методом «введено-найдено» с вычислением так называемого относительного смещения (R , %, формула на стр. 68), а также методом сравнения с оценкой критерия Фишера (F -тест, проверка «равенства» отклонений) и критерия Стьюдента (t -тест, проверка «равенства» средних значений).

Результаты работы опубликованы в 19 статьях в представительных международных и российских журналах, индексируемых в базах РИНЦ, Web of Science и Scopus, а ее **апробацию** подтверждает участие автора в различных конференциях.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, шести глав текста, заключения и списка литературы (207 цитируемых источников); общий объем составляет 205 страниц. Во введении отражены все необходимые элементы, характеризующие диссертацию как научно-квалификационную работу: актуальность темы, цель и задачи исследования, научная новизна, практическая значимость, основные результаты и список публикаций автора по теме диссертации. Диссертационная работа полностью **соответствует формуле специальности 1.4.2. Аналитическая химия**, поскольку ее задачей является совершенствование способов подготовки проб при анализе пищевых продуктов на содержание ксенобиотиков.

Последний раздел отзыва традиционно включает **вопросы, комментарии и пожелания**. Хотел бы подчеркнуть, что, учитывая высокий уровень новизны работы, их не стоит позиционировать как **замечания**.

Из общих вопросов, которые требуют комментариев автора, необходимо отметить следующее:

- Работа посвящена извлечению, концентрированию и определению следов ксенобиотиков. Следовательно, все используемые в работе растворители и материалы должны подлежать контролю на присутствие возможных примесей. Соответствующий раздел стоило бы включить в главу 2 «Экспериментальная часть». Если же примеси в используемых растворителях не мешают определению целевых соединений, то этот факт тем более стоило бы отметить как важное преимущество.

- Конечно же, в рамках диссертационной работы различные варианты определений не могли быть проиллюстрированы чрезмерно большим числом примеров. Однако весьма желательно услышать мнение автора, для определения каких еще соединений (ксенобиотиков) или (лучше) каких классов веществ целесообразно применять разработанные способы подготовки проб.

- При представлении результатов определения различных ксенобиотиков в реальных образцах в работе использован несколько странный способ. Рассмотрим его на примере определения фторхинолонов (офлоксацина и флероксацина) в продуктах животного происхождения (говяжий и куриный фарш, куриное филе). Результаты определений представлены в таблице 10 (стр. 99). Правильность полученных результатов подтверждена методами «введено-найдено» и сравнения. Однако в Табл. 10 все результаты определений содержания фторхинолонов в реальных образцах выглядят как «< ПО», то есть эти ксенобиотики там не обнаружены. Тогда как следует понимать фразы «Результаты определений представлены ...» и «Правильность полученных результатов подтверждена ...»? Фактически автор подтверждает правильность введения добавок. Подобный же способ представления данных использован в Табл. 8, 10, 11, 12, 20, 22, 23 и 24. Ненулевые количества определяемых веществ указаны в Табл. 5, 7, 15 (только в одном образце), 16, 18 и 25 (только в двух образцах). Нужны авторские комментарии.

Если следовать подобной логике представления результатов, то, например, вполне можно представить себе работу «Определение стрихнина в пиве «Балтика № 3». Для реальных образцов нужно будет указать «<ПО», а предлагаемый метод охарактеризовать с использованием двух добавок.

Кроме этого есть еще несколько менее «глобальных» вопросов:

- Заголовок раздела 1.1 содержит термин «Химический анализ» (пищевых продуктов), который встречается в тексте и далее. Полагаю, что этот термин не применим к решаемым автором задачам. Дело в том, что в соответствии с формулировкой «Химический анализ – определение состава материала с использованием методов, основанных на химических реакциях определяемых веществ в растворах». В данной же работе речь идет не о химическом, а о компонентном анализе.

- На рис. 12(А) (стр. 56) приведена хроматограмма «реальных образцов креветок» (так в тексте; должно быть как минимум «экстрактов креветок»), на которой регистрируются три пика. Однако на хроматограмме 12(Б) с добавками трех фторхинолонов ни один из ранее зарегистрированных пиков с ними не совпал. Нужны соответствующие комментарии, поскольку неясна цель представления такого рисунка.

- В подписи к Рис. 14 (стр. 60) указано «Хроматограмма экстракта фторхинолонов ...», а к Рис. 15 (стр. 61) – «... экстракта бензойной и сорбиновой кислот». Ни в подписи, ни в соответствующем тексте не названы экстрагируемые объекты.

- На Рис. 17 (стр. 64) приведена хроматограмма водного раствора смеси 13 ПАУ с концентрацией каждого анализа 5 мкг/л. Хотел бы заметить, что этого не может быть, так как растворимость пирена и бенз[а]пирена в воде при комнатной температуре составляет 0.11 мкг/л. Для некоторых из остальных перечисленных ПАУ растворимость также значительно меньше 5 мкг/л.

- На стр. 65 при неподвижную фазу HP-5 хроматографической колонки написано, что она представляет собой 5 % цианопропилфенил (95 % метилполисилоксан). На самом же деле цианопропилфенильных фрагментов в этой фазе нет, а есть фенильные.
- В главе 3 рассмотрены вопросы концентрирования селеноводорода на частицах Fe_3O_4 . Не стоило ли сравнить окислительно-восстановительные потенциалы H_2Se и Fe_3O_4 чтобы исключить или подтвердить возможность окисления селеноводорода оксидами железа с развитой удельной поверхностью?
- На стр. 70-71 дважды упоминается «энергия взаимодействия частиц во внешнем магнитном поле». Неясно, что автор имеет в виду; нужны дополнительные комментарии.
- На стр. 74 присутствует фрагмент текста, в котором упомянута возможность окислительного элюирования селеноводорода растворами перманганата калия и пероксида водорода. Ни до, ни после ничего про такой вариант более ничего не сказано. Откуда появился этот фрагмент и чему он соответствует?
- В комментариях к Рис. 26 (стр. 82) (эффективность элюирования фенолов с магнитных наночастиц) написано, что ацетонитрил – менее полярный растворитель (по сравнению с метанолом). На самом деле это не так: дипольный момент ацетонитрила 3.44 D, а метанола 2.87 D; диэлектрическая проницаемость ацетонитрила 37.5, а метанола 31.9. Стало быть, метанол менее полярен, чем ацетонитрил.
- Выражение «донор водородной связи» (стр. 96, 101, подпись к Рис. 34 на стр. 101) не совсем корректно. Водородные связи образуются за счет взаимодействия поляризованных атомов водорода с акцепторами – чаще всего атомами, имеющими неподеленные электронные пары.
- Стр. 104: Маловероятно полагать, что в результате нейтрализации карбонатом натрия смеси тимола, гептановой и муравьиной кислоты нацело расходуется только муравьиная кислота, тогда как гептановая сохраняется в образце.
- В первой части диссертации для оценки эффективности экстракции использованы абсолютные площади пиков. Однако начиная с Рис. 39 (стр. 110) появляется более корректная величина – степень извлечения. Нужны комментарии, как ее определяли.
- В результате применения факторного анализа получены уравнения, приведенные на стр. 121 и 122. Коэффициенты этих уравнений обычно принято приводить с оценками их погрешностей.
- Про Рис. 44 в тексте сказано, что это хроматограмма реального образца сока с добавкой (бензойной кислоты). В подписи к этому рисунку тот факт, что он соответствует образцу с добавкой ничего не написано. Кроме того, нет информации, какой

это был сок. А это важно, так как из Табл. 15 следует, что в четырех из пяти соков бензойная кислота вообще не обнаружена.

- На стр. 124 в качестве недостатка метода упомянуто «засорение системы ВЭЖХ-УФ фазой ментола». Учитывая огромные количества дозируемого в ВЭЖХ-колонку ментола, возникает вопрос, сколько времени после каждого анализа приходилось ее кондиционировать?

- В разделе 6.2. рассмотрена экстракция (правда, не сказано, каких компонентов) из гомогенных водных растворов ацетонитрилом (!) в присутствии высахаривающего агента – глюкозы, добавляемой в виде водного раствора с концентрацией 400 г/л. Отмечено, что в результате удается выделить фазу ацетонитрила, содержащую целевые аналиты. Однако можно полагать, что в данном случае происходит расслаивание системы на две фазы, каждая из которых содержит все компоненты: воду, ацетонитрил и глюкозу, но только в разных соотношениях. Кстати, поскольку известен термин «всаливание», автора диссертации можно спросить, не встречался ли ей аналогичный термин «всахаривание»?

- В некоторой степени повторение общего вопроса (см. выше). На стр. 153 написано, что «... в течение 15 мин происходило экстрагирование офлоксацина из волокон матрицы в щелочной раствор». Однако далее в Табл. 23 приведены результаты определения офлоксацина в пробах куриного мяса, из которых следует, что его там нет (ниже ПО). Если так, то таблицу стоило бы назвать как-то по-другому.

- Вопрос к разделу 6.5: зачем определять ПАУ в чае после его заварки, если более надежно это можно сделать в сухом продукте перед заваркой?

Одна из целей приведенных вопросов и комментариев состоит том, чтобы обратить внимание автора на необходимость уточнять, казалось бы, малозначительные моменты, которые на самом деле такими не являются. При этом их не следует относить к существенным критическим замечаниям, поскольку можно полагать, что они не затрагивают основные элементы новизны рассматриваемой диссертационной работы.

Таким образом, с учетом вышесказанного полагаю:

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

Диссертация представляет собой работу, в которой изложены новые аналитические решения, касающиеся совершенствования способов подготовки проб пищевых продуктов при определении ксенобиотиков, внедрение которых вносит существенный вклад в различные области применения методов аналитической хи-

мии, должно способствовать развитию соответствующих отраслей промышленности и, следовательно, страны в целом.

Нарушений пунктов 9 и 11 Порядка присуждения Санкт-Петербургским государственным университетом 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.

Член диссертационного совета:

д.х.н., профессор,
профессор кафедры органической химии
Института химии Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Санкт-Петербургский государственный университет»



Зенкевич Игорь Георгиевич

Дата

31, 01, 2025 г.