

изменением мембран и утратой способности к делению, но в то же время обладающие высокой активностью нитрогеназы.

Свободноживущие азотфиксаторы демонстрируют большее морфологическое разнообразие: от крупных яйцевидных или овальных клеток (*Azotobacter*), способных к образованию цист, до облигатно анаэробных спорообразующих палочек (*Clostridium*). Несмотря на различия, объединяющим критерием служит наличие ферментативных комплексов нитрогеназы, обеспечивающих фиксацию молекулярного азота.

Особый интерес представляет экологическая роль данных микроорганизмов. Симбиотические диазотрофы обеспечивают растения доступным азотом и влияют на продуктивность агроценозов, тогда как свободноживущие формы поддерживают азотный баланс в почвах естественных экосистем. Таким образом, систематика и морфология этих бактерий тесно связаны с их функциональной активностью и эволюционным развитием.

**Заключение.** Клубеньковые и азотфикссирующие бактерии представляют собой чрезвычайно разнообразную группу микроорганизмов, объединенных способностью к биологической фиксации азота. Современные методы молекулярной систематики позволили уточнить таксономическое положение многих родов и видов, а изучение морфологических особенностей выявило адаптивные формы, обеспечивающие симбиотическую и свободноживущую активность. Дальнейшее исследование этих микроорганизмов имеет фундаментальное значение для понимания биогеохимического цикла азота и прикладное значение для разработки биопрепаратов, направленных на повышение урожайности и устойчивости сельскохозяйственных культур.

1. Гусев М. В., Минеева Л. А. Микробиология: Учебник для студ. биол. специальностей вузов //М.: Издательский центр «Академия». – 2003. – С. 108.

2. Куликов Я. К. Экологические функции растительно-микробных симбиозов и их роль в развитии ресурсосберегающих биотехнологий //Известия Национальной академии наук Беларусь. Серия биологических наук. – 2022. – Т. 67. – №. 2. – С. 243-256.

3. Ленгелер Й. и др. Современная микробиология //Прокариоты., М. – 2005.

4. Блохина И. Н., Леванова Г. Ф. Геносистематика бактерий. – Наука, 1976.

## СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОПРИМЕСЕЙ В СУЛЬФАНИЛАМИДНЫХ ПРЕПАРАТАХ

*Строгая А.Г.,*

*магистрант ВГУ имени П.М. Машерова, г. Витебск, Республика Беларусь*

*Научный руководитель – Чиркин А.А., доктор биол. наук, профессор*

**Ключевые слова.** ВЭЖХ-МС/МС как золотой стандарт, ВЭЖХ-УФ для рутинного анализа, ВЭЖХ-ИП-МС для ионных соединений, ГХ-МС для летучих примесей, КЭ для мелких ионных примесей.

**Keywords.** HPLC-MS/MS as a gold standard, HPLC-UV for routine analysis, HPLC-IP-MS for ionic compounds, GC-MS for volatile impurities, CE for small ionic impurities.

Современные технологии определения микропримесей в сульфаниламидных препаратах включают комбинацию высокоеффективных методов разделения и высокочувствительных методов детектирования. К ним относят следующие хорошо апробированные методы: высокоэффективная жидкостная хроматография с диодно-матричным детектированием (ВЭЖХ-ДМД, HPLC-MS), жидкостная хроматография с ионной подвижностью и масс-спектрометрией (ЖХ-ИП-МС, LC-IM-MS), жидкостная хроматография с ионной подвижностью и масс-спектрометрией (ЖХ-ИП-МС, LC-IM-MS), газовая хроматография с масс-спектрометрией (ГХ-МС, GC-MS), капиллярный электрофорез с детектированием на диодной матрице (КЭ-ДМД, CE-DAD).

Цель работы – сравнить современные методы определения микропримесей в фармацевтических субстанциях и предложить алгоритм анализа.

**Материал и методы.** Для анализа микропримесей в сульфаниламидных препаратах использовали: высокоэффективная жидкостная хроматография с диодно-матричным детектированием (ВЭЖХ-ДМД, HPLC-MS), жидкостная хроматография с ионной подвижностью и масс-спектрометрией (ЖХ-ИП-МС, LC-IM-MS), жидкостная хроматография с ионной подвижностью и масс-спектрометрией (ЖХ-ИП-МС, LC-IM-MS), газовая хроматография с масс-спектрометрией (ГХ-МС, GC-MS), капиллярный электрофорез с детектированием на диодной матрице (КЭ-ДМД, CE-DAD).

### **Результаты и их обсуждение.**

1. Высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС, HPLC-MS). Это «золотой стандарт» и наиболее широко используемая технология для определения микропримесей. Метод позволяет разделить компоненты смеси (основное вещество и примеси) в хроматографической колонке, а затем идентифицировать и количественно определить их с помощью масс-спектрометра. Метод характеризуется высокой селективностью, поскольку масс-спектрометр действует как высокоточный «детектор по массе», позволяя отличить примесь от основного вещества, даже если они имеют схожее хроматографическое поведение. Следует отметить, что современные масс-спектрометры (особенно тандемные MS/MS) способны детектировать примеси на уровне нанограммов на миллилитр (нг/мл) и даже ниже, что соответствует требованиям к определению примесей уровня 0,05-0,1 %. Кроме того, тандемная масс-спектрометрия (MS/MS) позволяет фрагментировать молекулы примеси и по спектрам фрагментов установить их химическую структуру. Это ключевой инструмент для идентификации неизвестных примесей. Используется для контроля всех типов примесей: исходных реагентов, промежуточных продуктов, продуктов деградации, побочных продуктов синтеза.

2. Высокоэффективная жидкостная хроматография с диодно-матричным детектированием (ВЭЖХ-ДМД, HPLC-DAD). Метод менее специфичный. После разделения в колонке детектор регистрирует не просто интенсивность сигнала, а полный спектр поглощения УФ-излучения для каждой точки хроматографического пика. Это дает следующие преимущества: ДМД позволяет оценить чистоту хроматографического пика, убедившись, что он не скрывает собой другую примесь. Спектры УФ-поглощения уникальны для разных классов соединений и могут помочь предварительно идентифицировать примесь (например, отличить сульфаниламид от анилина). Метод часто используется как метод первой линии для рутинного количественного анализа известных примесей, для которых есть стандартные образцы.

3. Жидкостная хроматография с ионной подвижностью и масс-спектрометрией (ЖХ-ИП-МС, LC-IM-MS). Это одна из самых современных и быстро развивающихся технологий. Между хроматографической колонкой и масс-спектрометром добавляется дополнительная ступень разделения – по ионной подвижности. Ионы разделяются в газовой фазе под действием электрического поля в зависимости от их размера, формы и заряда. Метод позволяет разделить изобарные и изомерные примеси, которые имеют одинаковую массу, но разную структуру и форму, и которые масс-спектрометр сам не различит. В процессе анализа возможна очистка сигнала от матричных помех, повышая точность измерения. Такой анализ считается идеальным для сложных случаев: разделения стереоизомеров, конформационных примесей, анализа в сложных матрицах.

4. Газовая хроматография с масс-спектрометрией (ГХ-МС, GC-MS). Метод аналогичен ВЭЖХ-МС, но для летучих и полулетучих соединений. Используется для анализа остаточных органических растворителей (Class 1-3 по ICH Q3C), которые являются критическими микропримесями. Также может применяться для некоторых летучих побочных продуктов синтеза.

5. Капиллярный электрофорез с детектированием на диодной матрице (КЭ-ДМД, CE-DAD). В этом методе разделение основано на разной электрофоретической подвижно-

сти ионов в тонком капилляре под действием высокого напряжения. Характеризуется очень высокой эффективностью разделения, особенно для ионных и заряженных соединений. Потребляет крайне мало образцов и реагентов. Метод полезен для разделения и определения специфических примесей, которые трудно разделить методами ВЭЖХ (например, небольшие ионные молекулы).

Современный подход к контролю микропримесей является комплексным. Метод ВЭЖХ-ДМД часто валидируется и используется для рутинного контроля на производстве (согласно фармакопейным статьям или внутренним спецификациям). Метод ВЭЖХ-МС/МС используется для поиска и идентификации неизвестных примесей в опытных партиях при разработке препарата.

При обнаружении в рутинном анализе неизвестного пика необходимо обязательное соблюдение нормативов: все методики разрабатываются и валидируются в строгом соответствии с руководствами ICH Q2(R1) (валидация методик) и ICH Q3A/B (допустимые уровни примесей). Итак, современный анализ микропримесей в сульфаниламидах и других АФС основан на мощных гибридных методах, прежде всего ВЭЖХ-МС/МС и ВЭЖХ-ДМД, которые обеспечивают необходимую чувствительность, селективность и возможность структурной идентификации для гарантии качества и безопасности лекарственных средств.

В процессе обучения в магистратуре необходимо было создать алгоритм определения сопутствующих примесей в препарате на основе стрептоцида растворимого и сульфатиазола натрия. Перед экспериментом необходимо было смоделировать, какие примеси могут присутствовать. Для стрептоцида растворимого (сульфаниламид натрия): исходными примесями синтеза являются анилин, сульфаниловая кислота. Необходимо учитывать продукты деградации: основной путь – гидролиз. Может образовываться сульфаниламид (нерасторимая форма, «обычный» стрептоцид) и продукты его окисления.

Следует учитывать и сопутствующие примеси: другие сульфаниламиды, которые могли синтезироваться параллельно. Для сульфатиазола натрия гексагидрата исходные примеси синтеза: 2-аминотиазол, сульфаниловая кислота. А продукты деградации в результате гидролиза с отщеплением сульфаниламидной группы, окисление тиазольного кольца. И, наконец, сопутствующие примеси – другие сульфаниламиды.

Затем следует этап подбора условий хроматографического разделения (разработка методики). Это ключевой экспериментальный этап. Он включает следующие шаги. Выбор метода: ВЭЖХ с УФ-детектированием (ДМД) – основной метод для рутинного контроля. ВЭЖХ-МС/МС – обязателен для идентификации неизвестных пиков. Подбор фазы и колонки. Колонка: обращенно-фазовая C18 или C8 (напр., Zorbax Eclipse Plus C18, 150 x 4,6 мм, 3,5 мкм). Подвижная фаза: водно-органический градиент. Буфер необходим для подавления ионизации силенольных групп и для управления формой пиков. Рекомендуемый буфер: Фосфатный буфер (pH ~ 6,0-7,0) или аммонийный ацетат/формиат (pH ~ 5,0-7,0). Такой pH подходит для большинства сульфаниламидов, которые являются амфотерными соединениями. Органический модификатор: ацетонитрил или метанол. Пример градиента: 5 % ацетонитрила → 60 % ацетонитрила за 20-25 минут. Детекция: УФ-детектор, длина волны ~265-270 нм. Это максимум поглощения для многих сульфаниламидов. ДМД позволит проверить чистоту пиков. Критерий эффективности: метод должен обеспечивать базисное разделение всех ожидаемых примесей друг от друга и от пиков основных действующих веществ. Разрешение (Rs) должно быть > 1,5.

Далее следует идентификация пиков примесей. Сравнение со стандартами: приобретаются или синтезируются стандартные образцы (СО) потенциальных примесей (анилин, 2-аминотиазол, сульфаниловая кислота, сульфаниламид и др.). Их время удерживания и спектры УФ сравниваются с пиками в образце препарата. Метод «выключения» (spiking): в навеску анализируемого препарата добавляют небольшое количество

СО предполагаемой примеси. Увеличение высоты соответствующего пика на хроматограмме подтверждает его идентичность. Используют ВЭЖХ-МС/МС анализ. Это основной метод для идентификации неизвестных пиков. Образец анализируют на масс-спектрометре. По точной массе ионного пика ( $[M+H]^+$  или  $[M-H]^-$ ) и спектру фрагментации (MS/MS) определяют молекулярную массу и структуру примеси.

Важным этапом внедрения метода является валидация методики в соответствии с ICH Q2(R1) для подтверждения его пригодности для поставленных целей. Оцениваются следующие характеристики. Специфичность: метод однозначно разделяет все примеси и основные вещества. Оценивают предел обнаружения (ПО) идается количественная оценка для каждой примеси. Эти показатели должны быть достаточно низкими, чтобы детектировать примеси на уровне 0,05-0,1 %. Необходима линейность калибровочных кривых для каждой примеси в диапазоне от ПК до 120-150 % от спецификации. Далее оценивают правильность (accuracy) методики: проводится методом «спайкинга» – добавление известного количества примеси в препарат и оценка процента его (извлечения). Должно быть 80-120 %. Прецизионность: повторяемость при повторных анализах.

Количественное определение основано на анализе серий образцов готового препарата. Концентрация каждой идентифицированной примеси рассчитывается по калибровочному графику, построенному для ее стандартного образца.

**Заключение.** В заключение приведем сводную блок-схему алгоритма анализа примесей в препарате: теоретический анализ → подбор условий ВЭЖХ (УФ) → анализ образца → сравнение со стандартами (spiking) → (если пик не идентифицирован) → ВЭЖХ-МС/МС идентификация → валидация метода → количественный анализ партий.

1. Козин, Д. А. Идентификация примесей в фармацевтической субстанции лхс-1269 методом вэжх-мсмс / Д.А. Козин [и др. // Здоровье и образование в XXI веке.- 2023. - №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/identifikatsiya-primesey-v-farmatsevticheskoy-substancii-lhs-1269-metodom-vezhh-msms> (дата обращения: 11.09.2025).

## ОСОБЕННОСТИ РАЗМЕЩЕНИЯ СЕТИ ГИДРОМЕТЕОРОЛОГИЧЕСКИХ ПОСТОВ ПО РЕГИОНАМ БЕЛАРУСИ

*Стукачева К.К.,  
выпускник ВГУ имени П.М. Машерова, г. Витебск, Республика Беларусь  
Научный руководитель – Шаматульская Е.В., ст. преподаватель*

Основой гидрометеорологической службы Беларуси является государственная сеть гидрометеорологических наблюдений, включающая в себя 134 гидрометеорологических объекта. Государственная гидрометеорологическая служба на протяжении более ста лет занимается мониторингом окружающей среды и контролем радиоактивного загрязнения.

Представление о территориальных особенностях размещения объектов метеонаблюдений имеет большое значение, потому что недостаточное покрытие территории данными объектами, снижает точность прогнозов. В Беларуси 118 административных районов и минимальное количество метеостанций должно соответствовать этому числу. Для каждого метеорологического параметра определена величина территории, для которой эти данные репрезентативны, особенно в условиях изменения климата. В целом, чем гуще сеть, тем точнее получается прогноз.

Особенно большое значение имеют количественные аспекты размещения постов наблюдения, их достаточность.

Цель исследования: проанализировать территориальные особенности размещения пунктов метео и гидронаблюдений по административным районам Беларуси.