

УДК 543.054, 543.635.9

МАГНИТНАЯ ТВЕРДОФАЗНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ С ДИСПЕРГИРОВАНИЕМ МАГНИТНОГО СВЕРХСШИТОГО ПОЛИСТИРОЛА УГЛЕКИСЛЫМ ГАЗОМ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ АМФЕНИКОЛОВ ИЗ МЕДА И МОЛОКА ПРИ ИХ ОПРЕДЕЛЕНИИ МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС

© 2024 г. Н. О. Гончаров^a, В. В. Толмачева^{a,*}, Т. В. Лазаревич^{a,b}, А. О. Мелехин^c,
И. Д. Пурыскин^a, В. В. Апяри^a, С. Г. Дмитриенко^a

^aМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет
ГСП-1, Ленинские горы, 1, с. 3, Москва 119991 Россия

^bUniversität Leipzig,

Augustus pl., 10, 04109 Leipzig, Germany

^cФедеральный центр охраны здоровья животных
мкр. Юрьево, Владимир 6009101 Россия

*E-mail: nikatolm@mail.ru

Поступила в редакцию 27.03.2024 г.

После доработки 05.04.2024 г.

Принята к публикации 05.04.2024 г.

Метод магнитной твердофазной экстракции с диспергированием магнитного сверхсшитого полистирола (МССПС) углекислым газом предложен для выделения и концентрирования амфениколов (хлорамфеникола, флорфеникола и тиамфеникола) из меда и молока перед их определением методом ВЭЖХ-МС/МС. Использовали шипучие таблетки, состоящие из гидрокарбоната натрия, лимонной кислоты и МССПС в случае меда, гидрокарбоната натрия и МССПС в случае молока. Выбраны условия получения таблеток (количество и соотношение кислоты, основания и МССПС в составе таблетки и ее масса), обеспечивающие количественное выделение амфениколов. Разработаны методики определения амфениколов в меде и молоке с диспергированием сорбента углекислым газом и последующим определением соединений методом ВЭЖХ-МС/МС. Пределы определения составили 0.3–1 и 0.02–0.05 мкг/кг для меда и молока соответственно.

Ключевые слова: амфениколы, мед, молоко, магнитная твердофазная экстракция, диспергирование углекислым газом, магнитный сверхсшитый полистирол, ВЭЖХ-МС/МС.

DOI: 10.31857/S0044450224090073, EDN: tisjif

Метод магнитной твердофазной экстракции (МТФЭ), известный также как дисперсионная магнитная твердофазная экстракция, в последние годы находит все более широкое применение в анализе пищевых продуктов для выделения лекарственных веществ, пестицидов и других органических соединений перед их хроматографическим определением [1–5]. Традиционная процедура проведения МТФЭ включает диспергирование магнитного сорбента в анализируемом растворе с использованием шейкеров, лабораторных вихревых смесителей или ультразвуковых ванн. В качестве альтернативного способа, исключающего применение внешних источников энергии и дополнительного оборудования, предложено диспергировать магнитный сорбент

углекислым газом, выделяющимся в результате кислотно-основной реакции [6]. Сорбент прес-суют с карбонатом натрия и твердой кислотой и вводят в анализируемый раствор в виде “шипучей” таблетки. При взаимодействии компонентов таблетки с водой образуются пузырьки углекислого газа, в результате чего сорбент диспергируется в растворе пробы. Таким образом отпадает необходимость в перемешивающих устройствах, упрощается процедура выделения веществ, а в растворе создается буферная смесь, обеспечивающая требуемое значение pH и ионную силу, повышая эффективность извлечения аналитов. Этот вариант МТФЭ часто называют “микро-экстракция магнитными шипучими таблетками” (magnetic effervescent tablet microextraction) [7] или

“магнитная твердофазная экстракция со вспениванием” (effervescence-assisted magnetic dispersive solid-phase extraction) [8]. Кроме МТФЭ, диспергирование углекислым газом в настоящее время применяют в дисперсионной твердофазной [6, 9] и дисперсионной жидкостно-жидкостной [6, 10, 11] микроэкстракции.

На сегодняшний день опубликовано не так много работ, посвященных применению метода МТФЭ с диспергированием сорбента углекислым газом (**МТФЭ-СО₂**) для пробоподготовки пищевых продуктов. Метод применяли для выделения пиретроидов из молока [7] и меда [12], пестицидов из соков [13], бисфенолов из молока [14] и мяса [15], полициклических ароматических углеводородов из мяса [15, 16] и молока [17], стимуляторов роста из овощей и фруктов [18], фунгицидов из сока и меда [19], фталатов из молока [20], нитроимидазолов и их метаболитов из меда [21]. В качестве магнитных сорбентов использовали сорбенты, модифицированные ионными жидкостями [7, 13, 16, 19, 20], сорбенты на основе углеродных нанотрубок [14], металлоорганических каркасов [17], ковалентных органических каркасов [18], а также многофункциональные наноконструктивные магнитные материалы [12, 15, 21].

С целью расширения круга используемых магнитных сорбентов и определяемых веществ в настоящей работе в качестве сорбента для проведения магнитной твердофазной экстракции с диспергированием сорбента углекислым газом предложено применять магнитный сверхсшитый полистирол (**МССПС**). В качестве объектов исследования выбраны амфениколы (хлорамфеникол, флорфеникол и тиамфеникол) — класс антибактериальных препаратов, которые активно используются, как законно, так и нелегально, в ветеринарии. Во многих странах использование хлорамфеникола запрещено для лечения сельскохозяйственных животных [22], но, несмотря на запрет, его продолжают использовать ввиду высокой эффективности и низкой стоимости. Утвержденные максимально допустимые уровни (**МДУ**) для флорфеникола и тиамфеникола в меде и молоке составляют 0.001 мг/кг, а для хлорамфеникола — 0.0003 мг/кг [23, 24]. Из-за необходимости определять крайне низкие содержания этих веществ в продуктах питания разработка новых способов их выделения и концентрирования является актуальной задачей.

Цель работы состояла в оценке возможности применения магнитного сверхсшитого полистирола в методе МТФЭ с диспергированием сорбента углекислым газом для выделения амфениколов из меда и молока и разработке методик их последующего определения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandem-масс-спектрометрическим детектированием (**ВЭЖХ-МС/МС**).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты и материалы. Для получения наноразмерных частиц Fe_3O_4 использовали $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ч. д. а., соль Мора $\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ч. д. а., NH_3 ос. ч., соляную кислоту ч. д. а. Объектами исследования служили тиамфеникол (98%, Acros Organics, Бельгия), флорфеникол (>99%, Glenthams, Великобритания) и хлорамфеникол (98%, Acros Organics, Бельгия). В качестве внутреннего стандарта использовали хлорамфеникол- D_5 (99.7%, Witega, Германия). Исходные растворы аналитов (1 мг/мл) в этаноле готовили по точным навескам и хранили в холодильнике (4°C). Рабочие растворы готовили в день использования путем разбавления исходных. Также использовали гидрокарбонат натрия ч. д. а., лимонную ч. д. а., фталевую ч. д. а., винную ч. д. а. и муравьиную ч. д. а. кислоты, ацетонитрил и метанол для ВЭЖХ.

Аппаратура. Применяли высокоэффективный жидкостный хроматограф Shimadzu HPLC Nexera X2 с автоматическим пробоотборником и бинарным насосом в сочетании с тройным квадрупольным масс-спектрометрическим детектором Shimadzu LCMS 8060 (Shimadzu, Япония). Аналиты разделяли на колонке Acclaim™ 120 C18 column (100 × 2.1 мм, 3 мкм) в режиме градиентного элюирования.

Дистиллированную воду дополнительно очищали с помощью системы очистки воды Millipore (Millipore, Германия). Использовали рН-метр-иономер Эксперт 001 (Эконикс-Эксперт, Россия), гидравлический пресс (Техносоюз, Россия), ультразвуковую ванну Elmasonic S15H (Elma Schmidbauer GmbH, Германия), эвапоратор EVA EC S (VLM GmbH, Германия), центрифугу ЦЛн-16 (Xiangzhi Centrifuge, Китай), шейкер для пробирок Sky Line S-3.02M (ELMI Ltd., Латвия). Магнитный сорбент отделяли от раствора, используя неодимовый магнит (20 × 20 × 20 мм).

Условия хроматографического разделения и детектирования. Использовали подвижные фазы, состоящие из 0.5%-ной муравьиной кислоты в воде (А) и 0.5%-ной муравьиной кислоты в смеси ацетонитрила и метанола (50 : 50) (Б). Разделение проводили в режиме градиентного элюирования: линейное увеличение от 5 до 80% Б (0–8 мин), линейное уменьшение от 80 до 5% Б (8–8.1 мин), 5% Б (8.1–10 мин). Скорость потока составляла 0.3 мл/мин. Температуру колонки устанавливали на уровне 40°C, а температура автоматического пробоотборника составляла 15°C.

Тройной квадрупольный масс-спектрометр (Shimadzu LCMS 8060) настраивали на сбор данных в режиме мониторинга множественных реакций (**ММР**). Устанавливали следующие

оптимальные значения параметров: температура интерфейса 300°C; температура линии десольватации 250°C; поток газа-распылителя 3 л/мин; поток газа-осушителя 10 л/мин; поток газа-испарителя 15 л/мин. Время удерживания и параметры ММР для амфениколов и внутреннего стандарта приведены в табл. 1.

Хроматограммы обрабатывали с помощью программы LabSolution Insight (Shimadzu, Япония). Неизвестную концентрацию аналита в пробе определяли методом градуировочного графика (матричная градуировка). Аналитическим сигналом служило отношение площади пика аналита к площади пика внутреннего стандарта. Линейность градуировочных графиков оценивали на модельных образцах, не содержащих остаточных количеств определяемых аналитов.

Сорбент. В качестве исходного материала для получения магнитного сорбента использовали образец сверхсшитого полистирола (ССПС) Ди-апак П-3 (БиоХимМак СТ, Россия). Магнитный сорбент получали путем сорбции предварительно синтезированных наночастиц Fe₃O₄ на ССПС по методике, описанной ранее [25].

Получение таблеток для МТФЭ-СО₂. Для приготовления шипучих таблеток для выделения амфениколов из меда навески гидрокарбоната натрия (0.850 ± 0.001 г) и лимонной кислоты (0.650 ± 0.001 г) объединяли и растирали в фарфоровой ступке, затем к смеси добавляли МССПС (0.020 ± 0.001 г) и снова тщательно перемешивали. Полученную смесь увлажняли 0.25 мл ацетонитрила, переносили в металлическую

форму внутренним диаметром 1.7 см и прессовали в таблетку с помощью гидравлического пресса под давлением 20 бар в течение 5 мин. С целью приготовления шипучих таблеток для выделения амфениколов из молока в фарфоровой ступке смешивали навески гидрокарбоната натрия (1.000 ± 0.001 г) и МССПС (0.020 ± 0.001 г), тщательно растирали, увлажняли 0.25 мл ацетонитрила и прессовали таблетки. Приготовленные таблетки хранили в эксикаторе. Перед проведением МТФЭ таблетки смачивали ацетонитрилом для активирования поверхности ССПС.

Кроме того, для выбора условий, обеспечивающих количественное выделение амфениколов, при приготовлении таблеток варьировали содержание гидрокарбоната натрия, лимонной кислоты и МССПС в их составе.

Методика МТФЭ-СО₂. Анализируемый раствор, содержащий амфениколы (25 мл), помещали в полипропиленовую пробирку емк. 50 мл. К раствору добавляли активированную шипучую таблетку. В результате протекания кислотно-основной реакции между компонентами, входящими в состав таблетки, сразу же образовывалось большое количество пузырьков СО₂, в результате чего магнитный ССПС равномерно распределялся в образце. По окончании бурной реакции, протекающей в зависимости от состава таблеток в течение 80–260 с (табл. 2), и прекращения выделения газа магнитный ССПС отделяли от раствора при помощи магнита, раствор сливали, а сорбент промывали два раза 10 мл воды. Амфениколы десорбировали двукратно 1 мл ацетонитрила

Таблица 1. Времена удерживания и параметры ММР-переходов амфениколов и внутреннего стандарта

Вещество	<i>t_R</i> , мин	<i>Q</i> ₁ <i>m/z</i>	<i>Q</i> ₃ <i>m/z</i>	ЭС*, эВ
Хлорамфеникол	8.76	321.2(-)	-152.2/-257.2	16/12
Флорфеникол	8.10	356.2(-)	-185.2/-119.2	20/31
Тиамфеникол	7.05	354.1(-)	-290.1/-185.2	13/21
Хлорамфеникол-D ₅ (внутренний стандарт)	8.697	326.1(-)	-157.3	17

*Энергия соударений.

Таблица 2. Состав таблеток, содержащих гидрокарбонат и лимонную кислоту в разных мольных соотношениях, pH раствора после сорбции и время выделения углекислого газа (*t*_{реакции})

Мольное соотношение NaHCO ₃ : C ₆ H ₈ O ₇	<i>m</i> (NaHCO ₃), г	<i>m</i> (C ₆ H ₈ O ₇), г	pH	<i>t</i> _{реакции} , с
1 : 1	0.460 ± 0.001	1.040 ± 0.001	4	260
2 : 1	0.700 ± 0.001	0.800 ± 0.001	5.3	210
3 : 1	0.850 ± 0.001	0.650 ± 0.001	6.4	160
4 : 1	0.950 ± 0.001	0.550 ± 0.001	7	80

в течение 5 мин в ультразвуковой ванне. Элюат упаривали досуха в токе воздуха, вновь растворяли аналиты в 1 мл подвижной фазы, полученный раствор пропускали через мембранный фильтр из ПТФЭ с размером пор 0.22 мкм и использовали для определения амфениколов методом ВЭЖХ-МС/МС.

Пробоподготовка образцов меда и молока.

В полипропиленовую пробирку емк. 50 мл вносили 1.00 ± 0.02 г меда, добавляли 100 мкл раствора внутреннего стандарта и растворяли в 25 мл воды. Содержимое пробирки перемешивали на шейкере до полного растворения меда в течение 15 мин. К водному раствору меда добавляли таблетку, содержащую 20 мг МССПС, 0.650 г лимонной кислоты и 0.850 г NaHCO_3 и проводили МТФЭ по методике, описанной выше.

Пробоподготовка молока включала этап отделения белков. К 25 мл молока добавляли 100 мкл раствора внутреннего стандарта и 0.9 мл конц. HCl . Белки отделяли центрифугированием (5 мин, 5000 об/мин), а надосадочную жидкость переносили в чистую пробирку, добавляли активированную таблетку, состоящую из 1 г NaHCO_3 и 20 мг МССПС, и проводили МТФЭ по методике, описанной выше.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор условий МТФЭ- CO_2 для количественного выделения амфениколов. Согласно данным [12, 14] наиболее удобный способ проведения МТФЭ с диспергированием сорбента углекислым газом — это использование таблеток, состоящих из магнитного сорбента, твердой кислоты и карбоната или гидрокарбоната натрия. В данной работе для выделения амфениколов из растворов использовали таблетки, содержащие магнитный сверхсшитый полистирол, гидрокарбонат натрия и лимонную кислоту. Для выбора условий, обеспечивающих количественное

извлечение амфениколов, в составе таблеток варьировали соотношение гидрокарбоната натрия и лимонной кислоты, количество МССПС, а также массу таблеток. Сорбцию проводили из 25 мл водного раствора.

При изучении влияния мольного соотношения гидрокарбоната натрия и лимонной кислоты в составе таблеток использовали таблетки массой 1.5 г, содержащие разные массы гидрокарбоната натрия и лимонной кислоты и 10 мг МССПС (табл. 2). Как видно из данных табл. 2, при увеличении мольного соотношения $\text{NaHCO}_3 : \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ в составе таблеток от 1 : 1 до 4 : 1 уменьшается время выделения CO_2 , а значит, и время диспергирования сорбента от 260 до 80 с и изменяется pH раствора от 4 до 7. Согласно данным, полученным нами ранее [26], сорбция амфениколов на магнитном ССПС в этом интервале не зависит от pH, так как они присутствуют в растворе в виде незаряженных форм (значения pK_a соединений варьируют от 10.7 до 11 [22]). Однако, как видно из данных рис. 1а, сорбция амфениколов методом МТФЭ- CO_2 значительно снижается при использовании таблеток с мольным соотношением гидрокарбоната натрия и лимонной кислоты 4 : 1 (pH 7), что, по-видимому, связано с недостаточной диспергируемостью сорбента, так как время выделения CO_2 в этом случае составляет всего 80 с.

При изучении влияния количества магнитного сорбента в составе таблеток использовали таблетки, содержащие 0.850 г гидрокарбоната натрия, 0.650 г лимонной кислоты и разное количество МССПС. Как видно из рис. 1б, степени извлечения амфениколов увеличиваются с увеличением массы магнитного сорбента в таблетке от 5 и далее к 10 и 20 мг; дальнейшее увеличение количества МССПС в составе таблеток до 25 и 30 мг практически не влияет на сорбцию.

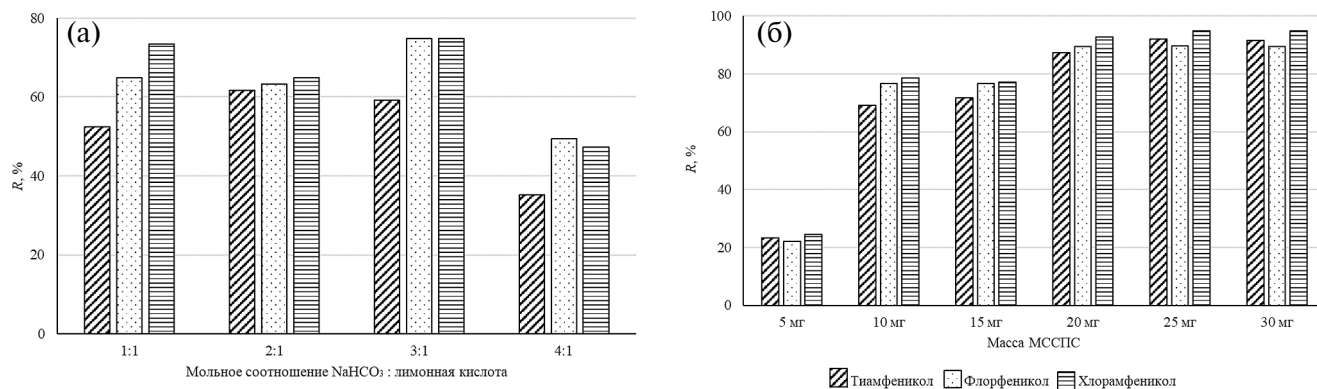


Рис. 1. Степени извлечения амфениколов в зависимости от мольного соотношения гидрокарбоната и лимонной кислоты (а) и содержания МССПС (б) в составе таблеток для МТФЭ- CO_2 . $V = 25$ мл, $m_{\text{МССПС}} = 10$ мг (а), мольное соотношение $\text{NaHCO}_3 : \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ 3 : 1 (б).

Таким образом, для выделения амфениколов из водных растворов методом МТФЭ-СО₂ оптимально использовать шипучие таблетки, содержащие 0.850 г гидрокарбоната натрия, 0.650 г лимонной кислоты и 20 мг МССПС. При этом степени извлечения хлорамфеникола, флорфеникола и тиамфеникола из 25 мл водного раствора составляют 98 ± 2, 94 ± 2 и 95 ± 3% соответственно (*n* = 3, *P* = 0.95), время сорбции – всего 160 с. Количественную десорбцию амфениколов проводили в УЗ-ванне последовательно двумя порциями ацетонитрила по 1 мл, время десорбции 5 мин.

МТФЭ-СО₂ амфениколов из меда и молока для их последующего определения методом ВЭЖХ-МС/МС. Степени выделения амфениколов из меда и молока оценивали с использованием образцов этих пищевых продуктов, не содержащих остаточных количеств определяемых аналитов. К образцам меда (1 г) и молока (25 мл, ~25 г) добавляли 100 мкл раствора внутреннего стандарта, по 1, 5 и 200 нг каждого амфеникола и проводили пробоподготовку по методикам, описанным выше. Для определения внутридневной и междневной повторяемости готовили по 5 и 15 образцов для каждого уровня концентрации соответственно. Как видно из табл. 3, предлагаемый метод обеспечивает не только количественное выделение амфениколов из анализируемых проб (степени выделения составляют от 83 до 117%), но и отличается хорошей воспроизводимостью (*s_r* ≤ 0.12).

Амфениколы определяли методом матричной градуировки. Для построения градуировочных зависимостей в образцы меда и молока, не содержащие аналитов, вводили по 1, 10, 50, 100 и 200 нг каждого амфеникола. Коэффициенты корреляции линейных зависимостей площадей хроматографических пиков аналитов от их концентрации в анализируемых образцах составили не менее 0.99. Масс-хроматограммы

по выделенным ионам для экстрактов меда и молока с добавлением амфениколов представлены на рис. 2. Пределы обнаружения (*c_{min}*) и определения (*c_{lim}*) рассчитывали по отношению аналитического сигнала (интенсивности пика) к шуму, равному 3 и 10 соответственно. Пределы обнаружения и определения составили 0.1–0.3 и 0.3–1 мкг/кг для меда и 0.005–0.02 и 0.02–0.05 мкг/кг для молока соответственно (табл. 3), что позволяет определять амфениколы в этих пищевых продуктах на уровне меньше, чем МДУ.

Для оценки матричного эффекта (МЭ) использовали площади хроматографических пиков аналитов, полученные в условиях анализа образцов, не содержащих аналитов, с добавками амфениколов и соответствующих водных растворов. Расчет проводили по формуле:

$$МЭ (\%) = (C/V) \times 100,$$

где *C* – отношение площади хроматографического пика аналита к площади пика соответствующего внутреннего стандарта в образцах меда или молока, а *V* – отношение площади хроматографического пика аналита к площади пика соответствующего внутреннего стандарта в стандартном растворе. Как видно из табл. 3, в большинстве случаев отклонение величины МЭ от 100% составляет менее 20%, что может быть следствием не только использования метода внутреннего стандарта, но и эффективной очистки экстрактов методом МТФЭ с диспергированием МССПС углекислым газом.

Правильность и воспроизводимость определения амфениколов в меде и молоке оценивали методом введено–найдено. Результаты определения, представленные в табл. 4, свидетельствуют о правильности и хорошей воспроизводимости разработанных методик.

Таблица 3. Основные характеристики ВЭЖХ-МС/МС-определения амфениколов в меде и молоке после их выделения методом магнитной твердофазной экстракции с диспергированием магнитного сверхсшитого полистирола углекислым газом

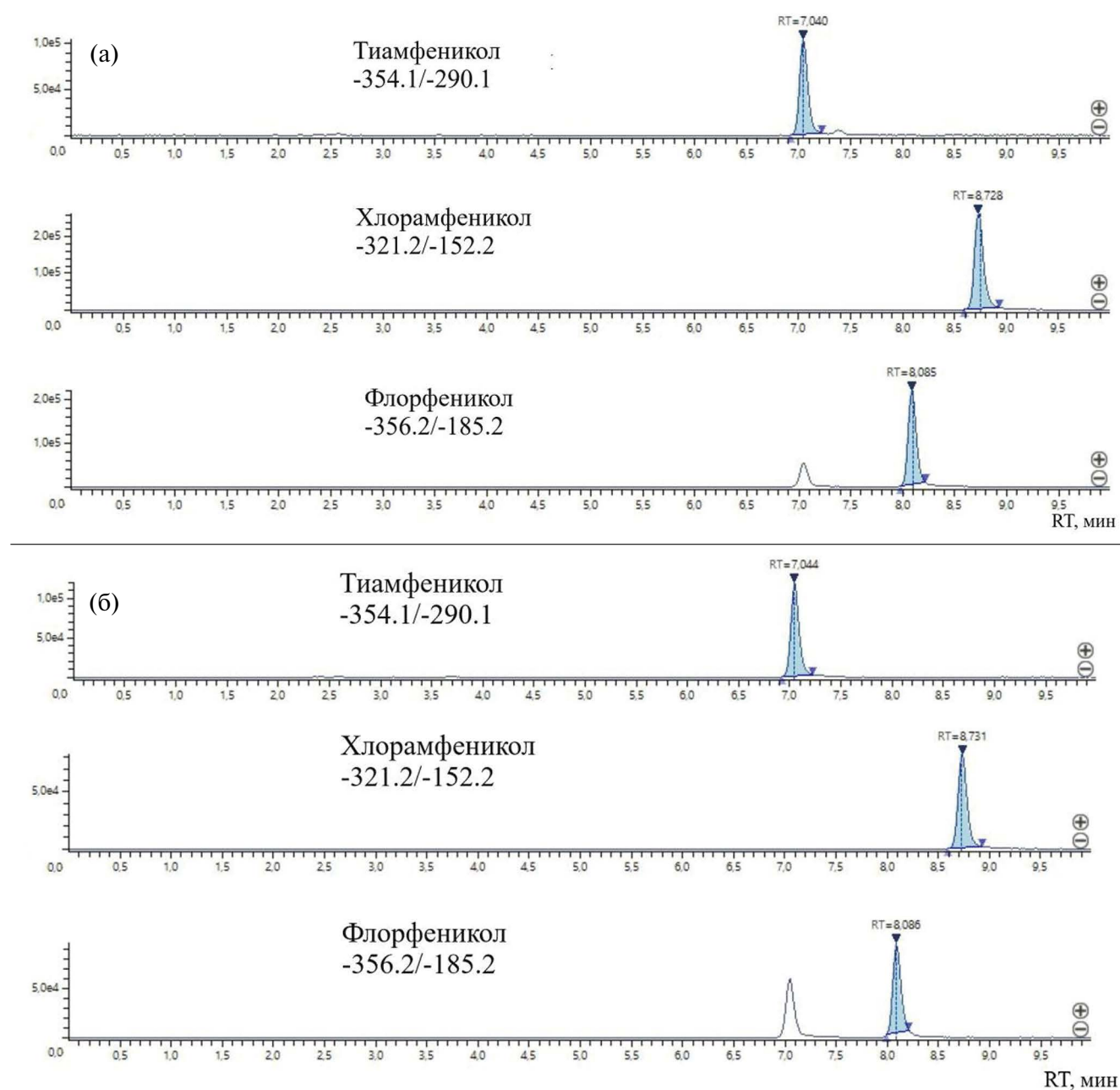
Вещество	Содержание, мкг/кг	Степень выделения, %	Внутридневная повторяемость (<i>s_r</i> , <i>n</i> = 5)	Междневная повторяемость (<i>s_r</i> , <i>n</i> = 15)	МЭ*, %	<i>c_{min}</i> , мкг/кг	<i>c_{lim}</i> , мкг/кг
Мед							
Тиамфеникол	1/5/200	99/101/98	0.09/0.10/0.08	0.12/0.11/0.10	84	0.3	1
Флорфеникол	1/5/200	92/94/95	0.12/0.08/0.10	0.13/0.13/0.07	111	0.1	0.3
Хлорамфеникол	1/5/200	106/102/101	0.11/0.09/0.06	0.15/0.11/0.05	104	0.1	0.3
Молоко							
Тиамфеникол	0.04/0.2/8	105/101/99	0.12/0.10/0.11	0.14/0.13/0.10	83	0.02	0.05
Флорфеникол	0.04/0.2/8	93/92/94	0.13/0.11/0.12	0.14/0.11/0.11	107	0.005	0.02
Хлорамфеникол	0.04/0.2/8	103/102/99	0.12/0.13/0.08	0.12/0.11/0.10	102	0.005	0.02

*МЭ – матричный эффект.

Таблица 4. Оценка правильности и воспроизводимости определения амфениколов методом введено—найдено ($n = 3$, $P = 0.95$)*

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

*Анализировали 1 г меда и 25 мл молока.

**Рис. 2.** Масс-хроматограммы по выделенным ионам экстрактов меда (а) и молока (б) с добавлением 100 и 8 мкг/кг амфениколов соответственно после очистки методом магнитной твердофазной экстракции с диспергированием магнитного сверхсшитого полистирола углекислым газом.

* * *

Таким образом, показано, что метод магнитной твердофазной экстракции с диспергированием магнитного сверхсшитого полистирола углекислым газом можно использовать для количественного выделения и концентрирования амфениколов из меда и молока перед их определением методом ВЭЖХ-МС/МС. За счет интенсивного выделения углекислого газа при растворении таблетки удается обойтись без использования перемешивающих устройств, а магнитные свойства сорбента позволяют отделить его без применения центрифугирования и фильтрации; в результате процедура экстракции занимает менее 3 мин.

Авторы выражают благодарность Междисциплинарной научно-образовательной школе Московского университета "Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды".

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания, тема № АААА-А21-121011990021-7.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дмитриенко С.Г., Аняри В.В., Толмачева В.В., Горбунова М.В., Фурлетов А.А. Дисперсионная и магнитная твердофазная экстракция органических соединений. Обзор обзоров // Журн. аналит. химии. 2024. Т. 79. (Dmitrienko S.G., Anyari V.V., Tolmacheva V.V., Gorbunova M.V., Furletov A.A. Dispersive and magnetic solid-phase extraction of organic compounds: Review of reviews // J. Anal. Chem. 2024. V. 79. № 2. P. 105. DOI: 10.1134/S1061934824020060)
2. Duo H., Yue J., Zhang X., Li S., Yin Y., Wang L., Li J., Rong W., Wang A., Zhang Y., Zhu Q. Magnetic solid phase extraction based on metal organic framework for pharmaceutical analysis from food, environmental and biological media // Microchem. J. 2024. V. 196. Article 109557. DOI:10.1016/j.microc.2023.109557
3. Fu Q., Xia Z., Sun X., Jiang H., Wang L., Ai S., Zhao R. Recent advance and applications of covalent organic frameworks based on magnetic solid-phase extraction technology for food safety analysis // Trend. Anal. Chem. 2023. V. 162. Article 117054. DOI:10.1016/j.trac.2023.117054
4. Wang N., Zhou X., Cui B. Recent advances and applications of magnetic covalent organic frameworks in food analysis // J. Chromatogr. A. 2023. V. 1687. Article 463702.
5. Yu X., Zhong T., Zhang Y., Zhao X., Xiao Y., Wang L., Liu X., Zhang X. Design, preparation, and application of magnetic nanoparticles for food safety analysis: A review of recent advances // J. Agric. Food Chem. 2022. V. 70. P. 46.
6. Lasarte-Aragonés G., Lucena R., Cárdenas S. Effervescence-assisted microextraction-one decade of developments // Molecules. 2020. V. 25. Article 6053.
7. Zhou P., Chen K., Gao M., Qu J., Zhang Z., Dahlgren R.A., Li Y., Liu W., Huang H., Wang X. Magnetic effervescent tablets containing ionic liquids as a non-conventional extraction and dispersive agent for determination of pyrethroids in milk // Food Chem. 2018. V. 268. P. 468.
8. Gao M., Zhang X., Ma S., Wang J., Mammah M., Du L., Wang X. Ionic-liquid-based effervescence-enhanced magnetic solid-phase extraction for organophosphorus pesticide detection in water samples // Anal. Methods. 2022. V. 14. P. 661.
9. Lasarte-Aragonés G., Lucena R., Cárdenas S., Valcárcel M. Effervescence-assisted dispersive micro-solid phase extraction // J. Chromatogr. A. 2011. V. 1218. P. 9128. doi: 10.1016/j.chroma.2011.10.042
10. Lasarte-Aragonés G., Lucena R., Cárdenas S., Valcárcel M. Effervescence assisted dispersive liquid-liquid microextraction with extractant removal by magnetic nanoparticles // Anal. Chim. Acta. 2014. V. 807. P. 61.
11. Rajendran S., Loha S.H., Ariffin M.M., Khalik W.M. CO₂-effervescence in liquid phase microextraction for the determination of micropollutants in environmental water: A review // J. Anal. Chem. 2021. V. 76. P. 1371.
12. Yang X., Mi Y., Liu F., Li J., Gao H., Zhang S., Zhou W., Lu R. Preparation of magnetic attapulgite/polypyrrole nanocomposites for magnetic effervescence-assisted dispersive solid-phase extraction of pyrethroids from honey samples // J. Sep. Sci. 2020. V. 43. P. 2419.
13. Chen D., Ma S., Zhang X., Wang X., Gao M., Li J., Wang H. Enhanced extraction of organophosphorus pesticides from fruit juices using magnetic effervescent tablets composed of the NiFe₂O₄@SiO₂@PANI-IL nanocomposites // RSC Adv. 2021. V. 11. P. 1668.
14. Ding W., Wang X., Liu T., Gao M., Qian F., Gu H., Zhang Z. Preconcentration/extraction of trace bisphenols in milks using a novel effervescent reaction-assisted dispersive solid-phase extraction based on magnetic nickel-based N-doped graphene tubes // Microchem. J. 2019. V. 150. Article 104109.
15. Liu T., AgyeKum E., Ma S., Ye H., Li J., Gao M., Ni M., Zhang X., Wang X. Novel nanohybrids for effervescence enhanced magnetic solid-phase microextraction of wide-polarity organic pollutants in roasted meat samples // J. Sep. Sci. 2021. V. 44. P. 4313.
16. Zhang W., Zhou P., Liu W., Wang H., Wang X. Enhanced adsorption/extraction of five typical polycyclic aromatic hydrocarbons from meat samples using magnetic effervescent tablets composed of dicationic

- ionic liquids and NiFe_2O_4 nanoparticles // *J. Mol. Liq.* 2020. V. 315. Article 113682.
17. Zhou P., Wang R., Fan R., Yang X., Mei H., Chen H., Huili Wang H., Wang Z., Wang X. Magnetic amino-functionalized metal-organic frameworks as a novel solid support in ionic liquids-based effervescent tablets for efficient extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in milks // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2021. V. 222. Article 112482.
18. Lid N., Wu D., Li X., Zhou X., Fan G., Li G., Wu Y. Effective enrichment and detection of plant growth regulators in fruits and vegetables using a novel magnetic covalent organic framework material as the adsorbents // *Food Chem.* 2020. V. 306. Article 125455.
19. Wu X., Yang M., Zeng H., Xi X., Zhang S., Lu R., Gao H., Zhou W. Effervescence-assisted dispersive solid-phase extraction using ionic-liquid-modified magnetic-cyclodextrin/attapulgit coupled with high-performance liquid chromatography for fungicide detection in honey and juice // *J. Sep. Sci.* 2016. V. 39. P. 4422.
20. Wu L., Li J., Chen Y., Bao X., Tang H., Ma S., Zhou S., Xu M., Tao J., Wang W., Wang X. Preconcentration/extraction of phthalate esters in milk samples using MeFe_2O_4 -based magnetic ionic liquid effervescent tablets consisting of accessory functional fillers // *Food Anal. Methods.* 2019. V. 12. P. 2106.
21. Goncharov N.O., Tolmacheva V.V., Melekhin A.O., Apyari V.V., Dmitrienko S.G. Effervescence-assisted magnetic solid-phase extraction of nitroimidazoles and their metabolites using magnetic hypercross-linked polystyrene // *Food Anal. Methods.* 2024. V. 17. P. 382.
<https://doi.org/10.1007/s12161-024-02570-4>
22. Guidi L.R., Tette P.A., Fernandes C., Silva L.H., Gloria M.B. Advances on the chromatographic determination of amphenicols in food // *Talanta.* 2017. V. 162. P. 324.
23. Технический регламент Таможенного союза (ТР ТС 021/2011) “О безопасности пищевой продукции” (Принят Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 9 декабря 2011 г. № 880).
24. Технический регламент Таможенного союза (ТР ТС 033/2013) “О безопасности молока и молочной продукции” (Принят Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 9 октября 2013 г. N 67).
25. Толмачева В.В., Апяри В.В., Ибрагимова Б.Н., Кочук Е.В., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. Полимерный магнитный сорбент на основе наночастиц Fe_3O_4 и сверхсшитого полистирола для концентрирования антибиотиков тетрациклинового ряда. // *Журн. аналит. химии.* 2015. Т. 70. № 11. С. 1149. (Tolmacheva V.V., Apyari V.V., Ibragimova B.N., Kochuk E.V., Dmitrienko S.G., Zolotov Yu.A. A polymeric magnetic adsorbent based on Fe_3O_4 nanoparticles and hypercrosslinked polystyrene for the preconcentration of tetracycline antibiotics // *J. Anal. Chem.* 2015. V. 70. № 11. P. 1313. DOI: 10.1134/S1061934815110155)
26. Толмачева В.В., Савинова В.Ю., Гончаров Н.О., Дмитриенко С.Г., Апяри В.В., Чернавский П.А., Панкина Г.В. Сорбция амфениколов на магнитном сверхсшитом полистироле // *Журн. физ. химии.* 2022. Т. 96. № 6. С. 875.
DOI 10.31857/S0044453722060279 (Tolmacheva V.V., Savinova V.Yu., Goncharov N.O., Dmitrienko S.G., Apyari V.V., Chernavsky P.A., Pankina G.V. Sorption of amphenicols on magnetic hypercross-linked polystyrene // *Russ. J. Phys. Chem. A.* 2022. V. 96. № 6. P. 1268. DOI 10.1134/S0036024422060267)

MAGNETIC SOLID-PHASE EXTRACTION WITH DISPERSION OF MAGNETIC HYPERCROSSLINKED POLYSTYRENE WITH CARBON DIOXIDE FOR THE ISOLATION OF AMPHENICOLS FROM HONEY AND MILK IN THEIR DETERMINATION BY HPLC-MS/MS

N. O. Goncharov^a, V. V. Tolmacheva^{a,*}, T. V. Lazarevich^{a,b}, A. O. Melekhin^c, I. D. Puryskin^a,
V. V. Apyari^a, S. G. Dmitrienko^a

^a *Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry*

GSP-1, Leninskie gory, 1, p. 3, Moscow 119991 Russia

^b *Universität Leipzig, Augustus pl., 10, 04109 Leipzig, Germany*

^c *Federal Center for Animal Health*

Yuryevets, Vladimir, 6009101 Russia

**E-mail: nikatolm@mail.ru*

Abstract. The magnetic solid phase extraction method with the dispersion of magnetic hypercross-linked polystyrene (MHCPs) with carbon dioxide is proposed for the isolation and concentration of amphenicols (chloramphenicol, florfenicol and thiamphenicol) from honey and milk before their determination by HPLC-MS/MS. Effervescent tablets consisting of sodium bicarbonate, citric acid and MHCPs in the case of honey, sodium bicarbonate and MHCPs in case of milk were used. The conditions for the preparation of tablets (the amount and ratio of acid, base and MHCPs in the composition of the tablet and its mass) were selected, ensuring the quantitative isolation of amphenicols. Methods for the determination of amphenicols in honey and milk with dispersion of the sorbent with carbon dioxide and subsequent determination of compounds by HPLC-MS/MS have been developed. The limits of determination were 0.3–1 and 0.02–0.05 µg/kg for honey and milk, respectively.

Keywords: amphenicols, honey, milk, magnetic solid-phase extraction, carbon dioxide dispersion, magnetic super-crosslinked polystyrene, HPLC-MS/MS