

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертационную работу

Шишова Андрея Юрьевича

«**Эвтектические растворители в методах жидкостной микроэкстракции**»,

представленную на соискание ученой степени доктора химических наук

по специальности 1.4.2 – Аналитическая химия

Актуальность темы исследования. Одним из приоритетных направлений развития современной аналитической химии является разработка способов выделения и концентрирования различных по природе аналитов из объектов со сложной матрицей. Результатом разработки таких способов, как правило, является понижение предела обнаружения аналита (важнейшей метрологической характеристики методов и методик), что не возможно без развития современных вариантов концентрирования, в том числе жидкостной микроэкстракции (ЖМЭ). Совершенствование ЖМЭ, прежде всего, в значительной степени опирается на концепцию «зеленой» аналитической химии, основной целью которой является сокращение или полное исключение токсичных для окружающей среды и здоровья человека растворителей. В диссертационной работе Шишова А.Ю. этому аспекту уделяется особое внимание. Поэтому для эффективного концентрирования различных аналитов предложены растворители последнего поколения (эвтектические растворители, ЭР), которые, как правило, биоразлагаемы и низколетучи. Последнее обстоятельство способствует улучшению прецизионности измерений.

Кроме того, особое внимание химиков-аналитиков уделяется пробоподготовке и выбору метода определения. Сочетание ЖМЭ вышеуказанными растворителями с инструментальным определением различных аналитов, в том числе с учетом автоматизации на принципах проточных методов, соответствует критериям экологической безопасности и экономической эффективности. Поэтому разработка новых подходов для решения задач экологического мониторинга, контроля качества пищевой продукции и медицинской диагностики, закрепленных в стратегии научно-технического развития РФ, безусловно, является *актуальной*.

Следует отметить, что работы диссертанта с соавторами неоднократно были удостоены присуждения премий Научного совета РАН по аналитической химии, Президента Российской Федерации, Правительства Санкт-Петербурга (2022 г.) и медали РАН для молодых ученых (2019 г.), что также обуславливает *актуальность* проведенного соискателем исследования.

Цель диссертации Шишова А.Ю., состоящую в разработке системного подхода к микроэкстракционному выделению, концентрированию и определению полярных и

неполярных веществ в объектах со сложной матрицей с применением ЭР, обосновывающий выбор компонентов ЭР для решения конкретных аналитических задач, можно считать **актуальной, научно и практически значимой**.

Новизна исследования и полученных результатов. Научная новизна представленной работы определяется тем, что до настоящего исследования в литературе отсутствовали систематизированные данные о поведении и устойчивости ЭР на основе четвертичных аммониевых солей, фенола, одноосновных и многоосновных карбоновых кислот, а также терпеноидов в воде. Установленные в работе закономерности такого поведения позволили диссертанту предложить классификацию ЭР на основе вышеуказанных соединений на гидрофильные, гидрофобные и квазигидрофобные, а также целенаправленно их применить для повышения эффективности пробоподготовки объектов со сложной матрицей.

Гидрофильные ЭР на основе карбоновых кислот и четвертичных аммониевых соединений предложены как растворители-диспергаторы в методе дисперсионной ЖМЭ (ДЖМЭ), способствующие эффективному диспергированию экстрагентов в водную фазу и, как следствие, повышению степеней извлечения аналитов.

Предложены оригинальные варианты применения в ДЖМЭ квазигидрофобных ЭР на основе карбоновых кислот/спиртов и четвертичных аммониевых соединений, повышающих эффективность извлечения целевых аналитов при контакте как с водной, так и органической фазами. Для последних предложены квазигидрофобные ЭР с пониженной вязкостью на основе терпеноидов, карбоновых кислот и воды. Понижение вязкости таких ЭР позволяет применять их для ЖМЭ в автоматизированном режиме, например, в варианте проточных методов анализа.

Для оптимизации пробоподготовки разработаны варианты реакционной ЖМЭ полярных и неполярных аналитов, основанные на «*in situ*» образовании ЭР и реакции аналитов (матричных компонентов проб, например, жирных кислот) с природными терпеноидами и хлоридом холина как в исследуемых растворах, так и на импрегнированных мембранах (ацетат целлюлозы, нейлон, полиэфирсульфон, поливинилденфторид). Показано, что эффективность извлечения образующихся продуктов взаимодействия возрастает.

Новизна приведенных в работе научных результатов не вызывает сомнений и подтверждается также публикациями в рейтинговых профильных журналах, патентом РФ, различными грантами. Установленные рекомендации по выбору ЭР открывают новые возможности для повышения экспрессности, производительности и прецизионности анализа, сокращения расхода прекурсоров на создание ЭР и увеличения степени извлечения целевых аналитов.

Практическая значимость работы очевидна и обоснована выбором трех

типов ЭР (гидрофильных, гидрофобных и квазигидрофобных) на основе холина хлорида, карбоновых кислот, спиртов, мочевины и ее производных, сахаров, терпеноидов и четвертичных аммониевых соединений для разработки методик эффективного ЖМЭ концентрирования и последующего высокочувствительного и селективного определения органических и неорганических аналитов (гормоны, антибиотики, нестероидные противовоспалительные средства, моно- и полифенолы, тяжелые металлы) в различных объектах (пищевые продукты, биологические объекты, лекарственные препараты). В предложенных инструментальных способах определения целевых аналитов в указанных объектах реализованы современные методы анализа: высокоэффективная жидкостная хроматография с фотометрическим (ВЭЖХ-УФ), флуориметрическим (ВЭЖХ-ФЛ) и масс-спектрометрическим (ВЭЖХ-МС) детектированием; спектрофотометрия (СФ), атомно-абсорбционная спектрометрия (ААС), атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП), инверсионная вольтамперометрия (ИВА) проточного анализа с СФ-детектированием.

Структура и объем работы. Диссертационная работа Шишова А.Ю. содержит все обязательные компоненты докторской диссертации и состоит из введения, восьми глав, порядок следования которых отражает логику выполненного исследования, заключения, а также списка цитируемой литературы (306 наименований). Работа изложена на 356 страницах, содержит в основном тексте 87 рисунков и 50 таблиц.

Во **введении** (12 страниц) изложена актуальность проведенного исследования, показана степень разработанности темы; сформулированы цель и задачи диссертационной работы, ее научная новизна; теоретическая и практическая значимость; охарактеризована методология и методы исследований; приведены положения, выносимые на защиту, а также степень достоверности и апробации результатов НИР с указанием актов внедрения (приведены в приложении), номеров грантов финансовой поддержки диссертации.

В **первой главе** диссертации «*Обзор литературы*» (69 страниц) приведен обзор данных литературы, посвященных классификации, получению, свойствам ЭР и их применению в аналитических целях, преимущественно в методах разделения и концентрирования. Приведены современные достижения в области разработки и исследования таких растворителей. Сделан акцент на рассмотрение механизмов экстракции в гидрофильные ЭР, которые носят дискуссионный характер. Приведены данные литературы о принципах, возможностях и ограничениях метода ДЖМЭ, а также особенностях проточных методов анализа, применяемых для автоматизации ЖМЭ. Показана актуальность разработки системного подхода к микроэкстракционному выделению и концентрированию различных аналитов из

объектов со сложной матрицей с применением ЭР для последующего определения различными методами анализа.

Вторая глава «Экспериментальная часть» диссертации (12 страниц) включает описание средств измерения, оборудования, реактивов (для изготовления ЭР), аналитов и материалов. Подробно описаны условия реализации химического анализа в АЭС-ИСП и ААС спектрометрии, инверсионной вольтамперометрии, а также ВЭЖХ определения исследованных аналитов с различными детекторами.

В **третьей главе** диссертации **«Устойчивость эвтектических растворителей при контакте с водной фазой»** (30 страниц) представлены результаты исследований стабильности различных ЭР при контакте с водной фазой. Для этих целей применены методы ИК-спектроскопии, вискозиметрии, термо- и гравиметрии, кондуктометрии. На основании полученных данных, реологических свойств исследуемых систем предложена новая классификация ЭЗ: гидрофобные, квазигидрофобные и гидрофильные. Для каждой группы ЭР приведены составы типичных доноров и акцепторов водородной связи. Показано, что при помощи такой классификации ЭР можно прогнозировать их состав для решения конкретных задач химического анализа, в частности для проведения жидкостной микроэкстракции как полярных, так и неполярных аналитов. Так, гидрофильные ЭР могут быть применены как экстрагенты для ЖМЭ из органических жидкостей или растворители-диспергаторы в ДЖМЭ из водных сред. Гидрофобные ЭР рекомендованы для ДЖМЭ из водных растворов. Квазигидрофобные ЭР эффективны в вариантах ДЖМЭ из водных/органических сред без растворителей-диспергаторов.

В **четвертой главе «Дисперсионная жидкостная микроэкстракция с применением эвтектических растворителей»** диссертации (42 страницы) приведены варианты применения ЭР в ДЖМЭ, для которых предложены соответствующие схемы проведения этого варианта концентрирования различных аналитов в сложных объектах. Так, разработаны методики концентрирования и последующего определения бисфенола А (питьевые воды, соки; ВЭЖХ-ФЛ), эстрадиола (трансдермальный гель; ВЭЖХ-УФ), тяжелых металлов (пищевые масла; ИВА), сульфаниламидов (куриное мясо, ВЭЖХ-УФ).

Все разработанные методики экстракционно-инструментального определения аналитов **валидированы** и практически для каждой из них приведены результаты оценки **правильности** либо независимым методом, либо с привлечением стандартных образцов состава, что, безусловно, является **положительным** аспектом работы. Следует отметить оригинальность предложенного способа проведения ДЖМЭ, в котором ЭР выполняют **две функции**, являясь и диспергаторами, и экстрагентами одновременно. При этом улучшаются эффективность ДЖМЭ, а также

точность и воспроизводимость результатов. Так, предложен способ пробоподготовки образцов куриного мяса без классических органических растворителей, основанный на применении трехкомпонентного ЭР, состоящего из тетрабутиламмония бромида, малоновой и гексановой кислот. Способ реализован для ВЭЖХ-УФ определения сульфаметазина и сульфаметоксазола в образцах куриного мяса.

Даны рекомендации по выбору состава ЭР для повышения эффективности извлечения аналитов различной природы. Например, менее полярные жирные спирты повышают извлечение неполярных и слабополярных соединений (бисфенол А, эстрадиол); более полярные жирные кислоты эффективны для извлечения полярных аналитов (сульфаниламидов). Для извлечения металлов из неполярных матриц более эффективными являются полярные органические кислоты. Кроме того, показано, что замена традиционных органических диспергаторов на ЭР приводит к повышению степени извлечения аналитов из водной фазы в органическую. Приведены перспективы применения ЭР в методах ДЖМЭ.

Пятая глава диссертации *«Жидкостная микроэкстракция с *in situ* образованием эвтектических растворителей»* (64 страницы) посвящена расширению возможностей применения ЭР в микроэкстракционных методах анализа, базирующихся на образовании ЭР *«in situ»* как между экстрагентом и аналитом, так и между экстрагентом и компонентом матрицы пробы, что позволяет резко сократить объем органических растворителей в таких системах.

Вышеуказанный подход реализован для эффективной экстракции и ВЭЖХ-УФ, ВЭЖХ-МС/МС определения диклофенака, кетопрофена (нестероидных противовоспалительных веществ, НПВВ) из мочи при этом ЭР образуются между ментолом и НПВВ; для экстракции и ВЭЖХ-ФЛ определения бисфенолов из сухого молока с использованием терпенидов, образующих ЭР с жирными кислотами – полупродуктами щелочного гидролиза молока; для мембранной (ацетат целлюлозы, нейлон, полиэфирсульфон, поливинилденфторид) микроэкстракции фенольных и полифенольных соединений из копченых мясных пищевых продуктов рекомендован хлорид холина.

Методами ИК-спектроскопии и дифференциальной сканирующей калориметрии показано *«in situ»* образование ЭР на примере диклофенака и ментола. На основании установленных закономерностей предложено для извлечения аналитов из водных растворов применять неполярные компоненты, например ментол, для *«in situ»* образования гидрофобных, устойчивых в воде ЭР. Приведены результаты валидации предложенных методик.

В шестой главе *«Реакционная микроэкстракция с применением эвтектических растворителей»* диссертации (46 страниц) приведены варианты

реакционной микроэкстракции с ЭР, которая основана на химических взаимодействиях между аналитом и экстрагентом и/или дополнительным реагентом. Реализация этого варианта ЖМЭ, по сравнению с экстракцией за счет физического распределения аналитов, позволяет повысить степень извлечения последних.

Приведены примеры систематического изучения влияния природы доноров водородной связи (ДВС) на экстракцию металлов (Ag, Al, B, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sn, Ti, V и Zn) из неполярных органических жидких матриц. Для этих целей применены ДВС различных классов: спирты (глицерин, этиленгликоль, 1,4-бутандиол, триэтиленгликоль, циклогексанол); кислоты (лимонная, винная, щавелевая, бензойная, малоновая, уксусная, муравьиная, яблочная, янтарная, малеиновая, адипиновая, борная, аскорбиновая, молочная, миндальная, галловая); мочевины и ее производные (мочевина, тиомочевина, бензамид); углеводы (глюкоза, сорбит, фруктоза, мальтоза, сахароза). Акцептором ВС являлся хлорид холина, наилучшие результаты получены для молочной кислоты, ЭР при этом отличались низкой вязкостью.

Показано, что варьированием природы ДВС возможно создание ЭР для селективного взаимодействия с аналитами, что повышает избирательность экстракции и значительно снижает матричный эффект в сложных многокомпонентных объектах, расширяя возможности реакционной ЖМЭ при решении аналитических задач в фармацевтике, пищевой промышленности, клинической диагностике, экологическом мониторинге. Так, например, приведены результаты ААС определения некоторых металлов в крупах, мясных продуктах в сравнении с результатами, полученными независимым методом и с использованием стандартных образцов. Отсутствие систематических погрешностей доказано расчетом t-критерия. Показаны перспективы применения реакционной ЖМЭ на основе ЭР в сочетании с различными инструментальными методами анализа.

В седьмой главе *«Автоматизация реакционной жидкостной микроэкстракции на принципах проточных методов с применением эвтектических растворителей»* (23 страницы) приведены результаты исследований, показывающие возможность применения ДЖМЭ с использованием ЭР как диспергаторов для автоматизации извлечения аналитов в варианте проточного метода анализа *«лаборатория-в-шприце»*. Так, для ДЖМЭ хрома (VI) из напитков предложен ЭР-диспергатор из тетрабутиламмония бромидом и муравьиной кислоты, был исследован в качестве диспергирующего растворителя, который способствовал повышению степени извлечения аналита. Оценены максимальные концентрации мешающих веществ, не оказывающие влияния на степень извлечения хрома (VI).

Приведены примеры автоматизированного определения металлов в пробах

пищевых продуктов (подсолнечное, оливковое, рапсовое масла; газированная и негазированная воды; фруктовые соки). Показано, что для эффективного применения ЭР в проточных методах необходим подбор компонентов ЭР, с учетом селективности извлечения аналитов, а также для образования низковязких ЭР, поскольку вязкость таких систем определяет скорость экстракции и влияет на перемещение экстрагентов внутри проточной установки. Как и в главах 4–6, все разработанные методики экстракционно-инструментального определения аналитов валидированы, приведены результаты оценки правильности независимым методом и/или с привлечением стандартных образцов состава.

В восьмой главе «*Общие рекомендации по выбору прекурсоров для изготовления эвтектических растворителей*» (1,5 страницы) обобщены данные изучения свойств различных типов ЭР при ЖМЭ, ДЖМЭ гидрофобных и гидрофильных аналитов.

Разработанные *методики* успешно *апробированы* на сложных реальных объектах, которые достаточно широко представлены в работе. Кроме того, следует отметить, что некоторые методики, предложенные автором, были применены для *аттестации метрологических характеристик стандартных образцов* сухого и восстановленного молока на примере «массовой доли полициклических ароматических углеводов», «массовой доли антибиотиков» и «массовой доли пестицидов», что подтверждено соответствующим актом от ООО «Петроаналитика».

Достоверность результатов обеспечена грамотной постановкой эксперимента, непротиворечивостью результатов эксперимента по сравнению с известными в литературе данными, взаимной корреляцией результатов, их статистической проработкой, применением большого числа современных методов исследования и анализа, в том числе гибридных (ВЭЖХ-УФ, ВЭЖХ-ФЛ, ВЭЖХ-МС), методов атомной эмиссионной и абсорбционной спектроскопии, молекулярной абсорбционной спектроскопии, инверсионной вольтамперометрии, а также проточного анализа с СФ-детектированием.

Работа прошла *хорошую апробацию*. Результаты и выводы диссертации доложены и обсуждены на престижных Международных и Всероссийских конференциях. Основное содержание диссертации за последние семь лет изложено в 21 статье, опубликованной в журналах, рекомендованных ВАК, 20 из которых в журналах *первого квартала*. По результатам НИР имеются *внедрения*, подтвержденные патентом и соответствующими актами внедрения от компании ООО «Петроаналитика» и Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова. Диссертационная работа выполнена при финансовой поддержке грантов РНФ и Президента Российской Федерации.

Автореферат и публикации полностью отражают содержание диссертации. Выводы и рекомендации, содержащиеся в Заключении, следуют логике исследования и отражают в полной мере полученные результаты.

По **диссертационной работе и автореферату** можно сделать следующие замечания:

1. Глава 8, представленная в работе на страницах 303-304, занимает всего 1,5 страницы и содержит общие рекомендации по выбору прекурсоров для изготовления ЭР. Целесообразно ли выделять эту информацию в отдельную главу?

2. Встречаются несоответствия некоторых разделов оглавления и текста диссертации. Так, в оглавлении (стр. 3) указано... «Результаты» - стр. 305, на которой приводится заголовок «Автор выносит на защиту следующие результаты». В диссертации на стр. 87 приведена глава 2, которая имеет название «Экспериментальная часть» (последующие главы также имеют отношение к экспериментальной части!), тогда как в автореферате на стр. 11 эта глава названа как «Методика экспериментальных исследований». В оглавлении также нет перечня приложений, однако они есть в работе. На стр. 354 – приложение 1, на стр. 355 – приложение 2. Некоторые заголовки в автореферате, например название главы 4 на стр. 19, желательно приводить без аббревиатур (затрудняет их чтение), как это представлено в диссертации на стр. 128.

3. Не совсем понятно, почему вместо выводов, которые традиционно представляют в завершении диссертационного исследования, приведены результаты НИР (стр. 41 автореферата, стр. 305 диссертации), которые автор выносит на защиту? При этом на защиту автор выносит также и некоторые положения (стр. 9 автореферата, стр. 15 диссертации). Чем обусловлена такая необходимость?

4. В работе приведены 7 задач, которые необходимо было решить для достижения поставленной цели. Однако четвертая задача как в диссертации (стр. 11), так и в автореферате (стр. 6) не сформулирована до конца.

5. В табл. 4 автореферата на стр. 32 наибольший разброс значений степени извлечения R наблюдается для бензойной кислоты. С чем это может быть связано? Почему некоторые значения R превышают 100%? Какой в этом физический смысл?

6. Характер зависимостей вязкости (рис. 2, стр. 14 автореферата, экспоненциальная) и плотности (рис. 3, стр. 14 автореферата, линейная) ЭР на основе карбоновых кислот от массовой доли воды различен. С чем это связано?

7. В целом, результаты работы хорошо статистически проработаны, однако, значащие цифры средних величин в некоторых таблицах (например, табл. 16, стр. 145, табл. 41, стр. 263 диссертации) не соответствуют доверительным границам.

8. Желательно было бы привести в автореферате формулы основных

прекурсоров для приготовления ЭР, которые есть в диссертации, для наилучшего восприятия информации.

9. К сожалению, в диссертации часто встречаются пустые фрагменты на 1/2 страницы и более, например, стр. 29, стр. 101-106, стр. 126, стр. 138, стр. 141, стр. 150, стр. 180, стр. 202, стр. 214 и др.

10. В автореферате имеются малочитаемые рисунки, например на стр. 14 (рис. 2 и рис. 3), на стр. 16 и стр. 17 (рис. 4 - 9), на стр. 38 (рис. 21). Для таблиц, которые переносятся на следующую страницу (например, табл. 2, стр. 59, табл. 3, стр. 62, табл. 24, стр. 182, табл. 30, стр. 216) желательно указывать в переносах и номер соответствующей таблицы.

11. В тексте диссертационной работы встречаются некоторые стилистические неточности и опечатки. Например, в автореферате: стр.12-13 в фрагменте CH_2 должен быть нижний индекс, в см-1 – верхний индекс; стр.23, 1 абзац «... с давками сульфаниламидов....»; стр.23, 2 абзац «при контакте с органический фазой»; стр.28, в названии рис. 16 «Влияние тепа мембраны....»; стр.35 в схеме реакции вместо стрелки, применяемой для резонансных структур, следует приводить две разнонаправленные стрелки; стр. 18 неудачное словосочетание «ЖМЭ экстракционного....» и т.п.

Вышеуказанные замечания не снижают общей положительной оценки работы.

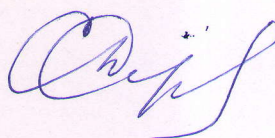
Результаты диссертационного исследования могут быть применены в проведении научных исследований в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова (г. Москва), Санкт-Петербургском государственном университете (г. Санкт-Петербург), Казанском государственном университете (г. Казань), Саратовском государственном университете им. Н.Г. Чернышевского (г. Саратов), Воронежском государственном университете (г. Воронеж), Самарском государственном университете и Самарском государственном техническом университете (г. Самара), ГЕОХИ имени В.И. Вернадского РАН и др., а также в учебных курсах по аналитической химии, пищевой и фармацевтической химии, методам разделения и концентрирования, гибридным методам анализа. Результаты исследований также могут быть использованы в пищевых и фармацевтических лабораториях.

Диссертация Шишова А.Ю. является законченным научным исследованием и имеет значение для развития теоретических и практических основ создания эффективных жидкофазных экстракционных систем для предварительного извлечения, концентрирования и последующего инструментального определения неорганических и органических аналитов (металлов, сульфаниламидов, нестероидных противовоспалительных препаратов, моно- и полифенольных соединений) в различных объектах со сложной матрицей, в том числе в окрашенных, мутных и

неоднородных средах. Реализован комплекс методологических решений, позволивший в значительной степени расширить области применения эвтектических растворителей в анализе. Научно-квалификационная работа соответствует специальности 1.4.2 – аналитическая химия, имеет как теоретическую, так и практическую направленность и, несомненно, представляет интерес для широкого круга специалистов. Работа полностью отвечает требованиям п. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. (№ 842), а ее автор, Шишов Андрей Юрьевич заслуживает присуждения ему ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.2 – Аналитическая химия.

Официальный оппонент

Дата: 04.02.2025 г.



С.Ю. Доронин

Доронин Сергей Юрьевич, доктор химических наук (специальность – Аналитическая химия, 02.00.02), профессор, ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского», профессор кафедры аналитической химии и химической экологии 410012, Саратов, ул. Астраханская, 83, СГУ, Институт химии, I корпус. Тел. +7(8452)26-45-53, E-mail: doroninsu@mail.ru

Я, Доронин Сергей Юрьевич, даю свое согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.

