

БИОХИМИЯ/BIOCHEMISTRY

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.158.75>

МЕТОДЫ КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ ГОРМОНАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ

Обзор

Хаширова С.С.^{1,*}, Ламашвили Л.С.², Агоева Э.А.³, Морозкина С.Н.⁴, Хаширова С.Ю.⁵¹ ORCID : 0000-0003-1948-1687;² ORCID : 0000-0001-5898-2412;³ ORCID : 0009-0000-3832-034X;⁴ ORCID : 0000-0003-0122-0251;⁵ ORCID : 0000-0002-7210-1252;^{1, 2, 3, 5} Кабардино-Балкарский государственный университет имени Х. М. Бербекова, Нальчик, Российская Федерация⁴ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (seda.aslakhanova[at]gmail.com)

Аннотация

В настоящее время гормоны являются одними из главных загрязнителей водной среды. Эти биологически активные соединения могут накапливаться в живых организмах, приводя к различным проблемам со здоровьем. Повышение устойчивости микроорганизмов к антибиотикам также является следствием присутствием гормонов в воде. В число эндокринных деструкторов входят органические соединения, используемые как в сельском хозяйстве и промышленности, так и в повседневной жизни человека. Гормоны попадают в воду из отходов крупных фармацевтических компаний или больниц, где медицинские отходы утилизируются неправильно.

В связи с необходимостью идентификации и количественной оценки этих соединений был проведен анализ данных о существующих методиках исследования водных объектов. Часто концентрация гормонов в воде слишком низкая для их определения с помощью приборов для анализа, что требует поиска дополнительных методов пробоподготовки. Таким образом, целью данной статьи было изучение существующих методов повышения концентрации гормонов в пробах воды для изучения степени их влияния в различных регионах.

Цель исследования

Поиск оптимального метода концентрирования гормональных препаратов для дальнейшего исследования водных объектов на содержание эндокринных загрязнителей.

Материалы и методы

Выполнен обзор данных современной литературы, проведен поиск существующих методов анализа воды на содержание гормонов и способов подготовки проб для повышения точности результатов анализа. Кроме того, в ходе исследования были обнаружены зарубежные стандарты по анализу питьевой воды на гормоны, в которых подробно описана процедура повышения концентрации гормональных препаратов.

Ключевые слова: стероидные гормоны, хроматография, методы экстракции гормонов, эстрогены, эндокринный разрушитель, дериватизация.

METHODS FOR CONCENTRATING HORMONAL DRUGS FROM AQUEOUS SOLUTIONS

Review article

Khashirova S.S.^{1,*}, Lamashvili L.S.², Agoeva E.A.³, Morozkina S.N.⁴, Khashirova S.Y.⁵¹ ORCID : 0000-0003-1948-1687;² ORCID : 0000-0001-5898-2412;³ ORCID : 0009-0000-3832-034X;⁴ ORCID : 0000-0003-0122-0251;⁵ ORCID : 0000-0002-7210-1252;^{1, 2, 3, 5} Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik, Russian Federation⁴ Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, Saint-Petersburg, Russian Federation

* Corresponding author (seda.aslakhanova[at]gmail.com)

Abstract

Currently, hormones are one of the main pollutants of the aquatic environment. These biologically active compounds can accumulate in living organisms, leading to various health problems. The increased resistance of microorganisms to antibiotics is also a consequence of the presence of hormones in water. Endocrine disruptors include organic compounds used in agriculture, industry, and everyday human life. Hormones enter the water from the waste of large pharmaceutical companies or hospitals, where medical waste is disposed of incorrectly.

Due to the necessity to identify and quantify these compounds, an analysis of data on existing methods for studying water bodies was conducted. Often, the concentration of hormones in water is too low to be detected by analytical instruments, which requires the search for additional sample preparation methods. Thus, the aim of this article was to study existing methods for increasing the concentration of hormones in water samples in order to study their impact in different regions.

Research objective

Search for the optimal method of concentrating hormonal drugs for further research of water bodies for the content of endocrine disruptors.

Materials and Methods

A review of current literature was conducted, and a search was performed for existing methods of analysing water for hormone content and methods of preparing samples to improve the accuracy of analysis results. In addition, the study identified foreign standards for analysing drinking water for hormones, which describe in detail the procedure for increasing the concentration of hormonal drugs.

Keywords: steroid hormones, chromatography, hormone extraction methods, estrogens, endocrine disruptor, derivatisation.

Введение

Стероидные гормоны являются одним из классов соединений, которые действуют как загрязнители и эндокринные разрушители [1], [2], [3], [4]. Среди стероидных гормонов эстрогены, прогестины и андрогены являются половыми гормонами, и отвечают за наиболее интенсивные изменения в эндокринной системе [5]. Применение этих препаратов у людей происходит в основном при гормонозаместительной терапии, для контроля рождаемости и лечения рака [6], [7]. У животных андрогенные гормоны часто используются для быстрого роста [8]. Использование стандартных методов очистки воды может быть недостаточным по отношению к эндокринным разрушителям, так как эти соединения встречаются в питьевой воде [9], [10], [11], [12], [13]. Присутствие гормонов в окружающей среде даже в низких концентрациях может оказывать неблагоприятное воздействие на репродуктивные, неврологические, иммунологические и метаболические функции как у людей, так и у животных [14].

Концентрация загрязняющих веществ в воде и сточных водах может сильно различаться в зависимости от скорости сброса, выпадения осадков, температуры и используемых технологий очистки [15]. Для измерения эстрогенных гормонов на следовых уровнях необходимо извлечь их из воды и сконцентрировать при помощи различных методов экстракции. Твердофазная экстракция является наиболее часто используемым методом извлечения стероидных гормонов из воды и природных матриц, обеспечивающим более высокую эффективность извлечения [16]. Однако в литературе также сообщалось и о жидкостной экстракции [17]. Существует несколько основных методов концентрирования гормонов для дальнейшего анализа: жидкостно-жидкостная экстракция (LLE), сверхкритическая флюидная экстракция (SFE), твердофазная экстракция (SPE).

Основная часть

2.1. Жидкостно-жидкостная экстракция (LLE)

Жидкостно-жидкостная экстракция (LLE) (рисунок 1) основана на принципе, согласно которому растворенное или аналитное вещество может распределяться в определенном соотношении между двумя несмешивающимися растворителями, обычно водой (водная фаза) и органическим растворителем (органическая фаза). В начале 1970-х годов классическая LLE экстракция впервые была применена для очистки цитокининов [18]. Было обнаружено, что, когда кинетин в кислом водном растворе был разделен три раза с равными объемами этилового эфира, только около 50% кинетина перешло в эфирную фазу. Однако при разделении с этилацетатом более 90% кинетина перешло в этилацетатную фазу [19].

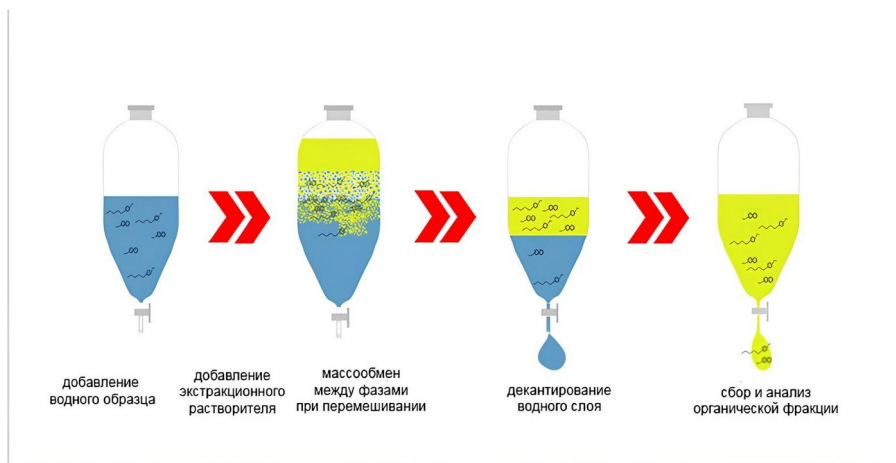


Рисунок 1 - Принцип LLE экстракции
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.158.75.1>

Все встречающиеся в природе гормоны могут быть выделены из экстрактов с 50% или более степенью извлечения с использованием LLE. Однако его недостатками являются низкая чувствительность, поскольку он не подходит для ультра-следовых определений, экстракция занимает много времени, а растворители небезопасны для окружающей среды. Поэтому были разработаны некоторые улучшенные методы LLE для упрощения процедур подготовки образцов, включая микроэкстракцию одиночной капли (SDME), экстракцию смачивающей пленки (WFE), экстракцию точки помутнения (CPE), гомогенную экстракцию жидкость-жидкость (HLLE), дисперсионную микроэкстракцию

жидкость-жидкость (DLLME) и дисперсионную микроэкстракцию жидкость-жидкость на основе затвердевания плавающей органической капли (DLLME-SFO) [20].

В LLE смешиваются несмешивающийся органический растворитель и водная проба. Неполарные соединения распределяются в органическую фазу, оставляя полярные фрагменты в водной фазе. Добавляется несмешивающийся органический растворитель, образцы энергично перемешиваются для переноса аналитов из образца в органическую фазу и центрифугируются для разделения слоев. После центрифугирования органический слой переносится и выпаривается досуха. К выпаренному экстракту добавляется восстанавливающий раствор, контейнер герметизируется и перемешивается для растворения аналитов и получения инъекционной матрицы [21].

Преимущества LLE включают низкую стоимость материалов и высокую селективность, возможность концентрировать аналиты при выполнении обширной очистки матрицы. Недостатками являются сложность процесса, низкая производительность при ручном варианте исполнения, высокие затраты на обученный персонал высокой квалификации, длительность экстракции. Кроме того, поскольку полярные соединения плохо экстрагируются, метаболиты могут иметь низкую степень извлечения или требовать гидролиза глюкуронида/сульфата перед LLE. Иногда происходит неполное разделение слоев — образование эмульсии, и разрушение эмульсии замораживанием или добавлением соли может быть проблематичным. Чистый, воспроизводимый перенос органического слоя в другой контейнер для выпаривания является трудоемким и зависит от техники выполнения, поэтому является основным источником изменчивости результата [22].

2.2. Сверхкритическая флюидная экстракция (SFE)

Сверхкритическая флюидная экстракция (SFE) (рисунок 2) использует сверхкритическую жидкость, чаще всего CO₂, в качестве растворителя для подвижной фазы при экстракции. Собственная низкая вязкость и высокая диффузионная способность сверхкритического CO₂ делают SFE более быстрым и эффективным методом по сравнению с традиционной жидкостной экстракцией. Это обеспечивает более высокие скорости потока и, следовательно, более быстрое время экстракции без необходимости в системе высокого давления. После экстракционного сосуда находится регулятор обратного давления, который обеспечивает требуемое обратное давление для поддержания CO₂ в сверхкритическом состоянии и является неотъемлемой частью производительности экстракции [23].

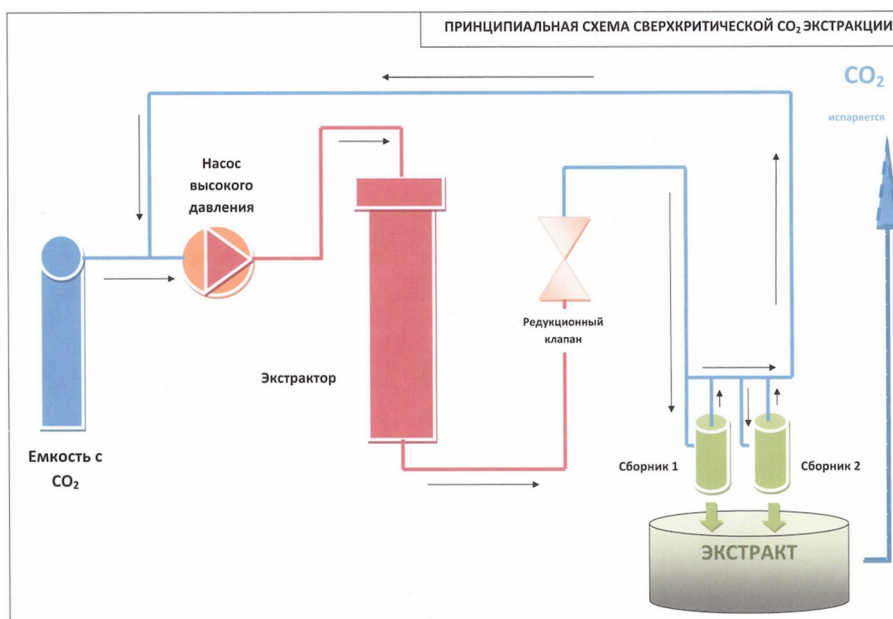


Рисунок 2 - Принцип SFE экстракции
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.158.75.2>

Одним из преимуществ SFE экстракции является селективность — полярность CO₂ сильно варьируется в зависимости от давления, которому он подвергается. Это делает CO₂ настраиваемым растворителем, который позволяет пользователю находить точные условия для избирательного извлечения интересующих соединений. Это свойство CO₂ значительно снижает необходимость в очистке после экстракции, которая была бы необходима при большинстве методов экстракции растворителем [24]. Также к преимуществам метода SFE является отсутствие остаточных растворителей — учитывая газообразное состояние CO₂ при атмосферных условиях, полученный экстракт не требует длительного времени нахождения в роторном испарителе, необходимого для сушки аналитов, извлеченных растворителем [25].

Метод SFE обеспечивает меньшую длительность процесса экстракции благодаря высокой диффузионной способности и низкой вязкости CO₂ в его сверхкритическом состоянии. Экстракция обычно занимает в разы меньше времени по сравнению с экстракцией растворителем [26].

Высокий выход продукта также является преимуществом SFE — из-за повышенной температуры и давления сверхкритический CO₂ может проникать во многие матрицы, в которые растворители не могут проникнуть, тем самым

обеспечивая большую площадь контакта поверхности, что, в свою очередь, увеличивает выход продукта. Также данный метод обеспечивает низкие эксплуатационные расходы — стоимость извлечения значительно ниже, за счет низкой стоимости CO₂, в сравнении с эквивалентным количеством растворителя [27], [28].

2.3. Твердофазная экстракция (SPE)

Твердофазная экстракция (SPE) (рисунок 3) — это метод экстракции твердого тела в жидкость, при котором соединения, растворенные или суспендированные в жидкой смеси, разделяются, изолируются или очищаются от других соединений в этой смеси в соответствии с их физическими и химическими свойствами. Аналитические лаборатории используют твердофазную экстракцию для концентрирования и очистки образцов для анализа.

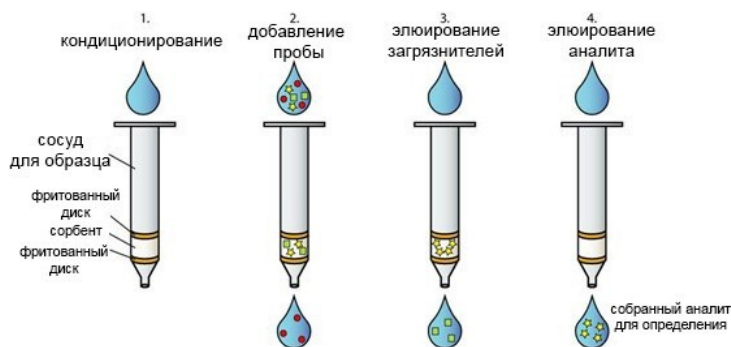


Рисунок 3 - Принцип SPE экстракции
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.158.75.3>

В методе SPE используется сродство растворенных веществ, растворенных или суспендированных в жидкости (подвижная фаза), к твердой насадке внутри небольшой колонки, через которую проходит образец (неподвижная фаза), для разделения смеси на желаемые компоненты. Результатом является то, что либо интересующие аналиты, либо нежелательные примеси в образце удерживаются на неподвижной фазе. Часть, которая проходит через неподвижную фазу, собирается или отбрасывается в зависимости от того, содержит ли она интересующие аналиты или нежелательные примеси. Если часть, удерживаемая на неподвижной фазе, включает желаемые аналиты, их затем можно удалить из неподвижной фазы для сбора на дополнительном этапе, на котором неподвижная фаза промывается соответствующим элюентом [29]. Возможно неполное извлечение аналитов с помощью SPE, вызванное неполной экстракцией или элюированием. В случае неполной экстракции аналиты не имеют достаточного сродства к неподвижной фазе, и часть из них останется в пермеате. При неполной элюции часть аналитов остается в сорбенте, поскольку используемый элюент не имеет достаточно сильного сродства [30].

Обсуждение

Кроме данных основных методов существует также множество способов экстракции: Г. Андалури 2017 и соавторами был проведен статистический анализ данных для сравнения эффективности повышения концентрации гормонов различными методами экстракции из воды [31].

По методу LLE брали 150 мл метилхлорида помещали в непрерывный экстрактор и 300 мл в колбу для перегонки. Водный образец заливали в экстрактор. Контейнер для образца промывали 100 мл метилхлорида и добавляли в экстрактор. Экстракция начиналась с медленного нагревания метилхлорида в колбе для перегонки. Температуру регулировали так, чтобы от одной до двух капель метилхлорида в секунду падали с кончика конденсатора в воду. После 24 ч кипячения и экстракции органические слои объединяли, а остаточную воду удаляли путем добавления безводного сульфата натрия. Затем образец концентрировали, высушивали, дериватизировали и анализировали.

SFE проводили в соответствии с методом 1698 Агентства по охране окружающей среды США (EPA) [32]. 1 л водного образца был пропитан мечеными стандартами и залит в делительную воронку. Затем образец извлекали при помощи 100 мл метилхлорида. Органическому слою давали отстояться в течение 10 мин и пропускали через стеклянную воронку, примерно наполовину заполненную безводным сульфатом натрия, с использованием стекловолоконной фильтровальной бумаги. Экстракцию повторяли еще два раза, а затем растворитель концентрировали, дериватизировали и анализировали на ГХ.

Методы SPE подробно описаны Г. Андалури и соавторами [31]. Картриджи SPE были предварительно обработаны 6 мл метанола и 6 мл реагентной воды. Отфильтрованные водные образцы затем пропускались через картридж SPE со скоростью потока 5–10 мл/мин. Картридж промывали 6 мл воды Milli-Q, высушивали под вакуумом в течение 10 мин и элюировали 6 мл метанола. Метанольный элюент высушивали, дериватизировали и анализировали с помощью ГХ/МС/МС.

Авторы исследования пришли к выводу, что все методы экстракции, описанные в стандартной методике 1698 Агентства по охране окружающей среды США являются надежным способом определения концентрации гормонов. Для анализа питьевой воды используется разработанный стандартный метод 539 [33], в котором описан способ подготовки и отбора проб, концентрирования гормонов и анализа. Выбор оптимальной методики должен осуществляться в соответствии с доступным оборудованием для анализа.

Анализ стероидных гормонов может быть выполнен с использованием газовой или жидкостной хроматографии (ГХ или ЖХ) в сочетании с масс-спектрометрией (МС). Обе эти технологии предлагают схожие пределы обнаружения и специфичности [34].

ГХ с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС) является одним из наиболее распространенных методов исследования концентрации гормонов в воде [35], [36], [37]. Однако некоторые соединения невозможно определить с помощью ГХ без дериватизации, поскольку они термически нестабильны, полярны или ионны. Этап дериватизации делает подготовку образца трудоемкой и длительной, увеличивает возможность загрязнения и ошибок и может привести к деградации лабильных соединений.

Жидкостная хроматография в сочетании с масс-спектрометрией (ЖХ-МС) может использоваться для прямого анализа эстрогенов без предварительной дериватизации образца, но используемое для этого оборудование имеет высокую стоимость [38]. Одним из недостатков данного метода является эффект подавления сигнала, который отрицательно влияет на воспроизводимость и точность анализов [39]. Кроме того, эти приборы не получили широкого распространения из-за своей цены.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с УФ-детектированием и автосэмплером — это быстрый, простой, удобный в использовании и широкодоступный метод, обеспечивающий короткое время анализа эстрогенов. Применение системы ВЭЖХ с УФ-детектированием и соответствующим этапом предварительного концентрирования является простым и чувствительным способом для анализа.

Ассади и соавторы разработали новый метод микроэкстракции, называемый дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракцией (DLLME) [40], [41], [42]. В этом методе используется экстракционный растворитель, плотность которого выше, чем у воды, и дисперсионный растворитель, который может растворяться в обеих фазах, образуя мутный раствор. Благодаря высокой площади контакта между органическим растворителем и пробой воды, время экстракции при DLLME значительно сокращается. DLLME становится популярным методом предварительного концентрирования [43], [44], [45], [46]. Тем не менее экстракционный растворитель, используемый в DLLME, как правило, высокотоксичен и не безопасен для окружающей среды.

В работах [47], [48] описывается новый метод микроэкстракции, который представляет собой DLLME, с интегрированным отверждением плавающей органической капли (DLLME-SFO). В DLLME-SFO использовался растворитель с низкой плотностью и меньшей токсичностью, чтобы нивелировать недостатки DLLME. Этот метод позволяет не только избежать использования токсичного растворителя, но и требует меньшей квалификации персонала за счет более простой техники выполнения по сравнению с SBSE и другими методами. Кроме того, время эксперимента можно сократить с 48 часов до нескольких минут, что делает работу эффективнее. При подходе к точке плавления растворителя, органическая капля может затвердевать при низких температурах.

Сравнительная таблица различных методов анализа и концентрирования гормонов в воде с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектором представлена в таблице 1.

Таблица 1 - Сравнение методов анализа и концентрирования гормонов в воде

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.158.75.4>

Метод	Объем образца, мл	Время экстракции, ч	Принцип обнаружения	Концентрация обнаружения, мкг/л ⁻¹
Твердофазная экстракция (SPE)	2000	48	ВЭЖХ-УФ детектор	0,24–0,44
Сорбционная экстракция с помощью мешалки, покрытой полидиметилсил оксаном (SBSE)	30	2	ВЭЖХ-УФ детектор	1
Мицеллярно-опосредованная экстракция (CPE)	10	1	ВЭЖХ-УФ детектор	0,23–0,32
Твердофазная микроэкстракция (SPME)	3,5	0,75	ВЭЖХ-УФ детектор	0,3–1,1
Дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция, с затвердеванием плавающей органической	5	0	ВЭЖХ-УФ детектор	0,8–2,7

Метод	Объем образца, мл	Время экстракции, ч	Принцип обнаружения	Концентрация обнаружения, мкг/л ⁻¹
капли (DLLME-SFO)				

Заключение

Низкие концентрации гормональных загрязнителей (нг/л или пг/л) создают значительные сложности при проведении аналитических исследований. В связи с этим, повышение концентрации гормонов в образцах часто необходимо и проводится с использованием различных методов экстракции. Российские государственные стандарты содержат информацию по требованию к отбору проб и методам контроля качества воды, включая физико-химические и микробиологические показатели, но данные о методах обнаружения гормонов в воде отсутствуют. Таким образом, целесообразно обратиться к существующим зарубежным стандартам, подробно описывающим методики повышения концентрации для анализа гормонов, например, методы 1698 и 539 Агентства по охране окружающей среды США. Оптимальным выбором является следование стандарту 539 для анализа содержания гормонов в питьевой воде. С целью упрощения проведения анализа необходимо применение системы ВЭЖХ с УФ-детектированием и соответствующим этапом предварительного концентрирования, что позволяет разработать простую и чувствительную процедуру для анализа.

Финансирование

Финансирование при подготовке и публикации статьи осуществляется в рамках внутреннего гранта ФГБОУ ВО КБГУ им. Х.М. Бербекова (грант 25).

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Funding

Funding for the preparation and publication of the article is provided within the framework of the internal grant of KBSU (grant 25).

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Chang H. Sensitive analysis of steroid estrogens and bisphenol A in small volumes of water using isotope-dilution ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry / H. Chang, X. Shen, B. Shao [et al.] // *Environ. Pollut.* — 2018. — Vol. 235. — P. 881–888.
2. Kasonga T.K. Endocrine-disruptive chemicals as contaminants of emerging concern in wastewater and surface water: A review / T.K. Kasonga, M.A.A. Coetzee, I. Kamika [et al.] // *J. Environ. Manage.* — 2021. — Vol. 277. — Art. 111485. DOI: 10.1016/j.jenvman.2020.111485.
3. Ali I. Supra molecular mechanism of the removal of 17 β -estradiol endocrine disturbing pollutant from water on functionalized iron nano particles / I. Ali, Z.A. Allothman, A. Alwarthan // *J. Mol. Liq.* — 2017. — Vol. 241. — P. 123–129.
4. Ali I. Development of efficient SPE-TLC method and evaluation of biological interactions of contraceptives with progesterone receptors / I. Ali, I. Hussain, K. Saleem [et al.] // *Arab. J. Chem.* — 2012. — Vol. 5, № 2. — P. 235–240.
5. Liu S.-S. Microbial transformation of progesterone and dydrogesterone by bacteria from swine wastewater: Degradation kinetics and products identification / S.-S. Liu, J. Chen, J.-N. Zhang [et al.] // *Sci. Total Environ.* — 2020. — Vol. 701. — Art. 134930. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.134930.
6. Vaillant C. Neurodevelopmental effects of natural and synthetic ligands of estrogen and progesterone receptors in zebrafish eleutheroembryos / C. Vaillant, M.-M. Gueguen, J. Feat [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* — 2020. — Vol. 288. — Art. 113345. DOI: 10.1016/j.ygcen.2019.113345.
7. Oliveira de H.L. Microextraction by packed sorbent using a new restricted molecularly imprinted polymer for the determination of estrogens from human urine samples / H.L. de Oliveira, L.S. Teixeira, L.A.F. Dinali [et al.] // *Microchem. J.* — 2019. — Vol. 150. — Art. 104162.
8. Cheng D. A critical review on antibiotics and hormones in swine wastewater: Water pollution problems and control approaches / D. Cheng, H.H. Ngo, W. Guo [et al.] // *J. Hazard. Mater.* — 2020. — Vol. 387. — Art. 121682. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.121682.
9. Hoff R. Efficiency of a low-cost pyramid-shaped solar still for pesticide removal from highly contaminated water / R. Hoff, A.D. Echeverria, G.D. Hoff [et al.] // *Chemosphere.* — 2019. — Vol. 234. — P. 427–437.
10. Matamoros V. Evaluation of a coagulation/flocculation-lamellar clarifier and filtration-UV-chlorination reactor for removing emerging contaminants at full-scale wastewater treatment plants in Spain / V. Matamoros, V. Salvado // *J. Environ. Manage.* — 2013. — Vol. 117. — P. 96–102.
11. Ali I. Graphene based adsorbents for remediation of noxious pollutants from wastewater / I. Ali, A. Basheer, X.Y. Mbianda [et al.] // *Environ. Int.* — 2019. — Vol. 127. — P. 160–180.

12. Ali I. Modeling of fenuron pesticide adsorption on CNTs for mechanistic insight and removal in water / I. Ali, O.M.L. Alharbi, Z.A. Allothman [et al.] // *Environ. Res.* — 2019. — Vol. 170. — P. 389–397.
13. Ali I. Preparation of a carboxymethylcellulose-iron composite for uptake of atorvastatin in water / I. Ali, O.M.L. Alharbi, Z.A. Allothman [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* — 2019. — Vol. 132. — P. 244–253.
14. Wee S.Y. Occurrence and public-perceived risk of endocrine disrupting compounds in drinking water / S.Y. Wee, A.Z. Aris // *Npj Clean Water.* — 2019. — Vol. 2. — P. 4.
15. Baronti C. Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in receiving river water / C. Baronti, R. Curini, G. D'Ascenzo [et al.] // *Environ. Sci. Technol.* — 2000. — Vol. 34, № 24. — P. 5059–5066.
16. Petrovic M. Recent advances in the mass spectrometric analysis related to endocrine disrupting compounds in aquatic environmental samples / M. Petrovic, E. Eljarrat, M.J.L. De Alda [et al.] // *J. Chromatogr. A.* — 2002. — Vol. 974. — P. 23–51.
17. Nguyen H.P. Simultaneous quantification of four native estrogen hormones at trace levels in human cerebrospinal fluid using liquid chromatography-tandem mass spectrometry / H.P. Nguyen, J.W. Gatson, D. Maass [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* — 2011. — Vol. 54. — P. 830–837.
18. Hemberg T. The quantitative yield in purification of cytokinins. Model experiments with kinetin, 6-furfuryl-aminopurine / T. Hemberg, P.E. Westlin // *Physiol. Plant.* — 1973. — Vol. 28. — P. 228–231.
19. Dekhuijzen H. The recovery of cytokinins during extraction and purification of clubroot tissue / H. Dekhuijzen, C. Gevers // *Physiol. Plant.* — 1975. — Vol. 35. — P. 297–302.
20. Paleologos E. Micelle-mediated separation and cloud-point extraction / E. Paleologos, D. Giokas, M. Karayannis // *TrAC Trends Anal. Chem.* — 2005. — Vol. 24. — P. 426–436.
21. Schmelz E. Simultaneous analysis of phytohormones, phytotoxins, and volatile organic compounds in plants / E. Schmelz, J. Engelberth, H. Alborn [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 2003. — Vol. 100. — P. 10552–10557.
22. Gupta V. Simultaneous determination of different endogenous plant growth regulators in common green seaweeds using dispersive liquid-liquid microextraction method / V. Gupta, M. Kumar, H. Brahmabhatt [et al.] // *Plant Physiol. Biochem.* — 2011. — Vol. 49. — P. 1259–1263.
23. Bravi E. Supercritical fluid extraction for quality control in beer industry / E. Bravi, G. Pperretti, L. Motanari [et al.] // *J. Supercrit. Fluids.* — 2007. — Vol. 42. — P. 342–346. DOI: 10.1016/j.supflu.2007.02.012.
24. José A.M. Use of compressed fluids for sample preparation / A.M. José, H. Miguel, C. Alejandro [et al.] // *J. Chromatogr. A.* — 2007. — Vol. 1152. — P. 234–246. DOI: 10.1016/j.chroma.2007.02.046.
25. Dixon D.J. Supercritical Fluids / D.J. Dixon, K.P. Johnston // *Encyclopedia of Separation Technology.* — 1st Edn. — New York : John Wiley Interscience, 1997. — P. 1544–1569. — ISBN-10: 0471161241.
26. Wang Y. The application of a supercritical antisolvent process for sustained drug delivery / Y. Wang, W. Yiping, J. Yang [et al.] // *J. Powder Technol.* — 2006. — Vol. 164. — P. 94–102. DOI: 10.1016/j.powtec.2006.03.004.
27. Franceschi E. Precipitation of β -carotene and PHBV and co-precipitation from SEDS technique using supercritical CO₂ / E. Franceschi, A.M. De Cesaro, M. Feiten [et al.] // *J. Supercrit. Fluids.* — 2008. — Vol. 47. — P. 256–259. DOI: 10.1016/j.supflu.2008.08.002.
28. Mantell C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds from sunflower leaves with carbon dioxide and water on a pilot plant scale / C. Mantell, M. Rodriguez, A. Torres [et al.] // *J. Supercrit. Fluids.* — 2008. — Vol. 45. — P. 37–42. DOI: 10.1016/j.supflu.2007.12.002.
29. Buszewski B. Past, Present, and Future of Solid Phase Extraction: A Review / B. Buszewski, M. Szultka // *Crit. Rev. Anal. Chem.* — 2012. — Vol. 42, № 3. — P. 198–213. DOI: 10.1080/07373937.2011.645413.
30. Raeke J. Selectivity of solid phase extraction of freshwater dissolved organic matter and its effect on ultrahigh resolution mass spectra / J. Raeke, O.J. Lechtenfeld, M. Wagner [et al.] // *Environ. Sci.: Processes Impacts.* — 2016. — Vol. 18, № 7. — P. 918–927. DOI: 10.1039/C6EM00200E.
31. Andaluri G. Steroid hormones in environmental matrices: extraction method comparison / G. Andaluri, R.P.S. Suri, K. Graham // *Environ. Monit. Assess.* — 2017. — Vol. 189. — Art. 626. DOI: 10.1007/s10661-017-6345-0.
32. Method 1698: Steroids and Hormones in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HRGC/HRMS. — Washington, DC : U.S. Environmental Protection Agency, 2007.
33. Method 539: Determination of Hormones in Drinking Water by Solid Phase Extraction (SPE) and Liquid Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (LC-ESI-MS/MS). — Washington, DC : U.S. Environmental Protection Agency, 2010.
34. Chang C.-C. Determination of the steroid hormone levels in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction with solidification of a floating organic drop followed by high-performance liquid chromatography / C.-C. Chang, S.-D. Huang // *Anal. Chim. Acta.* — 2010. — Vol. 662. — P. 39–43.
35. Weigel S. Simultaneous solid-phase extraction of acidic, neutral and basic pharmaceuticals from aqueous samples at ambient (neutral) pH and their determination by gas chromatography-mass spectrometry / S. Weigel, R. Kallenborn, H. Hühnerfuss // *J. Chromatogr. A.* — 2004. — Vol. 1023. — P. 183–195.
36. Hermendo M.D. Comparative study of analytical methods involving gas / M.D. Hermendo, M. Mezcuca, M.J. Gómez [et al.] // *J. Chromatogr. A.* — 2004. — Vol. 1047. — P. 129–135.
37. Quintana J.B. Determination of natural and synthetic estrogens in water by gas chromatography with mass spectrometric detection / J.B. Quintana, J. Carpintero, I. Rodriguez [et al.] // *J. Chromatogr. A.* — 2004. — Vol. 1024. — P. 177–185.
38. Yan W. Simultaneous Determination of Ten Estrogens and their Metabolites in Waters by Improved Two-Step SPE Followed by LC-MS / W. Yan, L. Zhao, Q. Feng [et al.] // *Chromatographia.* — 2009. — Vol. 69. — P. 621–628.

39. Ternes T.A. Analytical Methods for the Determination of Pharmaceuticals in Aqueous Environmental Samples / T.A. Ternes // *Trends Anal. Chem.* — 2001. — Vol. 20. — P. 419–434.
40. Rezaee M. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction / M. Rezaee, Y. Assadi, M.R.M. Hosseini [et al.] // *J. Chromatogr. A.* — 2006. — Vol. 1116. — P. 1–9.
41. Birjandi A.P. Chapter 7: Analytical Applications of Chemiluminescence in Chromatography and Capillary Electrophoresis / A.P. Birjandi, A. Bidari, F. Rezaei [et al.] // *J. Chromatogr. A.* — 2008. — Vol. 1193. — P. 19–25.
42. Rezaei F. Supramolecular-based dispersive liquid-liquid microextraction in high salt concentrations / F. Rezaei, A. Bidari, A.P. Birjandi [et al.] // *J. Hazard. Mater.* — 2008. — Vol. 158. — P. 621–627.
43. Yazdi A.S. High-performance liquid chromatography for the determination of clozapine in urine / A.S. Yazdi, N. Razavi, S.R. Yazdinejad // *Talanta.* — 2008. — Vol. 75. — P. 1293–1299.
44. Peña M.-T. Development of an ionic liquid based dispersive liquid-liquid microextraction method for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples / M.-T. Peña, M.-C. Casais, M.-C. Mejuto [et al.] // *J. Chromatogr. A.* — 2009. — Vol. 1216. — P. 6356–6364.
45. Farhadi K. Improved solvent collection system for a dispersive liquid-liquid microextraction of organochlorine pesticides from water using low-density organic solvent / K. Farhadi, M.A. Farajzadeh, A.A. Matin // *J. Sep. Sci.* — 2009. — Vol. 32. — P. 2442–2447.
46. Ebrahimzadeh H. Development of Dispersive Liquid-Liquid Microextraction method combined with UV spectrophotometry for the Determination of Malathion Pesticide / H. Ebrahimzadeh, Y. Yamini, F. Kamarei // *Talanta.* — 2009. — Vol. 79. — P. 1472–1477.
47. Leong M.I. Dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of a floating organic droplet for simultaneous analysis of diethofencarb and pyrimethanil in apple pulp and peel / M.I. Leong, S.D. Huang // *J. Chromatogr. A.* — 2008. — Vol. 1211. — P. 8–12.
48. Xu H. Speciation of Tl(III) and Tl(I) in hair samples by dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet prior to flame atomic absorption spectrometry determination / H. Xu, Z. Ding, L. Lv [et al.] // *Anal. Chim. Acta.* — 2009. — Vol. 636. — P. 28–33.