

УДК 615.074

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2022.18.98.001>

МИКРОЭКСТРАКЦИОННОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ ЭНРОФЛОКСАЦИНА ДЛЯ ПОСЛЕДУЮЩЕГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ МЕТОДОМ ВЭЖХ

З.Р. Якупова, аспирант кафедры аналитической химии, сертификации и менеджмента качества, ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», г. Казань, yakupovalab@yandex.ru

С.Ю. Гармонов, доктор хим. наук, профессор кафедры аналитической химии, сертификации и менеджмента качества, ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», г. Казань, serggar@mail.ru

К.С. Вах, канд. хим. наук, доцент кафедры аналитической химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, kristina-fulmes@mail.ru

А.В. Булатов, доктор хим. наук, профессор кафедры аналитической химии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, bulatov_andrey@mail.ru

Разработан способ хроматографического определения энрофлоксацина в лекарственных препаратах и смывах с технологического оборудования, включающий микроэкстракционное выделение действующего вещества из раствора пробы путем *in situ* генерирования фазы экстрагента и его диспергирование в результате вращения хлопкового диска. При перемешивании и одновременном нагревании системы растворителей и аналита наблюдается образование центральной воронки, где формируется капля органического экстракта при последующем разрушении эмульсии. Охлаждение экстракционной системы способствует кристаллизации экстракта, который отбирается для последующего ВЭЖХ-УФ определения. Градуировочный график линеен в диапазоне концентраций от 32 до 996 мкг/мл ($S=372C$). Достигается предел обнаружения (3σ) 0,99 мкг/мл. ОСКО не превышало 10% ($n=5$). Среднее значение степени извлечения составило 96%. Аналитические возможности разработанного способа апробированы при анализе лекарственных препаратов.

Ключевые слова: микроэкстракция, высокоэффективная жидкостная хроматография, энрофлоксацин, лекарственные препараты

Энрофлоксацин (1-циклопропил-7-(4-этилпиперазин-1-ил)-6-фтор-4-оксо-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновая кислота) – антибактериальный препарат из группы фторхинолонов [1–4]. Энрофлоксацин нашел применение в ветеринарии в лечении инфекций кожи и мягких тканей, мочеполовой системы, желудочно-кишечных и других инфекционных заболеваний [5–8].

Для определения энрофлоксацина в различных пробах используют такие методы, как высокоэффективная жидкостная хроматография с флуоресцентным обнаружением (ВЭЖХ-ФЛД), высокоэффективная жидкостная хроматография с детектированием на диодной матрице (ВЭЖХ-DAD), турбулентная проточная хроматография с тандемной масс-спектрометрией (ТПХ-МС/МС), и другие [9–11]. Но, как правило, методы ВЭЖХ

для определения фторхинолонов в биологическом материале включают трудоемкие этапы жидкостной экстракции и очистки перед хроматографией.

Однако, помимо определения в лекарственных препаратах и биологическом материале, малые содержания действующих веществ необходимо определять в почве, поверхностных и подземных водах. Попадание антибактериальных средств в сточные воды возможно из-за ненадлежащей утилизации лекарственных препаратов и промывных вод после производственного процесса. Особое значение при этом также приобретают подходы по контролю чистоты технологического оборудования после его очистки в соответствии с принципами GMP [12,13].

В современной фармацевтической химии с целью выделения активных фармацевтических субстанций из различных матриц активно применяют методы жидкостной и твердофазной микроэкстракции, позволяющие упростить процедуры пробоподготовки, обеспечивая ее высокую эффективность при минимальных расходах реагентов и проб [14]. В частности, жидкостная микроэкстракция заключается в использовании сравнительно малого объема экстрагента (0,5–100 мкл), что позволяет значительно увеличить коэффициент концентрирования. Процедура основана на быстром введении в анализируемый раствор смеси неполярного экстрагента и растворителя-диспергатора, неограниченно смешивающегося с ним и пробой, в результате фаза экстрагента распределяется в виде тонкодисперсной эмульсии. Разделение фаз достигается центрифугированием или другим приемом отделения, и в дальнейшем органическую фазу отбирают для проведения анализа. Для упрощения процедуры отделения фазы экстракта предложено использовать ее кристаллизацию при охлаждении экстракционной системы [14]. При этом применяются экстрагенты с температурой кристаллизации, близкой к комнатной,

например, такие длинноцепочечные спирты, как 1-ундеканол [15,16] и 1-додеканол [17,18]. Однако введение полярного растворителя (диспергатора) приводит к повышению растворимости аналита и экстрагента в водной фазе, результатом чего является снижение коэффициента распределения [19].

Цель данной работы – изучение возможности выделения энрофлоксацина из анализируемых матриц твердофазной микроэкстракцией / жидкостной экстракцией с последующим определением действующего вещества методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Хроматографические определения проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) с ультрафиолетовым детектором. В процессе исследования были использованы следующие реактивы: ацетонитрил (класс «for HPLC», PanReac, Испания); трифторуксусная кислота (класс «for HPLC», PanReac, Испания); метанол (класс «х.ч.», ООО «ТД «Химмед», Россия); ортофосфорная кислота (класс «х.ч.», ООО «Компонент-Реактив», Россия); вода очищенная (класс чистоты I). Использовался стандартный образец энрофлоксацина-основания (EDQM, Индия). Стандартный раствор энрофлоксацина с концентрацией 2000 мкг/мл готовили путем растворения точной навески стандартного образца в 0,17% растворе ортофосфорной кислоты. Раствор использовали свежеприготовленным.

При пробоподготовке около 0,025 г (точная навеска) исследуемого препарата, содержащего энрофлоксацин, помещали в стеклянный флакон, прибавляли воды очищенной до 3 мл и интенсивно встряхивали смесь в течение 1 мин. Заранее приготовленный хлопковый диск, пропитанный 1-додеканолом,

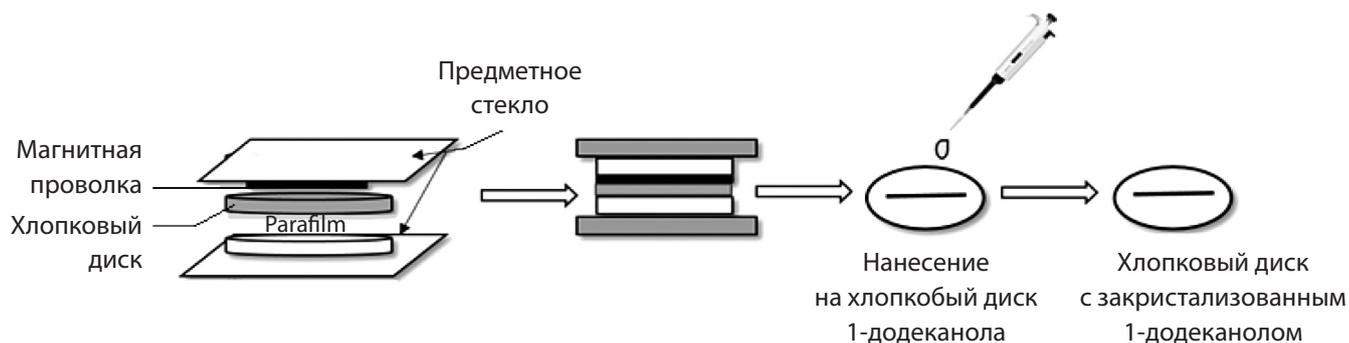


РИС. 1. Схематичное изображение изготовления хлопкового диска

помещали во флакон с гомогенным раствором пробы. Хлопковый диск вращали со скоростью 560 об/мин в течение 10 мин. на лабораторной магнитной мешалке IKA RH (IKA, Германия) при 60°C, чтобы вызвать фазовый переход 1-додеканола в жидкое состояние. Затем для кристаллизации капли 1-додеканола стеклянный флакон помещали в баню с ледяной водой, и флотированный органический растворитель затвердевал через короткий промежуток времени. После этого закристаллизовавшуюся фазу экстракта аккуратно переносили в микропробирку с помощью шпателя, растворяли в 300 мкл метанола при комнатной температуре и вводили раствор в хроматографическую систему.

Для приготовления хлопковых дисков использовали хлопковое полотно и лабораторную пленку Parafilm M (Bemis, США), из которых вырезали диски с внутренним диаметром 10±1 мм. Затем каждый диск из хлопкового полотна аккуратно разделяли на два слоя. Пленку

Parafilm M и вкладыш магнитной мешалки (металлическая проволока, длина 10 мм, внутренний диаметр 1 мм) помещали между двумя слоями хлопка. Систему накрывали двумя предметными стеклами и помещали в сушильный шкаф (100°C, 10 мин.) для плавления пленки Parafilm M и склеивания дисков между собой. На диск помещали 50 мкл расплавленного 1-додеканола (30°C). При охлаждении 1-додеканол кристаллизовался на диске. Диски хранили в холодильнике в эксикаторе (рис. 1).

Хроматографические определения осуществляли при использовании колонки Atlantis T3 C18, 150×4,6 мм, 5 мкм (Waters, США), предколонки Phenomenex SecurityGuard TM, Cartridges Widespore C18, 4×3,0 мм. Температура термостата составляла 40°C. Подвижная фаза: 0,05% раствор трифторуксусной кислоты в воде (элюент А); ацетонитрил (элюент В). Градиент состава подвижной фазы представлен в табл. 1. Объем вводимой пробы составлял 5 мкл. Время удерживания энрофлоксацина: около 5,7 мин. Время регистрации хроматограммы: 0–12,5 мин. Детектирование проводилось УФ-детектором при длине волны поглощения 350±2 нм. Частота регистрации сигнала детектора: 5 Гц.

Таблица 1

ГРАДИЕНТ СОСТАВА ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ

Время, мин.	Скорость потока, мл/мин	Элюент А, %	Элюент В: ацетонитрил, %
0–8	1	80 → 70	20 → 30
8–8,2	1	70 → 80	30 → 20
8,2–12,5	1	80	20

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для повышения коэффициентов концентрирования малых содержаний энрофлоксацина

из анализируемых сред (например, промывных вод после очистки производственного оборудования) предложена дисперсионная микроэкстракция в каплю экстрагента с последующей кристаллизацией экстракта. Метод предполагает диспергирование экстрагента в водной фазе в присутствии полярного органического растворителя, который смешивается с водной и органической фазами.

В качестве экстрагента для извлечения энрофлоксацина был выбран 1-додеканол [20], который имеет ограниченную растворимость в водной фазе (0,004 г/л [21]), низкую летучесть и температуру кристаллизации, близкую к комнатной (температура плавления 24°C [22]). Перечисленные свойства длинноцепочечного спирта позволили его применять в дисперсионной жидкостной микроэкстракции с кристаллизацией экстракта.

Для исключения применения полярных растворителей в процессе диспергирования экстрагента в водной фазе был реализован подход, предполагающий переход твердой фазы 1-додеканола в жидкую и ее диспергирование в водной фазе при вращении хлопкового

диска при нагревании. Также в этом случае при перемешивании и одновременном нагревании системы растворителей и аналита наблюдается образование и диспергирование органической фазы. Диск с вкладышем магнитной мешалки служит как переносчик экстрагента и как магнитный якорь, способный образовать центральный вихрь для формирования капли. Далее раствор пробы охлаждают до температуры -5°C , в результате чего капля экстракта кристаллизуется. После чего твердофазный экстракт отбирают и растворяют в метаноле для последующего хроматографического анализа.

В составе анализируемого лекарственного препарата, наряду с действующими веществами – энрофлоксацином и колистина сульфатом, имеются еще молочная кислота, бензиловый спирт, метабисульфит натрия и вода очищенная. В ходе исследований было обнаружено, что, помимо энрофлоксацина, из пробы лекарственного препарата еще выделяются колистина сульфат и бензиловый спирт (рис. 2). Основные характеристики аналитических определений были оценены

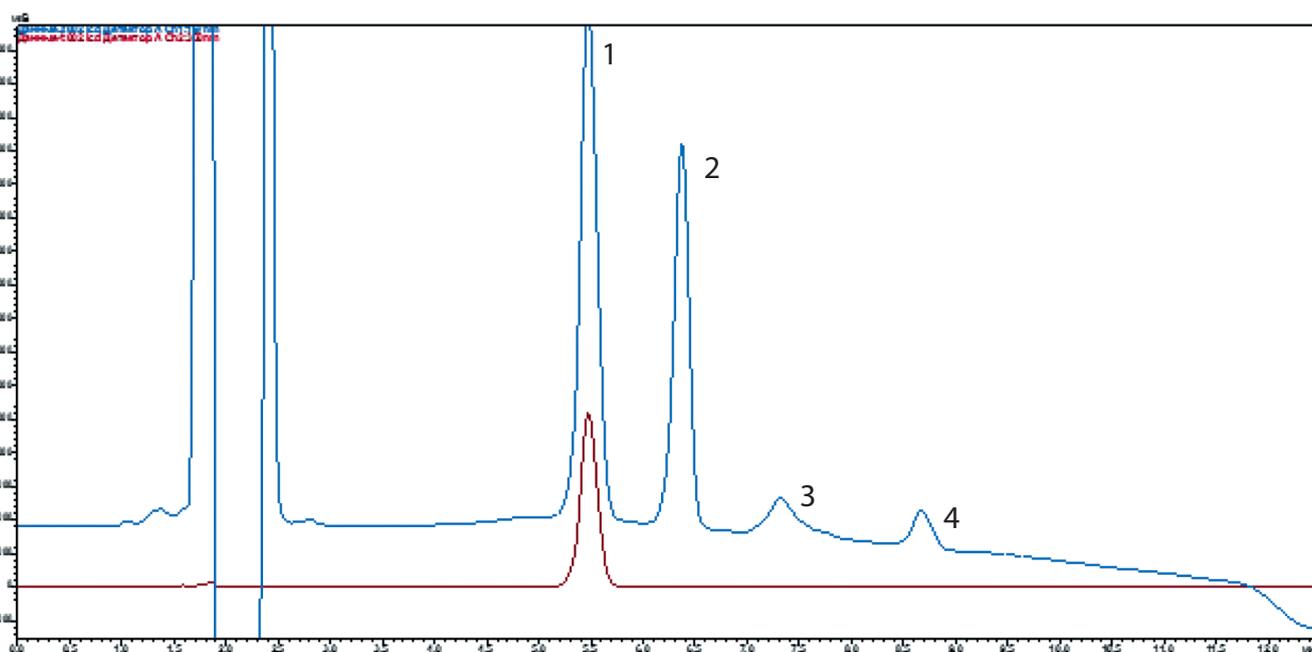


РИС. 2. Хроматограмма смеси после микроэкстракционного выделения: энрофлоксацин (1), бензиловый спирт (2), колистина сульфат E2 (3) и колистина сульфат E1 (4)

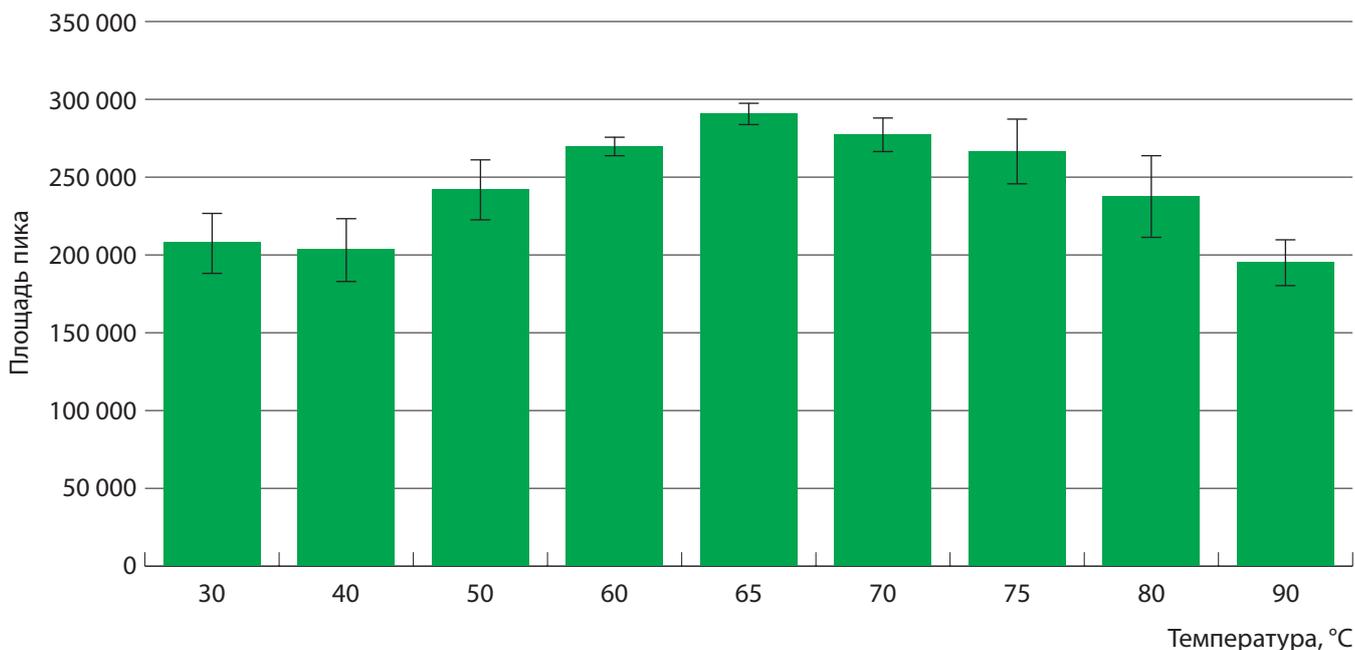


РИС. 3. Влияние температуры на эффективность микроэкстракции энрофлоксацина

по энрофлоксацину, так как его содержание в испытуемых пробах наибольшее. Однако разработанный подход микроэкстракционного выделения позволяет идентифицировать бензиловый спирт и колистина сульфат в испытуемых пробах.

Влияние температуры на процесс экстракции. На начальном этапе на хлопковый диск

помещали 80 мкл расплавленного 1-додекана, замораживали его и в дальнейшем использовали для процедуры микроэкстракции. Для подбора наиболее оптимальной температуры провели ряд исследований с температурой от 30 до 90°C. Для проверки актуальной температуры рядом с испытуемым образцом устанавливали флакон с аналогичным

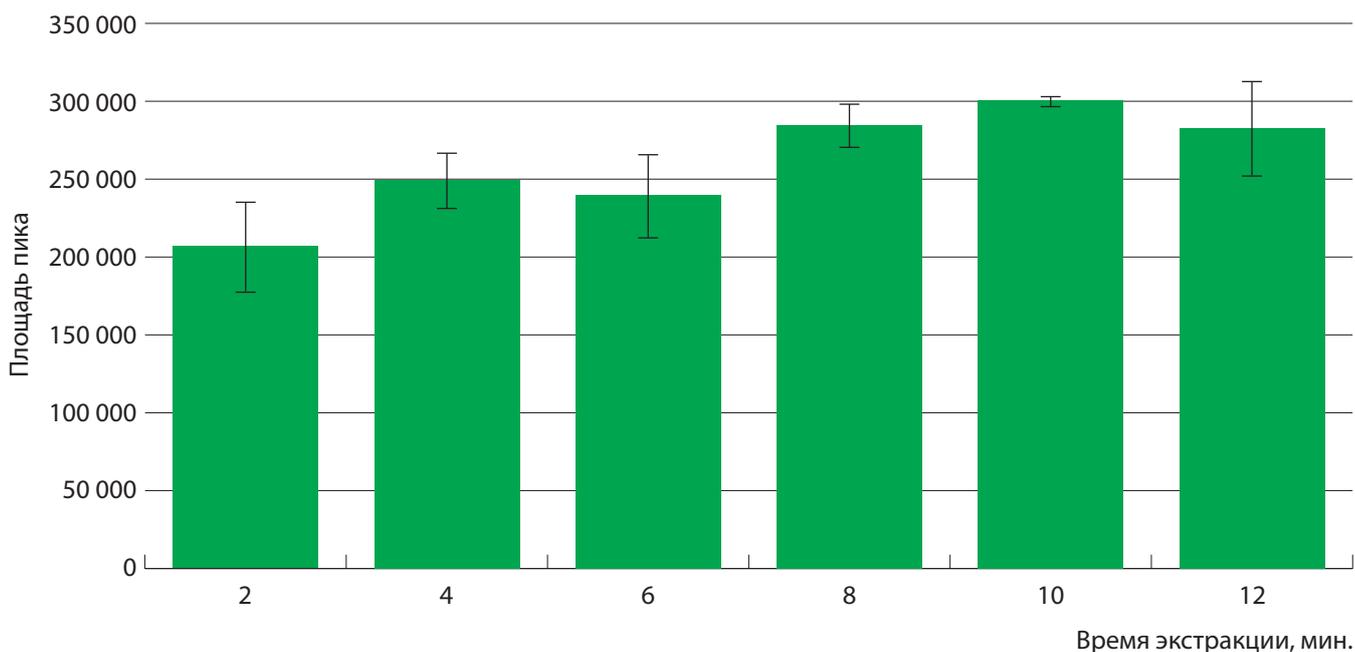


РИС. 4. Влияние времени на эффективность микроэкстракции энрофлоксацина

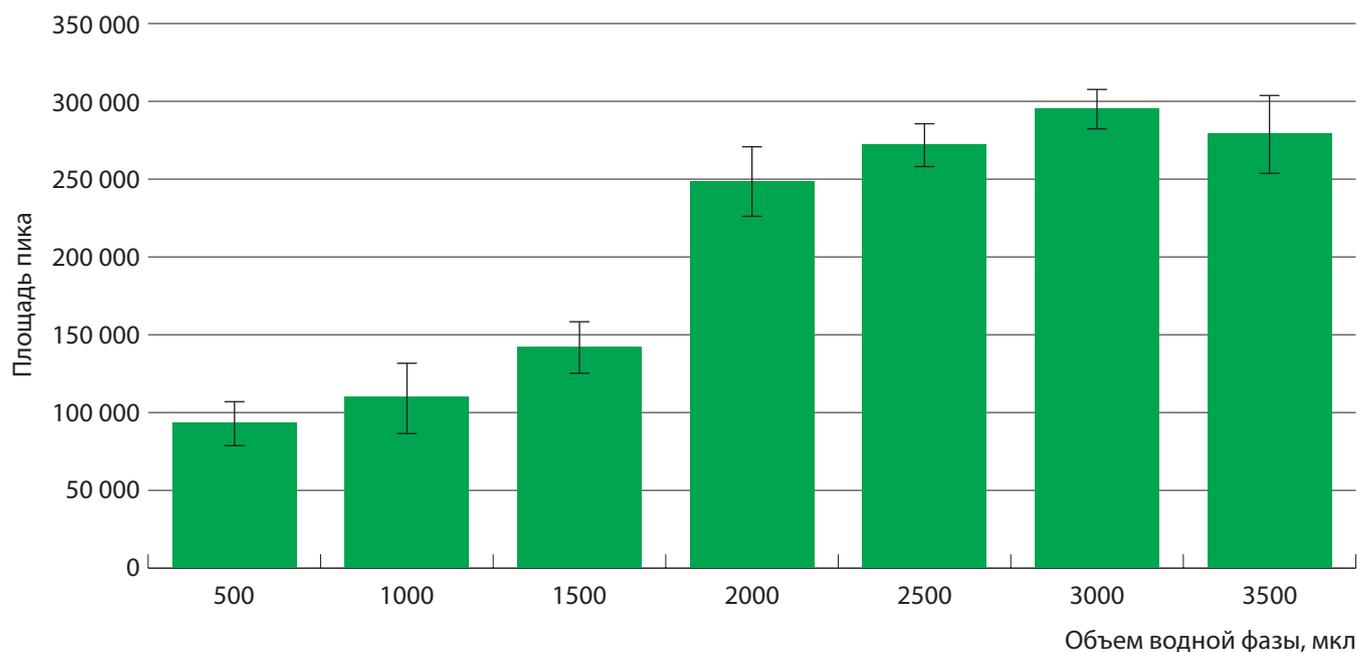


РИС. 5. Влияние объема раствора пробы на эффективность микроэкстракции энрофлоксацина

объемом жидкости и с помощью погружного термометра измеряли температуру нагрева.

При температуре нагрева 30 и 40°C наблюдалось недостаточное извлечение экстрагента из хлопкового диска, что давало невоспроизводимые результаты. При температуре выше 70°C наблюдалось кипение капли экстрагента, что, в свою очередь, способствовало частичному улетучиванию экстрагента и растеканию по стенкам флакона. По истечении времени экстрагирования капля не собиралась и замерзала кусочками. Оценка влияния температуры на процесс экстракции была оценена по площадям пика энрофлоксацина (рис. 3).

Влияние времени на процесс экстракции. В ходе исследований было рассмотрено влияние времени на процесс экстракции. Так как для полного извлечения 1-додеканола из хлопкового диска необходимо достаточное количество времени, изучали данное влияние от 2 до 12 мин. (рис. 4). Зависимость рассчитывали исходя из полученных площадей пиков. Установлено, что при времени 10 мин. наблюдается наименьшее относительное среднее квадратичное отклонение (ОСКО) при высокой

степени извлечения. При 12 минутах наблюдалось увеличение ОСКО, что, скорее всего, связано с потерей органического растворителя путем испарения.

Влияние объема раствора пробы на процесс экстракции. Изучено влияние объема раствора пробы в диапазоне от 1 мл до 3 мл на эффективность микроэкстракции.

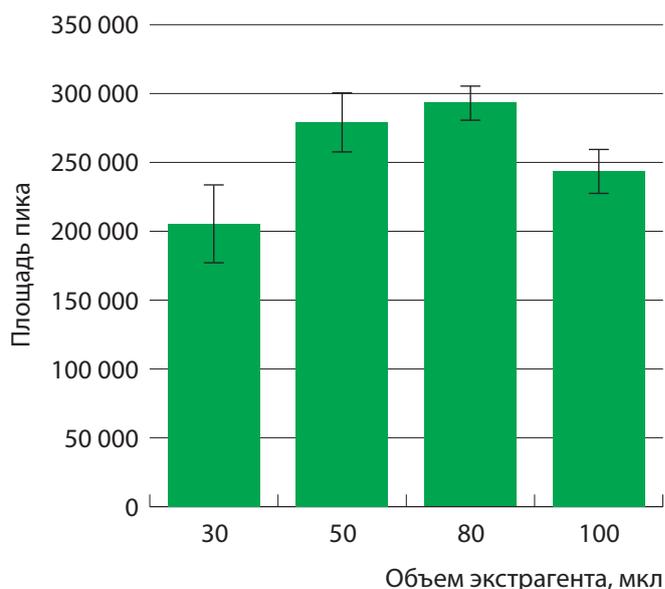


РИС. 6. Влияние объема экстрагента на эффективность микроэкстракции энрофлоксацина

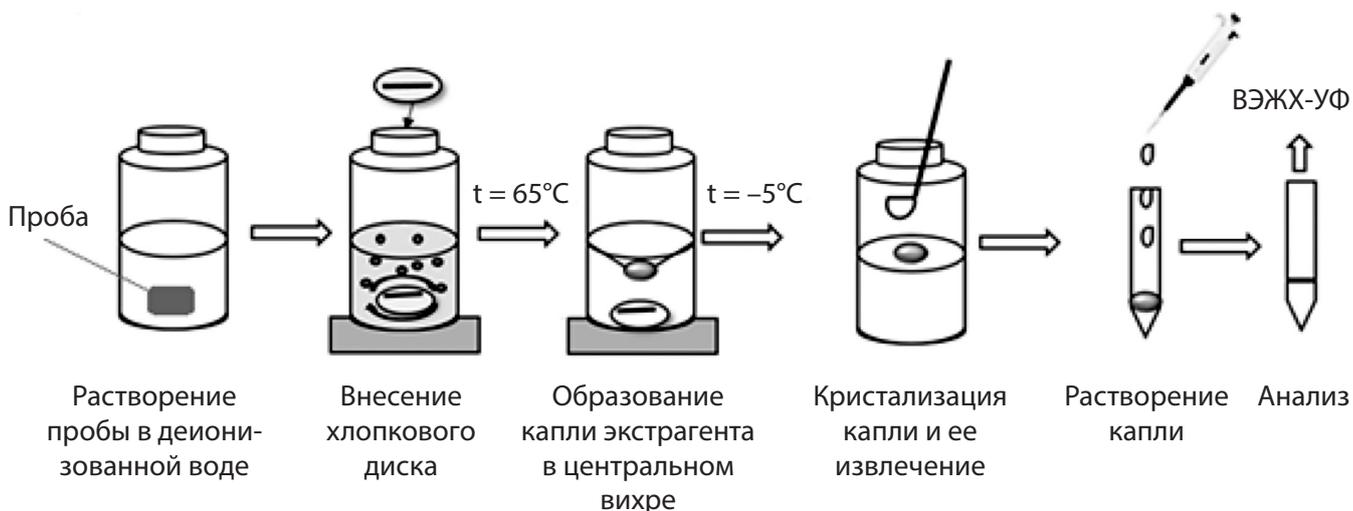


РИС. 7. Схема проведения дисперсионной жидкостной микроэкстракции с последующей кристаллизацией экстракта

При увеличении объема раствора пробы до 3 мл аналитический сигнал возрастал (рис. 5). Также при экстракции из больших объемов пробы наблюдались невоспроизводимые результаты, которые можно объяснить процессом неравномерного диспергирования 1-додеканола в большом объеме водной фазы. Таким образом, для дальнейших исследований был выбран объем пробы 3 мл.

Влияние объема экстрагента на процесс экстракции. Объем экстрагента оказывает значительное влияние на степень извлечения аналита. В ходе оптимизации этого параметра была проведена процедура микроэкстракции с объемами 1-додеканола от 30 до 100 мкл, которые предварительно наносили на хлопковый диск. Было установлено, что объем экстрагента 80 мкл обеспечивал самые высокие

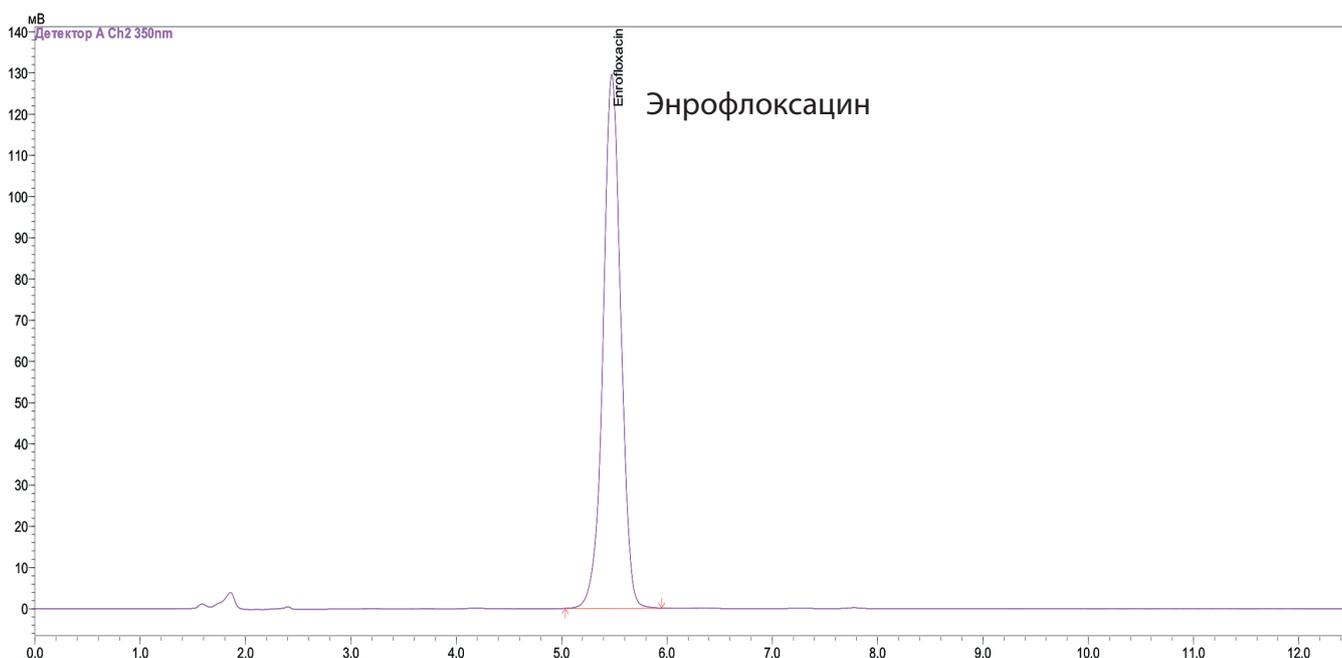


РИС. 8. Хроматограмма энрофлоксацина после микроэкстракционного выделения при длине волны 350 нм

Таблица 2

**РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ЭНРОФЛОКСАЦИНА В ВОДНЫХ ПРОБАХ
(N=3, P=0,95)**

Проба	Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	Степень извлечения, %
1	853	847,49±32,23	99,32
2	863	854,56±26,17	98,98
3	830	834,47±7,22	100,53
Среднее			99,61
SD, %			0,81
RSD, %			0,82

значения площадей хроматографических пиков (рис. 6) при сравнительно низком ОСКО.

На основе полученных результатов был разработан следующий способ определения энрофлоксацина в водных пробах (рис. 7): 0,05±0,005 г пробы помещали в стеклянный флакон, добавляли до 3 мл воды очищенной и интенсивно встряхивали смесь в течение 2 мин. Хлопковый диск с 1-додеканолом (80 мкл) помещали во флакон с раствором пробы и перемешивали со скоростью 650 об/мин в течение 10 мин. при температуре 65°C. Плотность экстракта меньше плотности водной фазы, поэтому органическая фаза выделялась в форме капли в центральном вихре в водной фазе. Для кристаллизации экстракта стеклянный флакон помещали в ледяную воду (-5°C,

5 мин.). После этого твердую фазу экстракта (в форме капли) аккуратно переносили в другой сосуд с помощью шпателя, растворяли в 100 мкл метанола при комнатной температуре и вводили приготовленный раствор в хроматографическую систему. Пример хроматограммы энрофлоксацина после микроэкстракционного выделения представлен на рис. 8.

Для построения градуировочного графика использовали растворы энрофлоксацина заранее известной концентрации. Градуировочный график линеен в диапазоне концентраций от 32,0 до 996 мкг/мл и описывается уравнением регрессии ($S=372C$) ($R^2=0,9992$). Предел обнаружения, оцененный по 3σ критерию Кайзера, составил 0,99 мкг/мл. ОСКО не превышало 10% (n=5). Среднее значение степени извлечения составило 96%.

Правильность результатов оценивали методом «введено – найдено». Найденные результаты определения содержания энрофлоксацина в водных растворах представлены в табл. 2. Правильность результатов также подтверждена референтным методом [23] при определении энрофлоксацина в лекарственных препаратах в виде растворов для орального применения. Полученные результаты приведены в табл. 3.

ВЫВОДЫ

1. Разработан эффективный вариант дисперсионной жидкостной микроэкстракции,

Таблица 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНРОФЛОКСАЦИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ

Проба	Действующее вещество	Единица измерения	Найдено	
			ВЭЖХ-УФ	УФ-спектрофотометрия
Энроколистин ВС	Энрофлоксацин	мг/мл	99,59±0,81	99,81±0,94
Энроксил	Энрофлоксацин	мг/мл	99,48±0,91	99,94±0,96

предполагающий диспергирование экстрагента в водном растворе пробы при вращении хлопкового диска, оснащенного вкладышем магнитной мешалки, с последующей кристаллизацией экстракта. Для микроэкстракционного выделения энрофлоксацина показана возможность применения 1-додеканола в качестве экстрагента.

2. Предложенный способ ВЭЖХ-УФ определения энрофлоксацина в водных пробах по сравнению с аналогичными способами позволяет упростить процедуру пробоподготовки, сократить расход экстрагентов (на одно определение требуется 80 мкл экстрагента), не требует центрифугирования. Разработанный способ микроэкстракции может в дальнейшем найти применение в определении степени чистоты оборудования после фармацевтического производства.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Boothe D.M. *Enrofloxacin revisited* // *Veterinary medicine*. – 1994. – P. 744–753.
2. Sarmah A.K., Meyer M.T., Boxall A.B. A. *A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment* // *Chemosphere*. – 2006. – V. 65. – №5. – P. 725–759.
3. Golovnev N.N., Vasiliev A.D., Kirik S.D. *Enrofloxacinium citrate monohydrate: Preparation, crystal structure, thermal stability and IR-characterization* // *Journal of Molecular Structure*. – 2012. – V. 1021. – P. 112–117.
4. Regitano J.B., Leal R.M. P. *Performance and environmental impact of antibiotics in animal production in Brazil* // *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. – 2010. – V. 34. – №3. – P. 601–616.
5. Li J., Milne R.W., Nation R.L. et al. *Stability of colistin and colistin methanesulfonate in aqueous media and plasma as determined by high-performance liquid chromatography* // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2003. – V. 47. – №4. – P. 1364–1370.
6. Jansson B., Karvanen M., Cars O. et al. *Quantitative analysis of colistin A and colistin B in plasma and culture medium using a simple precipitation step followed by LC/MS/MS* // *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. – 2009. – V. 49. – №3. – P. 760–767.
7. Ma Z., Wang J., Nation R.L. et al. *Renal disposition of colistin in the isolated perfused rat kidney* // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2009. – V. 53. – №7. – P. 2857–2864.
8. Yapa S.W. S., Li J., Porter C.J. et al. *Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate in rats: achieving sustained lung concentrations of colistin for targeting respiratory infections* // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2013. – V. 57. – №10. – P. 5087–5095.
9. Idowu O.R., Peggins J.O. *Simple, rapid determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in bovine milk and plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection* // *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. – 2004. – V. 35. – №1. – P. 143–153.
10. Cinquina A.L., Roberti P., Giannetti L. et al. *Determination of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in goat milk by high-performance liquid chromatography with diode-array detection: Optimization and validation* // *Journal of Chromatography A*. – 2003. – V. 987. – №1–2. – P. 221–226.
11. Krebber R., Hoffend F.J., Ruttman F. *Simple and rapid determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in edible tissues by turbulent flow chromatography/tandem mass spectrometry (TFC-MS/MS)* // *Analytica Chimica Acta*. – 2009. – V. 637. – №1–2. – P. 208–213
12. Wei R., Ge F., Chen M. et al. *Occurrence of ciprofloxacin, enrofloxacin, and florfenicol in animal wastewater and water resources* // *Journal of Environmental Quality*. – 2012. – V. 41. – №5. – P. 1481–1486.
13. Ašperger D., Mutavdžić D., Babić S. et al. *Solid-phase extraction and TLC quantification*

- of enrofloxacin, oxytetracycline, and trimethoprim in wastewater // *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*. – 2006. – V. 19. – № 108. – P. 129–134.
14. Zuloaga O., Olivares M., Navarro P. et al. Dispersive liquid-liquid microextraction: Trends in the analysis of biological samples // *Bioanalysis*. – 2015. – V. 7. – №17. – P. 2211–2225.
 15. Jafarinejad M., Ezoddin M., Lamei N. et al. Effervescent tablet-assisted demulsified dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet for determination of methadone in water and biological samples prior to GC-flame ionization and GC-MS // *Journal of Separation Science*. – 2020. – V. 43. – №16. – P. 3266–3274.
 16. Wang X., Wang Y., Zou X. et al. Improved dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of floating organic droplet method with a binary mixed solvent applied for determination of nicotine and cotinine in urine // *Analytical Methods*. – 2014. – V. 6. – №7. – P. 2384–2389.
 17. Farahmand F., Ghasemzadeh B., Naseri A. Air-assisted liquid – liquid microextraction using floating organic droplet solidification for simultaneous extraction and spectrophotometric determination of some drugs in biological samples through chemometrics methods // *Spectrochimica Acta. Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2018. – V. 188. – P. 72–79.
 18. Pelit F.O., Yengin Ç. Application of solidified floating organic drop microextraction method for biomonitoring of chlorpyrifos and its oxon metabolite in urine samples // *Journal of Chromatography B*. – 2014. – V. 949. – P. 109–114.
 19. Regueiro J., Llompart M., Garcia-Jares C. et al. Ultrasound-assisted emulsification-microextraction of emergent contaminants and pesticides in environmental waters // *Journal of Chromatography A*. – 2008. – V. 1190. – №1–2. – P. 27–38.
 20. Shishov A., Chromá R., Vakh C. et al. In situ decomposition of deep eutectic solvent as a novel approach in liquid-liquid microextraction // *Analytica Chimica Acta*. – 2019. – V. 1065. – P. 49–55.
 21. Pérez A.D., Rodríguez-Barona S., Fontalvo J. Molecular toxicity of potential liquid membranes for lactic acid removal from fermentation broths using *Lactobacillus casei* ATCC 393 // *Dyna*. – 2018. – V. 85. – №207. – P. 360–366.
 22. Maryadele J. O'Neil. *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biological*. – Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, – 2013. – P. 621.
 23. Mostafa S., El-Sadek M., Alla E.A. Spectrophotometric determination of ciprofloxacin, enrofloxacin and pefloxacin through charge transfer complex formation // *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. – 2002. – V. 27. – №1–2. – P. 133–142.

MICROEXTRACTION ISOLATION OF ENROFLOXACIN FOR SUBSEQUENT DETERMINATION IN DRUGS BY HPLC METHOD

Z.R. Yakupova¹, S.Yu. Garmonov¹, K.S. Vakh², A.V. Bulatov²

¹ Kazan National Research Technological University, Kazan, Russia

² Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

A method for chromatographic determination of enrofloxacin in medicinal preparations and flushes from technological equipment has been developed, including microextraction of the active substance from the sample solution by in situ generation of the extractant phase and its dispersion as a result of rotation

of the cotton disk. With stirring and simultaneous heating of the solvent and analyte system, the formation of a central funnel is observed, where a drop of organic extract is formed during the subsequent destruction of the emulsion. Cooling of the extraction system contributes to the crystallization of the extract, which is selected for subsequent HPLC-UV determination. The calibration curve is linear in the concentration range from 32 to 996 mkg/ml ($y=372,22C$). The detection limit (3σ) of 0.996 mkg/ml is reached. The RSD did not exceed 10% ($n=5$). The average value of the extraction degree was 96%. The analytical capabilities of the developed method have been tested on the analysis of drugs.

Keywords: microextraction, high-performance liquid chromatography, enrofloxacin, drugs