

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



ФАМ ТХИ ГАМ

**АМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ В
ЖИДКИХ СРЕДАХ СЕНСОРАМИ НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-
ИМПРИНТИРОВАННЫХ ПОЛИМЕРОВ**

1.4.2. Аналитическая химия

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук, профессор
Зяблов Александр Николаевич

Воронеж – 2026 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1. Антибиотики в жизни человека	10
1.1.1. Антибиотики в лечении заболеваний	10
1.1.2. Обнаружение антибиотиков в продуктах питания.....	13
1.2. Классические методы определения антибиотиков	16
1.3. Экспресс-способы анализа антибиотиков	21
1.3.1. Иммуноферментные методы	21
1.3.2. Микробиологические методы	21
1.3.3. Сенсорные способы определения антибиотиков	22
1.4. Селективные материалы электродов сенсоров	24
Заключение к главе 1	30
Глава 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ АНАЛИЗА	31
2.1. Физико-химические свойства антибиотиков	31
2.2. Молочные продукты, используемые в работе	35
2.3. Метод спектрофотометрии	36
2.4. Метод ИК-спектроскопии	37
2.5. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии	40
2.6. Способ определения антибиотиков в жидкостях амперометрическими сенсорами	41
2.7. Селективные материалы для модификации амперометрических сенсоров	44
2.8. Метод сканирующей силовой микроскопии	45
2.9. Сорбция антибиотиков полимерами	46
2.10. Статистическая обработка результатов	47
Глава 3. ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ СВОЙСТВ АНТИБИОТИКОВ	49
Заключение к главе 3	60

Глава 4. ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ СЕЛЕКТИВНЫХ МАТЕРИАЛОВ СЕНСОРОВ	61
4.1. Анализ ИК-спектров полученных полимеров	61
4.2. Оценка сорбционной способности материалов на основе полиимида	69
4.3. Анализ морфоструктуры полимерных пленок	81
Заключение к главе 4	85
Глава 5. АМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ В ЖИДКОСТЯХ	86
5.1. Установление оптимальных условий функционирования амперометрической сенсорной системы	86
5.2. Определение антибиотиков амперометрическими сенсорами на основе МИП в модельных растворах	101
5.3. Определение антибиотиков в молочных продуктах и сточной воде амперометрическими МИП-сенсорами	109
Заключение к главе 5	116
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	118
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	121
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	124
ПРИЛОЖЕНИЕ А	152
ПРИЛОЖЕНИЕ Б	169

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы

Антибиотики играют важную роль в медицине, в сельском хозяйстве, животноводстве. Они представляют собой антибактериальные соединения природного или синтетического происхождения, способные при низких концентрациях подавлять рост или уничтожать микроорганизмы, внося существенный вклад в улучшение здоровья и увеличение продолжительности жизни человека и животных. Однако их широкое и длительное применение на протяжении многих десятилетий привело к развитию антибиотикорезистентности и загрязнению окружающей среды, что вызывает серьезные последствия для общественного здоровья и глобальных экосистем. По данным Всемирной организации здравоохранения, устойчивость к антибиотикам является причиной примерно 700 000 смертей в год; по прогнозам, это число может достичь 10 миллионов к 2050 году.

В связи с этим контроль содержания антибиотиков в пищевых продуктах и водной среде является важной аналитической задачей, для осуществления которой широко используют инструментальные методы анализа: высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), спектрофотометрию, электрохимические методы и др. Несмотря на высокую чувствительность и точность, эти методы имеют такие недостатки, как высокая стоимость, сложная подготовка образцов, длительное время анализа. В этом контексте высокая потребность в быстрых, чувствительных, селективных методах стимулировала развитие сенсорных систем. Одними из перспективных являются амперометрические сенсоры, которые благодаря высокой чувствительности, точности, стабильности, низкой стоимости и портативности нашли широкое применение в экологическом мониторинге, промышленной безопасности и медицинской диагностике. Однако низкая селективность ограничивает их применение. Поэтому создание высокочувствительных и избирательных сенсоров является актуальной

задачей, для решения которой могут быть использованы молекулярно-импринтированные полимеры (МИП) поскольку имеют в своей структуре специфически распознающие участки, способные точно определить целевое вещество в многокомпонентной системе. Благодаря этому сенсоры на основе МИП становятся перспективным инструментом для обнаружения антибиотиков в жидких средах.

Степень разработанности темы.

Большой интерес в области аналитического контроля представляют экспресс-методы, в частности методы на основе молекулярно-импринтированных полимеров. Эти полимеры, синтетические заменители природных рецепторов часто сравнивают с моделью «ключ-замок». Благодаря высокой селективности, стабильности и простоте синтеза они находят широкое применение, особенно в сенсорных технологиях. Особый интерес представляют электрохимические сенсоры на основе МИП, позволяющие селективно определять биологически активные соединения, такие как фентанил, парацетамол, антибиотики (цефалексин, хлорамфеникол, ципрофлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин), а также витамины D, E и C в фармацевтических образцах. Сделаны попытки определения некоторых антибиотиков цефалоспоринового ряда пьезоэлектрическими МИП-сенсорами в жидких средах. Согласно проведенному обзору литературы, на сегодняшний день отсутствуют сведения об использовании амперометрических сенсоров на основе МИП для обнаружения антибиотиков в жидких средах.

Цель работы. Разработка амперометрических сенсоров на основе молекулярно-импринтированных полимеров для определения аминокликозидов, сульфаниламида и антибиотиков цефалоспоринового ряда в жидких средах.

Задачи работы:

1. Исследовать кислотно-основные и структурные свойства антибиотиков: цефтриаксона натрия, цефазолина натрия, цефотаксима натрия,

цефуроксима натрия, стрептомицина сульфат, неомицина сульфат, сульфаниламида для получения молекулярно-импринтированных полимеров селективных к целевым антибиотикам.

2. Изучить структурные, спектральные и сорбционные свойства синтезированных молекулярно-импринтированных полимеров. Оценить морфологию поверхности полимерных пленок, исследовать способность рассмотренных полимеров сорбировать антибиотики из водных растворов.

3. Разработать амперометрические сенсоры с селективным покрытием на основе молекулярно-импринтированного полимера с отпечатками антибиотиков: цефтриаксон натрия, цефазолин натрия, цефотаксим натрия, цефуроксим натрия, стрептомицина сульфат, неомицина сульфат, сульфаниламид и установить влияние различных факторов на величину аналитического сигнала сенсоров.

4. Разработать способ определения антибиотиков амперометрическими сенсорами в модельных растворах и апробировать его при анализе реальных объектов.

Научная новизна:

1. Изучено влияние температуры на структуру антибиотиков: цефазолина натрия, стрептомицина сульфата и сульфаниламида. Методом ИК-спектроскопии установлено, что при температуре свыше 120 °С происходит разрушение ряда связей и, как следствие, изменение молекулярной структуры антибиотиков. Полученные результаты использованы при выборе условий синтеза молекулярно-импринтированных полимеров.

2. Впервые получены молекулярно-импринтированные полимеры с полиимидной полимерной матрицей и отпечатками антибиотиков: цефтриаксона натрия, цефазолина натрия, цефотаксима натрия, цефуроксима натрия, сульфаниламида, стрептомицина сульфата и неомицина сульфата. Проведена оценка сорбционной способности и пористости полученных полимеров. Показано, что МИП обладают более высокой избирательностью по отношению к целевым антибиотикам, чем неимпринтированный полимер.

Полученные МИП использованы в качестве распознающих покрытий амперометрических сенсоров. Установлена взаимосвязь между распределением микропор в полимерной пленке и чувствительностью сенсора.

3. Впервые получены сенсоры на основе молекулярно-импринтированных полимеров для прямого амперометрического анализа и разработан способ определения рассмотренных в работе антибиотиков в диапазоне концентраций $0,1 - 1,0 \cdot 10^{-5}$ г/дм³.

Теоретическая и практическая значимость работы.

На основании данных спектрофотометрии рассчитаны рК функциональных групп антибиотиков, что позволило охарактеризовать их кислотно-основные свойства. Методом ИК-спектроскопии установлены изменения в структуре антибиотиков при нагревании. Полученные параметры были использованы для выбора условий синтеза молекулярно-импринтированных полимеров.

Установлены взаимосвязи между пористой структурой полимеров и их чувствительностью, сорбционными свойствами и аналитическими параметрами сенсоров.

Амперометрические сенсоры на основе молекулярно-импринтированных полимеров апробированы при определении остаточного содержания антибиотиков в сточной воде и молочной продукции.

Методология и методы исследования. Для оценки точности определения антибиотиков в жидких средах амперометрическими сенсорами на основе молекулярно-импринтированных полимеров в качестве референтных методов использовали спектрофотометр BioSpec-mini-SHIMADZU (Япония), хроматограф Agilent 6230 TOF LC/MS (Agilent Technologies, CA, USA). Для исследования свойств полимерных пленок применяли ИК-спектрометр (VERTEX-75 фирмы «Брукер» Германия), кондуктометр ССТ-3320Т (Россия) и сканирующий силовой микроскоп (микроскоп «Solver P47 PRO» производства ЗАО «НТ-МДТ»).

Положения, выносимые на защиту:

1. Результаты исследования структурных, спектральных и сорбционных свойств молекулярно-импринтированных полимеров и антибиотиков для выбора условий получения чувствительных и высокоизбирательных амперометрических МИП-сенсоров.

2. Условия определения антибиотиков в жидкостях амперометрическими МИП-сенсорами. Зависимости величины аналитического сигнала МИП-сенсора от рН, температуры, растворителя, состава растворов.

3. Способ определения антибиотиков в модельных растворах и реальных объектах амперометрическими сенсорами на основе молекулярно-импринтированных полимеров.

Степень достоверности результатов работы подтверждается большим объемом статистически обработанных экспериментальных данных, использованием современного сертифицированного оборудования, согласованием результатов с результатами других методов, имеющих в литературе.

Апробация результатов. Основные результаты диссертационной работы представлены на следующих конференциях и симпозиумах: XXII Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Сириус, 2024); X Всероссийской конференции «Физико-химические процессы в конденсированном состоянии и на межфазных границах» ФАГРАН-2024 (Воронеж, 2024); VII Всероссийском симпозиуме «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар, 2025); XIII Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика» (Санкт-Петербург, 2025); XIII симпозиуме по оптике и биофотонике «Оптические хемо- и биосенсоры» (Саратов, 2025); XVI Всероссийской научно-практической конференции «Ионообменные материалы в сорбционных, хроматографических и мембранных процессах – ИОНИТЫ-2025» (Воронеж, 2025).

Личный вклад автора состоял в постановке цели и задач работы, выполнении теоретической и экспериментальной части, обобщении результатов эксперимента, написании статей и подготовке докладов на конференциях.

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликовано 16 работ, из них 6 статей в рекомендованных ВАК РФ рецензируемых научных изданиях, 6 тезисов и материалов конференций.

Структура и объем работы. Работа состоит из введения, пяти глав, заключения, списка цитируемой литературы (218 источников) и приложения (А-Б). Работа изложена на 179 страницах, содержит 50 рисунков, 37 таблиц.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Антибиотики в жизни человека

1.1.1. Антибиотики в лечении заболеваний

Антибиотики были открыты впервые в 1928 году Александром Флемингом. Позднее ученые более глубоко изучили их и применили в профилактике и лечении болезней. В 1942 году Зельман Ваксман ввел понятие антибиотиков: «Антибиотик – это вещество, производимое микроорганизмами, способное подавлять рост или даже уничтожать другие бактерии». В настоящее время антибиотики не только извлекаются из животных или растений, но и синтезируются химическим путем [1-3].

На сегодняшний день обнаружены тысячи антибиотиков, но не все из них могут быть использованы в клинической практике, поскольку многие из них вызывают токсические реакции, имеют побочные эффекты, оказываются вредными, обладают слишком узким спектром действия или имеют слишком высокую стоимость [2].

Антибиотики действуют благодаря способности некоторых микроорганизмов производить и выделять в окружающую среду вещества, которые могут ингибировать или подавлять рост и развитие других микроорганизмов. Это явление называется микробным антагонизмом [2-4]. Для определения механизма действия антибиотика необходимо выявить макромолекулу-мишень и прояснить ее функции. На практике бывает проще выявить, какие функции микроорганизмов были нарушены, чем точно определить, какая макромолекула является объектом воздействия антибиотика [5].

Большинство антибиотиков производят с помощью микробиологического синтеза, однако часть из них получают путем химической модификации природных антибиотиков или продуктов, образующихся в результате микробиологической переработки синтетических веществ [3, 5].

Существует множество подходов к классификации антибиотиков, которые зависят от исследовательских целей и способов их применения [1, 3, 5-9]. Наиболее распространена классификация по химической структуре, так как спектр действия, степень эффективности, механизм действия и химическая структура взаимосвязаны [1, 3, 5-9].

Антибиотики являются важным достижением 20-го века. Появление антибиотиков стало важным поворотным моментом в медицине, помогая значительно снизить заболеваемость и смертность от инфекций. Они также используются для защиты растений от бактериальных и грибковых инфекций [5, 10], поэтому их производству во многих странах мира уделяется особое внимание [11]. Китай, как крупнейший производитель и потребитель антибиотиков, в 2013 году произвел 248 000 тонн и использовал 162 000 тонн, из которых 52% в животноводстве и 48% для людей [12]. В США около 80% годового использования антибиотиков приходится на сельскохозяйственных животных, достигнув 14 618 тонн [13]. По оценкам группы эпидемиолога Ван Бёккеля, мировое потребление антибиотиков в животноводстве увеличится на 52% к 2030 году, с 131 109 тонн в 2013 году до 200 235 тонн [14]. В России антибиотики включены в список жизненно важных и ключевых лекарственных средств [15].

Такие антибиотики как цефотаксим используют для лечения различных инфекционных заболеваний [16, 17], цефуросим и цефуросим аксетил – для лечения внебольничных респираторных инфекций, таких как пневмония и хронический бронхит. В группу цефалоспориновых антибиотиков также входят: цефтриаксон ингибирует биосинтез клеточной стенки бактерий, его используют для лечения бактериальных инфекций [18, 19]; цефепим обладает высокой активностью против ферментирующих микроорганизмов, эффективно воздействует как на грамотрицательные, так и на грамположительные бактерии, и быстро проникает в микробную клетку, цефалексин обладает широким спектром антибактериального действия [20].

Хинолоны – антибактериальные препараты широкого спектра действия, которые ингибируют синтез ДНК-гиразы бактерий, что нарушает репликацию ДНК и приводит к гибели бактериальных клеток [3].

Неомицин сульфат – это водорастворимый гидрофильный аминогликозидный антибиотик, который также является ингибитором белков кальциевого канала. Он обладает высокой эффективностью против как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Неомицин сульфат часто применяется для предотвращения бактериального загрязнения клеточных культур, а также для лечения различных инфекций глаз, кожи и желудочно-кишечного тракта [21].

Антибиотики находят широкое применение не только в медицине, но и в сельском хозяйстве для защиты кормов [22], а также в животноводстве и ветеринарии [23, 24].

Уровень использования антибиотиков в сельскохозяйственном производстве с каждым годом увеличивается в связи с необходимостью лечения и профилактики заболеваний животных [25]. Китай является страной, которая потребляет больше всего антибиотиков в животноводстве, за ним следуют США, Бразилия, Германия и Индия [26].

В Российской Федерации доля производства антибиотиков неуклонно растет. Наибольшее количество их используется в сельском хозяйстве для лечения и, в профилактических целях, в кормах для животных.

Антибиотики также используют в растениеводстве и садоводстве для защиты растений от патогенов [27], в пищевой промышленности в качестве консервантов [1, 27]. Однако их использование может иметь и отрицательные последствия. Так при частом применении антибиотиков быстро возникают резистентные штаммы микроорганизмов [28]. В связи с этим многие страны мира стали прилагать усилия к сокращению количества антибиотиков.

1.1.2. Обнаружение антибиотиков в продуктах питания

Антибиотики используются не только для лечения человека и животных, но и для консервации кормов, стимулирования роста и профилактики заболеваний. Хотя большая часть антибиотиков выводится из организма, их незначительные количества могут сохраняться в тканях и органах животных и как следствие, продукты животного происхождения, такие как мясо, рыба, молоко, яйца и органы животных, могут содержать следы антибиотиков [22, 22, 29].

Согласно результатам исследований [30] остаточное количество антибиотиков было зафиксировано в мясе и мясопродуктах (5,8%), продуктах из птицы и яиц (5,3%), а также в рыбе (5,3%). Наибольшее превышение предельно допустимых концентраций (ПДК) наблюдалось в рыбе (1,15%), молоке (0,24%) и детском питании (0,24%) [30].

Молоко является востребованным продуктом среди населения, поэтому безопасность молока является важной проблемой. Исследования показывают, что молочные продукты наиболее подвержены загрязнению антибиотиками [31].

Наличие антибиотиков в молоке создает серьезные проблемы для молочной отрасли, так как они способны ингибировать процессы сквашивания, что может нарушить производственный цикл и привести к значительным экономическим потерям [32]. Антибиотики негативно влияют на микробиологические процессы, необходимые для производства кисломолочных изделий, что может привести к получению небезопасной продукции. Употребление молока с остатками антибиотиков может вызвать аллергические реакции, дисбактериоз и даже способствовать развитию устойчивых к антибиотикам штаммов, снижая терапевтическую эффективность этих препаратов при медицинском применении [33]. В связи с этим для обеспечения безопасности необходимо проводить мониторинг остаточного количества антибиотиков на всех этапах производства молочной продукции.

Так в работе [34] исследовали 20 проб молока в двух из них были обнаружены хинолоны. В образце № 9 был обнаружен данофлорксацин в количестве 1,8 мкг/кг, а в образце № 17 – энрофлорксацин в количестве 2,6 мкг/кг.

По данным литературы, антибиотики могут добавляться к различным пищевым продуктам, включая алкогольные напитки, такие как пиво и вино [35]. В исследовании [36] установлено, что натамицин широко применяется в виноделии. Его присутствие в вине может быть следствием как прямого добавления, так и обработки емкостей натамицином.

В последнее время хлорамфеникол (левомицетин) и тетрациклин активно применяются как эффективные противоинфекционные средства. Чаще всего для лечения заболеваний пчел используют именно эти антибиотики, поскольку они являются одними из самых доступных и недорогих [37].

Основными источниками загрязнения меда являются методы лечения заболеваний пчел и использование агрохимикатов [38]. Наиболее распространенные и значимые антибиотики, обнаруженные в меде, включают бета-лактамы, амфениколы, тетрациклины, макролиды, аминогликозиды и фторхинолоны, которые используются для лечения инфекций или как стимуляторы роста [39].

Остатки антибиотиков могут присутствовать не только в продуктах животного происхождения, но и в растительных продуктах, которые загрязняются через почву, оросительную воду и удобрения. Растения способны поглощать антибиотики из окружающей среды и накапливать их, особенно это характерно для зерновых культур, таких как пшеница, рис, овес, кукуруза и ячмень [40].

Исследования [41] показали, что использование сточных вод для орошения приводит к присутствию остатков лекарственных веществ, включая антибиотики в 64% анализируемых овощей, таких как морковь, салат, капуста, шпинат, сельдерей, огурцы, перец и помидоры.

Авторами [42] установлено, что огурцы, помидоры черри и салат накапливают тетрациклины и сульфонамиды преимущественно в несъедобных частях, однако концентрация этих веществ в плодах остается в пределах допустимых норм.

В городской инфраструктуре лекарственные препараты проникают в окружающую среду через сточные воды из-за неправильной утилизации или недостаточной очистки. Остатки антибиотиков могут присутствовать даже в водопроводной воде. Концентрация антибиотиков в неочищенных сточных водах варьируется от 3,9 нг/дм³ до примерно 27,0 нг/дм³ [43].

Авторами [44-49] обнаружены антибиотики в поверхностных [44] и грунтовых водах, бытовых сточных водах [45], отложениях [46], почве [47] и даже в питьевой воде [48], что указывает на широкое загрязнение окружающей среды. В работе [49] было выявлено тринадцать видов антибиотиков в пробах сточных вод с концентрациями от 57,03 до 726,79 нг/дм³.

На сегодняшний день механизмы разложения антибиотиков в природной среде недостаточно изучены. Некоторые фармакологические препараты могут частично биodeградироваться и минерализоваться, поскольку бактерии используют их в качестве источника углерода. Однако полное удаление остаточных концентраций антибиотиков на водоочистных сооружениях представляет собой сложную задачу. Это связано с их низкой способностью к сорбции на фильтрах в процессе физико-химической очистки и высокой устойчивостью к биотрансформации на стадии биологической очистки, что ведет к их дальнейшему вовлечению в водный поток [50].

Некоторые противомикробные препараты, такие как эритромицин, сульфаметоксазол и тетрациклины, могут сохраняться в почве и воде более года [29].

Неконтролируемое применение антибиотиков в сельском хозяйстве, как для лечения, так и для профилактики заболеваний, приводит к накоплению остаточных количеств этих препаратов как в продуктах животного происхождения, таких как молоко и мясо, так и в окружающей среде [22, 23].

Это создает серьезные риски для здоровья человека поскольку могут и вызывать проблемы с микробиологической резистентностью. Необходимы меры контроля и регулирования использования антибиотиков в агропромышленном комплексе, чтобы минимизировать их негативное воздействие на здоровье людей и окружающую среду.

1.2. Классические методы определения антибиотиков

Для обнаружения антибиотиков используются методы микробиологического, спектрофотометрического, флуориметрического, хемилюминесцентного, хроматографического, электрохимического и биологического анализа [8, 33, 56-65]. Каждый из этих методов обладает своими достоинствами и недостатками. Выбор подходящего метода определяется доступностью оборудования, наличием квалифицированных специалистов, частотой и объемом анализов, а также необходимым уровнем точности и другими факторами.

Антибиотики в пищевых продуктах присутствуют в следовых количествах, при этом сами продукты представляют собой сложные многокомпонентные системы. Для точного количественного анализа необходимо тщательно удалить мешающие вещества, такие как липиды, белки, углеводы, органические кислоты и пигменты, поскольку они могут затруднять обнаружение антибиотиков. Процесс подготовки проб для анализа включает несколько ключевых этапов: экстракцию определяемого антибиотика, очистку экстракта от балласта и концентрирование антибиотика [37, 51].

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) является популярным методом, который позволяет одновременно разделять и количественно определять вещества с близкой полярностью. Он обладает высокой точностью, чувствительностью и низким пределом обнаружения [62]. Однако метод имеет недостатки: дорогостоящее оборудование, высокий

расход растворителей и др. [63, 64]. Тем не менее различные варианты хроматографии широко используют для анализа антибиотиков.

В частности, метод ВЭЖХ с флуоресцентным детектированием (335 нм) позволяет обнаружить окситетрациклин в рыбном филе с пределом обнаружения 20 нг/г и в тканях свиней – 0,04 мкг/г [56, 65].

Для количественного определения сульфаметоксазола (в смеси лекарственных средств, содержащей сульфаметоксазол и триметоприм) использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию [66]. Подвижная фаза представляла собой смесь метанола и воды в соотношении 60:40, доведенная до pH 3,0 с помощью 10% фосфорной кислоты. Хроматографию проводили на колонке C18 с УФ-детектором, работающим на длине волны 213 нм. Скорость потока поддерживали на уровне 1,8 мл/мин, а объем вводимой пробы составлял 10 мкл. Линейный диапазон метода составил 2,0 – 10,0 мкг/см³ для триметоприма и 10,0 – 50,0 мкг/см³ для сульфаметоксазола. Пределы обнаружения для триметоприма и сульфаметоксазола составили 0,45 и 1,21 мкг/см³ соответственно [66].

Было установлено, что методом высокоэффективной жидкостной хроматографии можно определять β-лактамы антибиотики как индивидуально (ампициллин [67], цефаклор [68], цефадроксил [69]), так и в смеси (амоксициллин и клавулановая кислота [70], цефиксим и клоксацилин [71], цефотаксим натрия и парацетамол [72], а также амоксициллин, ампициллин, оксациллин, клоксацилин и цефапирин [73] и другие антибиотики из данной группы [74]) в различных объектах: плазме, обработанном сухом коровьем молоке, образцах воды, фармацевтических препаратах, мясных и рыбных продуктах. Для этого использовали ВЭЖХ [70], хроматографию в сочетании с масс-спектрометрией (ЖХ/МС) [72], УВЭЖХ–МС [68], ВЭЖХ–УФ [75]. Подвижная фаза в основном состояла из ацетатного буфера, раствора муравьиной кислоты (0,05%) и метанола в соотношении 45:55, а также дигидрофосфата (pH 3,5) и ацетонитрила (87,5:12,5 об/об), 0,1% муравьиной кислоты и ацетонитрила. Использовали колонки типа C18 (2,1 x

100 мм, 1,7 мкм), C8, Polar-RP 80A и другие. Показано, что метод ВЭЖХ обладает низким пределом обнаружения, равным 0,05 – 0,5 мкг/мл, и точностью менее 15%.

В работе [52] при использовании ВЭЖХ с спектрофотометрическим детектированием предел обнаружения хлорамфеникола в пищевых продуктах составил 6,5 мкг/кг, для ВЭЖХ с тандемной масс-спектрометрией предел обнаружения 0,1 мкг/кг. Метод ВЭЖХ–МС/МС для определения остаточного содержания различных групп антибиотиков является арбитражным, применяется для широкого круга пищевых матриц. Однако относительная погрешность в диапазоне 0,1 – 1,0 мкг/кг составляет $\pm 60\%$.

В работе [76] ВЭЖХ с времяпролетной масс-спектрометрией высокого разрешения определено 300 веществ: антибиотики, пестициды, микотоксины, красители в пищевых продуктах. Метод отличается простой и быстрой пробоподготовкой. Пределы обнаружения для различных веществ варьируются от 0,0005 до 50 нг/см³, при этом для цефотаксима предел обнаружения составляет 1 нг/см³.

В работах [57, 77] предложено использовать ВЭЖХ для определения антибиотиков цефалоспоринового ряда в фармацевтических препаратах и биоматериалах.

Авторы [78] методом ВЭЖХ–МС/МС определили антибиотики: амоксициллин, цефотаксим, ципрофлоксацин, клиндамицин и метронидазол и их метаболиты в крови и тканях. После твердофазной микроэкстракции анализ проводили на колонке C18 (50 x 2,0 мм, 4 мкм) с фазой из воды (0,1% муравьиной кислоты) и ацетонитрила [78].

Более экономичным по стоимости оборудования и реагентов является метод тонкослойной хроматографии (ТСХ), который используется для предварительного скрининга образцов. В качестве подвижной фазы применяются различные комбинации растворителей, такие как бутанол, вода, этанол, уксусная кислота, этилацетат, ацетон и бензол. Для визуализации пятен используют пары йода. Количественное определение веществ

осуществляется при длинах волн 254 – 366 нм [64]. Чувствительность ТСХ составляет 0,5 мкг для пенициллина, 1 мкг для окситетрациклина и 2 мкг для стрептомицина [79].

Так метод ТСХ с кремнеземным гелем 60F254 применяли для выделения миноциклина из плазмы, в качестве элюента использовали смесь метанола, ацетонитрила, изопропанола и воды. Антибиотики идентифицировали при УФ-облучении (190 – 400 нм) [80].

Помимо хроматографических методов, широко применяются спектральные методы анализа в ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной областях спектра [58, 81-84].

Спектрофотометрия широко используется для определения антибиотиков. Например, для определения цефалексина [85], при этом действующее вещество образует комплекс с Fe(III) в диапазоне pH 1 – 8, оптимальные условия – pH 2. Для количественного анализа амоксициллина [83] его связывают с п-аминобензойной кислотой или диазотируют в щелочной среде. Метод позволяет определять амоксициллин с пределом обнаружения от 0,1877 мкг/мл до 0,1916 мкг/см³.

В работах [86, 87] показано, что спектрофотометрически проведено определение антибиотиков сульфамидной [86] и β-лактамной [87] групп в смесях. Поглощение сульфамидов наблюдалось в УФ-диапазоне 200 – 350 нм в образцах, содержащих этаноловый раствор (pH 9,9) [86].

Авторы [84] определяли ампициллин флуорометрическим методом предел обнаружения составил 0,05 мкг/см³.

В работах [82, 88] спектрофотометрически определяли антибиотики в водных и биологических средах в диапазоне от 230 до 292 нм.

Для определения антибиотиков также применяются электрохимические методы. Так для определения β-лактамных антибиотиков предложено использовать ионометрию [89, 59].

Определение азитромицина проводили методом поточно-инжекционного анализа с амперометрическим детектированием [90]. При

потенциале 1,20 В в 0,05 М фосфатном буфере и скорости потока 1,0 см³/мин. Метод характеризуется диапазоном концентраций $1,5 \cdot 10^{-5} - 1,0 \cdot 10^{-6}$ М и пределом обнаружения $4,44 \cdot 10^{-7}$ М.

Авторы [91] использовали вольтамперометрию с электродами с различными селективными материалами, для определения антибиотиков (метронидазол, тинидазол, сульфаниламиды, ципрофлоксацин, азитромицин) в фармацевтических препаратах и биологических образцах (моча, кровь, сыворотка).

Одним из методов количественного определения веществ является капиллярный электрофорез. Однако его чувствительность ниже чем в ВЭЖХ из-за расположения проточной ячейки непосредственно на капилляре, а небольшой объем пробы может приводить к значительным погрешностям при анализе больших концентраций [60].

В работах [61, 92-94] показано, что метод капиллярного электрофореза можно использовать для анализа как индивидуального антибиотика, так и для смеси антибиотиков, таких как нафциллин, диклоксациллин, клоксациллин, оксациллин, ампициллин, пенициллин G и амоксициллин, а также цефазолин, цефуроксим натрий, цефтриаксон натрий, цефоперазон натрий и цефтазидим в различных объектах с высоким коэффициентом корреляции в диапазоне 0,94 – 0,99%.

Авторы [95] предложили использовать метод капиллярного электрофореза с спектрофотометрическим детектированием для совместного определения спарфлоксацина, ципрофлоксацина, энрофлоксацина и флумехина в молоке. Пределы обнаружения для этих антибиотиков составили 19,8 мг/кг, 15,2 мг/кг, 13,3 мг/кг и 15,9 мг/кг соответственно [95].

Все перечисленные методы определения антибиотиков требуют значительных затрат на оборудование и расходные материалы, что ограничивает их применение в лабораториях.

1.3. Экспресс-способы анализа антибиотиков

Экспресс-методы определения антибиотиков включают различные установки для быстрого и точного обнаружения их в различных образцах. Эти методы нацелены на минимизацию времени анализа и упрощение процедур, что особенно важно для оперативного получения результатов в таких областях, как медицина, ветеринария и пищевая промышленность.

1.3.1. Иммуноферментные методы

Метод иммуноферментного анализа (ИФА) широко применяется для определения остаточных количеств антибиотиков [79, 96], в частности, определение хлорамфеникола возможно в диапазоне от 0,1 до 100 нг/мл. Содержание антибиотика в образце обратно пропорционально оптической плотности продукта ферментативной реакции при длине волны 450 нм.

Авторы [97] разработали методику сверхчувствительного иммуноферментного анализа с антителами широкой специфичности, позволяющий одновременно выявлять триметоприм, диаверидин, бродимоприм, орметоприм и баквилоприм в образцах куриного мяса и молока [97]. Также разработан флуороиммуноанализ для обнаружения девяти видов тетрациклинов в яйцах [98].

1.3.2. Микробиологические методы

Главное преимущество микробиологических методов заключается в возможности одновременного обнаружения множества антибиотиков, принадлежащих к разным группам, с помощью одного теста. Однако они имеют ограничения, такие как низкая селективность, высокий предел обнаружения и длительное время инкубации (культивирования) [55, 56].

Авторами [99] разработан микробиологический скрининговый тест с использованием *E. coli* для выявления энрофлоксацина и его метаболита ципрофлоксацина в образцах куриного мяса. Пределы обнаружения для

энрофлоксацина составили 50 нг/г, а для ципрофлоксацина – 25 нг/г. Тест дал положительные результаты во всех образцах, где концентрации остатков превышали уровень максимально допустимого остаточного количества [99].

Для определения ингибирующих веществ в молоке, включая антибиотики, применяется ГОСТ 23454-2016. Метод основан на использовании тест-культуры *Streptococcus thermophilus* (штамм В19) и восстановлении резазурина ферментами микроорганизмов. Предел обнаружения антибиотиков в молоке составляет для: пенициллина – 0,004 мг/дм³, стрептомицина – 10 мг/дм³, тетрациклина – 1 мг/дм³, левомицетина – 5,0 мг/дм³ [33].

1.3.3. Сенсорные способы определения антибиотиков

Для определения остатков антибиотиков в пищевых продуктах все активнее применяются сенсоры [53]. Как правило, сенсорные способы определения основаны на флуоресцентном, электрохимическом, колориметрическом анализе [100].

Для экспресс-анализа тетрациклина разработаны амперометрические биосенсоры на основе иммобилизованной тирозиназы и графитовых электродов, модифицированных многостенными углеродными нанотрубками, восстановленными оксидом графена и наночастицами золота. Тетрациклин действует как ингибитор тирозиназы, что позволяет выявлять его в диапазоне концентраций от 1 нмоль/дм³ до 1 мкмоль/дм³. Применение нанокомпозитов углеродных материалов и наночастиц золота улучшает аналитические характеристики сенсоров, снижая предел обнаружения до 0,7 нмоль/дм³. Сенсоры продемонстрировали высокую точность (отклонение менее 0,08) и успешно применены для определения тетрациклина в молоке и косметических продуктах без влияния посторонних соединений [101, 102].

Авторы [103] разработали пьезоэлектрический иммуносенсор с пределом обнаружения в 40 – 50 раз ниже по сравнению с другими методами для определения сульфатиазола в меде.

Авторы [104] разработали мультиплексный иммуносенсор с 24-сайтовым микроэлектрохимическим устройством и микро-резервуаром для анализа энрофлоксацина и меламина, с линейными диапазонами 1000 – 0,1 нг/см³ и 500 – 0,1 нг/см³ и пределами обнаружения 18,97 пг/см³ и 26,80 пг/см³ соответственно.

В работе [105] представлены результаты использования аффинного магнитосенсора при определении остатков β-лактамов в молоке. Установлен низкий предел обнаружения на уровне ppb для пенициллина G, амоксициллина, натриевой соли ампициллина, цефепима, оксациллина и клексациллина в пробах молока.

Авторами [106] разработан способ экспресс-определения цефазолина в небольших объемах проб с использованием планарных потенциометрических сенсоров на основе углеродных чернил и тетрадециламмониевых ионных ассоциатов с серебряно-цефазолиновыми комплексами, а также их модификации с полианилином и наночастицами. Сенсоры позволяют быстро определять антибиотики в модельных водных растворах и слюне за 30 – 40 минут [106].

В работе [107, 108] описана разработка пьезоэлектрического сенсора с распознающим слоем из молекулярно-импринтированного полимера для определения антибиотика цефазолина. Авторами была предложена методика синтеза МИП на основе полиамидокислоты. Сенсоры показали высокую избирательность при определении цефазолина в молоке с пределом обнаружения $1,0 \cdot 10^{-5}$ г/дм³ и диапазоном концентраций 0,1 – $0,1 \cdot 10^{-4}$ г/дм³.

С использованием полиимидов синтезирована полимерная пленка с молекулярными отпечатками цефотаксима на поверхности пьезоэлектрического сенсора. Импринтинг-фактор составил 40,9 и коэффициент селективности – 1. Сенсор продемонстрировал низкую чувствительность к другим цефалоспорином. Полученный сенсор применялся для обнаружения цефотаксима в модельных растворах и молоке с пределом

обнаружения $1,0 \cdot 10^{-5}$ г/дм³ и диапазоном концентрации $0,1 - 1,0 \cdot 10^{-4}$ г/дм³ [109].

Амперометрическое определение антибиотиков в жидких средах представляет собой один из методов электрохимического анализа. Этот метод основан на измерении изменения электрического тока, проходящего через раствор в результате окислительно-восстановительной реакции антибиотика на поверхности электрода. Амперометрия предлагает эффективный, быстрый и чувствительный способ обнаружения и количественного определения антибиотиков в различных жидких средах, включая биологические образцы и пищевые продукты [110].

В этом контексте модифицированный амперометрический сенсор может стать эффективным решением задачи экспрессного определения веществ.

1.4. Селективные материалы электродов сенсоров

Для модификации электродов сенсоров перспективным является использование молекулярно-импринтированных полимеров (МИП) на основе полиимидов [111-113].

Молекулярно импринтированные полимеры представляют собой класс материалов, формируемых с использованием технологии молекулярного импринтинга и характеризующихся наличием специфических взаимодействий между молекулами-шаблонами и полимерной матрицей [114-116].

Ковалентный молекулярный импринтинг основан на образовании ковалентных связей в предполимеризационном комплексе. После полимеризации и разрушения этих связей молекулы-шаблоны удаляются, однако процесс экстракции часто сложен, и степень извлечения не превышает 90%. Этот метод формирует более четкие полости, но требует сложных предварительных модификаций и используется реже из-за трудоемкости [116, 117]. Нековалентный молекулярный импринтинг проще и основан на нековалентных взаимодействиях (водородных, электростатических, π - π).

Полимеризация происходит в присутствии темплата и после его удаления остаются полости, комплементарные шаблону. Благодаря простоте и универсальности этот метод более популярен [117, 118].

В методе полуковалентного молекулярного импринтинга молекула шаблона ковалентно связывается с функциональным мономером. После термического разрушения связей и удаления шаблона в полимере остаются функциональные группы, которые обеспечивают возможность связывания молекулы-шаблона с полимером через нековалентные взаимодействия. Таким образом, полуковалентный молекулярный импринтинг является гибридным подходом, в котором предполимерный комплекс формируется с использованием ковалентной связи, а повторное связывание аналита достигается за счет нековалентных взаимодействий. Этот метод сочетает ключевые преимущества обоих подходов: стабильность и стехиометричность ковалентных комплексов, а также быстрое связывание гостевых молекул, характерное для нековалентного импринтинга. [119, 120].

В ряде работ описан механизм молекулярного импринтинга, включая взаимодействия между шаблоном, мономерами, олигомерами и растущими полимерами в растворе [121-123]. Эффективность синтеза МИП зависит от ряда факторов. К ним относятся выбор функционального мономера, сшивающего агента, природа растворителя, соотношение мономера и шаблона, а также условия полимеризации, такие как время, температура и диаметр частиц, и структура темплата [122, 124].

Со временем были разработаны различные методы синтеза молекулярно импринтированных полимеров, основные из которых включают [125, 126]:

Объемная (традиционная) полимеризация – в этом методе шаблон, мономер и другие компоненты смешиваются и герметично запечатываются. Полученные полимеры имеют блочную форму, которую затем измельчают и просеивают. Этот метод может приводить к нерегулярным формам, повреждению полостей и низкому выходу МИП [125].

Осадочная полимеризация формирует соединения в растворителе, затем они осаждаются. Это позволяет контролировать размер частиц, но также дает нерегулярные формы и требует больше растворителей [125].

Суспензионная полимеризация включает растворение всех необходимых компонентов полимеризации в подходящем органическом растворителе, который затем смешивается с другим растворителем. При активном перемешивании образуются мелкие капли, а размер получаемых частиц колеблется от 10 до 100 мкм [125].

Эмульсионная полимеризация проходит в системе масло/вода, где мономер, сшивающий агент и шаблон эмульгируются. Этот метод обеспечивает высокую скорость полимеризации, но может быть сложным и приводить к низкой чистоте полимера [125].

Многоступенчатая полимеризация набухания позволяет получать сферические, однородные МИПы, постепенно увеличивая размеры частиц [125].

Электрополимеризация создает тонкие пленки МИПов на электродах с контролем циклов полимеризации. Этот метод является быстрым, простым и экономичным способом подготовки МИПов [125].

Метод поверхностного импринтинга предполагает нанесение импринтированных слоев на пористый кремнезем или твердую основу с использованием различных механизмов. Этот метод обеспечивает высокую выборочность и чувствительность [125].

В золь-гель методе наночастицы в жидкости (золе) образуют трехмерную сетку, распространяясь по всей среде (гель). Преимущества золь-гель метода включают низкую температуру синтеза, высокую чистоту, низкие затраты и использование экологичных растворителей [126].

Будучи синтетическими биомиметическими рецепторами, МИПы содержат специфические полости для целевых молекул, превосходя по способности к распознаванию естественные антитела. МИПы обладают высокой механической и химической стабильностью, что делает их

подходящими для многократного использования и позволяет создавать их с высокой специфичностью и аффинностью к целевым молекулам на молекулярном уровне [117, 125-128]. В связи с этим они нашли применение в хроматографии, в пробоподготовке, сенсорных системах и др. [129-131].

МИПы – синтетические материалы, способные эффективно имитировать биологическое распознавание, благодаря чему их называют «пластиковыми антителами». За последнее десятилетие количество исследований по применению МИПов в качестве биомаркеров значительно возросло. Обнаружение сывороточного альбумина, гемоглобина, ферритина и авидина, а также исследования инфекционных заболеваний, потери костной массы, сердечно-сосудистых заболеваний и различных видов рака – вот некоторые области, представляющие большой интерес для использования МИПов в качестве биомаркеров [132].

Активно разрабатываются электрохимические сенсоры на основе МИПов для обнаружения различных биомаркеров. Вольтамперометрические и амперометрические МИП-сенсоры нашли широкое применение для диагностики биомаркеров [112].

МИП-сенсоры использовались для обнаружения и количественного определения лекарственных средств, таких как бензодиазепин, мидазолам, противораковый препарат митоксантрон, антигельминтик оксфендазол и бета-лактамный антибиотик нафциллин [133].

Электрохимические сенсоры на основе МИПов способны обнаруживать и количественно определять загрязняющие вещества в окружающей среде. Были разработаны сенсоры для обнаружения эстрадиола, фуразолидона, цефалексина и N-нитрозодиметиламина в воде, метидатиона и линдана (γ -гексахлорциклогексана) в образцах фруктов, овощей и воды [134, 135].

Авторы [136] разработали селективный стеклоуглеродный электрод на основе МИП, модифицированный магнитными многослойными углеродными нанотрубками с Fe_3O_4 , для обнаружения канамицина. Линейный диапазон составил $1,0 \cdot 10^{-6} - 1,0 \cdot 10^{-10}$ моль/л с пределом обнаружения $2,3 \cdot 10^{-11}$ моль/л.

Сенсор показал высокий уровень извлечения канамицина (молоко, куриная и свиная печень) [136].

В работе [137] разработан пьезокварцевый сенсор на основе МИП для определения окисленного липопротеина низкой плотности, являющегося важным биомаркером ишемической болезни сердца. Сенсор обеспечивает прямое обнаружение аналита в сыворотке крови и характеризуется высокой специфичностью при минимальной перекрестной реактивности с другими липопротеинами и сывороточным альбумином. Линейный диапазон определения составляет 86 – 5600 мкг/дл. Время отклика сенсора составляет 10 минут, что существенно меньше 210 минут, необходимых для проведения иммуноферментного анализа.

Активно используются пьезоэлектрические МИП-сенсоры. В работе [138] представлены результаты применения этих сенсоров для обнаружения стероидных гормонов, таких как нандролон, и нейротрансмиттеров, например катехоламинов, а также для других аналитов, таких как β -блокирующий препарат (S)-пропранолол, кофеин, трихлорфон, α -аманитин, N-гексаноил-L-гомосерин лактон и L-триптофан [138].

Определение аминокислот проводили в многокомпонентных растворах методом проточно-инжекционного анализа с пьезосенсорами на основе ПМО-Val [139] в диапазоне от 0,1 до 10^{-6} М.

Авторами [140] для определения карбоновых кислот в газовой фазе разработаны пьезоэлектрические сенсоры ПМО-Acetic, ПМО-Propionic и ПМО-Butyric с пределом обнаружения $1 \cdot 10^{-7}$ ммоль/дм³ и диапазоном концентраций $1 \cdot 10^{-1} - 1 \cdot 10^{-6}$ ммоль/дм³. Эти сенсоры избирательно реагируют только на целевые карбоновые кислоты, что обеспечивает возможность точного анализа фракций этанола. Установлено, что в кубовой жидкости присутствуют все три кислоты в небольших количествах, а наибольшее содержание примесей зафиксировано в промежуточной фракции эспюрата.

В работе [141] предложен пьезоэлектрический сенсор, модифицированный молекулярно-импринтированным полимером, предназначенный для определения консервантов в безалкогольных напитках. Разработанный сенсор позволяет определять бензоат натрия в диапазоне концентраций 5 – 500 мг/дм³. Его работоспособность была подтверждена при анализе безалкогольных напитков.

Авторами [142] установлено, что присутствие посторонних веществ не мешает определению аспартама в безалкогольных напитках МИП-сенсорами.

Оптические сенсоры на основе МИПов, изменяющие цвет при контакте с целевыми веществами, особенно полезны для экологического мониторинга, поскольку позволяют проводить визуальные измерения непосредственно на месте [134]. Они используются в биомедицине для обнаружения α -фетопротейна, дофамина, тиоридазина, корнидазола, сульфасалазина, лизоцима, гемоглобина, гистамина, цилостазола, инсулина, белков, иммуноглобулина G, ферритина и противоракового препарата сунитиниба в биологических образцах [134, 143].

Сенсоры на основе МИП могут обнаруживать вредные вещества в продуктах питания, предотвращая фальсификацию, нередко вызывающую аллергию, устойчивость к антибиотикам и др. [144].

В работе [145] представлен новый флуоресцентный волоконно-оптический сенсор на основе молекулярного импринтинга для быстрого обнаружения ципрофлоксацина в диапазоне концентрации 10 – 500 мкмоль/л и с пределом обнаружения 6,86 мкмоль/л [145].

Таким образом, МИП уже успешно используются для определения антибиотиков в биологических жидкостях и пищевых продуктах, таких как молоко [123].

Заключение к главе 1

Антибиотики – это обширная группа органических соединений, насчитывающая тысячи веществ. Однако помимо пользы они могут представлять угрозу для здоровья человека и окружающей среды. Поэтому мониторинг остаточных количеств антибиотиков в продуктах питания, сточных водах и биологических средах имеет высокую актуальность.

Для обнаружения антибиотиков применяют хроматографические, спектроскопические, микробиологические, иммунологические и электрохимические методы, каждый из которых имеет свои плюсы и минусы. Эти методы определения антибиотиков играют ключевую роль в различных сферах – от медицинских исследований до контроля качества продуктов питания и экологического мониторинга.

Несмотря на популярность этих методов, существует потребность в экспрессных и высокоселективных методах, подходящих как для лабораторного, так и для полевого использования. В этой связи амперометрические сенсоры, модифицированные МИП, представляют собой перспективный инструмент для определения антибиотиков.

Глава 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ АНАЛИЗА

2.1. Физико-химические свойства антибиотиков

В работе использовали антибиотики цефалоспоринового ряда: цефтриаксон натрия, цефазолин натрия, цефотаксим натрия, цефуроксим натрия, отличающиеся строением боковых радикалов. А также антибиотики других классов: стрептомицина сульфат, неомицина сульфат и сульфаниламид. Физико-химические свойства данных антибиотиков представлены в таблице 2.1.

Антибиотики цефалоспоринового ряда относятся к классу β -лактамных антибиотиков и имеют общее структурное звено (Рис. 2.1).

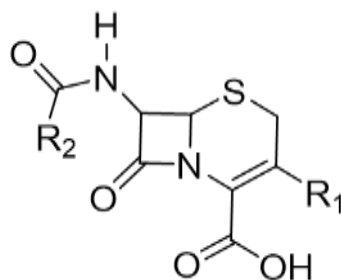


Рис. 2.1. Общая структура цефалоспориновых антибиотиков
(7-аминоцефалоспоровая кислота (7-АЦК))

В настоящее время существует пять поколений антибиотиков цефалоспоринового ряда.

Цефазолин натрия (Cef) – антибиотик первого поколения имеет широкий спектр бактерицидного действия [146].

Химическая структура имеет боковую цепь N-метилимидазола.

Цефазолин – белый кристаллический порошок стабилен при 20 °С в течение двух лет, но обладающий высокой гигроскопичностью. Препарат хорошо растворим в воде, слабо в этаноле и метаноле, в других растворителях практически не растворим [146]. В растворе при температуре 4 °С сохраняет свою активность в течение четырех суток [81].

Цефуроксим натрия (Cefur) – это цефалоспориновый антибиотик широкого спектра действия второго поколения. Раствор цефуроксима при температуре 4 °С стабилен в течение 14 дней, а при комнатной температуре в течение 13 часов [147].

Цефуроксим натрия – порошок белого цвета, гигроскопичен. Антибиотик хорошо растворим в воде и слабо этаноле. pH раствора составляет 6 – 8,5 [148].

Цефтриаксон натрия (Ceftr) – полусинтетический антибиотик третьего поколения [149].

Цефтриаксон натрия – кристаллический порошок почти белого или желтоватого цвета, слабо гигроскопичный, очень хорошо растворимый в воде, плохо растворим в этаноле [149].

Цефтриаксон относится к амфотерным антибиотикам и содержит в боковой цепи аминотиазольную группу. Азот тиазольного кольца обладает слабыми основными свойствами, что позволяет ему связывать протон [150].

Цефотаксим натрия (Cefot) – полусинтетический антибиотик третьего поколения. По химической структуре относится к классу иминоцефалоспоринов [151]. Наличие в молекуле карбоксильной и аминотиазольной групп придает цефотаксиму амфотерные свойства. Раствор антибиотика сохраняет свои свойства в течение 24 часов при 2 – 5 °С [81].

Сульфаниламид (Sulf) – синтетический противомикробный препарат, относящийся к классу сульфонамидов. Представляет собой белый кристаллический порошок, обладающий низкой растворимостью в воде и большинстве органических растворителей [152]. Обладает амфотерными свойствами: основные свойства обусловлены наличием первичной ароматической аминогруппы ($\text{NH}_2\text{-Ar}$), кислотные свойства обусловлены сульфамидной группой ($-\text{SO}_2\text{-NH-}$) [152].

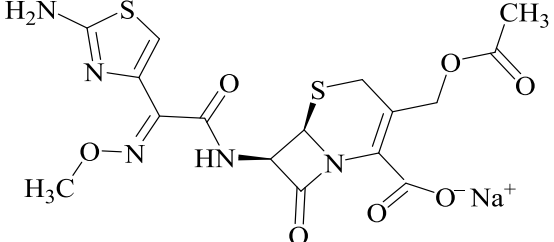
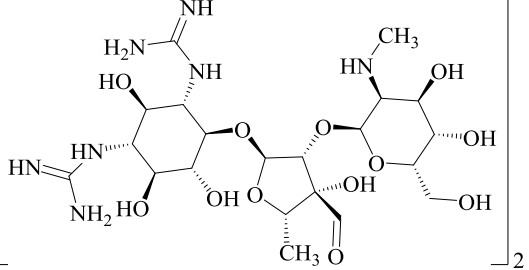
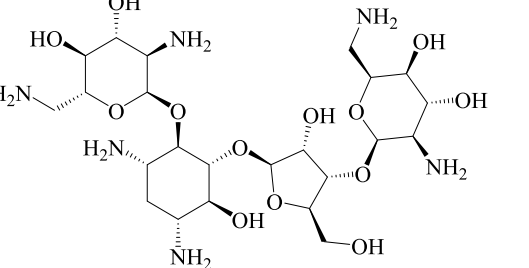
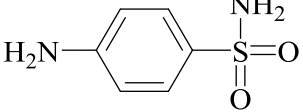
Стрептомицин сульфат (Strep) и **Неомицин сульфат (Neo)** – антибиотики аминогликозидного ряда первого поколения с широким спектром антимикробного действия [158, 159].

Таблица 2.1.

Физико-химические свойства антибиотиков [150, 153-157]

Антибиотик	Структурная формула	M _r	pK протолиза			T _{пл} , °C	Растворимость в воде, г/100 г
			pK ₁	pK ₂	pK ₃		
Цефазолин натрия (6R,7R)-3-[[5-Метил-1,3,5-тиадиазол-2-ил]сульфанил]метил}-8-оксо-7-[2-(1H-тетразол-1-ил)ацетиламино]-5-тиа-1-азабицикло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбоксилат натрия		476,5	2,95	—	—	198-200	5
Цефуроксим натрия (6R,7R)-3-[(карбамоилокси)метил]-7-[(2Z)-2-(метоксиимино)-2-(фуран-2-ил)ацетиламино]-8-оксо-5-тиа-1-азабицикло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбоксилат натрия		446,4	2,50	—	—	240-245	40
Цефтриаксон натрия (6R,7R)-7-[(Z)-2-(2-амино-4-тиазолил)-2-(метоксиимино)ацетиламино]-3-[[2-метил-6-оксидо-5-оксо-2,5-дигидро-1,2,4-триазин-3-ил]сульфанил]метил}-8-оксо-5-тиа-1-азабицикло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбоксилат динатрия гидрат (1:3,5)		661,5	2,34	3,19	4,35	240-245	40 (25 °C)

Продолжение таблицы 2.1.

<p>Цефотаксим натрия (6<i>R</i>,7<i>R</i>)-7-[(2<i>Z</i>)-2-(2-Амино-1,3-тиазол-4-ил)-2-(метоксиимино)ацетиламино]-3-[[ацетилокси]метил]-8-оксо-5-тиа-1-азабицикло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбоксилат натрия</p>		477,5	2,26	3,36	—	161-163	9,5 (25 °C)
<p>Стрептомицина сульфат N,N'-Бис(аминоиминометил)-[O-2-дезоксидезокси-2-(метиламино)-α-L-глюкопиранозил-(1\rightarrow2)-O-5-дезоксидезокси-3-С-формил-α-L-ликсофуранозил-(1\rightarrow4)-D-стрептамина сульфат (2:3)</p>		1457,4	8,29	12,33	13,55	190-195	5
<p>Неомицина сульфат 4-O-(2,6-диамино-2,6-дидезокси-α-D-глюкопиранозил)-5-O-[3-O-(2,6-диамино-2,6-дидезокси-β-L-идопиранозил)-β-D-рибофуранозил]-2-дезоксидезокси-D-стрептамина (неомицин В).</p>		614,64	9,97	12,9	—	220-223	50
<p>Сульфаниламид 4-Аминобензолсульфонамид</p>		172,20	1,85	10,10	—	164-166	0,75 (25 °C)

Приготовление растворов антибиотиков

В работе использовали антибиотики квалификации «фармакопейные» производства ОАО «Синтез» (цефтриаксон натрия), ПАО «Биосинтез» (цефазолин натрия), ЗАО «ЛЕККО» (цефотаксим натрия), ПАО «Красфарма» (цефуроксим натрия), ЗАО «Агрофарм» (стрептомицина сульфат и неомицина сульфат) и ООО «Технопарк-Центр» (сульфаниламид), Россия.

Серия растворов была приготовлена в два этапа: на первом этапе по точной навеске вещества получали исходный раствор с концентрацией $1,0 \text{ г/дм}^3$, на втором – проводили последовательные разбавления с целью получения растворов в диапазоне концентраций $0,1 - 1,0 \cdot 10^{-7} \text{ г/дм}^3$ [160].

2.2. Молочные продукты, используемые в работе

Молоко – состоит примерно из 87% воды, 3,7% жиров, 3,5% белков, 4,9% лактозы, 0,8% минеральных веществ и 0,1% витаминов [161].

В работе использовали следующие виды молочной продукции:

- Молоко «Вкуснотеево» – натуральное коровье молоко с легким сладковатым вкусом и насыщенным белым цветом. Содержит витамины В₂, В₁₂, А, Е, D, а также кальций, натрий, фосфор, цинк. Содержит: жиры 1,5 – 6,0%; белки 3,0%; углеводы 4,7%.
- Молоко «ЭкоНива» производится из молока высшего сорта с собственных ферм «ЭкоНивы». Содержит: жиры 0,5 – 6,0%; белки 3,0%; углеводы 4,7%.
- Молоко «Авида» содержит кальций, белок, витамины А, В₁, В₂, В₁₂, С и D. Содержит: жиры 1,0 – 6,0%; белки 3,0%; углеводы 4,7%.
- Фермерское молоко – это натуральный продукт, производимый в хозяйствах с минимальной обработкой.
- Фермерская сметана, взятая прямо с фермы – это натуральный и свежий продукт без консервантов, загустителей и искусственных добавок. Содержит: жиры 25%.

- Фермерский творог – натуральный продукт, произведенный непосредственно на ферме из свежего коровьего молока без искусственных добавок и лишней обработки. Такой творог отличается насыщенным молочным вкусом, нежной или слегка зернистой текстурой. Содержит: жиры 9%.

А также использовали сточную воду (из камеры поступлений очистных сооружений г. Воронежа). Сточная вода содержит различные загрязнения, характерные для городских сточных вод, включая органические вещества из бытовых и промышленных стоков, взвешенные вещества и др.

2.3. Метод спектрофотометрии

Одним из референтных методов анализа была спектрофотометрия. Эксперименты проводили в Центре коллективного пользования научным оборудованием (ЦКПНО) ВГУ на СФ BioSpec-mini SHIMADZU (Япония).

Спектры снимали в диапазоне 190 – 1100 нм с точностью $\pm 1,0$ нм и воспроизводимостью $\pm 1,0$ нм [160, 162]. В работе использовали кварцевые кюветы с толщиной 1 см [160].

Определение антибиотиков проводили при: цефтриаксон натрия – 240 нм, цефазолин натрия – 272 нм, цефотаксим натрия – 235 нм, цефуроксим натрия – 275 нм и сульфаниламид – 259 нм.

Помимо количественного определения антибиотиков, спектрофотометрический метод также использовался для определения значений константы протолиза (pK) исследуемых соединений [160].

Для расчета pK кислотной функциональной группы, использовали следующие уравнения:

$$\text{при } A_1 > A_m \quad pK_a = pH + \lg \frac{A_1 - A}{A - A_m} \quad (2.1)$$

$$\text{при } A_m > A_1 \quad pK_a = pH + \lg \frac{A - A_1}{A_m - A} \quad (2.2)$$

Для расчета pK_a основной функциональной группы, применяли уравнения:

$$\text{при } A_1 > A_m \quad pK_a = pH + \lg \frac{A - A_m}{A_1 - A} \quad (2.3)$$

$$\text{при } A_m > A_1 \quad pK_a = pH + \lg \frac{A_m - A}{A - A_1}, \quad (2.4)$$

где A – оптическая плотность раствора, содержащего обе ионные формы при выбранной длине волны; A_m – оптическая плотность раствора, содержащего антибиотик в нейтральной форме, а A_1 – в анионную или катионную, ионную формы [160, 163, 164].

2.4. Метод ИК-спектроскопии

ИК-спектры антибиотиков и полимеров снимали на спектрометре VERTEX-75 производства фирмы «Bruker» (Германия), Центр коллективного пользования научным оборудованием (ЦКПНО) Воронежского государственного университета.

ИК-спектрометр с детектором DTGS, источником излучения Ceramic Source и светоделителем Ge-on-KBr. Получены спектры в области $4000 - 400 \text{ см}^{-1}$ с разрешением 4 см^{-1} . Анализ и интерпретацию полученных данных проводили на основе литературных источников [160, 165, 166].

Применение ИК-спектроскопии для структурно-группового анализа антибиотиков и полимеров

В ИК-спектрах молекулярно-импринтированных полимеров на основе полиимида в диапазонах $1730 - 1690 \text{ см}^{-1}$ и $1790 - 1740 \text{ см}^{-1}$ наблюдаются полосы поглощения C=O -групп имидных циклов. В области $3300 - 3000 \text{ см}^{-1}$ и $1650 - 1550 \text{ см}^{-1}$ присутствуют колебания ассоциированных аминогрупп –NH, участвующих в формировании водородных связей с водой [160, 162].

Полоса 620 см^{-1} относится к деформационным колебаниям связи O=C–N (амид IV), возникающим в результате взаимодействия валентных колебаний

связей C–N и C=O. Пики в области 1390 – 1360 cm^{-1} указывают на образование ассоциатов между водой и карбоксильными группами. Полосы при 1780 cm^{-1} –C=O и 720 cm^{-1} (деформационные колебания имидного цикла) подтверждают наличие типичной циклической имидной структуры [166]. Валентные колебания скелетных связей C–C наблюдаются в области 1530 – 1475 cm^{-1} . Кроме того, характеристические частоты 1250 – 950 cm^{-1} и 900 – 690 cm^{-1} соответствуют внутривибрационным и вневибрационным деформационным колебаниям связи C–H в ароматическом кольце соответственно [160, 166].

В ходе получения молекулярно-импринтированных полимеров применяли двухстадийную термообработку при 80 °C и 120 °C. Термическое воздействие способствовало образованию гидрофобной полимерной структуры, что подтверждается появлением широкой непрерывной полосы поглощения на ИК-спектрах в области 3400 – 3000 cm^{-1} [162, 166].

Наличие в ИК-спектрах *цефазолина натрия* полос 3419 cm^{-1} и 3282 cm^{-1} указывает на присутствие колебаний N–H -групп. Полосы 3229 cm^{-1} и 3056 cm^{-1} соответствуют к колебаниям =C–H, при 1761 cm^{-1} колебания C=O -группы, около 1671 cm^{-1} - полосы колебаний C=O амидной группы, а при 1600 cm^{-1} , 1540 cm^{-1} и 1490 cm^{-1} - полосы колебаний C=C ароматической группы. Также колебания COO^- -группы проявляются при 1600 cm^{-1} и 1386 cm^{-1} . Пик при 1540 cm^{-1} относится к колебаниям N–H вторичного амида, а колебаниям C–N -групп соответствуют пики 1241 cm^{-1} , 1183 cm^{-1} , 1100 cm^{-1} и 1062 cm^{-1} . Кольца триадиазола и тетразола, присутствующие в молекуле, состоят из третичных аминов и, следовательно, не проявляют полос в ИК-спектрах [167].

В ИК-спектре *цефуросима натрия* наблюдаются: полоса при 3500 cm^{-1} соответствует колебанию N–H -группы, полосы 3368 cm^{-1} и 3254 cm^{-1} относятся к колебаниям связи N–H в карбаматной группе NH_2 , полосы 3063 cm^{-1} и 3000 cm^{-1} отражают колебания C–H в β -лактамном кольце. В области 2900 – 2800 cm^{-1} присутствуют полосы, связанные с колебаниями C–H метильных (CH_3), метиленовых (CH_2) и метоксильных (OCH_3) групп. Также присутствуют

полосы при 1758 см^{-1} (C=O β -лактамного кольца), 1699 см^{-1} (C=O карбамата), 1667 см^{-1} (амид I) и 1642 см^{-1} (C=N оксима), а асимметричные и симметричные колебания C=O карбоксилатной группы (CO_2^-) наблюдаются при 1627 см^{-1} и 1412 см^{-1} . Также имеются полосы при 1560 см^{-1} и 1546 см^{-1} (деформации N–H и амид II), 1603 , 1483 и 1402 см^{-1} (колебания фуранового кольца), 1461 см^{-1} (деформация CH_3 в метоксильной группе), 1335 см^{-1} (деформация NH_2 карбамата), а также полосы в области $1000 - 1100\text{ см}^{-1}$, соответствующие колебаниям C–O и N–O в карбаматной и оксимной группах [148].

ИК-спектр *цефтриаксона натрия* содержит полосы поглощения, характерные для валентных колебаний N–H -группы (3440 см^{-1} и 3261 см^{-1}) и 1537 см^{-1} и 1500 см^{-1} деформационных колебаний. Колебаниям C–H -групп в $-\text{CH}_3$ и $-\text{CH}_2$ характерны частоты 2891 см^{-1} и 2934 см^{-1} соответственно, а также деформационные колебания C–H - групп: внутривибрационные (1104 см^{-1} и 1033 см^{-1}) и вневибрационные (822 см^{-1} , 804 см^{-1} и 730 см^{-1}). Колебание C=O - групп лактамного кольца наблюдается при 1649 см^{-1} и 1741 см^{-1} . Колебания C–S -групп при 646 см^{-1} и 616 см^{-1} , тогда как C–N дает интенсивные полосы при 1185 см^{-1} и 1105 см^{-1} , а слабое деформационное колебание C–C проявляется при 507 см^{-1} , 646 см^{-1} и 606 см^{-1} [149, 168].

В ИК-спектрах *цефотаксима натрия* наблюдаются валентные колебания связи N–H первичной аминогруппы при 3431 см^{-1} и 3344 см^{-1} , а колебания связи C–H при 2935 см^{-1} . Полосы в области 1759 см^{-1} , 1730 см^{-1} и 1647 см^{-1} связаны с валентными колебаниями связей C=O в лактамном кольце, сложном эфире и амидной группе соответственно. Асимметричные валентные колебания C=O карбоксильной группы фиксируются при 1608 см^{-1} , а симметричные колебания C=O карбоксильной группы и деформационные колебания C–H метильных групп при 1386 и 1354 см^{-1} . Валентные колебания связи C–N β -лактамного кольца наблюдаются при 1242 см^{-1} , а колебания связи C–O сложного эфира при 1047 см^{-1} [169].

ИК-спектр *стрептомицина сульфата* характеризуется полосами поглощения, отражающими различные валентные колебания. Так, полоса при

3417 cm^{-1} указывает на наличие связей O–H, а 2978 cm^{-1} соответствует колебаниям ароматической C–H связи. В диапазоне 3224 – 3214 cm^{-1} наблюдаются колебания N–H связей. Полосы при 1643 cm^{-1} и 1627 cm^{-1} относятся к валентным колебаниям C=N и C=O соответственно, а C=C связи соответствует полоса 1450 cm^{-1} [158].

ИК-спектр *неомицина сульфата* характеризуется полосами при 3410 cm^{-1} и 3240 cm^{-1} – валентные колебания N–H и O–H соответственно; при 2866 cm^{-1} фиксируются валентные колебания C–H. Амидной группе соответствуют полосы при 1629 cm^{-1} (C=O) и 1530 cm^{-1} (N–H). Колебания C–H групп при 1458 cm^{-1} , а C–O (в эфирной группе) при 1088 cm^{-1} . Полосе 766 cm^{-1} соответствуют деформационные колебания C–H в ароматическом кольце [170, 171].

В ИК-спектрах *сульфаниламида* присутствуют валентные колебания NH_2 -группы анилина при 3474 cm^{-1} , 3372 cm^{-1} и 1627 cm^{-1} . Колебаниям сульфонамидной группы соответствуют полосы 3350 cm^{-1} и 3261 cm^{-1} . Колебания SO_2 -группы наблюдаются при 1317 cm^{-1} и 1144 cm^{-1} [172].

2.5. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии

Для референтного анализа антибиотиков использовали метод ВЭЖХ с масс-спектрометрической детекцией Agilent 6230 TOF LC/MS (Agilent Technologies, США). В качестве колонки использовали Zorbax Extend-C18 (Rapid Resolution HT, 4,6 x 150 мм, 2,7 мкм), интегрированную в систему Agilent 6230 TOF LC/MS. В качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила и 1%-ного буферного раствора формиата в соотношении 30:70 при pH 4,3. Колонка поддерживалась при температуре 25 °C, объем инжектируемой пробы составлял 5 мкл, а скорость потока была установлена на уровне cm^3 /мин.

Подготовка образца к анализу: в центрифужную пробирку вместимостью 50 cm^3 вносили 10 cm^3 образца, затем добавляли 40 cm^3 раствора

подвижной фазы и тщательно перемешивали до получения однородной суспензии. Полученный гомогенат перемешивали в течение 15 минут, после чего центрифугировали при ускорении 4000 g в течение 5 минут. Далее полученный раствор последовательно очищали фильтрованием: сначала через бумажный фильтр типа «белая лента», затем через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Подготовленный фильтрат помещали в хроматографическую вialу объемом 2 см³.

Градуировочный график строили на основе площадей пиков, полученных для градуировочных растворов с различными концентрациями антибиотика. Концентрацию антибиотика в анализируемых образцах определяли с использованием полученной градуировочной зависимости.

2.6. Способ определения антибиотиков в жидкостях амперометрическими сенсорами

В методе прямой амперометрии при постоянном напряжении регистрируется зависимость силы тока от концентрации вещества в растворе [173].

Для работы была собрана система, включающая амперометрический сенсор, модифицированный молекулярно-импринтированным полимером, источник питания (QJ1803C, Китай) и мультиметр (B7-78/1, Китай) (Рис. 2.2).

Методика построения воль-амперной зависимости

Для выбора оптимального значения напряжения строили вольтамперную зависимость. Сенсор закрепляли горизонтально и подключали к схеме (Рис. 2.2). На электроды сенсора дозатором (JoanLab, Китай) наносили 10 мкл раствора антибиотика и от источника тока на электроды плавно подавали напряжение, регистрируя амперметром измерения тока. По полученным данным строили график, отображающий зависимость тока, протекающего через систему, от приложенного напряжения.



Рис. 2.2. Установка для определения антибиотиков в жидкостях амперометрическим сенсором

Способ определения антибиотиков в жидких средах

Определение антибиотика в жидкой среде выполняется следующим образом. Сначала 10 мкл холостого образца (дистиллированной воды) наносили на поверхность электрода сенсора с помощью дозатора (JoanLab, Китай) и регистрировали значение тока, протекающего через сенсор (I_1). Затем дистиллированную воду удаляли с поверхности электрода с использованием фильтровальной бумаги. После этого на электрод наносили 10 мкл анализируемого раствора и измеряли сигнал тока (I_2). Стандартные растворы анализировали последовательно, начиная с наименьшей концентрации. Для устранения влияния фона на величину сигнала рассчитывали ΔI отношение полезного сигнала анализируемого раствора к фоновому сигналу по уравнению [174, 175]:

$$\Delta I = I_2 - I_1, \quad (2.5)$$

где I_1 – значение тока, протекающего через сенсор с дистиллированной водой, мкА; I_2 – значение тока, протекающего через сенсор с анализируемым раствором, мкА.

После проведения измерений сенсор промывали дистиллированной водой, высушивали в сушильном шкафу при температуре 50 °С в течение 1 часа, что способствовало продлению срока службы сенсора.

Оценка некоторых характеристик сенсоров

Для оценки способности амперометрических МИП-сенсоров к селективному распознаванию молекул-шаблонов определяли значение импринтинг-фактора (IF) [162, 166, 176]:

$$IF = \frac{\Delta I_{\text{МИП}}}{\Delta I_{\text{НП}}}, \quad (2.6)$$

где $\Delta I_{\text{МИП}}$ – разность значения тока для МИП-сенсора, мкА; $\Delta I_{\text{НП}}$ – разность значения тока для сенсора, модифицированного неимпринтированным полимером, мкА.

Коэффициент чувствительности сенсоров определяли выражением:

$$S = \frac{\Delta I_{\text{МИП}}}{C}, \quad (2.7)$$

где C – концентрации определяемого компонента.

Для оценки влияния «матрицы» молока и сточных вод на величину аналитического сигнала применяли метод добавок. Концентрацию исследуемого антибиотика определяли с использованием следующей формулы [166, 176]:

$$C_x = \frac{\Delta I_x \cdot V_{\text{доб}} \cdot C_{\text{доб}}}{\Delta I_{x+\text{доб}} \cdot V_{\text{доб}} + (\Delta I_{x+\text{доб}} - \Delta I_x) \cdot V_x}, \quad (2.8)$$

где ΔI_x , $\Delta I_{x+\text{доб}}$ – разностное значения тока, протекающего через сенсор при контакте с анализируемым раствором и раствором с известной добавкой определяемого антибиотика соответственно; $V_{\text{доб}}$, $C_{\text{доб}}$ – соответственно объем и концентрация добавленного раствора определяемого антибиотика; V_x – объем анализируемого раствора [160, 162, 166, 176].

2.7. Селективные материалы для модификации амперометрических сенсоров

В работе использовали сополимер на основе 1,2,4,5-бензолтетракарбоновой кислоты и 4,4'-диаминодифенилоксида (ОАО МИПП НПО «Пластик», г. Москва) с молекулярной массой звена 382 г/моль и температурой разложения 525 °С [160, 162, 166, 177]. Схема синтеза полиимида представлена на рисунке 2.3 [160, 166].

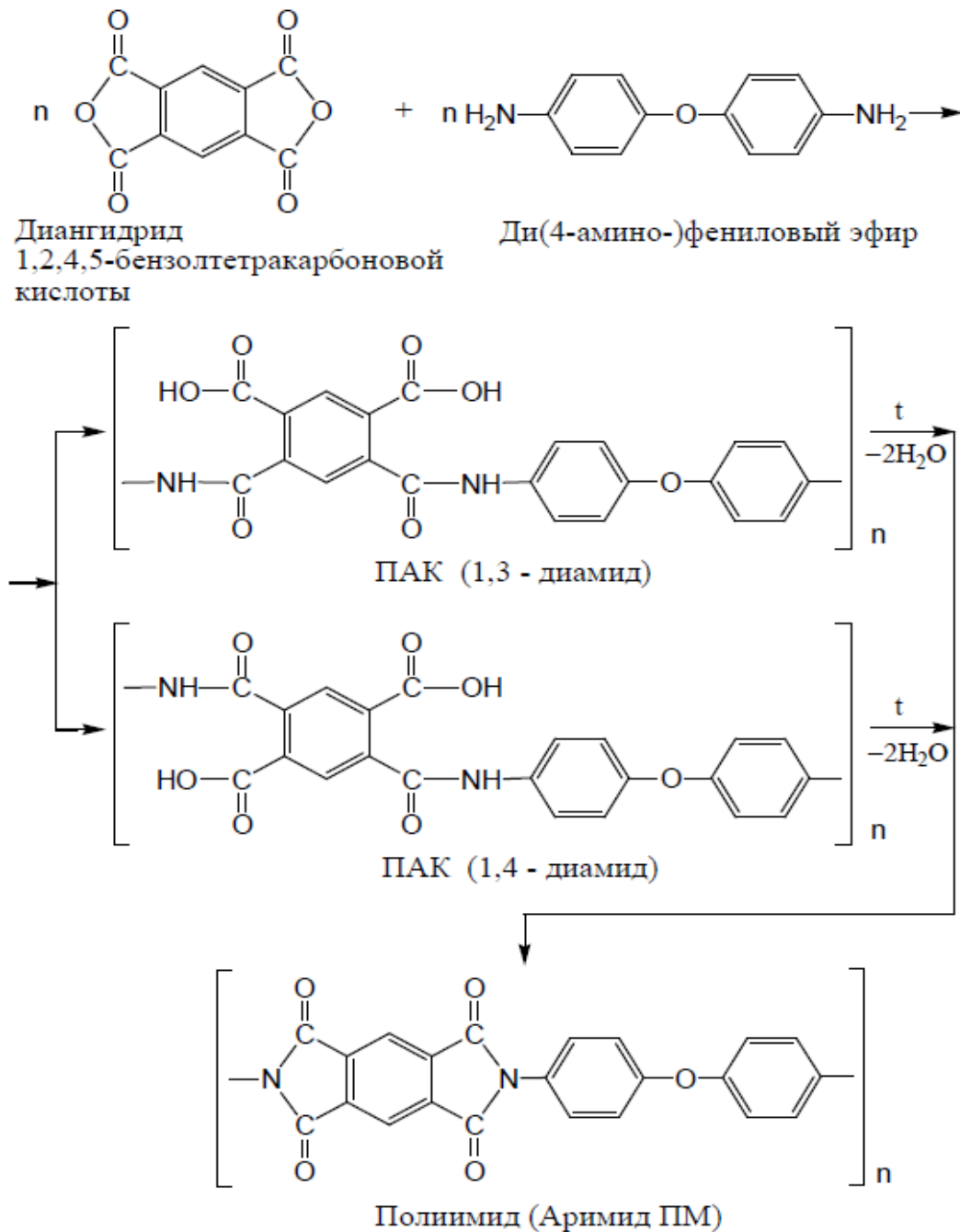


Рис. 2.3. Схема синтеза полиимида [160, 162, 166]

Предполимеризационную смесь, состоящую из сополимера и антибиотика (молекулярного шаблона) в соотношении 1:1, наносили на поверхность сенсоров. Термоимидизацию проводили в два этапа: при 80 °С в течение часа с последующим повышением температуры до 120 °С на 30 минут. После чего сенсоры охлаждали и помещали на 24 ч в дистиллированную воду для экстракции темплата из полимерной пленки. Таким образом на поверхности амперометрических сенсоров были получены пленки молекулярно-импринтированного полимера с отпечатками антибиотиков цефазолина натрия, цефуроксима натрия, цефтриаксона натрия, цефотаксима натрия, стрептомицина сульфата, неомицина сульфата и сульфаниламида. Аналогично были получены сенсоры с пленками неимпринтированного полимера (НП) [176, 178-181].

Были получены амперометрические сенсоры с отпечатками: цефазолина (МИП-Cef), цефуроксима (МИП-Cefur), цефтриаксона (МИП-Ceftr), цефотаксима (МИП-Cefot), стрептомицина сульфата (МИП-Strep), неомицина сульфата (МИП-Neo), сульфаниламида (МИП-Sulf), а также неимпринтированный полиимид (НП).

2.8. Метод сканирующей силовой микроскопии

Исследование морфологии поверхности синтезированных полимеров проводили методом сканирующего силового микроскопа на приборе «Solver P47 PRO» (ЗАО «Нанотехнология-МДТ»). Сканирование осуществлялось в полуконтактном режиме. Для этого применялся зонды NSG03 с длиной 150 ± 10 мкм и жесткостью 1,74 Н/м и NSG11/TiN. Полученные результаты были обработаны с использованием программы Фемто Скан-001 [180-183].

2.9. Сорбция антибиотиков полимерами

Способность МИП к сорбции антибиотиков исследовали с использованием установки (Рис. 2.4) с кондуктометром ССТ-3320Т (Россия). Для этого в стакан с раствором антибиотика помещали $0,1000 \pm 0,0002$ г полимера и регистрировали изменение электропроводности раствора [184, 185].

Стандартные растворы антибиотиков с концентрацией $0,10 - 0,02$ г/дм³ получали растворением точной навески в дистиллированной воде [182, 185].

Концентрацию устанавливали методом градуировочного графика. Количество сорбированного вещества рассчитывали по формуле [162, 185]:

$$A = \frac{(C_o - C_{\text{равн.}}) \cdot V}{m}, \quad (2.9)$$

где A – количество сорбированного на поверхности полимера антибиотика мг/г; C_o – исходная концентрация антибиотика в растворе, г/дм³; $C_{\text{равн}}$ – равновесная концентрация антибиотика в растворе после сорбции, г/дм³; m – масса сорбента-полимера, г; V – объем раствора, дм³ [160, 162, 185].

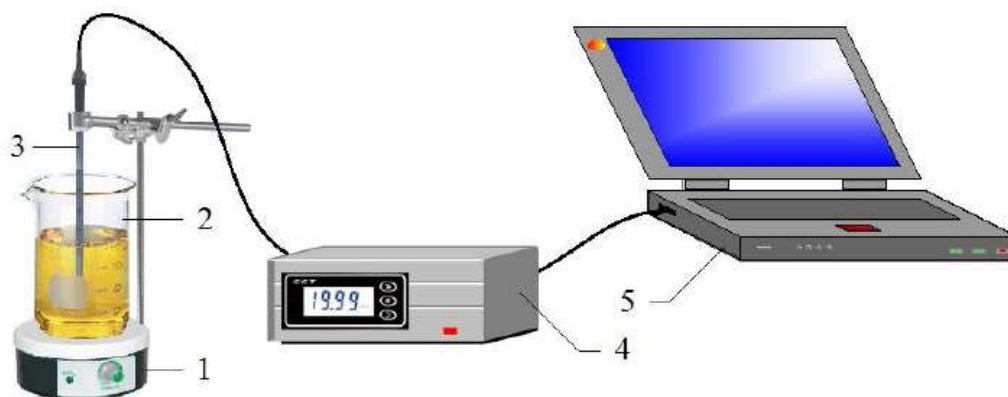


Рис. 2.4. Схема кондуктометрической установки [166, 184, 185]

1 – электромагнитная мешалка; 2 – стакан с исследуемым раствором;
3 – электрод; 4 – кондуктометр; 5 – компьютер [166, 184]

Степени извлечения (R , %) высчитывали по уравнению:

$$R, \% = \frac{(C_o - C) \cdot 100}{C_o}, \quad (2.10)$$

где C_o – концентрация антибиотиков в растворе до сорбции, г/дм³; C – концентрация в растворе после сорбции, г/дм³ [162, 185].

Коэффициенты распределения (D) определяли с использованием следующего уравнения:

$$D = \frac{R}{(100 - R)} \cdot \frac{V}{m}, \quad (2.11)$$

где m – масса навески сорбента, г; V – объем анализируемого раствора, дм^3 [162, 166, 185].

Способность молекулярно-импринтированного полимера с отпечатками антибиотков распознавать целевые молекулы оценивали с помощью импринтинг-фактора:

$$IF = \frac{D_{\text{МИП}}}{D_{\text{НП}}}, \quad (2.12)$$

где $D_{\text{МИП}}$ и $D_{\text{НП}}$ – соответственно коэффициент распределения вещества для молекулярно-импринтированного полимера и неимпринтированного полимера [162, 166, 185].

Коэффициент десорбции (K , %) рассчитывается по формуле [186]:

$$K, \% = \frac{A_1 \cdot 100}{A}, \quad (2.13)$$

где A_1 – количество десорбированного с поверхности полимера антибиотика, мг/г; A – количество сорбированного на поверхность полимера антибиотика, мг/г.

2.10. Статистическая обработка результатов

Точность и надежность полученных результатов оценивали с помощью методов математической статистики для малых выборок [187].

Для характеристики рассеяния данных измерений применяли стандартное отклонение (S), вычисляемое по следующей формуле [160, 162]:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}, \quad (2.14)$$

где x_i – результат единичного измерения; \bar{x} – среднее арифметическое исследуемой величины; n – количество параллельных измерений [162, 166].

Относительное стандартное отклонения S_r определяли по формуле [160, 162, 166]:

$$S_r = \frac{S}{x} \cdot 100. \quad (2.15)$$

Полуширина доверительного интервала ε , характеризующая точность измерений, была рассчитана по формуле [160, 162, 166]:

$$\varepsilon = \pm \frac{t_{P,f} \cdot S}{\sqrt{n}}, \quad (2.16)$$

где t – коэффициент Стьюдента [166], вероятность $P = 0,95$, $f = n - 1$ – число степеней свободы [166, 188]:

Различия в дисперсиях (квadrатах стандартных отклонений S^2_1 и S^2_2) между двумя рядами данных проверяли на статистическую значимость с использованием F-критерия Фишера. Значение критерия F вычисляли по [160, 162, 166]:

$$F = \frac{S^2_1}{S^2_2}. \quad (2.17)$$

Полученное значение F сравнивали с табличным значением $F_{\text{табл.}}$ для заданной доверительной вероятности. Если $F < F_{\text{табл.}}$, то различия между дисперсиями считались статистически незначимыми [188].

Среднее стандартное отклонение S_p рассчитывали с использованием следующего выражения [162, 166]:

$$S_p = \sqrt{S_p^2} = \sqrt{\frac{f_1 \cdot S^2_1 + f_2 \cdot S^2_2}{f_1 + f_2}}, \quad (2.18)$$

где $f_1 = n_1 - 1$ и $f_2 = n_2 - 1$ – числа степеней свободы соответствующих дисперсий; $f = f_1 + f_2$ – число степеней свободы [160, 162, 166].

Для сравнения средних значений использовали t-тест Стьюдента [160, 162, 166].

$$t_{P,f} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{S_p} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}}. \quad (2.19)$$

Различие между x_1 и x_2 – считается незначимым, если $t_{P,f} < t_{\text{табл.}}$ [162, 166].

Глава 3. ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ СВОЙСТВ АНТИБИОТИКОВ

Для получения молекулярно-импринтированных полимеров необходимо, чтобы структура молекулы-шаблона сохраняла стабильность на стадии предполимеризации [189], в связи с этим в работе рассмотрены некоторые свойства антибиотиков. На устойчивость их структуры могут влиять, в частности: температура, pH, растворитель и др. [190, 191]. Поэтому исследование влияния температуры на структуру антибиотика является необходимым этапом для процесса синтеза.

При нагревании цефазолина натрия (при температурах 22 °С, 120 °С и 200 °С) происходит изменение ИК-спектра антибиотика (Табл. 3.1, Рис. 3.1). Так при 22 °С ИК-спектр содержит полный набор характеристических полос поглощения, соответствующих функциональным группам антибиотика. После нагревания образца до 120 °С в ИК-спектре присутствуют пики, относящиеся к колебаниям N–H (3284 см⁻¹ и 3288 см⁻¹) и C=O в β-лактамном кольце (1755 см⁻¹, 1751 см⁻¹), C=O амидной группы (1670 см⁻¹, 1674 см⁻¹) и C=C ароматического кольца (1596 см⁻¹, 1606 см⁻¹ и 1485 см⁻¹, 1487 см⁻¹), хотя интенсивность полос поглощения уменьшается, структура молекулы не меняется. Однако на ИК-спектрах антибиотика нагретого при 200 °С эти полосы поглощения полностью исчезают: пики, характерные для группы N–H, C=O больше не наблюдаются, что указывает на разложение этих функциональных групп. Если при 22 °С группе COO⁻ свойственны колебания при 1596 см⁻¹ и 1368 см⁻¹, то при 120 °С эти полосы смещаются до 1616 см⁻¹ и 1373 см⁻¹, а при 200 °С остается лишь слабая полоса при 1362 см⁻¹, что указывает на разрушение или превращение карбоксилатной группы. Кроме того, полоса деформационных колебаний N–H вторичного амида постепенно смещается от 1541 см⁻¹ при 22 °С до 1506 см⁻¹ при 200 °С, что указывает на изменение водородных связей. Для колебаний связи C–N при 22 °С характерен

интервал $1240 - 1062 \text{ см}^{-1}$; при нагревании до $120 \text{ }^\circ\text{C}$ данная полоса смещается в область $1193 - 1033 \text{ см}^{-1}$ и одновременно снижается ее интенсивность, тогда как при $200 \text{ }^\circ\text{C}$ она фиксируется в диапазоне $1204 - 1024 \text{ см}^{-1}$, что отражает более высокую термостойкость связи C–N по сравнению с C=O и COO^- . Эти изменения свидетельствуют о термическом разложении цефазолина натрия, особенно разрушении β -лактамного кольца при $200 \text{ }^\circ\text{C}$ (Рис. 3.2).

Таблица 3.1.

Частоты колебаний групп атомов в цефазолине натрия при разных температурах

Отнесение колебаний	Частота колебания ν , см^{-1}			
	[167, 192]	22 $^\circ\text{C}$	120 $^\circ\text{C}$	200 $^\circ\text{C}$
Валентные колебания групп N–H	3500-3300	3284	3288	-
Валентные колебания C=O (карбоксильной группы или β -лактамного кольца)	1760-1700	1755	1751	-
Валентные колебания C=O (амидной группы)	1680-1630	1674	1670	-
Колебание COO^- (карбоксилатной группы)	1600-1400	1596, 1368	1609, 1373	1362
Валентные колебания C=C (ароматической группы)	1600, 1500	1596, 1485	1609, 1487	-
Колебание вторичной амидной группы N–H	1640-1530	1541	1525	1506
Валентные колебания группы C–N	1350-1000	1240, 1184, 1099, 1062	1193, 1159, 1083, 1033	1204, 1128, 1055, 1024

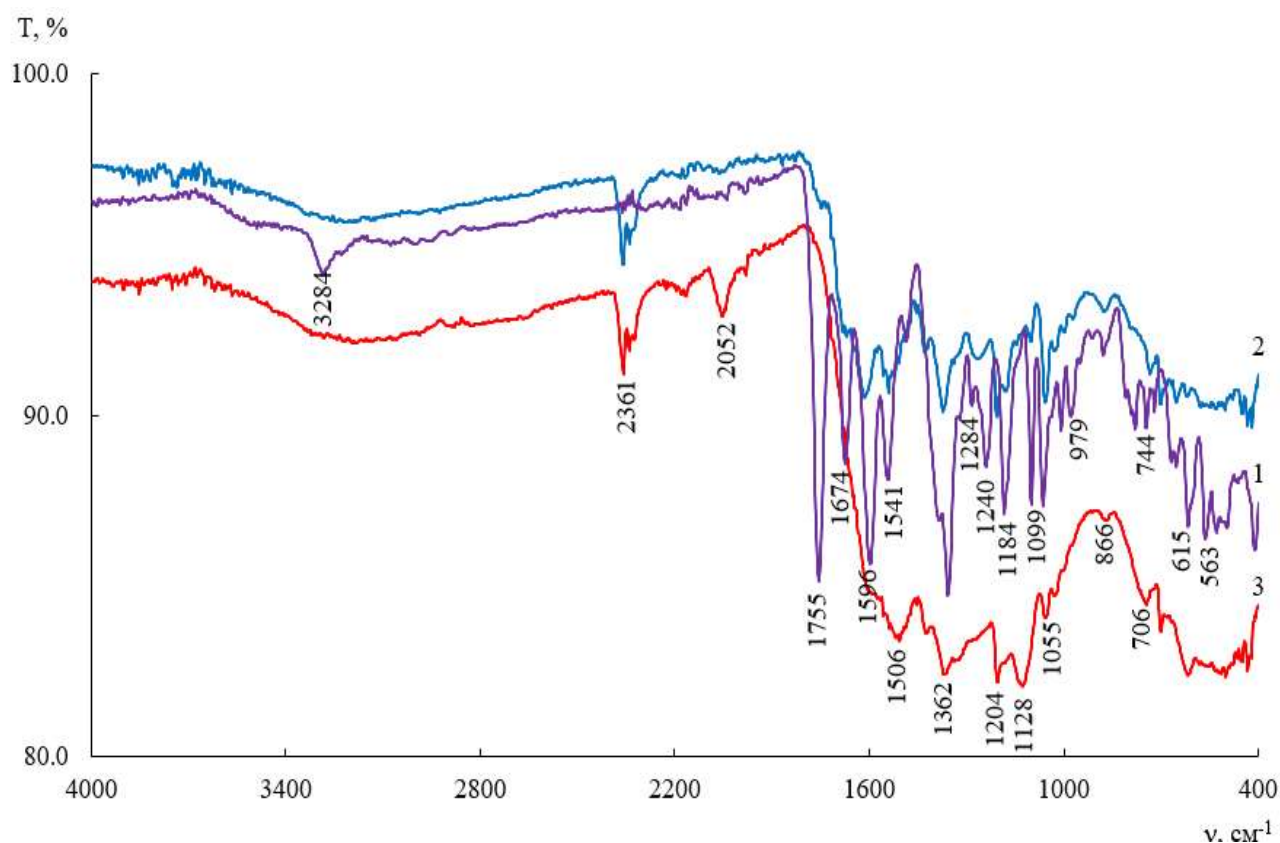


Рис. 3.1. ИК-спектры цефазолина натрия при разных температурах

1 – 22 °С; 2 – 120 °С; 3 – 200 °С

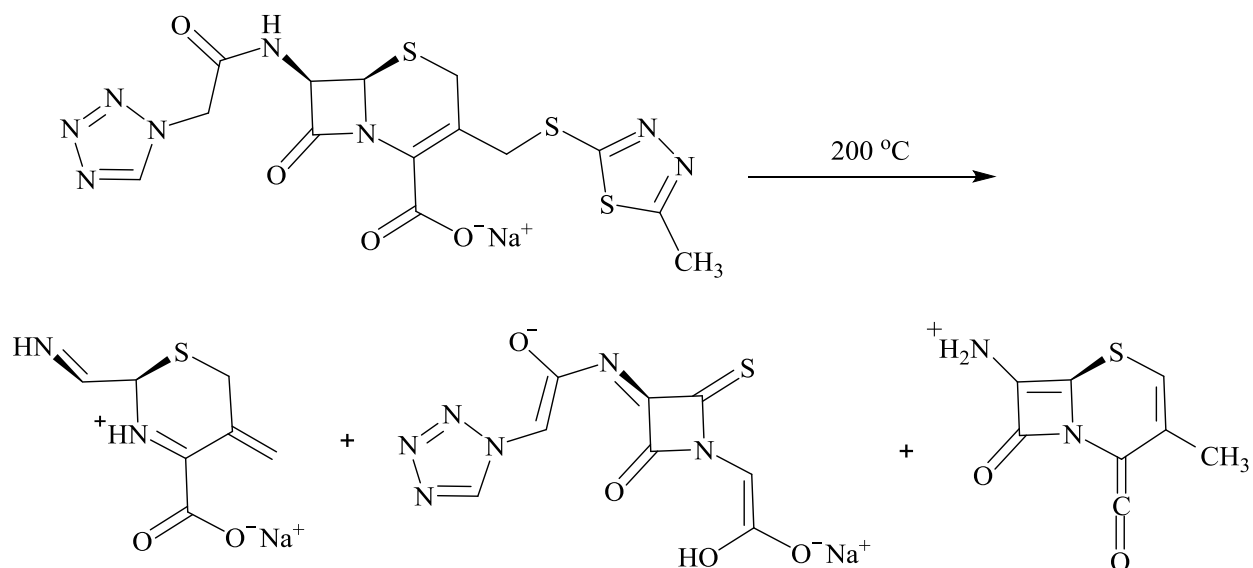


Рис. 3.2. Разложения цефазолина натрия под действием температуры [193]

На инфракрасных спектрах сульфата стрептомицина, подвергнутого нагреванию при 22 °С, 120 °С и 200 °С, установлены изменения, отражающие процесс дегидратации и термического разложения образца (Табл. 3.2 и Рис. 3.3). Так при температуре 120 °С смещение пика валентных колебаний

N–H с 3165 см^{-1} до 3169 см^{-1} свидетельствует о том, что водородные связи ослабевают или разрываются из-за дегидратации, в то время как другие функциональные группы, такие как C=O (1622 см^{-1}) и C=C ароматического кольца (1456 см^{-1}), сохранили стабильность.

Таблица 3.2.

Частоты колебаний групп атомов в стрептомицине сульфата при разных температурах

Отнесение колебаний	Частота колебания ν , см^{-1}			
	[158, 194]	22 °C	120 °C	200 °C
Валентные колебания N–H	3500-3100	3165	3169	3182
Валентные колебания C=O	1697-1627	1622	1622	1616
Валентные колебания C=C ароматического кольца	1470-1450	1456	1456	1456
Валентные колебания C–O–N	1260-1180	-	-	1211
Валентные колебания C–O–C (эфирная связь)	1200-1000	1033	1038	1042

Однако при повышении температуры до 200 °C разложение стрептомицина становится очевидным: пик N–H продолжает смещаться до 3182 см^{-1} , пик C=O смещается до 1616 см^{-1} , что отражает изменение химического окружения карбонильной группы; и особенно появление нового пика 1211 см^{-1} , вероятно, связано с изменением структуры молекулы, вызванным повышением температуры, что приводит к усилению или сдвигу колебаний связи C–O. В то же время частоты колебаний ароматической группы C=C не изменились с повышением температуры, что свидетельствует о термической стабильности ароматического каркаса по сравнению с другими функциональными группами в молекуле.

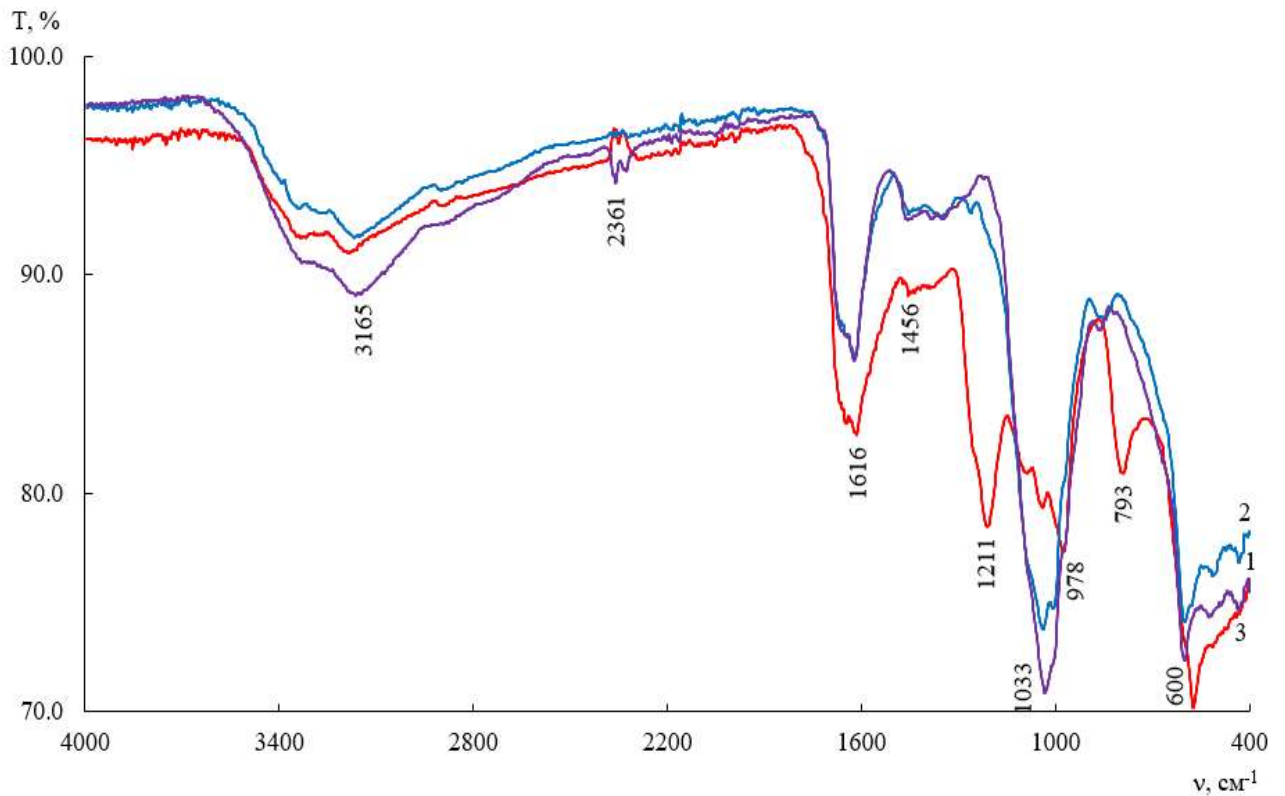


Рис. 3.3. ИК-спектры стрептомицина сульфата при разных температурах
1 – 22 °С; 2 – 120 °С; 3 – 200 °С

Анализ ИК-спектров сульфаниламида (Рис. 3.4), полученных после нагревания антибиотика при 22 °С, 120 °С и 200 °С показал, что повышение температуры приводит к изменению структуры молекулы (Табл. 3.3). Так, для полосы N–H в группе $-\text{SO}_2\text{NH}-$ наблюдается смещение с 3265 см^{-1} (22 °С) до 3238 см^{-1} (120 °С) и 3215 см^{-1} (200 °С). Частоты деформационных колебаний N–H также смещаются с 1625 см^{-1} (22 °С) до 1601 см^{-1} (200 °С), что указывает на ослабление или частичное разрушение водородных связей при повышении температуры. Наряду с этим наблюдается смещение характеристических полос, соответствующих колебаниям бензольного кольца, с 1504 см^{-1} до 1469 см^{-1} при 200 °С, что может быть связано с изменением химического окружения или π - π взаимодействиями. Другие функциональные группы обладают различной термической стабильностью при повышении температуры. Так группе SO_2 соответствуют колебания в областях $1304 - 1306\text{ см}^{-1}$ и $1140 - 1146\text{ см}^{-1}$ при различных температурах. Характеристическая частота колебания группы $-\text{NH}_2$ (1093 см^{-1}), смещается до

1088 cm^{-1} , а частоты колебаний S–N группы увеличивается с 889 cm^{-1} до 901 cm^{-1} . Внеплоскостные колебания бензольного кольца (822 – 825 cm^{-1}) практически не изменяются под действием температуры, подтверждая стабильность структуры кольца.

Таблица 3.3.

Частоты колебаний групп атомов в сульфаниламиде при разных температурах

Отнесение колебаний	Частота колебания ν , cm^{-1}			
	[195-197]	22 °C	120 °C	200 °C
Валентное колебание N–H (группы –SO ₂ NH–)	3280-3250	3265	3238	3215
Деформационные колебания группы –NH ₂ в плоскости	1650-1600	1625, 1593	1624, 1593	1601, 1593
Колебание бензольного кольца	1600-1500	1504	1504	1469
Асимметричное валентное колебание SO ₂	1350-1290	1304	1306	1304
Симметричное валентное колебание SO ₂	1180-1140	1144	1146	1140
Колебание группы –NH ₂	1125-1080	1093	1093	1088
Валентное колебание связи S–N	938-890	889	897	901
Внеплоскостное колебание (пара-замещенный бензол)	860-810	822	824	825

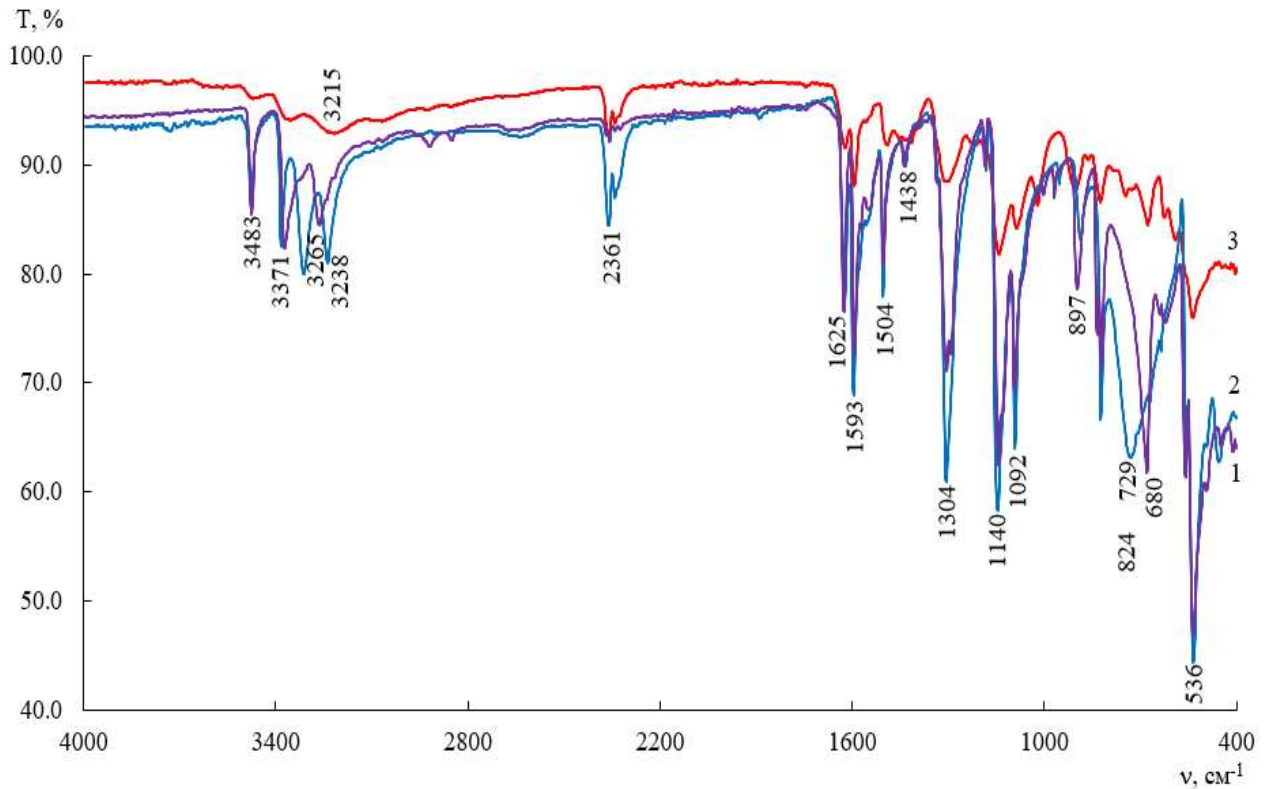


Рис. 3.4. ИК-спектры сульфаниламида при разных температурах

1 – 22 °С; 2 – 120 °С; 3 – 200 °С

Таким образом, результаты анализа ИК-спектров показали, что структуры молекул: цефазолина натрия, стрептомицина сульфат и сульфаниламида изменяются при повышении температуры. Синтез МИП с использованием этих антибиотиков в качестве шаблонных молекул следует проводить при температуре, не превышающей 120 °С. При этой температуре функциональные группы антибиотиков остаются стабильными, хотя и наблюдаются незначительные изменения в связях и некоторые смещения полос поглощения. Повышение температуры до 200 °С приводит к термическому разложению антибиотиков, что делает их непригодными для синтеза МИП.

В процессе разработки новых способов определения содержания антибиотиков в пищевых продуктах необходимо исследование их физико-химических свойств, особенно кислотно-основных характеристик. При этом

определение константы протолиза (рК) имеет важное значение, поскольку в настоящее время они не для всех антибиотиков определены [150].

Значение длины волны, при которой наблюдается максимальная оптическая плотность (λ_{\max}) и коэффициент поглощения (ϵ) антибиотиков при различных рН представлены в таблице 3.4.

Таблица 3.4.

Значение λ_{\max} и ϵ антибиотиков для некоторых величин рН

Антибиотик	рН	λ_{\max} , нм	$\epsilon \cdot 10^4$	Антибиотик	рН	λ_{\max} , нм	$\epsilon \cdot 10^4$
Цефтриаксон натрия	1,52	270	2,68	Цефотаксим натрия	1,55	263	2,38
	5,65	242	3,87		5,78	235	2,77
	12,98	250	4,56		12,79	235	2,15
Цефазолин натрия	1,44	275	1,84	Цефуроксим натрия	1,47	280	2,58
	5,32	272	1,90		5,69	275	2,35
	12,85	288	1,18		12,91	280	2,16

По уравнениям 2.1 – 2.4 рассчитаны рК для некоторых антибиотиков цефалоспоринового ряда (Табл. 3.5).

Цефтриаксон натрия характеризуется тремя значениями констант протолиза рК, которые отражают процессы протонирования и диссоциации ее функциональных групп. В частности, значение рК 2,80 соответствует диссоциации карбоксильной группы ($-\text{COOH}$), что указывает на ее сильные кислотные свойства и способность легко отдавать протон даже в слабокислой среде. Величина рК 3,61 соответствует диссоциации группы окситриазинона, которая проявляет более слабые кислотные свойства по сравнению с карбоксильной группой. Значение рК 4,31 отражает процесс протонирования тиазольного кольца, указывая на его слабое основное свойство.

Таблица 3.5.

Величины рК функциональных групп антибиотиков цефалоспоринов

Антибиотик	рК	Форма иона
Ceftr	2,80	Диссоциация карбоксильной группы
	3,61	Диссоциация окситриазиноновой группы
	4,31	Протонирование тиазольного цикла
Cef	3,02	Диссоциация карбоксильной группы
Cefot	2,72	Диссоциация карбоксильной группы катиона с образованием биполярного иона
	4,04	Диссоциация протона, координированного аминотиазольной группой, с образованием аниона
Cefur	2,69	Диссоциация карбоксильной группы

Данные УФ-спектроскопии показывают изменения электронной структуры Ceftr в зависимости от рН, четко отражая его ионизационное состояние (Рис. 3.5, 3.6).

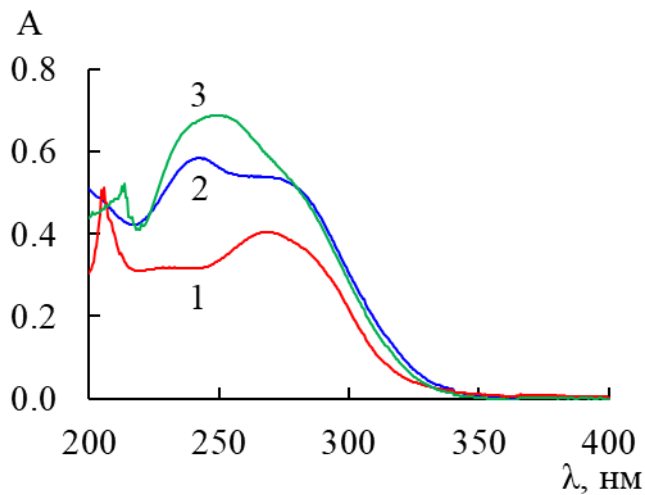


Рис. 3.5. Спектры поглощения водных растворов Ceftr при различных рН
1 – рН 1,52; 2 – рН 5,65; 3 – рН 12,98

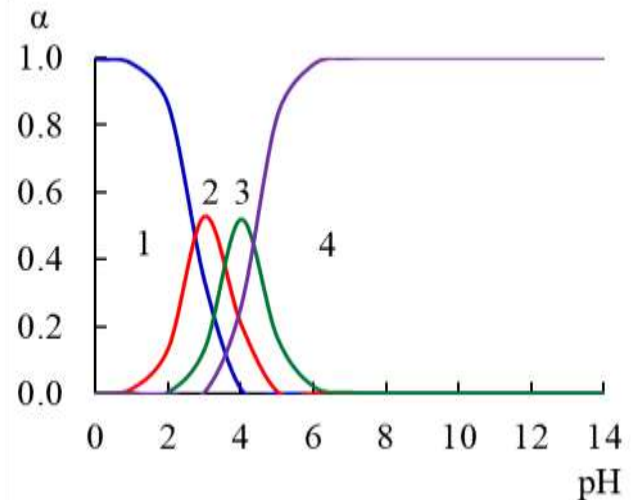


Рис. 3.6. Диаграмма распределения ионных форм цефтриаксона натрия
1 – H_3L^+ ; 2 – H_2L^\pm ; 3 – HL^- ; 4 – HL^{2-}

Значения pK цефазолина натрия и цефуроксима натрия составляют 3,02 и 2,69 соответственно, что связано с диссоциацией карбоксильной группы ($-COOH$) в молекулярной структуре. Это наглядно иллюстрируется в УФ-спектрах поглощения и диаграммах распределения ионных форм при различных значениях pH , показывающих переход обоих антибиотиков из неионизированной формы (HL) в ионизированную форму (L^-) при увеличении pH (Рис. 3.7 – 3.10).

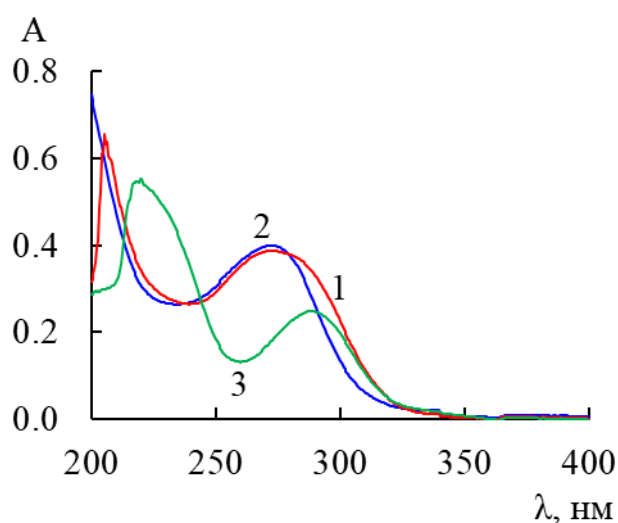


Рис. 3.7. Спектры поглощения водных растворов Cef при различных pH
1 – pH 1,44; 2 – pH 5,32; 3 – pH 12,85

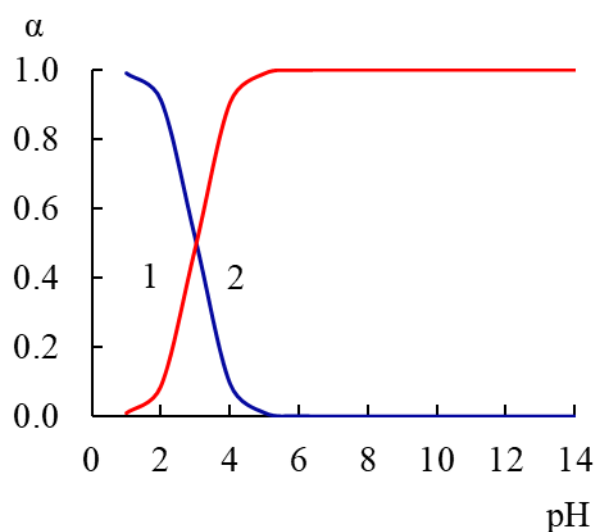


Рис. 3.8. Диаграмма распределения ионных форм цефазолина натрия
1 – HL ; 2 – L^-

Из данных в таблице 3.5 и на рисунках 3.11 и 3.12 видно, что цефотаксим натрия имеет два значения pK . $pK = 2,72$ связано с диссоциацией карбоксильной группы, при которой катион H_2L^+ теряет протон с образованием биполярного иона HL^\pm , а $pK = 4,04$ отражает процесс высвобождения протона из аминотиазольной группы с образованием аниона L^- .

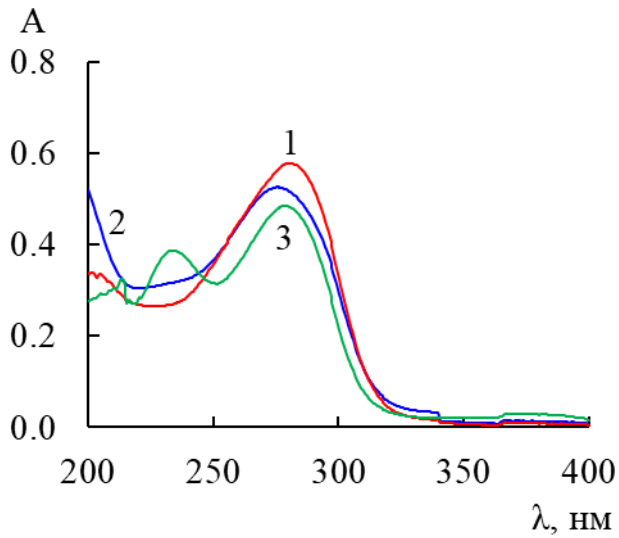


Рис. 3.9. Спектры поглощения водных растворов Cefur при различных рН
1 – рН 1,47; 2 – рН 5,69; 3 – рН 12,91

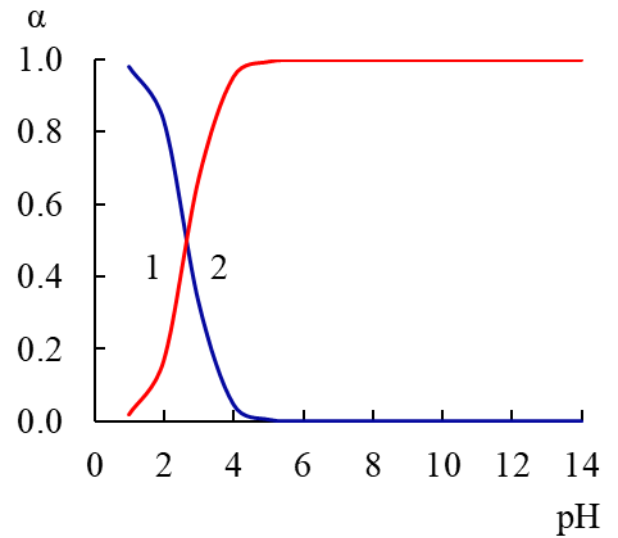


Рис. 3.10. Диаграмма распределения ионных форм цефуроксима натрия
1 – HL; 2 – L^-

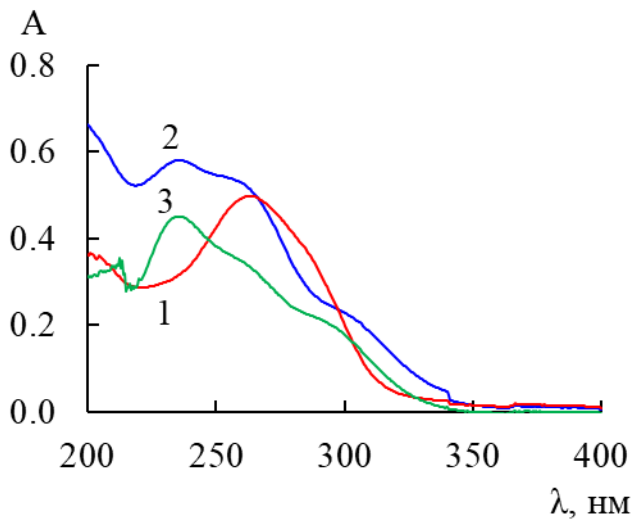


Рис. 3.11. Спектры поглощения водных растворов Cefot при различных рН
1 – рН 1,55; 2 – рН 5,78; 3 – рН 12,79

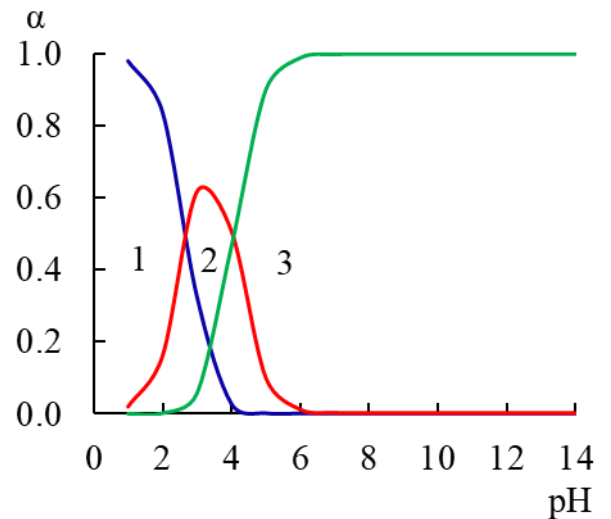


Рис. 3.12. Диаграмма распределения ионных форм цефотаксима натрия
1 – H_2L^+ ; 2 – HL^\pm ; 3 – L^-

Таким образом, полученные значения рК являются основой для разработки методов определения антибиотиков в пищевых продуктах.

Заключение к главе 3

Проведенный анализ инфракрасных спектров антибиотиков показал, что повышение температуры приводит к изменению их молекулярной структуры. При температуре до 120 °С основные функциональные группы сохраняют свою структуру, что свидетельствует о термической устойчивости соединений в этих условиях. Однако при дальнейшем повышении температуры до 200 °С наблюдается разрушение связей, что указывает на термическое разложение молекул. У цефазолина натрия наблюдается разрушение β -лактамного кольца при 200 °С. Для стрептомицина сульфата установлено, что при 200 °С происходят существенные изменения в связях С–О и С=О, тогда как ароматическое кольцо сохраняет стабильность. В случае сульфаниламида повышение температуры вызывает ослабление водородных связей и смещение полос N–H. Это указывает на то, что термическая обработка существенно влияет на стабильность антибиотиков. Таким образом, синтез молекулярно-импринтированных полимеров целесообразно проводить при температуре ниже точки разложения шаблонов.

В работе по данным спектроскофотометрии рассчитаны константы ионизации (рК) функциональных групп молекул антибиотиков: цефтриаксона натрия, цефазолина натрия, цефуроксима натрия и цефотаксима натрия. Полученные значения рК отражают кислотно-основные свойства функциональных групп, таких как –COOH, окситриазинон и тиазольное кольцо в структуре цефалоспориновых антибиотиков, что указывает на различную степень ионизации в зависимости от рН среды.

Глава 4. ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ СЕЛЕКТИВНЫХ МАТЕРИАЛОВ СЕНСОРОВ

4.1. Анализ ИК-спектров полученных полимеров

Молекулярно-импринтированные полимеры синтезируют на основе различных материалов, в том числе полиимидов. Благодаря высокой термостабильности, химической устойчивости и механической прочности полиимиды занимают особое положение среди полимерных материалов, способных к селективному поглощению целевых веществ [114, 130, 162]. В связи с этим исследование свойств данных материалов является необходимым.

Структурно-групповой анализ полиимида и молекулярно-импринтированных полиимидов с отпечатками антибиотиков методом ИК-спектроскопии показал наличие минимума в области $3300 - 3000 \text{ см}^{-1}$ всех исследованных полимеров, соответствующего колебаниям ассоциированных аминных групп ($-\text{NH}$), обусловлено образованием водородных связей между аминными группами и водой [182, 198].

Фрагменты ИК-спектров представлены на рисунках 4.1 – 4.7, а полные спектры – в Приложении А (Рис. А.1 – А.7). Характеристические частоты колебаний функциональных групп исследуемых полимеров приведены в таблицах 4.1 и Приложении А (Табл. А.1 – А.6).

В ИК-спектрах полимеров присутствуют характеристические полосы поглощения, указывающие на присутствии имидных циклов. Диапазоны $1730 - 1690 \text{ см}^{-1}$ и $1790 - 1740 \text{ см}^{-1}$ отвечают симметричным и асимметричным валентным колебаниям карбонильных групп ($\text{C}=\text{O}$) в имидных циклах. О наличии водородной связи между молекулами воды и карбоксильной группой в полиимидах свидетельствует полосы в области $1390 - 1360 \text{ см}^{-1}$. Колебания между молекулами воды и аминной группой наблюдаются в области $1650 - 1550 \text{ см}^{-1}$.

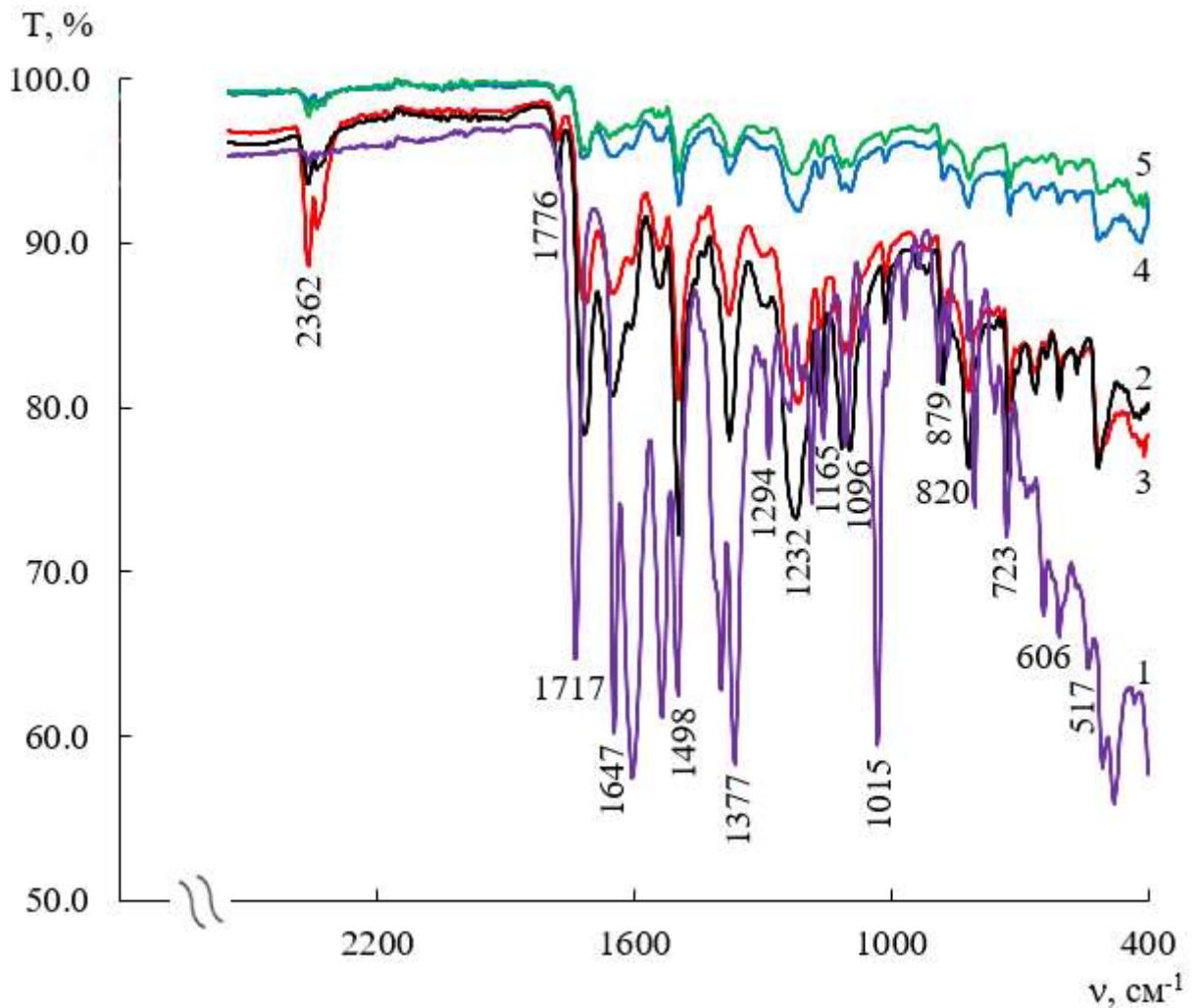


Рис. 4.1. ИК-спектры полимерных пленок

- 1 – цефтриаксон натрия; 2 – полиимид; 3 – полиимид с сорбированным цефтриаксоном натрия; 4 – полимер до удаления отпечатка;
5 – молекулярно-импринтированный полимер

Также присутствуют полосы поглощения, обусловленные колебаниями бензольного кольца $1530 - 1475 \text{ см}^{-1}$, а также $1250 - 950 \text{ см}^{-1}$ и $900 - 690 \text{ см}^{-1}$, плоскостные и внеплоскостные деформационные колебания связи C–H, соответственно. Полосы в диапазонах $1020 - 890 \text{ см}^{-1}$ и $750 - 650 \text{ см}^{-1}$, соответствуют деформационным колебаниям связи O–H.

В диапазоне $1320 - 1210 \text{ см}^{-1}$ присутствуют частоты колебаний –C–O. Минимум 620 см^{-1} относится к деформационным колебаниям связи O=C–N (амид IV), которые отражают взаимодействие валентных колебаний связей C–N и C=O [162, 166, 199, 200].

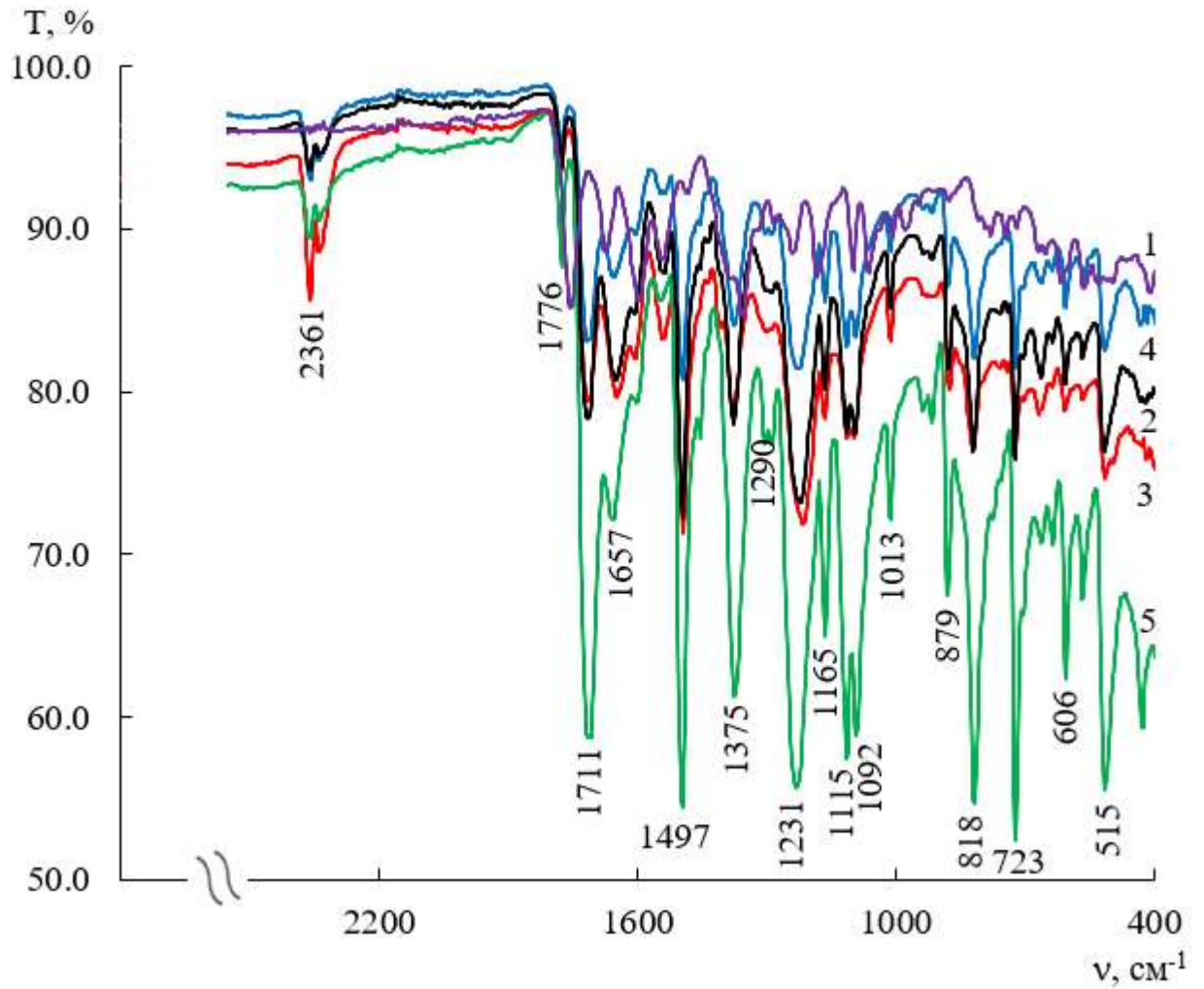


Рис. 4.2. ИК-спектры полимерных пленок

- 1 – цефазолин натрия; 2 – полиимид; 3 – полиимид с сорбированным цефазолином натрия; 4 – полимер до удаления отпечатка; 5 – молекулярно-импринтированный полимер

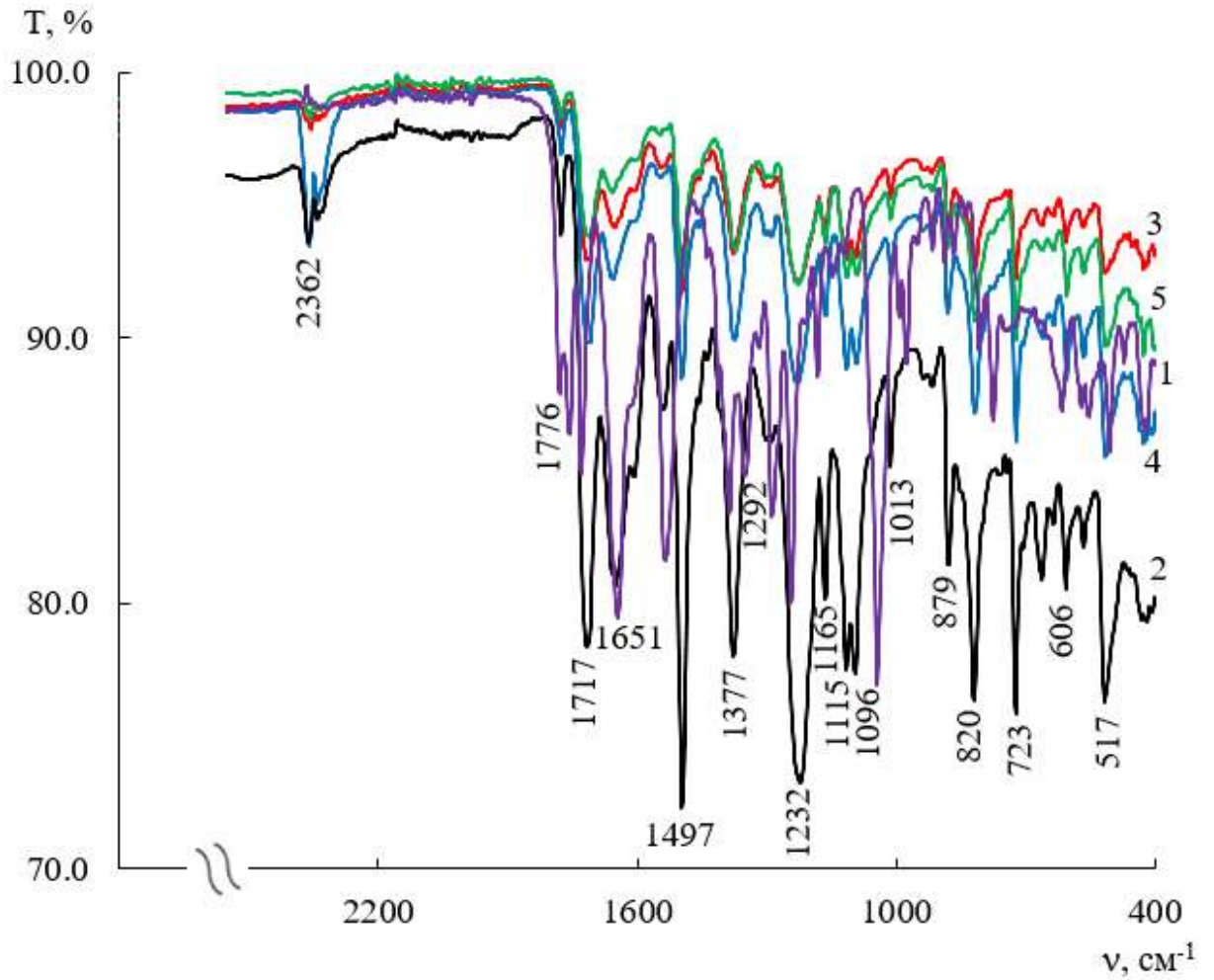


Рис. 4.3. ИК-спектры полимерных пленок

- 1 – цефотаксим натрия; 2 – полиимид; 3 – полиимид с сорбированным цефотаксимом натрия; 4 – полимер до удаления отпечатка;
5 – молекулярно-импринтированный полимер

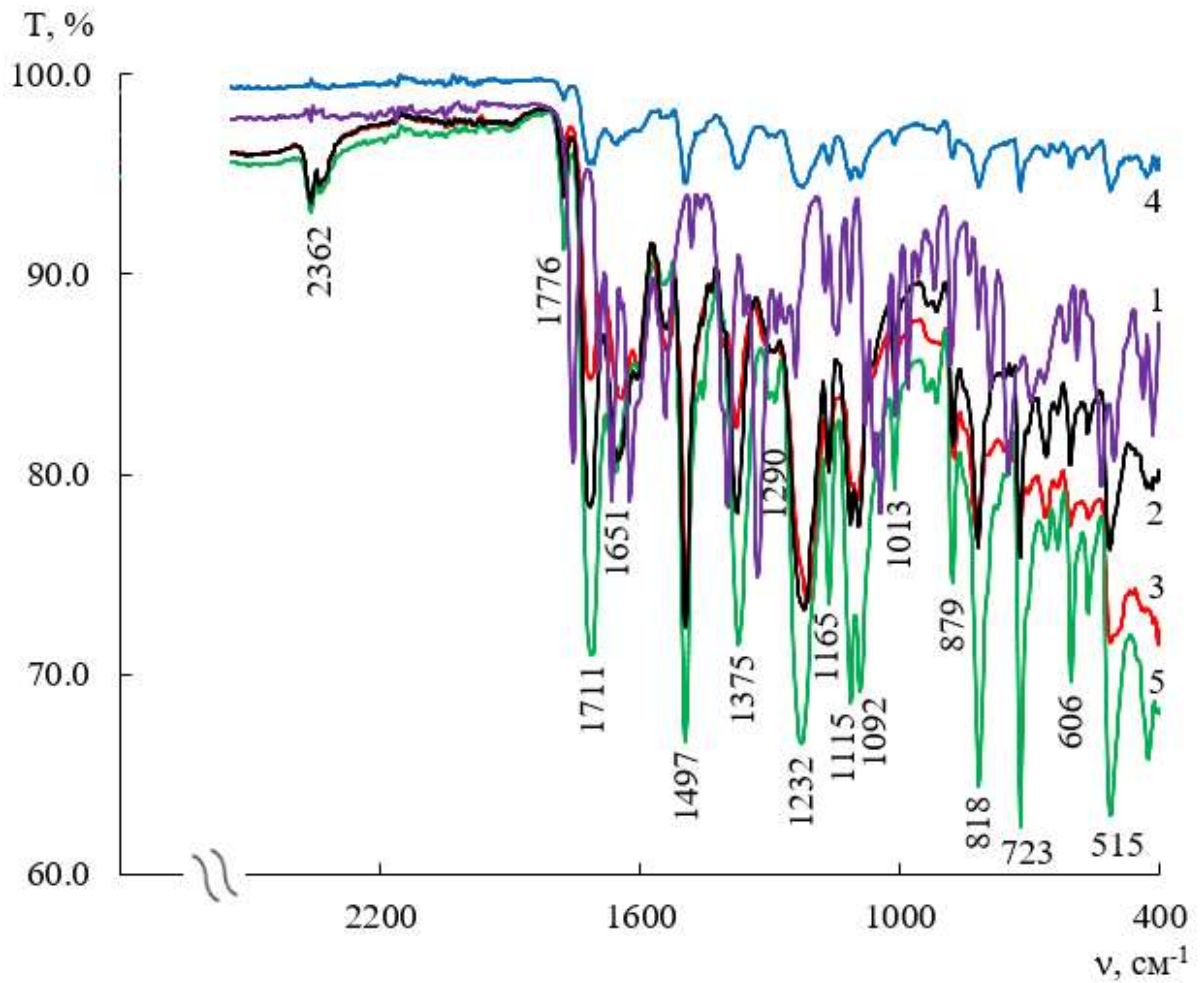


Рис. 4.4. ИК-спектры полимерных пленок

- 1 – цефуроксим натрия; 2 – полиимид; 3 – полиимид с сорбированным цефуроксимом натрия; 4 – полимер до удаления отпечатка;
5 – молекулярно-импринтированный полимер

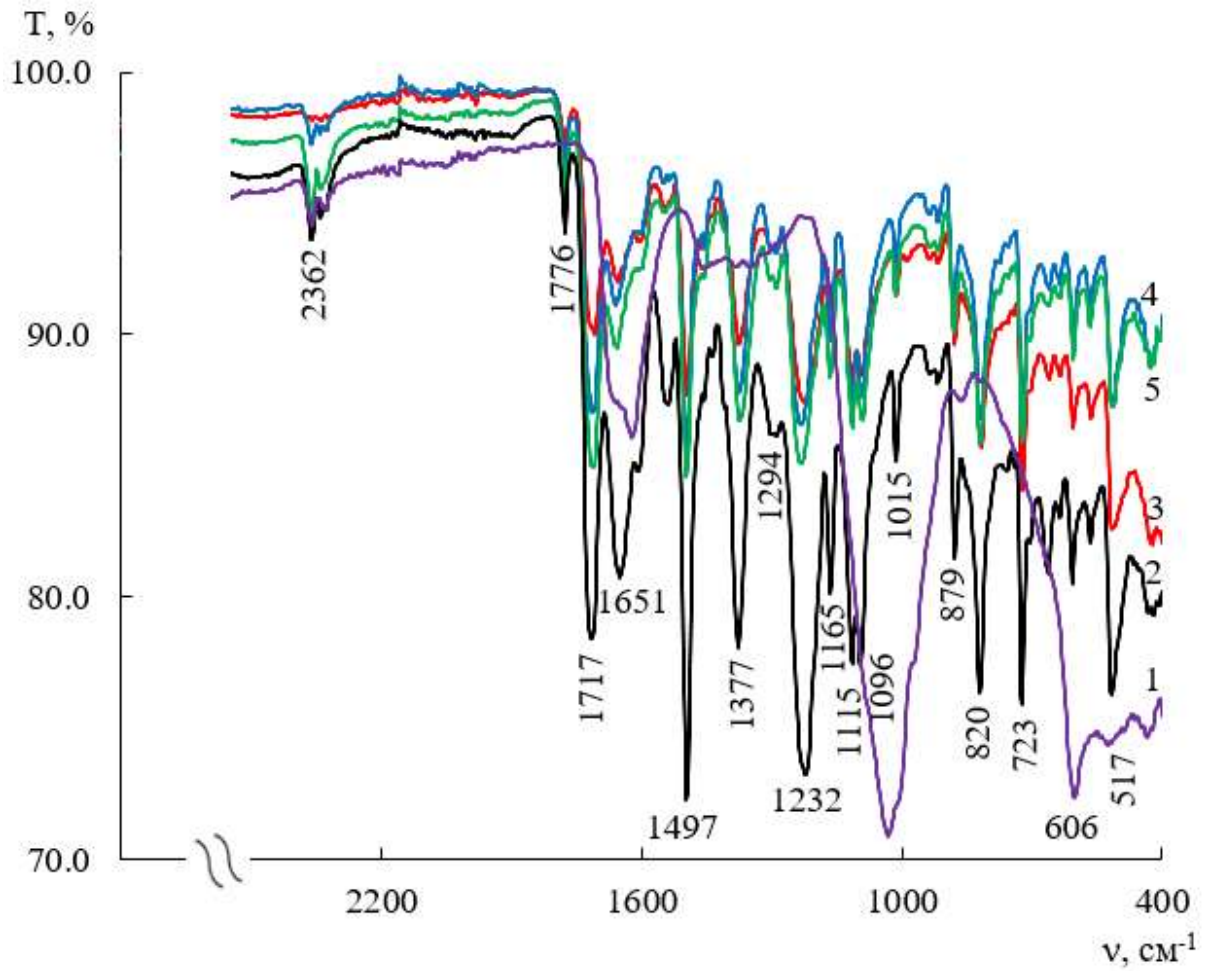


Рис. 4.5. ИК-спектры полимерных пленок

- 1 – стрептомицина сульфат; 2 – полиимид; 3 – полиимид с сорбированным стрептомицином сульфата; 4 – полимер до удаления отпечатка; 5 – молекулярно-импринтированный полимер

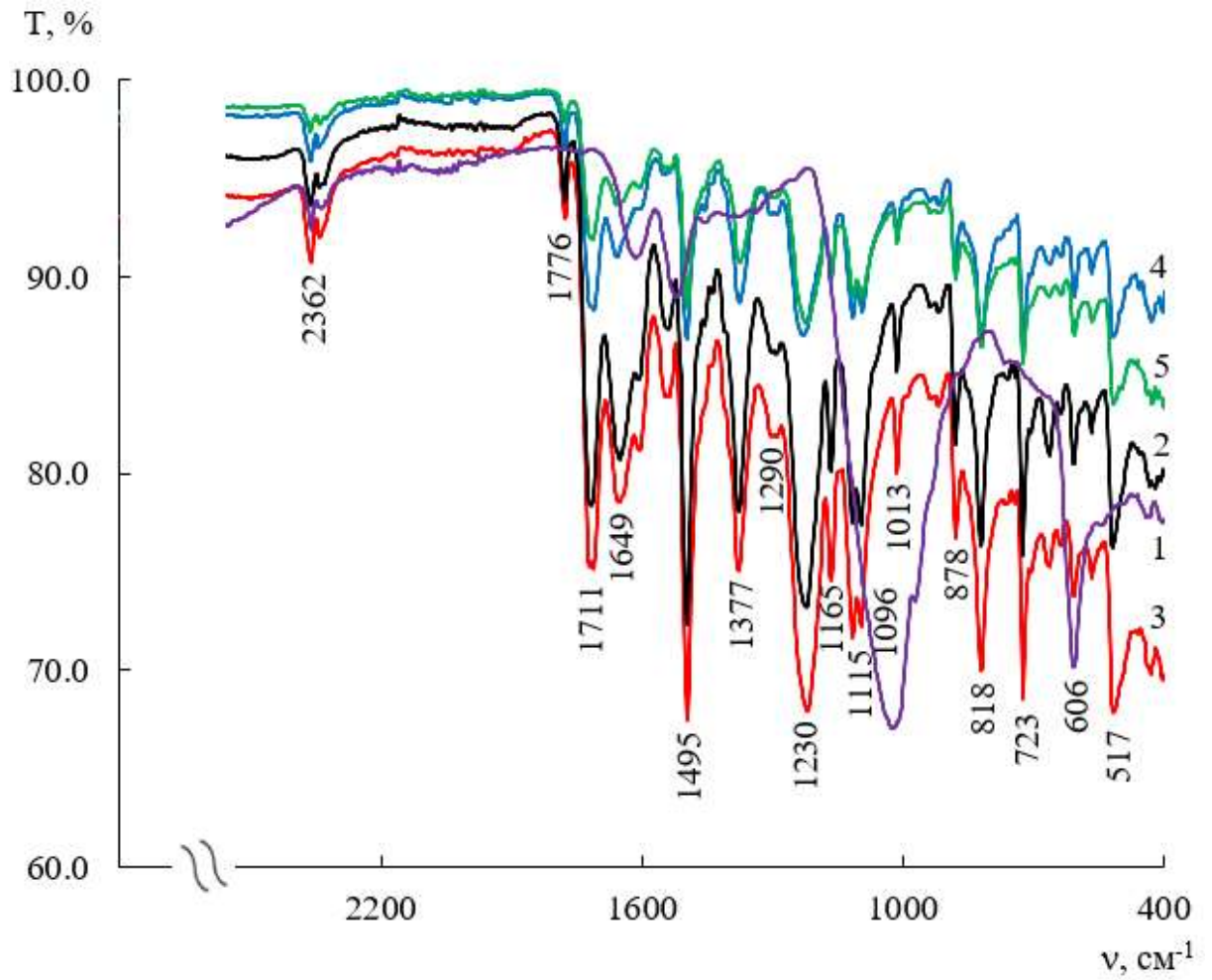


Рис. 4.6. ИК-спектры полимерных пленок

- 1 – неомицина сульфат; 2 – полиимид; 3 – полиимид с сорбированным неомицином сульфата; 4 – полимер до удаления отпечатка;
5 – молекулярно-импринтированный полимер

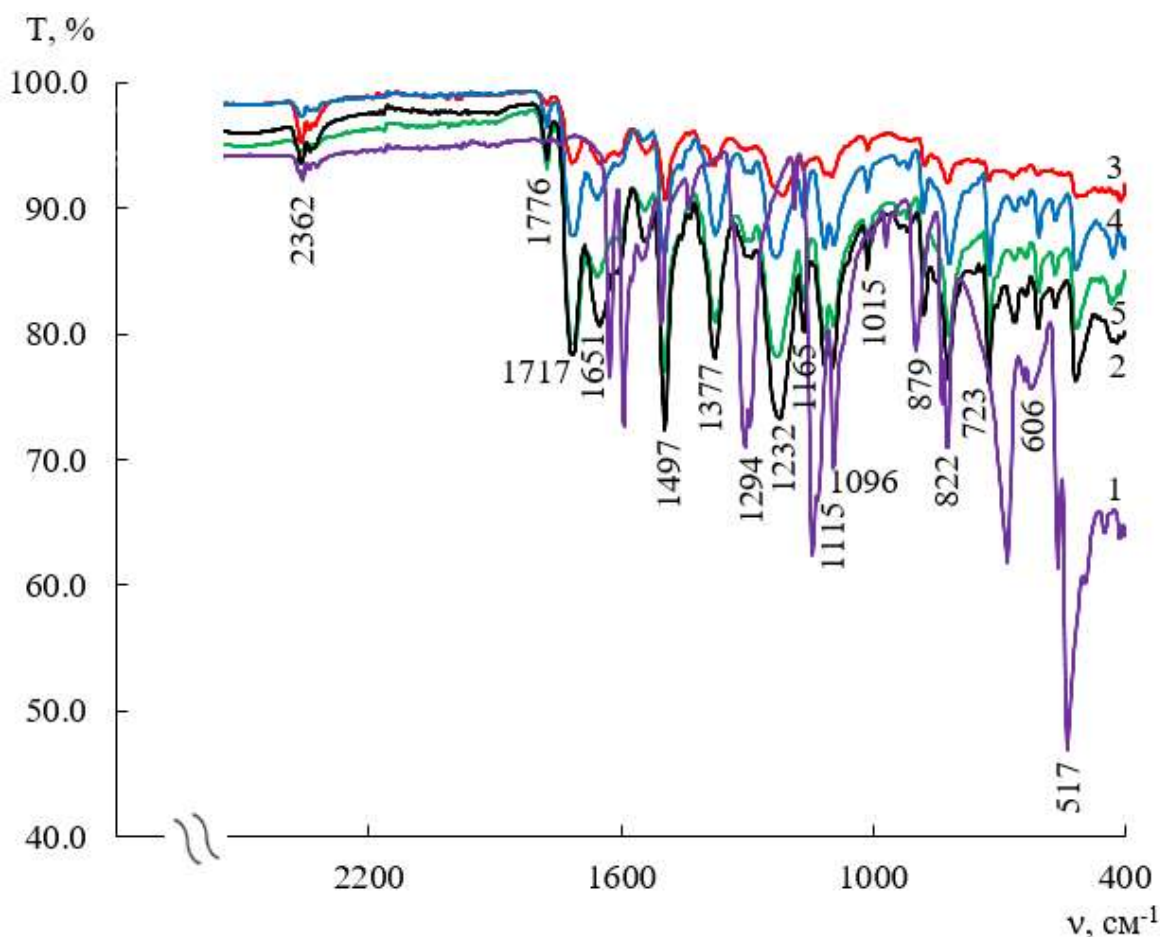


Рис. 4.7. ИК-спектры полимерных пленок

- 1 – сульфаниламид; 2 – полиимид; 3 – полиимид с сорбированным сульфаниламидом; 4 – полимер до удаления отпечатка; 5 – молекулярно-импринтированный полимер

Анализ ИК-спектров показал сходство между ИК-спектрами МИП и неимпринтированного полимера, это указывает на то, что процесс импринтирования в основном приводит к образованию полостей или селективных центров связывания в уже существующей полиимидной структуре, а не к перераспределению структуры полимера [182, 201]. При этом, для полимеров с отпечатками антибиотиков увеличивается интенсивность характеристических частот [162, 182], что обусловлено легкой доступностью полученных отпечатков для молекул гидратной воды, о чем свидетельствует наличие частот для $\text{COO}^- \dots \text{H}_2\text{O}$ ($1390 - 1360 \text{ cm}^{-1}$) и $>\text{N}-\text{H} \dots \text{H}_2\text{O}$ ($1650 - 1550 \text{ cm}^{-1}$). ИК-спектры приведены на рисунках А.1 – А.7 Приложения А.

Таблица 4.1.

Характеристические частоты групп атомов в полимерах и цефтриаксоне

Отнесение колебаний	Частота колебания ν , cm^{-1}					
	[198, 199]	Ceftr	НП	НП+Ceftr	МИП+Ceftr	МИП-Ceftr
$>\text{N}-\text{H}\dots\text{H}_2\text{O}$	3300-3000	3056	3055	3049	3053	3053
$\nu_{\text{as}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1790-1740	-	1776	1776	1776	1776
$\nu_{\text{s}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1730-1690	1735	1717	1717	1719	1715
$>\text{N}-\text{H}\dots\text{H}_2\text{O}$	1650-1550	1603	1607	1603	1605	1603
$-\text{NH}_2\dots\text{H}_2\text{O}$	1550-1510	1535	1539	1539	1535	1537
Скелетные $\nu \text{C}-\text{C}$ в бензольном кольце	1530-1475	1497	1497	1495	1495	1495
$-\text{COO}^-\dots\text{H}_2\text{O}$	1390-1360	1366	1377	1379	1379	1373
$\nu \text{C}-\text{O}$	1320-1210	1286	1294	1294	1294	1291
$-\text{COO}^-\dots\text{H}_2\text{O}$	1230-1200	1236	1232	1230	1230	1232
$\delta_{\text{ip}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	1250-950	1160	1165	1165	1163	1163
$\delta \text{C}-\text{C}$	1125-1090	1105	1115, 1096	1114, 1096	1115, 1096	1113, 1094
Неплоские δ -колебаний ОН-групп в $-\text{C}-\text{OH}$	1020-890	1011	1015	1013	1015	1015
$\delta_{\text{oop}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	900-690	805	820	820	822	818
$\delta_{\text{oop}} \text{OH}$ в $-\text{COOH}$	750-650	728	723	723	723	723
$\delta \text{O}=\text{C}-\text{N}$ (Амид IV)	~620	608	606	606	606	606

4.2. Оценка сорбционной способности материалов на основе полиимида

Оценка способности НП и МИП сорбировать антибиотики из водного раствора является важным этапом в исследовании свойств сорбентов. Для этого использовали метод прямой кондуктометрии в режиме реального времени. По полученным данным построены кинетические кривые и изотермы сорбции антибиотиков. На рисунках 4.8 и А.8 (Приложение А) представлены кинетические кривые сорбции антибиотиков исследуемыми полимерами. Анализ данных показал, что время достижения сорбционного равновесия различается в зависимости от класса антибиотиков.

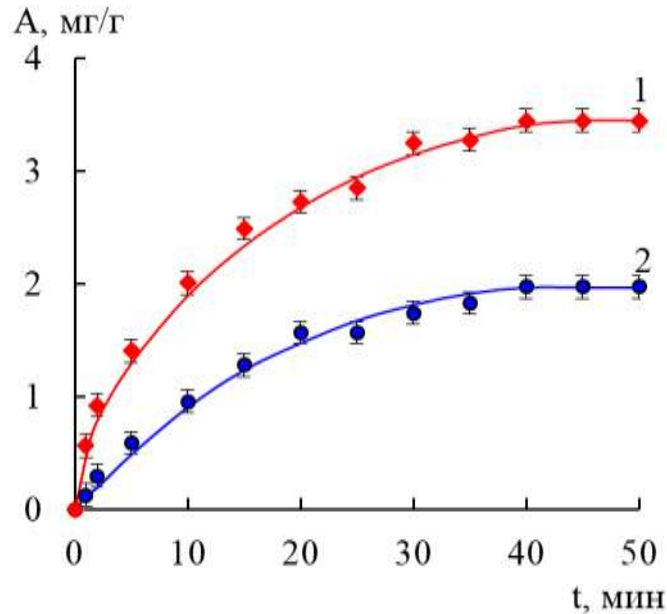


Рис. 4.8. Кинетические кривые сорбции цефтриаксона натрия (Ceftr)

1 – МИП-Ceftr; 2 – НП

Для цефалоспоринов (Ceftr, Cef, Cefot, Cefur) равновесие устанавливается за 40 – 55 мин. В то же время для аминогликозидов (Strep, Neo) этот процесс протекает быстрее и занимает 25 – 30 мин. Данное различие, вероятно, обусловлено особенностями молекулярной структуры антибиотиков, что приводит к различной степени их связывания с полимерной матрицей.

Изотермы сорбции антибиотиков молекулярно-импринтированными и неимпринтированными полимерами представлены на рисунке 4.9.

Поскольку полученные в работе полимеры были созданы на основе полиимида, структура имидизированных полиамидокислот содержит активные атомы водорода, а также гидроксильные –ОН, карбонильные –С=О и аминогруппы –NH, что определяет их способность к сорбции [162, 166]. Общая структура антибиотика цефалоспориона включает карбоксильную –COOH, амидную –CONH– и карбонильную –С=О группы в кольце бета-лактама [202]. Кроме того, аминогликозидные антибиотики Strep и Neo содержат амино- (–NH₂) и гидроксильные (–ОН) группы [203]. Следовательно, сорбция антибиотиков цефалоспоринов и аминогликозидов на МИП может происходить благодаря образованию водородных связей между антибиотиком и сорбентом через гидраторазделенную пару (антибиотик-Н₂О-сорбент).

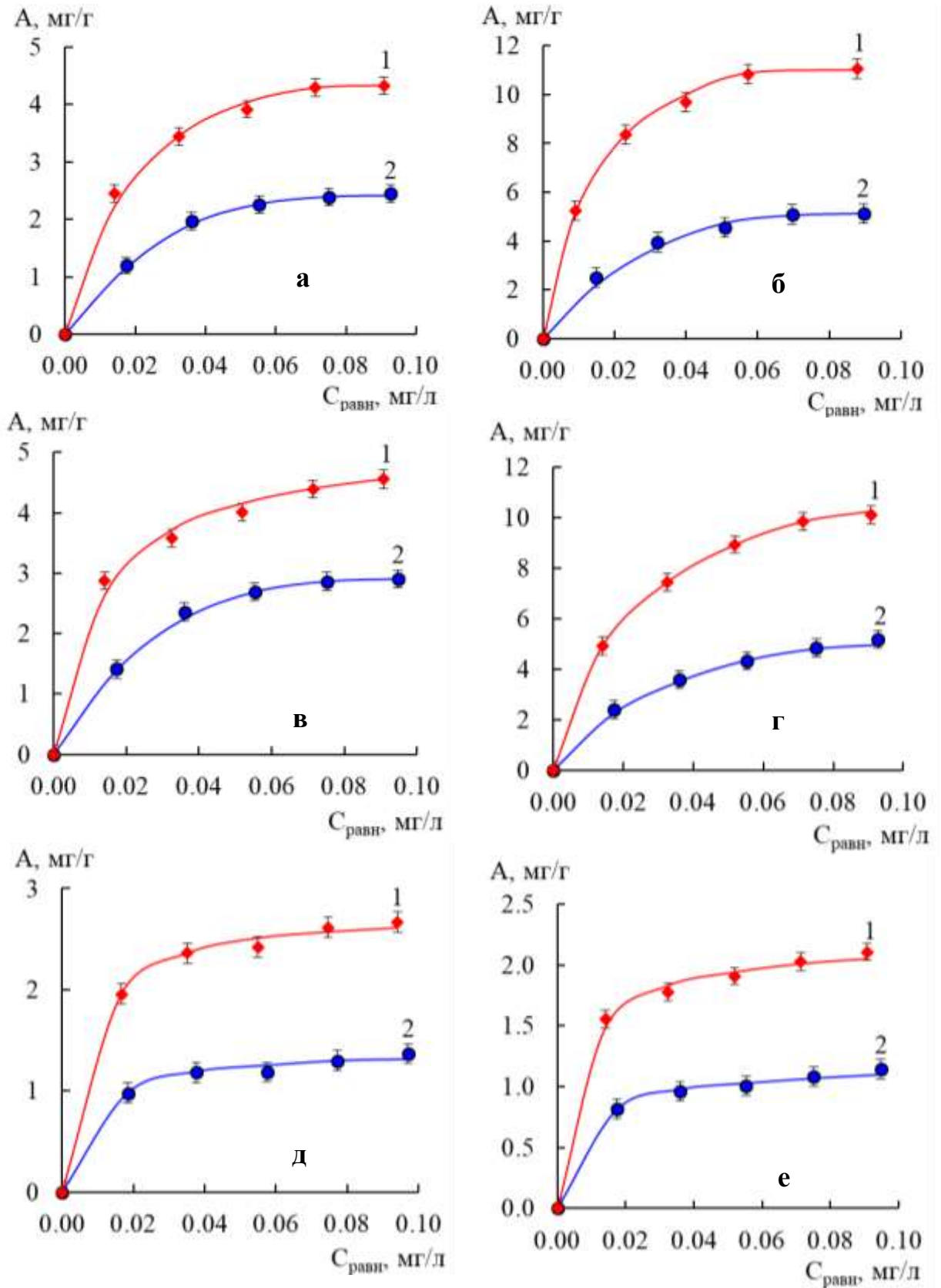


Рис. 4.9. Изотермы сорбции сорбции антибиотиков

а – цефтриаксон натрия, б – цефазолин натрия, в – цефотаксим натрия, г – цефуроксим натрия, д – стрептомицина сульфат, е – неомицина сульфат
1 – МИП-антибиотик; 2 – НП

Анализ показал, что изотермы сорбции молекулярно-импринтированных и неимпринтированных полимеров имеют сходную форму. Это указывает на идентичность механизма сорбции для обоих материалов и его соответствие модели мономолекулярной сорбции (изотерма типа L). Сорбция антибиотиков преимущественно протекает на микропористой поверхности сорбционного материала [162, 166, 185, 202].

Зависимость количества сорбированного вещества от его концентрации характеризуется начальным выпуклым участком кривой: по мере увеличения числа занятых сорбционных центров поиск свободных мест становится затрудненным, что является типичной особенностью изотерм сорбции типа L [185, 202].

Процесс сорбции происходит за счет образования водородных связей между молекулами антибиотика и МИП. Этот механизм подтверждается данными ИК-спектроскопии: характеристические полосы поглощения в области $1390 - 1360 \text{ см}^{-1}$ соответствуют взаимодействию карбоксильной группы сорбента с водой $-\text{COO}^- \dots \text{H}_2\text{O}$, а для аминной группы полимера с молекулой воды ($>\text{N}-\text{H} \dots \text{H}_2\text{O}$) характерны полосы в диапазоне $1650-1550 \text{ см}^{-1}$. Связи между молекулами воды и амино- и карбонильными группами антибиотика проявляются при $1550 - 1510 \text{ см}^{-1}$ ($-\text{NH}_2 \dots \text{H}_2\text{O}$) и 1755 см^{-1} ($-\text{C}=\text{O} \dots \text{H}_2\text{O}$). Кроме того, имеются частоты характеризующие взаимодействие между молекулами воды и гидроксильными и карбоксильными группами антибиотика $1020 - 890 \text{ см}^{-1}$ ($-\text{OH} \dots \text{H}_2\text{O}$), $1230 - 1200 \text{ см}^{-1}$ ($-\text{COO}^- \dots \text{H}_2\text{O}$) [182, 198, 202]. Предполагаемая схема взаимодействия МИП с антибиотиком приведена на рисунках 4.10 и А.9 Приложения А.

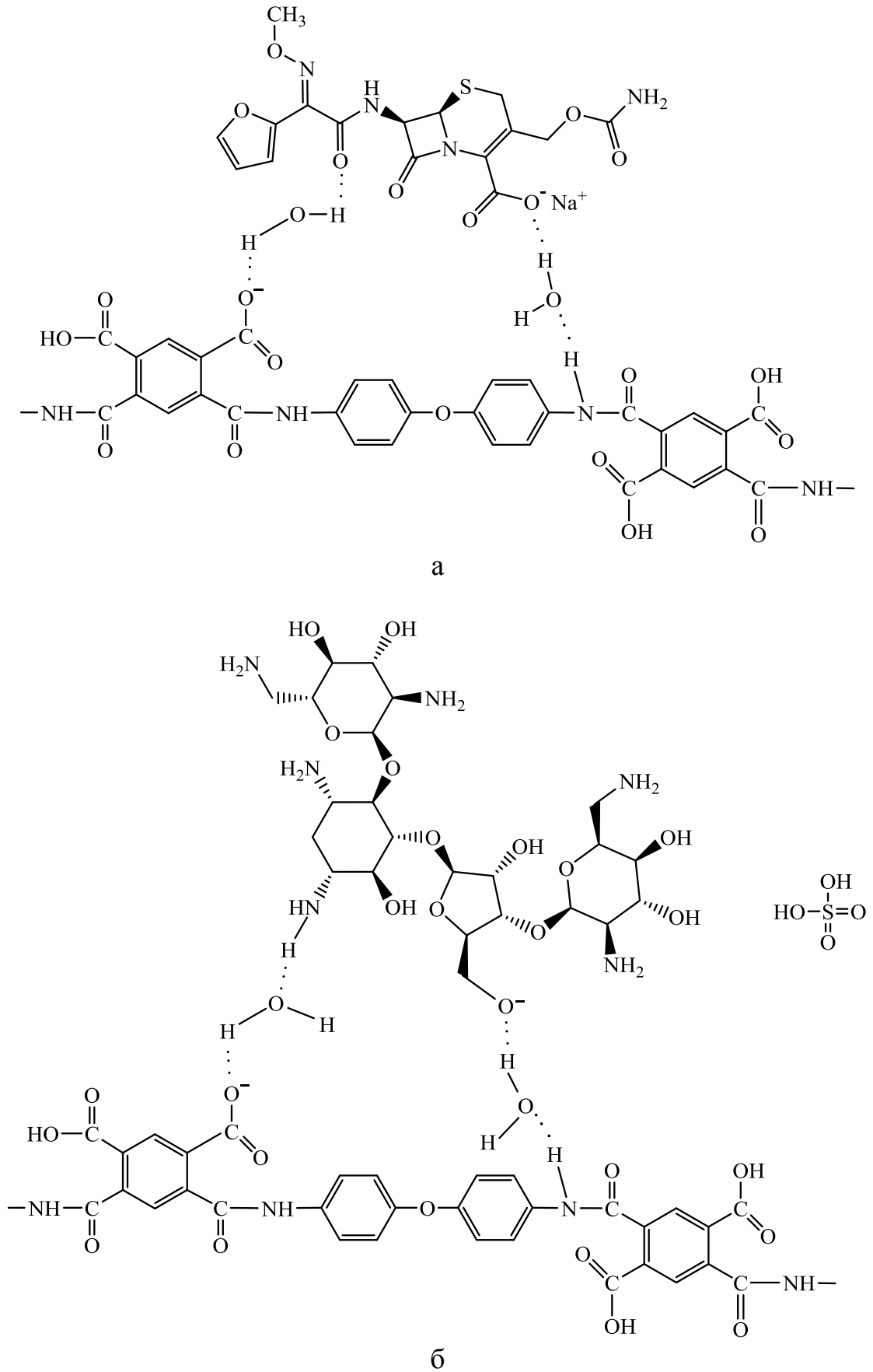


Рис. 4.10. Схема взаимодействия молекул цефуроксима натрия (а), неомидина сульфата (б) и структурного звена полиимида

Рисунок 4.11 показывает сравнение количества антибиотика, сорбированного молекулярно-импринтированными и неимпринтированными полимерами.

НП обладают более низкой сорбционной способностью по сравнению с МИП, что связано с отсутствием у НП развитой пористой структуры и высокоспецифических участков молекулярного распознавания, характерных для МИП.

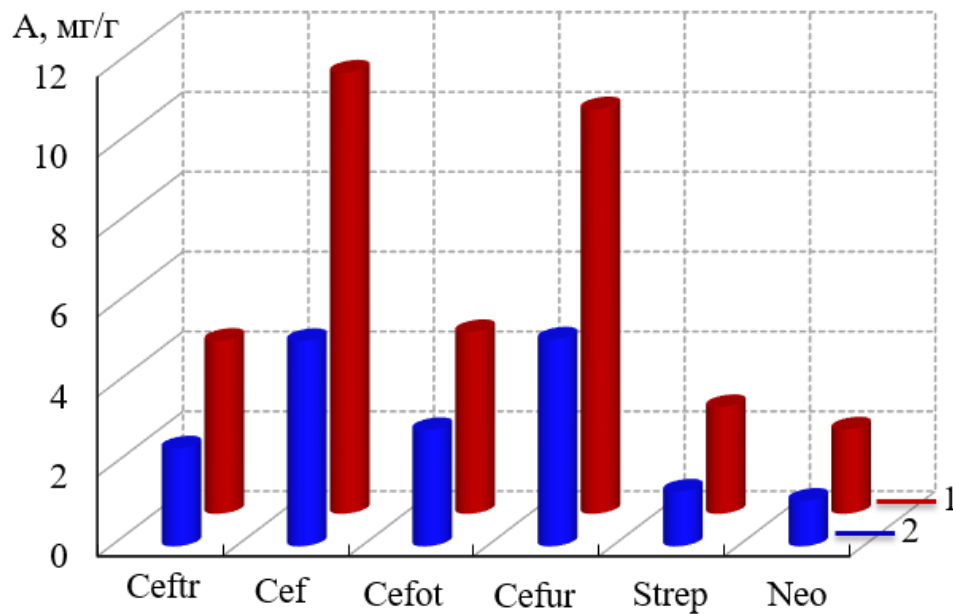


Рис. 4.11. Количество сорбированных антибиотиков молекулярно-импринтированными и неимпринтированным полимерами

1 – МИП, 2 – НП

В процессе синтеза НП молекулы-шаблоны не применялись, поэтому НП не содержит специфических центров распознавания. Вследствие этого антибиотики не способны проникать внутрь НП, а лишь сорбируются на его поверхности, что приводит к низкой сорбционной емкости. Напротив, МИП обладает этими участками, позволяющими антибиотикам глубже проникать в его структуру, что обеспечивает более высокую сорбционную способность. Кроме того, способность различных типов антибиотиков к сорбции отличается и уменьшается в следующем порядке:

Cef > Cefur > Cefot > Ceftr > Strep > Neo

Максимальное значение сорбции наблюдается для МИП-Cef и составляет 13,05 мг/г, тогда как для МИП-Neo этот показатель минимален – 2,29 мг/г.

Для характеристики пористой структуры неимпринтированных и молекулярно-импринтированных полимеров рассчитаны удельная поверхность, суммарный объем пор и средний радиус пор по уравнениям [160, 204, 205]:

$$S_{уд} = A_{max} \cdot S_0 \cdot N_A, \quad 4.1$$

где $S_{уд}$ – удельная поверхность; A_{max} – максимальное количество сорбированного вещества, мг/г; S_0 – площадь, занимаемую одной молекулой сорбата в сорбционном слое, нм²; N_A – число Авогадро, $6,02 \cdot 10^{23}$ моль⁻¹ [160, 204, 205].

$$S_0 = f \cdot \left(\frac{M}{\rho \cdot N_A} \right)^{2/3}, \quad 4.2$$

где ρ – плотность сорбата, г/см³, M – молярная масса сорбата г/моль, f – фактор упаковки, значение которого зависит от числа ближайших соседей и формы молекулы ($f = 1,091$) [160, 205].

Для расчета суммарного объема пор (W_0) применяли уравнение [160, 205]:

$$W_0 = A_{max} \cdot V_{мол}, \quad 4.3$$

где $V_{мол}$ – мольный объем сорбента, см³/моль.

$$V_{мол} = \frac{M}{\rho}. \quad 4.4$$

При допущении цилиндрической формы всех пор, средний радиус пор (r_{cp}) определяли по формуле [160]:

$$r_{cp1} = \frac{2 \cdot W_0}{S_{уд}}. \quad 4.5$$

Для пор сферической формы [160]:

$$r_{cp2} = \frac{3 \cdot W_0}{S_{уд}}. \quad 4.6$$

Эти уравнения основаны на том, что молекулы сорбата образуют мономолекулярный слой на поверхности полимеров.

Результаты исследования пористой структуры полимеров, представленные в таблице 4.2, показывают, что применение техники молекулярного импринтинга приводит к росту максимальной сорбционной емкости, а также к увеличению удельной площади поверхности и суммарного объема пор по сравнению с неимпринтированными полимерами.

Таблица 4.2.

Характеристики пористой структуры неимпринтированных (НП) и молекулярно-импринтированных (МИП) полимеров

Антибиотик	Сорбент	A_{\max} , мг/г	S_0 , нм ²	$S_{уд}$, м ² /г	W_0 , мм ³ /г	r_1 , нм	r_2 , нм
Ceftr	НП	3,16	0,74	2,13	1,61	–	–
	МИП-Ceftr	5,15		3,48	2,63	1,51	2,27
Cef	НП	6,51	0,59	4,84	3,26	–	–
	МИП-Cef	13,05		9,70	6,53	1,35	2,02
Cefot	НП	3,74	0,63	2,98	2,08	–	–
	МИП-Cefot	5,17		4,11	2,87	1,39	2,09
Cefur	НП	6,32	0,60	5,56	3,79	–	–
	МИП-Cefur	12,15		9,90	6,75	1,36	2,05
Strep	НП	1,49	1,71	1,05	1,21	–	–
	МИП-Strep	2,89		2,04	2,34	2,30	3,45
Neo	НП	1,26	1,07	1,32	1,19	–	–
	МИП-Neo	2,29		2,40	2,18	1,82	2,72

Это свидетельствует о том, что процесс молекулярного импринтинга формирует в структуре полимера специфические центры связывания и поры, соответствующие молекуле-шаблону не только на поверхности полимера, но и на внутренних стенках мезо- и макропор, что способствует повышению сорбционной способности.

Средний радиус пор в полимерах, импринтированных цефалоспоринами, ниже, чем в полимерах с отпечатками аминогликозидов. Это связано с тем, что молекулы цефалоспоринов более компактны, что приводит к образованию меньших пор, тогда как аминогликозиды имеют более крупные и разветвленные молекулы с множеством функциональных групп, способствующих формированию более крупных распознающих полостей. Полученные различия подтверждают размер молекулы-шаблона, что играет важную роль в формировании пористой структуры материала.

Для описания сорбционных характеристик полимеров были определены следующие показатели: степень извлечения (R , %), коэффициент распределения (D), импринтинг-фактор (IF) и коэффициент десорбции (K , %) [185, 202, 206]. Их значения представлены в таблице 4.3.

МИП обладает более высокой степенью извлечения (R) и коэффициентом распределения (D) по сравнению с НП, что подтверждает превосходную сорбционную способность МИП и важную роль молекулы-шаблона в формировании специфических сорбционных участков. Например, для цефазолина натрия коэффициент распределения МИП-Cef увеличивается с 0,169 до 0,574 $\text{дм}^3/\text{г}$, тогда как степень извлечения достигает 54,3%, почти в два раза превышая показатель НП (25,5%). Аналогичная тенденция наблюдалась и для других антибиотиков, таких как Ceftr, Cefur, Cefot, Strep и Neo. Импринтинг-фактор (IF) составил 2,1 – 3,4, что указывает на высокую селективность МИП к целевым антибиотикам. Наибольшие значения IF были зарегистрированы для цефазолина (3,4) и цефуроксима (3,1), что свидетельствует о структурном соответствии полимера этим антибиотикам.

Коэффициент десорбции (K) – параметр, отражающий возможность повторного использования сорбционного материала. Более высокие значения коэффициента K для МИП по сравнению с НП указывают на то, что МИП обладают не только высокой сорбционной способностью, но и эффективной десорбцией. Данное свойство является определяющим для возможности регенерации полимера и его многократного повторного использования.

Таблица 4.3.

Характеристики адсорбции антибиотиков молекулярно-импринтированными (МИП) и неимпринтированными (НП) полимерами (n = 3, P = 0,95)

Антибиотик	Сорбент	R, %	S _r , %	D, дм ³ /г	S _r , %	IF	K, %
Ceftr	НП	12,1 ± 1,1	3,7	0,068 ± 0,007	4,4	2,4	80,2
	МИП-Ceftr	25,3 ± 1,4	2,2	0,164 ± 0,006	1,5		90,3
Cef	НП	25,5 ± 1,2	1,9	0,169 ± 0,008	1,8	3,4	85,3
	МИП-Cef	54,3 ± 1,9	1,4	0,574 ± 0,009	1,7		97,8
Cefot	НП	14,4 ± 1,0	2,8	0,083 ± 0,005	2,4	2,5	82,7
	МИП-Cefot	29,8 ± 1,7	2,3	0,205 ± 0,006	1,2		93,9
Cefur	НП	24,3 ± 2,1	3,5	0,159 ± 0,009	2,2	3,1	83,8
	МИП-Cefur	49,5 ± 1,5	1,2	0,489 ± 0,006	1,1		94,7
Strep	НП	9,8 ± 1,1	4,6	0,054 ± 0,004	2,9	2,3	77,6
	МИП-Strep	20,4 ± 1,3	2,5	0,123 ± 0,005	1,6		87,8
Neo	НП	8,5 ± 0,9	4,1	0,044 ± 0,002	2,3	2,1	75,8
	МИП-Neo	15,7 ± 1,8	4,7	0,092 ± 0,007	3,3		86,9

Способность к сорбции группы антибиотиков цефалоспоринов выше, чем у аминогликозидов. Это может быть связано с тем, что β-лактамное кольцо цефалоспоринов совместимо с структурой распознавания на полимере, в сочетании с подходящим средним размером молекулы. Напротив, Нео показал наименьшую степень извлечения (R = 15,7%), вероятно, из-за громоздкой структуры молекулы и высокой гидрофильности, что снижает взаимодействие со специфическими сорбционными центрами МИП.

Результаты из таблицы 4.4 и рисунка 4.12 показывают, что МИП обладают высокой способностью к сорбции целевых антибиотиков по сравнению с другими антибиотиками, что соответствует механизму молекулярного распознавания на основе шаблона.

Таблица 4.4.

Характеристики адсорбции целевых и посторонних антибиотиков молекулярно-импринтированными полимерами (МИП) с ($n = 3$, $P = 0,95$)

Сорбент	Антибиотик	R, %	S _r , %	D, дм ³ /г	S _r , %	% сорбции
МИП-Ceftr	Ceftr	25,3 ± 1,4	2,2	0,164 ± 0,006	1,5	78,16
	Cef	7,8 ± 0,7	3,5	0,039 ± 0,004	4,5	21,84
МИП-Cef	Cef	54,3 ± 1,9	1,4	0,574 ± 0,009	1,7	84,09
	Cefot	16,5 ± 1,1	2,7	0,095 ± 0,009	3,7	15,91
МИП-Cefot	Cefot	29,8 ± 1,7	2,3	0,205 ± 0,006	1,2	77,78
	Cefur	5,3 ± 0,4	3,2	0,027 ± 0,002	2,9	22,22
МИП-Cefur	Cefur	49,5 ± 1,5	1,2	0,489 ± 0,006	1,1	95,12
	Ceftr	3,7 ± 0,2	4,5	0,018 ± 0,002	3,8	4,88
МИП-Strep	Strep	20,4 ± 1,3	2,5	0,123 ± 0,005	1,6	82,41
	Neo	4,1 ± 0,2	2,1	0,015 ± 0,001	3,5	17,59
МИП-Neo	Neo	15,7 ± 1,8	4,7	0,092 ± 0,007	3,3	85,08
	Strep	1,8 ± 0,2	4,8	0,008 ± 0,001	4,9	14,92

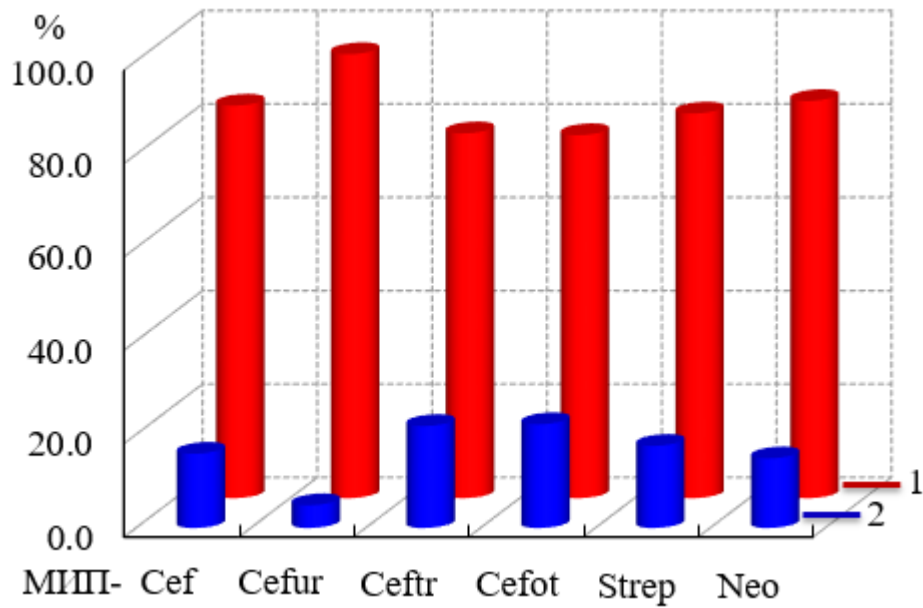


Рис. 4.12. Сорбция (%) целевых и посторонних антибиотиков молекулярно-импринтированными полимерами
1 – целевой антибиотик, 2 – посторонний антибиотик

Так МИП-Cefur сорбирует цефуроксим натрия (целевой антибиотик) с эффективностью 95,12%, в то время как сорбция цефтриаксона натрия (другого антибиотика) составляет всего 4,88%. Аналогично, МИП-Neo проявляет выраженную избирательность к неомицину сульфата (85,08%) по сравнению с стрептомицином сульфата (только 14,92%). Таким образом, эти результаты подтверждают способность МИП распознавать и захватывать целевые молекулы благодаря специфической структуре полостей.

4.3. Анализ морфоструктуры полимерных пленок

Морфоструктурой принято называть формы рельефа, которые формируются, как правило, в результате внутренних процессов, в частности благодаря нековалентным взаимодействиям между темплатом и функциональным мономером. Для изучения морфологии поверхности полимерных пленок использовали сканирующую силовую микроскопию (ССМ) [180, 181, 207].

Так пленка полиимида НП обладает хорошей воспроизводимостью их толщины и равномерной поверхностью с перепадом высот от 0,7 до 3,6 нм. Содержание пор радиусом до 10 нм составляет 81,07% (Рис. 4.13, Табл. 4.5) [180, 208].

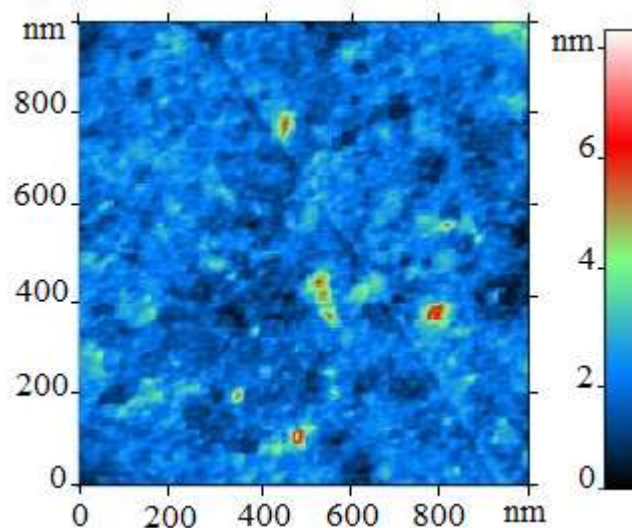


Рис. 4.13. ССМ-изображения пленки НП

Рельеф поверхностей пленок МИПов имеет большой перепад высот (Рис. 4.14), что связано с некоторыми эндогенными процессами, протекающими при синтезе импринтированных полимеров и, как следствие, уменьшение количества микропор и увеличение количества мезо- и макропор (Табл. 4.5). Это связано с перестройкой структуры полимера МИП-антибиотика в процессе синтеза.

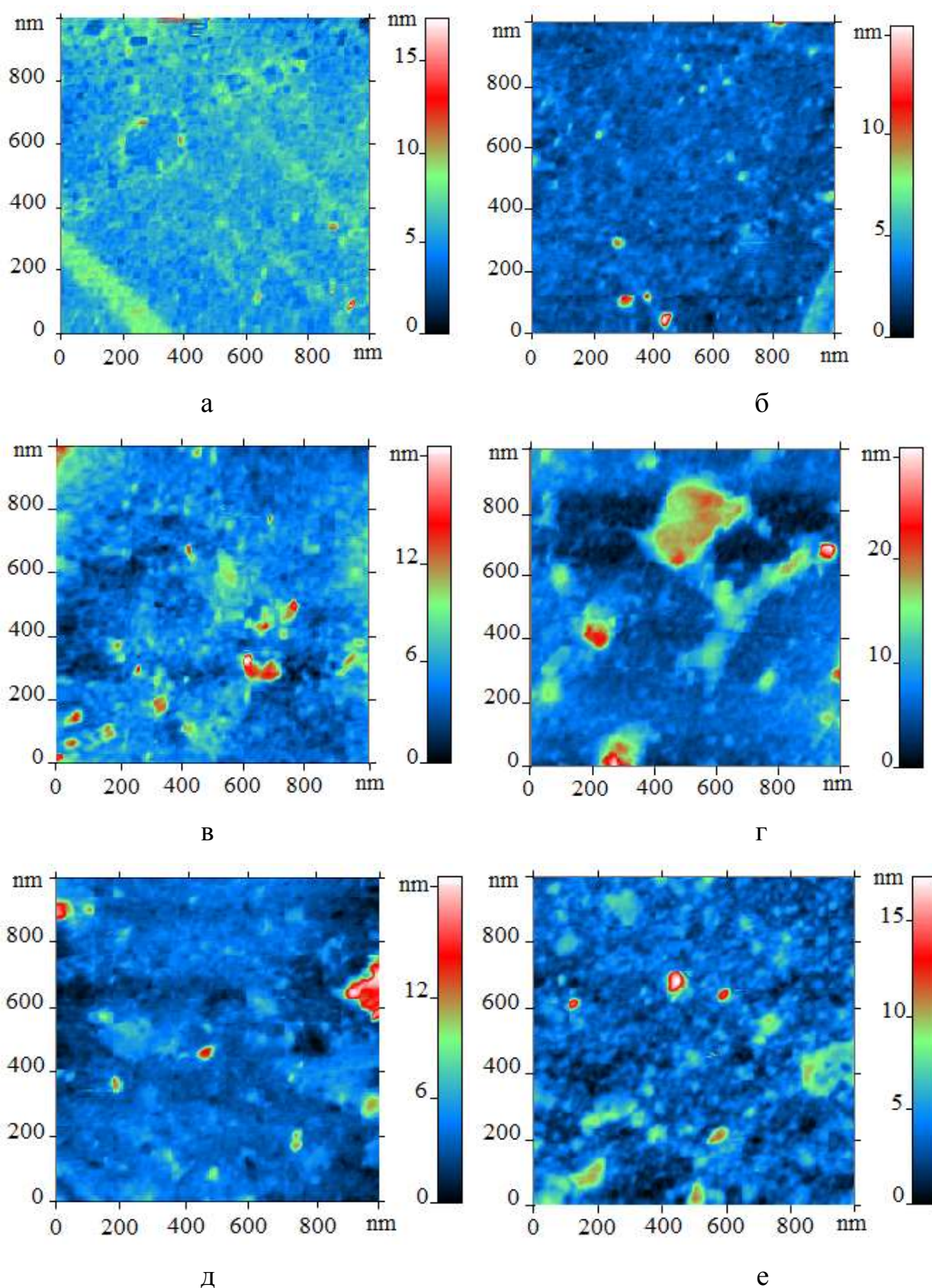


Рис. 4.14. ССМ-изображения пленок МИП-Ceftr (а), МИП-Cef (б), МИП-Cefot (в), МИП-Cefur (г), МИП-Neo (д), МИП-Sulf (е)

В таблице 4.5 представлено сравнение количества пор (%) в полимерных пленках.

Таблица 4.5.

Распределение пор в полимерных пленках

Классификация пор r, нм		НП	МИП- Ceftr	МИП- Cef	МИП- Cefot	МИП- Cefur	МИП- Sulf	МИП- Neo
		n, %	n, %	n, %	n, %	n, %	n, %	n, %
микро-	1-10	81,07	70,60	72,09	67,70	50,45	72,36	77,14
мезо-	10-25	16,57	26,41	22,29	26,55	32,59	20,55	17,14
макро-	25-150	2,37	2,99	5,62	5,75	16,96	7,09	5,72

Можно предположить, что на внутренних поверхностях трещин и пор с размерами свыше 25 нм присутствуют полости комплементарные молекулам шаблонов. Тем не менее данное утверждение остается гипотетическим, так как используемый метод не позволяет выявить такие образования внутри стенок трещин.

В ходе исследования селективных сенсорных покрытий на основе МИП было установлено, что чувствительность сенсора к целевым молекулам антибиотиков определяется не общим количеством микропор, а наличием специфических полостей, образованных в процессе импринтирования. На рисунке 4.15 показано, что неимпринтированный полимер обладает более высокой микропористостью, однако его чувствительность к антибиотикам ниже.

Результаты показали, что чувствительность МИП-сенсоров к антибиотикам цефалоспоринового ряда составила 13,0 (МИП-Cefur), 15,6 (МИП-Cefot), 16,3 (МИП-Ceftr) и 18,8 (МИП-Cef) соответственно. Это косвенно подтверждает, что молекулярные отпечатки формируются преимущественно в микропорах.

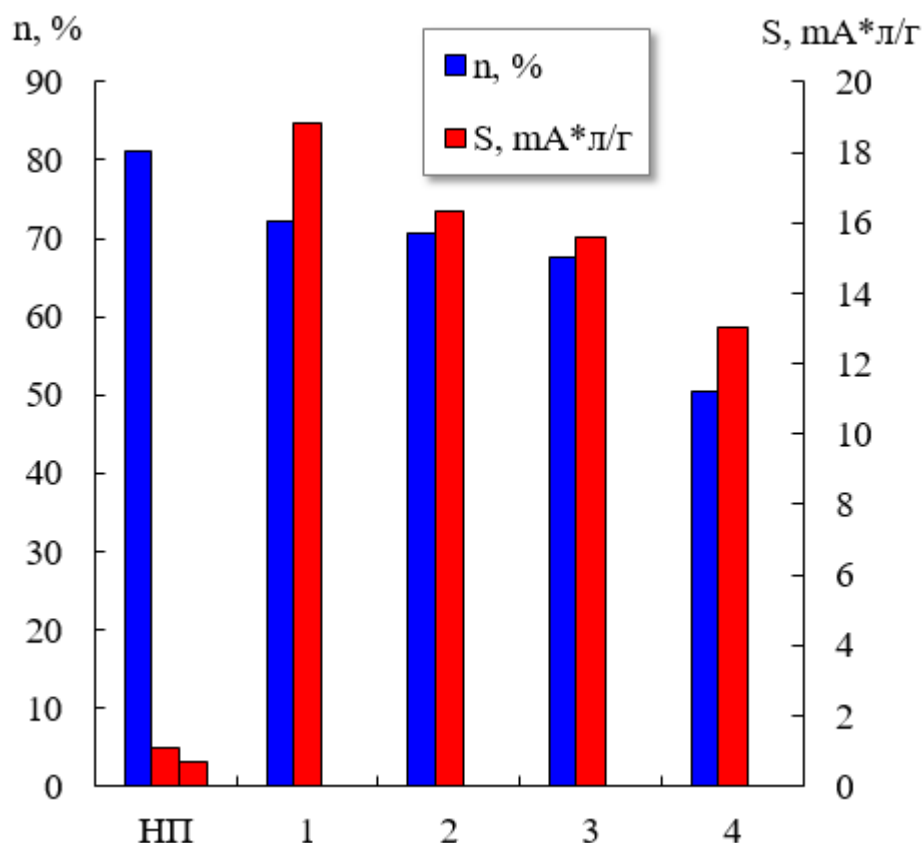


Рис. 4.15. Содержание микропор (%) в пленках и чувствительность (S) сенсоров

где 1 - МИП-Cef; 2 - МИП-Ceftr; 3 - МИП-Cefot; 4 - МИП-Cefur

*Примечание: чувствительность НП-сенсоров к антибиотикам от 3 до 5 mA*л/г

Участие молекулы-шаблона в синтезе полимера приводит к изменению его морфологии поверхности. В результате поверхность МИП становится более пористой по сравнению с неимпринтированным полимером за счет образования пустот после удаления шаблона. Успешное удаление антибиотика-шаблона подтверждается изменением структуры пор: уменьшением микропор и увеличением количества мезо- и макропор МИП. Это изменение и представляет собой формирование отпечатка в полимере [207].

Заключение к главе 4

В работе исследованы некоторые свойства молекулярно-импринтированных полимеров с отпечатками антибиотиков. ИК-спектры показывают, что основная полиимидная структура сохраняется после молекулярного импринтирования. Кроме того, легкая доступность сформированных отпечатков для молекул гидратной воды проявляется в увеличении интенсивности некоторых характерных полос в МИП.

Проведена оценка сорбционной способности исследованных полимеров. Молекулярно-импринтированные полимеры сорбируют большее количество целевых антибиотиков (от 2,11 мг/г до 11,05 мг/г) чем неимпринтированный полимер (от 1,14 мг/г до 5,18 мг/г), что связано с наличием специфических распознающих участков, сформированных в процессе импринтинга. Повторное связывание молекул целевых антибиотиков с активными центрами импринтированных полимеров осуществляется в основном за счет водородных взаимодействий, что соответствует модели мономолекулярной сорбции. Также установлено, что в ряду Cef > Cefur > Cefot > Ceftr > Strep > Neo происходит снижение сорбционной способности МИП (наибольшее значение характерно для Cef – 13,05 мг/г, а наименьшее для Neo – 2,29 мг/г).

Проведенный анализ поверхностей МИП показал более высокую пористость по сравнению с неимпринтированным полимером, что обусловлено структурной перестройкой при синтезе, приводящей к уменьшению количества микропор и увеличению доли мезо- и макропор. Кроме того, установлена корреляция между количеством микропор и чувствительностью сенсора, что доказывает, что молекулярные распознающие центры в основном расположены в этих полостях.

Глава 5. АМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ В ЖИДКОСТЯХ

Возрастающая потребность в быстрых, чувствительных, селективных и экономически эффективных методах анализа стимулирует развитие амперометрических сенсоров, модифицированных молекулярно-импринтированными полимерами [176].

5.1. Установление оптимальных условий функционирования амперометрической сенсорной системы

Поскольку для прямой амперометрии характерна низкая селективность к определяемым веществам, представлялось целесообразным разработать сенсоры с двумя индикаторными электродами [209-211].

Амперометрические сенсоры были изготовлены на основе медного фольгированного стеклотекстолита. На его поверхность методом термотрансфера был нанесен трафарет сенсора, после чего проведено химическое травление. В результате были получены планарные сенсоры размером 0,5 x 2,5 см с двумя одинаковыми медными электродами на поверхности.

Как известно, прямая амперометрия с двумя индикаторными электродами, это метод, в котором при наложении постоянного напряжения между этими электродами измеряют силу тока в зависимости от концентрации определяемого вещества [209-211].

Поэтому на первом этапе для установления напряжения, соответствующего предельному значению силы тока в этой системе, были построены вольт-амперные зависимости для амперометрических сенсоров [211].

На рисунке 5.1 представлены вольтамперные кривые для системы электрод-раствор (электроды без селективного слоя).

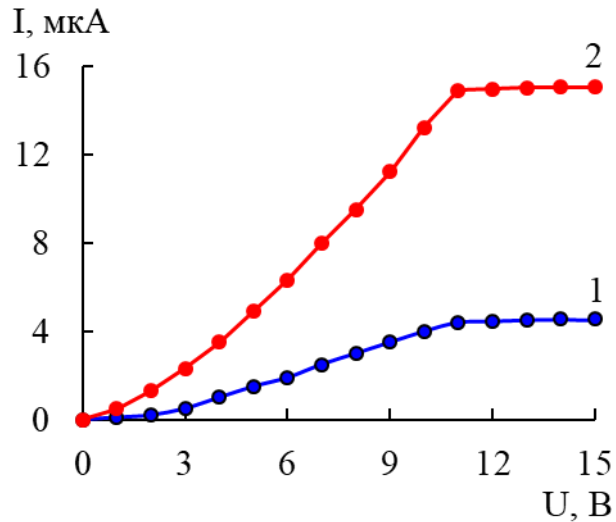


Рис. 5.1. Вольтамперные кривые для чистого сенсора при контакте с:
1 – H₂O; 2 – водный раствор цефтриаксона натрия

Предельное напряжение (U) на электродах сенсора без селективного покрытия при контакте с водными растворами антибиотиков имеет одинаковое значение – 11,0 В для всех исследованных антибиотиков (Рис. 5.1, Табл. 5.1 и Рис. Б.1 Приложения Б). Это указывает на то, что чистый амперометрический сенсор без селективного покрытия не способен различать эти антибиотики. При нанесении раствора антибиотика (А) на сенсор сначала происходит окисление меди с образованием ионов Cu²⁺. Эти ионы могут взаимодействовать с функциональными группами антибиотика, в результате чего формируются комплексы. Образовавшиеся комплексы могут дополнительно подвергаться электрохимическому окислению. Кроме того, молекула антибиотика может окисляться напрямую на медном электроде. Электроны, высвобождающиеся в ходе этих процессов, генерируют электрический ток [212]. Обобщенные реакции можно представить следующим образом:

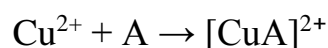


Таблица 5.1.

Предельное напряжение на электродах сенсора без селективного покрытия при контакте с водными растворами антибиотиков

Антибиотик	Концентрация, г/дм ³	Объем капли, мкл	Предельное напряжение U, В
Ceftr	0,0001	10	11,03 ± 0,02
Cef	0,0001	10	10,98 ± 0,06
Cefot	0,0001	10	10,99 ± 0,03
Cefur	0,0001	10	11,04 ± 0,02
Strep	0,0001	10	11,02 ± 0,01
Neo	0,0001	10	11,01 ± 0,04
Sulf	0,0001	10	10,99 ± 0,05

Селективность сенсора без полимерного покрытия оценивали путем расчета коэффициентов перекрестного реагирования (ПР, %) по следующей формуле [213]:

$$\text{ПР}(\%) = \frac{\Delta I_{\text{па}}}{\Delta I_{\text{оа}}} \cdot 100, \quad 5.1$$

где $\Delta I_{\text{па}}$ – разность значения тока для постороннего антибиотика, мкА; $\Delta I_{\text{оа}}$ – разность значения тока для определяемого антибиотика, мкА.

Коэффициент ПР отражает степень реагирования сенсора на посторонние вещества по сравнению с целевым анализом. Чем меньше значение ПР, тем выше избирательность сенсора; наоборот, большое значение ПР указывает на низкую специфичность и неспособность сенсора различать вещества.

В таблице 5.2 представлены рассчитанные значения коэффициента перекрестного реагирования (ПР) для сенсора без селективного покрытия. Согласно полученным данным, немодифицированный полимерами сенсор обладает высоким коэффициентом перекрестного реагирования (86,96 – 115,01%). Это свидетельствует о том, что сигнал, формируемый

сенсором при анализе посторонних антибиотиков имеет незначительные отличия от сигнала сенсора при контакте с раствором целевого вещества.

Таблица 5.2.

Коэффициент перекрестного реагирования (ПР) для сенсора без селективного покрытия

Антибиотик	Коэффициент перекрестного реагирования (ПР), %						
	Ceftr	Cef	Cefot	Cefur	Strep	Neo	Sulf
Ceftr	100,00	91,30	94,59	97,22	105,00	102,94	101,45
Cef	109,52	100,00	103,60	106,48	115,01	112,75	111,11
Cefot	105,71	96,52	100,00	102,78	111,00	108,82	107,25
Cefur	102,86	93,91	97,30	100,00	108,00	105,88	104,35
Strep	95,24	86,96	90,09	92,59	100,00	98,04	96,62
Neo	97,14	88,70	91,89	94,44	102,00	100,00	98,55
Sulf	98,57	90,00	93,24	95,83	103,50	101,47	100,00

Ранее в работах [108, 109] обсуждали вопрос использования сенсоров с МИП в качестве селективного слоя для определения антибиотиков цефалоспоринового ряда, тем не менее, применение амперометрических сенсоров более перспективно по сравнению с пьезоэлектрическими [174-176, 211, 214-216].

Вольтамперные характеристики амперометрических сенсоров, с молекулярно-импринтированными полимерами, а также немодифицированного сенсора представлены на рисунке 5.2, в таблице 5.3 и на рисунках Б.2 – Б.3 Приложения Б.

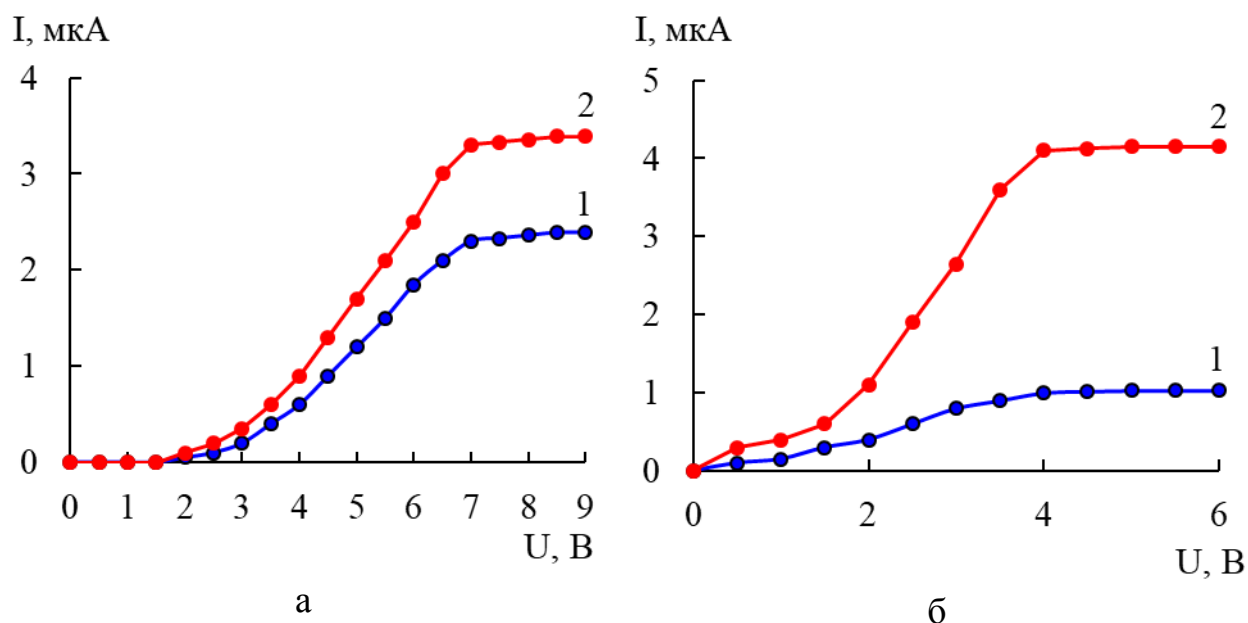


Рис. 5.2. Вольтамперные кривые для сенсоров с НП (а) и МИП (б) при контакте с

1 – H_2O ; 2 – водный раствор цефтриаксона натрия

Вольтамперные кривые, представленные на рисунках 5.1 и 5.2, а также в таблицах 5.1 и 5.3, показывают различия в электрохимических свойствах сенсоров. В то время как чистый сенсор характеризуется предельным напряжением 11,0 В для всех антибиотиков, на сенсорах с полимерным покрытием (НП- и МИП-сенсорах) наблюдается его значительное снижение. В частности, для НП-сенсора предельное напряжение для всех антибиотиков уменьшается до 7,1 В. Это свидетельствует об общем изменении свойств поверхности сенсора. Однако селективности к различным антибиотикам не наблюдается, что, вероятно, связано с отсутствием полостей в полимерной матрице, соответствующих молекулярной структуре целевых антибиотиков. В отличие от этого, молекулярно-импринтированный сенсор обладает преимуществами: ток появляется при более низком напряжении. Это может свидетельствовать о том, что сформированные в полимерной матрице специфические распознающие центры обеспечивают селективную сорбцию молекул антибиотика.

Таблица 5.3.

Предельное напряжение на электродах для НП- и МИП-сенсоров при контакте с водными растворами антибиотиков

Антибиотик	Концентрация, г/дм ³	Объем капли, мкл	Предельное напряжение U, В	
			НП-сенсор	МИП-сенсор
Ceftr	0,0001	10	7,10 ± 0,02	4,01 ± 0,04
Cef	0,0001	10	7,12 ± 0,05	1,03 ± 0,01
Cefot	0,0001	10	7,13 ± 0,04	1,54 ± 0,02
Cefur	0,0001	10	7,11 ± 0,04	2,02 ± 0,03
Strep	0,0001	10	7,14 ± 0,02	3,52 ± 0,06
Neo	0,0001	10	7,09 ± 0,01	3,02 ± 0,05
Sulf	0,0001	10	7,12 ± 0,03	2,99 ± 0,02

Предельное напряжение и предельный ток каждого антибиотика для МИП-сенсоров изменяются в зависимости от их молекулярной структуры. В частности, цефазолин натрия имеет самое низкое предельное напряжение (1,0 В), тогда как цефтриаксон натрия достигает самого высокого значения (4,0 В). Предельные напряжения цефотаксима натрия и цефуроксима натрия составляют 1,5 В и 2,0 В соответственно. Предельное напряжение для стрептомицина сульфата достигает 3,5 В, а для неомицина сульфата и сульфаниламида – по 3,0 В.

Вольтамперные кривые полученные при протекании тока через дистиллированную воду и водный раствор антибиотиков имеют существенные различия. Поскольку для дистиллированной воды характерна слабая диссоциация, поэтому регистрируется незначительный ток.

Как известно, при приложении к электродам постоянного напряжения на электродах начинаются процессы окисления и восстановления и через раствор начинает протекать ток. При этом из-за скачков потенциала на электродах закон Ома для цепи электрод – раствор – электрод не выполняется,

он справедлив только для анализируемого раствора. Согласно закону Ома при постоянном напряжении, R – это сопротивление элемента цепи [217].

$$I = \frac{U}{R}, \quad 5.2$$

где I - сила тока (А), U – напряжение (В), а R – сопротивление (Ом).

Поскольку электроды сенсора покрыты полимерным материалом сопротивление (R) является аддитивной величиной сопротивления раствора и полимерного слоя (Табл. 5.4). В связи с этим можно построить ряд для сопротивлений элементов цепи:

$$R_{\text{чистый сенсор}} < R_{\text{МИП-сенсор}} < R_{\text{НП-сенсор}}$$

Таблица 5.4.

Значение сопротивления в системе сенсор–водные растворы антибиотиков

Антибиотик	Сопротивление R, МОм		
	Сенсор без селективного покрытия	МИП-сенсор	НП-сенсор
Ceftr	0,74	0,98	2,15
Cef	0,69	0,79	2,37
Cefot	0,71	0,81	2,30
Cefur	0,73	0,92	2,22
Strep	0,77	1,41	2,10
Neo	0,74	1,37	2,02
Sulf	0,74	1,25	2,45

Согласно полученным данным для сенсора без селективного покрытия (чистый сенсор) характерно наименьшее сопротивление, так как на его поверхности отсутствует какой-либо полимерный слой, что обеспечивает наилучшую электропроводность и свободное движение электронов, приводящее к минимальному сопротивлению и наибольшему току. Когда поверхность покрыта полимерным слоем, как у НП- и МИП-сенсоров, сопротивление увеличивается из-за того, что полимер препятствует движению электронов, повышая сопротивление по сравнению с чистым сенсором.

Однако сопротивление МИП-сенсоров меньше, чем у НП-сенсоров, поскольку структура МИП содержит специфические поры, создающие пористую структуру, которая позволяет носителям заряда относительно легко перемещаться. Напротив, полимерный слой НП содержит поры по форме и размерам не совпадающие с молекулами растворенного в растворе вещества, тем самым образуя плотную и однородную пленку, которая сильнее препятствует прохождению тока и вызывает наибольшее сопротивление. Эти результаты показывают, что процесс молекулярного импринтинга формирует специфическую распознающую структуру, благодаря чему МИП-сенсор показывает лучшую электрическую проводимость по сравнению с НП.

Расчеты коэффициентов перекрестного реагирования для сенсоров модифицированных молекулярно-импринтированным полимером показали, что МИП-сенсор обладает высокой специфичностью по отношению к целевым антибиотикам (Табл. 5.5). Для МИП-сенсора при контакте с целевым компонентом значение ПР составляет 100%, что отражает способность сенсора избирательно распознавать именно целевую молекулу. Коэффициенты перекрестного реагирования для посторонних антибиотиков имеют низкие значения (все значения ниже 25%), т.е. сигнал сенсора практически не искажается от присутствия посторонних веществ.

По сравнению с сенсором без селективного покрытия (Табл. 5.2), у которого значения ПР высокие и имеют близкие значения, МИП-сенсор демонстрирует высокую селективность и специфичность: коэффициенты перекрестного реагирования снижаются более чем в 5 – 10 раз. Эти результаты подтверждают, что молекулярно-импринтированный полимер имеет специфические центры распознавания, обеспечивающие МИП-сенсору способность эффективно различать вещества как внутри одной группы, так и между различными группами, что позволяет точно определять целевой антибиотик в анализируемом образце.

Таблица 5.5.

Коэффициент перекрестного реагирования (ПР) для МИП-сенсора

Антибиотик	Коэффициент перекрестного реагирования (ПР), %						
	Ceftr	Cef	Cefot	Cefur	Strep	Neo	Sulf
Ceftr	100,00	17,55	21,15	23,08	15,38	15,60	13,89
Cef	15,34	100,00	19,87	19,23	9,23	12,01	16,67
Cefot	18,40	21,28	100,00	21,54	13,85	16,20	15,56
Cefur	16,56	15,96	23,72	100,00	11,54	13,80	18,33
Strep	11,04	14,89	12,82	15,38	100,00	21,61	12,78
Neo	9,20	10,64	10,90	13,85	19,23	100,00	11,11
Sulf	12,27	13,30	16,03	11,54	14,62	11,40	100,00

Согласно данным литературы [177] полиимиды обладают высокой химической и термостойкостью. Однако молекулярно-импринтированные полимеры, полученные на основе полиимидов и имеющие отличия в структуре за счет молекул-шаблонов могут отличаться по свойствам от исходных полиимидов. В связи с этим представлялось актуальным оценить старение полимерных пленок на поверхности электродов. Одним из критериев является чувствительность сенсоров.

На рисунке 5.3 показано влияние количества аналитических серий (n) на чувствительность амперометрических сенсоров на основе МИП. Замечено, что с ростом числа аналитических серий наблюдается снижение чувствительности сенсоров. Это можно объяснить деградацией активности участков молекулярного распознавания на поверхности сенсора после многократного использования, что приводит к менее эффективному связыванию с аналитом. Другими возможными причинами являются загрязнение поверхности или снижение проводящих свойств сенсора в процессе использования.

Для оценки способности сенсора к распознаванию молекул шаблона, помимо коэффициентов перекрестного реагирования, были также рассчитаны импринтинг-фактор (IF) для МИП-сенсоров в отношении целевых антибиотиков и других аналитов (Табл. 5.6).



Рис. 5.3. Зависимость чувствительности амперометрических сенсоров от количества аналитических серий (n)

1 – МИП-Cef; 2 – МИП-Sulf; 3 – МИП-Neo; 4 – МИП-Ceftr;
5 – МИП-Cefot; 6 – МИП-Cefur; 7 – МИП-Strep

Таблица 5.6.

Импринтинг-фактор (IF) для амперометрических сенсоров на основе молекулярно-импринтированного полимера

Анализируемое вещество	Сенсор МИП-Ceftr	Сенсор МИП-Cef	Сенсор МИП-Cefot	Сенсор МИП-Cefur	Сенсор МИП-Strep	Сенсор МИП-Neo	Сенсор МИП-Sulf
Ceftr	5,1	0,9	0,8	0,9	1,1	0,9	0,6
Cef	0,8	5,8	1,2	1,0	0,9	1,2	1,0
Cefot	1,1	0,6	4,9	0,8	1,2	1,0	0,8
Cefur	1,2	1,3	0,7	5,3	0,9	1,1	1,2
Strep	1,3	0,8	0,9	0,7	4,3	1,3	0,8
Neo	1,1	1,1	1,1	1,2	1,0	6,3	1,1
Sulf	1,0	1,0	1,0	0,9	0,8	1,1	6,1

Разработанные МИП-сенсоры проявляют наибольшее сродство к целевому антибиотику с высоким значением IF (МИП-Ceftr: 5,1 для цефтриаксона натрия; МИП-Cef: 5,8 для цефазолина натрия; МИП-Cefot: 4,9 для цефотаксима натрия; МИП-Cefur: 5,3 для цефуроксима натрия; МИП-

Strep: 4,3 для стрептомицина натрия; МИП-Neo: 6,3 для неомицина сульфата; МИП-Sulf: 6,1 для сульфаниламида), в то время как IF для посторонних антибиотиков остается низким ($< 1,3$), что свидетельствует о высокой специфичности молекулярно-импринтированного полимера. Сенсор с молекулярным отпечатком неомицина сульфата обладает наивысшей избирательной способностью, тогда как стрептомицина сульфат показывает наименьшую:

$$IF_{Neo} > IF_{Sulf} > IF_{Cef} > IF_{Cefur} > IF_{Ceftr} > IF_{Cefot} > IF_{Strep}$$

Таким образом, высокие значения импринтинг-фактора свидетельствуют о высокой эффективности МИП-сенсоров в определении целевого антибиотика.

Одним из факторов, влияющих на сигнал сенсора, является природа растворителя. Поскольку одной из задач работы было определение антибиотиков в реальных объектах, в частности, в молочных продуктах, представлялось актуальным исследовать влияние дистиллированной воды и молока с различным содержанием жира на аналитические характеристики амперометрических сенсоров, модифицированных МИП, при определении некоторых антибиотиков: цефтриаксона натрия, цефазолина натрия, стрептомицина сульфата и неомицина сульфата (Табл. 5.7).

При использовании молока в качестве растворителя при приготовлении растворов антибиотиков установлено, что для всех типов сенсоров наблюдается снижение чувствительности чем для случая, когда растворителем была дистиллированная вода. Для растворов, приготовленных на дистиллированной воде характерны более низкие значения предела обнаружения C_{min} по сравнению, когда растворителем было молоко, что может быть объяснено присутствием белков и жиров в молоке, затрудняющих диффузию аналита и вызывающих помехи во взаимодействии с распознающим полимерным слоем, что приводит к снижению электрического сигнала.

Таблица 5.7.

Влияние растворителей на определение антибиотиков в модельных растворах амперометрическими сенсорами ($n = 3$, $P = 0,95$)

Растворитель	Диапазон концентраций, г/дм ³	C_{\min} , г/дм ³	S_r , %	Уравнение градуировочного графика
МИП-Ceftr				
Дистил. вода	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$6,6 \cdot 10^{-6}$	5,5	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,34 \pm 0,07) \cdot pC + (3,0 \pm 0,2)$
Молоко 1,5%	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	5,1	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,33 \pm 0,04) \cdot pC + (2,7 \pm 0,3)$
Молоко 2,5%	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	2,7	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,30 \pm 0,03) \cdot pC + (2,3 \pm 0,2)$
Молоко 3,2%	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	3,8	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,29 \pm 0,03) \cdot pC + (2,1 \pm 0,3)$
МИП-Cef				
Дистил. вода	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$1,5 \cdot 10^{-6}$	3,8	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,44 \pm 0,04) \cdot pC + (3,6 \pm 0,3)$
Молоко 1,5%	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	4,7	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,37 \pm 0,03) \cdot pC + (2,8 \pm 0,4)$
Молоко 2,5%	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	3,6	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,29 \pm 0,04) \cdot pC + (2,2 \pm 0,2)$
Молоко 3,2%	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	3,4	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,26 \pm 0,02) \cdot pC + (2,0 \pm 0,3)$
МИП-Strep				
Дистил. вода	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$5,8 \cdot 10^{-6}$	2,6	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,32 \pm 0,06) \cdot pC + (2,7 \pm 0,2)$
Молоко 1,5%	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	4,1	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,23 \pm 0,05) \cdot pC + (2,1 \pm 0,3)$
Молоко 2,5%	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	4,4	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,21 \pm 0,03) \cdot pC + (1,9 \pm 0,2)$
Молоко 3,2%	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	2,1	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,17 \pm 0,02) \cdot pC + (1,6 \pm 0,1)$
МИП-Neo				
Дистил. вода	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$7,2 \cdot 10^{-6}$	2,9	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,41 \pm 0,05) \cdot pC + (3,5 \pm 0,3)$
Молоко 1,5%	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	1,4	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,39 \pm 0,03) \cdot pC + (3,0 \pm 0,2)$
Молоко 2,5%	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	2,9	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,37 \pm 0,04) \cdot pC + (2,7 \pm 0,3)$
Молоко 3,2%	$1,0 \cdot 10^{-1} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$	3,5	$\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,33 \pm 0,02) \cdot pC + (2,4 \pm 0,3)$

Во всех исследованных средах сохранялась линейная зависимость между сигналом сенсора и концентрацией антибиотика. Однако различия в значениях C_{\min} указывают на то, что дистиллированная вода является более оптимальной средой для анализа.

Таким образом, амперометрический метод с использованием МИП-сенсоров обеспечивает стабильные аналитические результаты и может применяться для анализа различных жидких сред.

Также оценено влияние температуры на аналитический сигнал амперометрического сенсора (Табл. 5.8). Результаты показали, что при повышении температуры от 10 °С до 50 °С аналитический сигнал (разность тока ΔI) всех сенсоров увеличивается. Это явление можно объяснить увеличением скорости диффузии молекул антибиотика к поверхности электрода и ускорением кинетики окислительно-восстановительной реакции при высокой температуре. Однако увеличение сигнала различно для разных сенсоров, что отражает различия в структуре МИП и степень их специфического взаимодействия с каждым антибиотика.

Таблица 5.8.

Влияние температуры на определение антибиотиков в модельных растворах амперометрическими сенсорами ($n = 3$, $P = 0,95$)

Т, °С	С, г/дм ³	ΔI , мкА	S_r , %	ΔI , мкА	S_r , %
		МИП-Ceftr		МИП-Cef	
10	0,001	1,5 ± 0,2	5,3	1,9 ± 0,1	3,1
	0,010	1,8 ± 0,1	2,4	2,4 ± 0,3	2,4
25	0,001	2,0 ± 0,1	1,7	2,3 ± 0,2	3,3
	0,010	2,4 ± 0,3	2,1	2,8 ± 0,3	3,6
50	0,001	2,3 ± 0,2	4,1	2,6 ± 0,4	2,2
	0,010	2,6 ± 0,2	3,5	3,1 ± 0,2	1,9
		МИП-Cefot		МИП-Cefur	
10	0,001	1,6 ± 0,2	4,5	1,2 ± 0,2	4,6
	0,010	1,9 ± 0,3	5,0	1,4 ± 0,1	1,4
25	0,001	2,0 ± 0,4	2,9	1,6 ± 0,1	1,3
	0,010	2,3 ± 0,3	3,0	1,9 ± 0,2	2,3
50	0,001	2,5 ± 0,2	3,8	1,9 ± 0,2	3,9
	0,010	2,8 ± 0,1	1,2	2,2 ± 0,1	2,6

Продолжение таблицы 5.8.

T, °C	C, г/дм ³	ΔI, мкА	S _r , %	ΔI, мкА	S _r , %	ΔI, мкА	S _r , %
		МИП-Strep		МИП-Neo		МИП-Sulf	
10	0,001	1,3 ± 0,2	4,9	1,6 ± 0,2	4,2	1,5 ± 0,2	5,3
	0,010	1,6 ± 0,1	3,2	2,0 ± 0,2	3,4	1,9 ± 0,2	5,8
25	0,001	1,7 ± 0,1	3,7	2,1 ± 0,1	2,7	2,2 ± 0,1	1,1
	0,010	2,0 ± 0,3	4,3	2,5 ± 0,3	4,0	2,6 ± 0,2	3,9
50	0,001	2,1 ± 0,2	3,0	2,4 ± 0,2	2,8	2,6 ± 0,3	4,4
	0,010	2,4 ± 0,1	2,4	2,9 ± 0,1	2,0	2,9 ± 0,1	1,8

В целом, высокая температура (50 °C) способствует улучшению чувствительности и стабильности сигнала, однако необходимо определить оптимальный температурный порог, чтобы избежать воздействия на сенсор или образец. Напротив, при низкой температуре (10 °C) наблюдается некоторое снижение чувствительности и воспроизводимости сенсора.

Еще одним фактором способным оказывать влияние на сигнал сенсора является кислотность среды. Результаты, представлены в таблице 5.9. Для всех сенсоров наибольшая разность тока ΔI наблюдается в слабокислой среде (рН около 3,6 – 4,0) и постепенно снижается при повышении рН до нейтрального или щелочного уровня (рН около 10).

Таблица 5.9.

Влияние рН определения антибиотиков в модельных растворах амперометрическими сенсорами (n = 3, P = 0,95)

C, г/дм ³	рН	ΔI, мкА	S _r , %	рН	ΔI, мкА	S _r , %
	МИП-Ceftr			МИП-Cef		
0,001	4,0 ± 0,2	2,5 ± 0,1	2,3	3,8 ± 0,2	2,9 ± 0,2	2,0
0,010		2,8 ± 0,2	2,7		3,4 ± 0,1	1,6
0,001	5,6 ± 0,2	2,0 ± 0,1	1,7	5,2 ± 0,1	2,3 ± 0,2	3,3
0,010		2,4 ± 0,3	2,1		2,8 ± 0,3	3,6
0,001	10,1 ± 0,1	1,4 ± 0,2	4,7	10,2 ± 0,1	2,0 ± 0,1	3,2
0,010		1,6 ± 0,4	3,4		2,3 ± 0,4	2,5

Продолжение таблицы 5.9.

C, г/дм ³	рН	ΔI, мкА	S _r , %	рН	ΔI, мкА	S _r , %
		МИП-Cefot			МИП-Cefur	
0.001	3,8 ± 0,2	2,4 ± 0,3	4,8	3,7 ± 0,1	2,1 ± 0,1	1,1
0.010		2,7 ± 0,4	5,2		2,4 ± 0,1	2,4
0.001	5,7 ± 0,2	2,0 ± 0,4	2,9	5,6 ± 0,3	1,6 ± 0,1	1,3
0.010		2,3 ± 0,3	3,0		1,9 ± 0,2	2,3
0.001	10,7 ± 0,1	1,5 ± 0,3	5,5	10,1 ± 0,2	1,3 ± 0,2	4,6
0.010		1,9 ± 0,2	4,9		1,6 ± 0,1	3,7
	МИП-Strep			МИП-Neo		
0.001	4,0 ± 0,1	2,2 ± 0,2	2,6	3,9 ± 0,1	2,5 ± 0,1	1,8
0.010		2,6 ± 0,1	2,2		3,0 ± 0,3	1,5
0.001	5,4 ± 0,2	1,7 ± 0,2	3,7	5,5 ± 0,2	2,1 ± 0,1	2,7
0.010		2,0 ± 0,3	4,3		2,5 ± 0,3	4,0
0.001	10,5 ± 0,1	1,2 ± 0,1	4,5	10,8 ± 0,1	1,5 ± 0,2	4,1
0.010		1,5 ± 0,1	3,8		2,0 ± 0,2	3,9
	МИП-Sulf					
0.001	3,6 ± 0,2	2,5 ± 0,3	5,3			
0.010		2,8 ± 0,3	5,5			
0.001	5,2 ± 0,1	2,2 ± 0,1	1,1			
0.010		2,6 ± 0,2	3,9			
0.001	10,6 ± 0,1	1,8 ± 0,2	5,6			
0.010		2,1 ± 0,1	0,8			

Так, для сенсора МИП-Ceftr при концентрации 0,001 г/дм³ ΔI уменьшается с 2,5 мкА при рН 4,0 до 1,4 мкА при рН 10,1. Аналогичная тенденция наблюдается и для других сенсоров, таких как МИП-Cef, МИП-Cefot, МИП-Cefur, МИП-Strep, МИП-Neo и МИП-Sulf. Это может быть объяснено влиянием рН на ионизационное состояние молекул антибиотиков и/или на участки распознавания в полимерном слое. В условиях слабокислой

среды взаимодействие между молекулами антибиотика и распознающими участками в МИП может быть более эффективным, что приводит к более высоким значениям тока. При повышении рН изменение степени ионизации может снижать эффективность связывания, вызывая ослабление электрического сигнала.

5.2. Определение антибиотиков амперометрическими сенсорами на основе МИП в модельных растворах

Для МИП-сенсоров градуировочные зависимости описываются уравнением прямой:

для МИП-Ceftr $\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,34 \pm 0,07) \cdot \text{pC} + (3,0 \pm 0,2)$, для МИП-Cef $\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,44 \pm 0,04) \cdot \text{pC} + (3,6 \pm 0,3)$, для МИП-Cefot $\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,43 \pm 0,03) \cdot \text{pC} + (3,3 \pm 0,2)$, для МИП-Cefur $\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,32 \pm 0,06) \cdot \text{pC} + (2,6 \pm 0,1)$, для МИП-Strep $\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,32 \pm 0,06) \cdot \text{pC} + (2,7 \pm 0,2)$, для МИП-Neo $\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,41 \pm 0,05) \cdot \text{pC} + (3,5 \pm 0,3)$, для МИП-Sulf $\Delta I_{\text{МИП}} = - (0,31 \pm 0,06) \cdot \text{pC} + (3,1 \pm 0,1)$ с коэффициентом детерминации $R^2 > 0,99$. В то же время у сенсора, модифицированного неимпринтированным полимером, такая зависимость не выявлена (Рис. 5.4 и Рис. Б.4 Приложения Б).

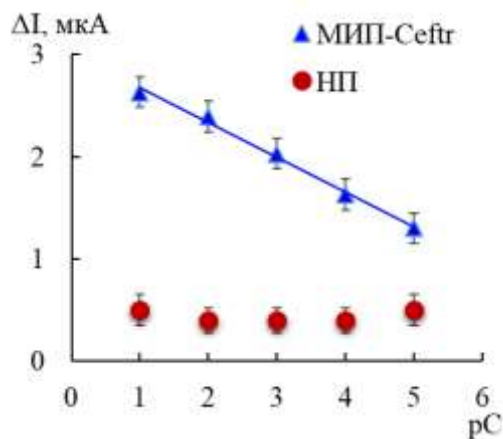


Рис. 5.4. Зависимость разности тока амперометрического сенсора МИП-Ceftr в растворе от логарифма концентрации антибиотика

Метрологические характеристики амперометрических МИП-сенсоров приведены в таблице 5.10. Пределы обнаружения составили $6,6 \cdot 10^{-6}$ г/дм³ для МИП-Ceftr, $1,5 \cdot 10^{-6}$ г/дм³ для МИП-Cef, $8,5 \cdot 10^{-6}$ г/дм³ для МИП-Cefot,

$3,5 \cdot 10^{-6}$ г/дм³ для МИП-Cefur, $5,8 \cdot 10^{-6}$ г/дм³ для МИП-Strep, $7,2 \cdot 10^{-6}$ г/дм³ для МИП-Neo и $4,7 \cdot 10^{-6}$ г/дм³ для МИП-Sulf.

Таблица 5.10.

Метрологические характеристики определения антибиотиков
амперометрическими МИП-сенсорами (n = 3, P = 0,95)

Сенсор	Определяемый антибиотик	Диапазон определяемых концентраций, г/дм ³	C_{\min} , г/дм ³	S_r , %	ПДК, г/дм ³
МИП-Ceftr	Ceftr	0,1 - $1,0 \cdot 10^{-5}$	$6,6 \cdot 10^{-6}$	5,5	$2,0 \cdot 10^{-4}$
МИП-Cef	Cef	0,1 - $1,0 \cdot 10^{-5}$	$1,5 \cdot 10^{-6}$	3,8	$1,0 \cdot 10^{-4}$
МИП-Cefot	Cefot	0,1 - $1,0 \cdot 10^{-5}$	$8,5 \cdot 10^{-6}$	2,3	$1,8 \cdot 10^{-4}$
МИП-Cefur	Cefur	0,1 - $1,0 \cdot 10^{-5}$	$3,5 \cdot 10^{-6}$	4,7	$1,8 \cdot 10^{-4}$
МИП-Strep	Strep	0,1 - $1,0 \cdot 10^{-5}$	$5,8 \cdot 10^{-6}$	2,6	$2,5 \cdot 10^{-4}$
МИП-Neo	Neo	0,1 - $1,0 \cdot 10^{-5}$	$7,2 \cdot 10^{-6}$	2,9	$15,8 \cdot 10^{-4}$
МИП-Sulf	Sulf	0,1 - $1,0 \cdot 10^{-5}$	$4,7 \cdot 10^{-6}$	3,2	$1,0 \cdot 10^{-4}$

Полученные пределы обнаружения ниже предельно допустимых концентраций антибиотиков (ПДК_{Ceftr} – $2,0 \cdot 10^{-4}$ г/дм³, ПДК_{Cefot} и ПДК_{Cefur} – $1,8 \cdot 10^{-4}$ г/дм³, ПДК_{Cef} и ПДК_{Sulf} – $1,0 \cdot 10^{-4}$ г/дм³, ПДК_{Strep} – $2,5 \cdot 10^{-4}$ г/дм³ и ПДК_{Neo} – $15,8 \cdot 10^{-4}$ г/дм³). Сенсоры способны обнаруживать антибиотики в диапазоне концентраций $1,0 \cdot 10^{-1}$ – $1,0 \cdot 10^{-5}$ г/дм³.

Для оценки точности измерений антибиотиков с использованием амперометрических сенсоров применяли метод «введено – найдено» (Табл. 5.11). Показано, что МИП-сенсоры обладают высокой точностью определения антибиотиков. Относительное стандартное отклонение (S_r) не превышает 5%.

Метод «введено – найдено» также был применен для определения антибиотиков в модельных бинарных, тройных и четверных смесях (Табл. 5.12 и Табл. Б.1 Приложения Б). МИП-сенсоры показали высокую селективность не только при анализе индивидуальных веществ, но и при их определении в смесях.

Таблица 5.11.

Определение антибиотиков в модельных растворах методом
«введено-найдено» (n = 5, P = 0,95)

Анализируемое вещество	С, г/дм ³		S _r , %
	Введено	Найдено	
Сенсор на основе МИП-Ceftr			
Ceftr	0,01	$(9,8 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	3,5
	0,001	$(10,3 \pm 0,6) \cdot 10^{-4}$	4,4
	0,0001	$(10,5 \pm 0,5) \cdot 10^{-5}$	3,8
Сенсор на основе МИП-Cefot			
Cefot	0,01	$(10,5 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	3,4
	0,001	$(9,6 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	3,9
	0,0001	$(10,2 \pm 0,4) \cdot 10^{-5}$	3,2
Сенсор на основе МИП-Cef			
Cef	0,01	$(9,7 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	3,6
	0,001	$(10,4 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	2,5
	0,0001	$(10,6 \pm 0,6) \cdot 10^{-5}$	4,8
Сенсор на основе МИП-Cefur			
Cefur	0,01	$(10,1 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$	4,3
	0,001	$(9,8 \pm 0,4) \cdot 10^{-4}$	3,4
	0,0001	$(10,3 \pm 0,5) \cdot 10^{-5}$	4,2
Сенсор на основе МИП-Strep			
Strep	0,01	$(10,2 \pm 0,6) \cdot 10^{-3}$	4,7
	0,001	$(9,9 \pm 0,5) \cdot 10^{-4}$	4,5
	0,0001	$(10,4 \pm 0,5) \cdot 10^{-5}$	3,8
Сенсор на основе МИП-Neo			
Neo	0,01	$(10,5 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	2,9
	0,001	$(10,6 \pm 0,5) \cdot 10^{-4}$	4,0
	0,0001	$(9,6 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	2,4
Сенсор на основе МИП-Sulf			
Sulf	0,01	$(9,5 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	3,1
	0,001	$(10,5 \pm 0,6) \cdot 10^{-4}$	4,7
	0,0001	$(10,1 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	2,1

Эти результаты открывают перспективы использования сенсоров на основе МИП для многокомпонентного анализа биологических или фармацевтических образцов, содержащих несколько активных веществ одновременно.

Таблица 5.12.

Определение цефтриаксона натрия и цефазолина натрия в модельных смесях методом «введено-найдено» (n = 5, P = 0,95)

Анализируемое вещество	С, г/дм ³		S _r , %	
	Введено	Найдено		
Сенсор на основе МИП-Ceftr				
Ceftr	0,01	$(9,8 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	3,5	
Cef / Cefot / Cefur / Strep / Sulf	0,01	–	–	
Раствор Ceftr и Cef	Ceftr	0,01	$(9,6 \pm 0,3) \cdot 10^{-3}$	2,8
	Cef	0,01		
Раствор Ceftr, Cefot и Cefur	Ceftr	0,01	$(10,6 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	3,4
	Cefot	0,01		
	Cefur	0,01		
Раствор Ceftr, Cef, Strep и Sulf	Ceftr	0,01	$(10,7 \pm 0,2) \cdot 10^{-3}$	3,5
	Cef	0,01		
	Strep	0,01		
	Sulf	0,01		
Сенсор на основе МИП-Cef				
Cef	0,01	$(9,7 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	3,6	
Ceftr / Cefot / Cefur / Strep / Sulf	0,01	–	–	
Раствор Cef и Cefot	Cef	0,01	$(10,2 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$	3,9
	Cefot	0,01		
Раствор Cef, Ceftr и Cefur	Cef	0,01	$(9,8 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	3,1
	Ceftr	0,01		
	Cefur	0,01		
Раствор Cef, Cefot, Strep и Sulf	Cef	0,01	$10,5 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$	4,3
	Cefot	0,01		
	Strep	0,01		
	Sulf	0,01		

Одним из способов проверки правильности определения антибиотиков является сравнение результатов различных способов анализа. В качестве референтных методов были выбраны спектрофотометрия (СФ) и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

В таблице 5.13 приведены результаты количественного определения цефалоспоринового антибиотика и сульфаниламида в модельных растворах, полученные с использованием спектрофотометрического метода и МИП-сенсора.

Таблица 5.13.

Сравнение средних двух серий данных определения антибиотиков методом спектрофотометрии и МИП-сенсорами ($n=5$; $P=0,95$; $F_{\text{табл}} = 6,39$; $t_{\text{табл}} = 2,306$)

Метод определения	$C, \text{ г/дм}^3$	$S^2 \cdot 10^{-7}$	F	$S_p \cdot 10^{-4}$	t_{\pm}
Цефтриаксон натрия (Ceftr)					
СФ	$(4,9 \pm 0,1) \cdot 10^{-3}$	0,12	2,23	1,41	0,824
МИП-Ceftr	$(4,8 \pm 0,2) \cdot 10^{-3}$	0,28			
СФ	$(10,1 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$	1,39	1,17	3,60	1,372
МИП-Ceftr	$(9,8 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	1,19			
Цефазолин натрия (Cef)					
СФ	$(5,2 \pm 0,2) \cdot 10^{-3}$	0,42	2,94	1,68	0,989
МИП-Cef	$(5,3 \pm 0,3) \cdot 10^{-3}$	0,14			
СФ	$(10,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-3}$	0,35	3,45	2,79	1,572
МИП-Cef	$(9,7 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	1,21			
Цефотаксим натрия (Cefot)					
СФ	$(4,7 \pm 0,3) \cdot 10^{-3}$	0,40	1,19	1,92	1,714
МИП-Cefot	$(4,9 \pm 0,2) \cdot 10^{-3}$	0,34			
СФ	$(10,2 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$	1,38	1,08	3,64	1,491
МИП-Cefot	$(10,5 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	1,28			
Цефуроксим натрия (Cefur)					
СФ	$(5,0 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$	0,17	1,11	1,35	1,352
МИП-Cefur	$(5,1 \pm 0,1) \cdot 10^{-3}$	0,19			
СФ	$(9,8 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$	1,53	1,22	4,11	1,251
МИП-Cefur	$(10,1 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$	1,86			
Сульфаниламид (Sulf)					
СФ	$(4,8 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	0,13	3,22	1,68	1,982
МИП-Sulf	$(5,0 \pm 0,6) \cdot 10^{-3}$	0,43			
СФ	$(9,8 \pm 0,2) \cdot 10^{-3}$	0,92	3,43	2,44	1,762
МИП-Sulf	$(9,5 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	0,27			

Примечание: S^2 – дисперсия; F – критерий Фишера; S_p – средневзвешенное стандартное отклонение; t_{\pm} – критерий Стьюдента.

Результаты статистической обработки данных свидетельствуют о сопоставимой точности и надежности способа определения антибиотиков МИП-сенсорами и спектрофотометрией. Расчитанные значения как F-критерия Фишера, так и t-тест Стьюдента ниже своих табличных величин, что указывает на однородность дисперсий и отсутствие статистически значимых различий между при определении веществ МИП-сенсорами и спектрофотометрией.

В работе была проведена не только сравнительная оценка результатов определения антибиотиков с использованием СФ и МИП-сенсора, но также выполнено сравнение результатов полученных ВЭЖХ и МИП-сенсорами для антибиотиков Ceftr, Cef, Strep и Neo (Табл. 5.14).

Таблица 5.14.

Сравнение средних двух серий данных определения антибиотиков ВЭЖХ и МИП-сенсорами ($n = 5$; $P = 0,95$; $F_{\text{табл}} = 6,39$; $t_{\text{табл}} = 2,306$)

Метод определения	C, г/дм ³	$S^2 \cdot 10^{-7}$	F	$S_p \cdot 10^{-4}$	t_{\pm}
Цефтриаксон натрия (Ceftr)					
ВЭЖХ	$(10,2 \pm 0,6) \cdot 10^{-3}$	2,04	1,70	4,02	1,754
МИП-Cef	$(9,8 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	1,19			
ВЭЖХ	$(49,6 \pm 0,6) \cdot 10^{-3}$	2,45	2,62	6,66	1,679
МИП-Cef	$(50,3 \pm 1,0) \cdot 10^{-3}$	6,42			
Цефазолин натрия (Cef)					
ВЭЖХ	$(10,1 \pm 0,3) \cdot 10^{-3}$	1,11	1,09	3,41	1,647
МИП-Cef	$(9,7 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	1,21			
ВЭЖХ	$(49,4 \pm 1,8) \cdot 10^{-3}$	20,6	2,84	1,99	1,048
МИП-Cef	$(50,7 \pm 3,0) \cdot 10^{-3}$	58,8			
Стрептомицин сульфата (Strep)					
ВЭЖХ	$(10,5 \pm 0,7) \cdot 10^{-3}$	2,76	1,18	5,04	0,880
МИП-Strep	$(10,2 \pm 0,6) \cdot 10^{-3}$	2,34			
ВЭЖХ	$(49,2 \pm 1,0) \cdot 10^{-3}$	6,06	1,17	7,50	0,993
МИП-Strep	$(48,7 \pm 0,9) \cdot 10^{-3}$	5,19			
Неомицин сульфата (Neo)					
ВЭЖХ	$(10,3 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$	1,85	1,94	3,74	1,012
МИП-Neo	$(10,5 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	0,95			
ВЭЖХ	$(50,4 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	1,08	2,84	4,55	1,216
МИП-Neo	$(50,1 \pm 0,7) \cdot 10^{-3}$	3,06			

Примечание: S^2 – дисперсия; F – критерий Фишера; S_p – средневзвешенное стандартное отклонение; t_{\pm} – критерий Стьюдента.

Установлено, что результаты, полученные методами ВЭЖХ и с использованием МИП-сенсоров статистически не различаются ($F < F_{\text{табл}}$). Более того, совпадение средних значений в рядах данных ($t_{\pm} < t_{\text{табл}}$) указывает на отсутствие систематической погрешности при использовании амперометрических сенсоров.

В ходе работы установлено, что погрешность определения содержания антибиотиков в модельных растворах МИП-сенсорами и референтным методом составляет менее 5%, что свидетельствует о высокой точности и надежности применяемого метода (Табл. 5.15).

Таблица 5.15.

Определение антибиотиков в модельных растворах спектрофотометрически, ВЭЖХ и МИП-сенсорами (n = 5, P = 0,95)

Антибиотик	С, г/дм ³			Δ, %
	Введено	Найдено***	Найдено сенсорами	
Сенсор МИП-Ceftr				
Ceftr	10,0 · 10 ⁻³	(10,1 ± 0,5) · 10 ^{-3*}	(9,8 ± 0,4) · 10 ⁻³	3,2
	10,0 · 10 ⁻³	(10,2 ± 0,6) · 10 ^{-3**}		4,6
	5,0 · 10 ⁻³	(4,9 ± 0,1) · 10 ^{-3*}	(4,8 ± 0,2) · 10 ⁻³	1,5
	50,0 · 10 ⁻³	(49,6 ± 0,6) · 10 ^{-3**}	(50,3 ± 1,0) · 10 ⁻³	1,4
Сенсор МИП-Cef				
Cef	10,0 · 10 ⁻³	(10,0 ± 0,2) · 10 ^{-3*}	(9,7 ± 0,4) · 10 ⁻³	2,9
	10,0 · 10 ⁻³	(10,1 ± 0,3) · 10 ^{-3**}		3,6
	5,0 · 10 ⁻³	(5,2 ± 0,2) · 10 ^{-3*}	(5,3 ± 0,3) · 10 ⁻³	2,0
	50,0 · 10 ⁻³	(49,4 ± 1,8) · 10 ^{-3**}	(50,7 ± 3,0) · 10 ⁻³	2,6
Сенсор МИП-Cefot				
Cefot	5,0 · 10 ⁻³	(4,7 ± 0,3) · 10 ^{-3*}	(4,9 ± 0,2) · 10 ⁻³	4,2
	10,0 · 10 ⁻³	(10,2 ± 0,5) · 10 ^{-3*}	(10,5 ± 0,4) · 10 ⁻³	3,3
Сенсор МИП-Cefur				
Cefur	5,0 · 10 ⁻³	(5,0 ± 0,5) · 10 ^{-3*}	(5,1 ± 0,1) · 10 ⁻³	2,3
	10,0 · 10 ⁻³	(9,8 ± 0,5) · 10 ^{-3*}	(10,1 ± 0,5) · 10 ⁻³	3,2
Сенсор МИП-Sulf				
Sulf	5,0 · 10 ⁻³	(4,8 ± 0,4) · 10 ^{-3*}	(5,0 ± 0,6) · 10 ⁻³	4,2
	10,0 · 10 ⁻³	(9,8 ± 0,2) · 10 ^{-3*}	(9,5 ± 0,4) · 10 ⁻³	2,9
Сенсор МИП-Strep				
Strep	10,0 · 10 ⁻³	(10,5 ± 0,7) · 10 ^{-3**}	(10,2 ± 0,6) · 10 ⁻³	2,8
	50,0 · 10 ⁻³	(49,2 ± 1,0) · 10 ^{-3**}	(48,7 ± 0,9) · 10 ⁻³	2,2
Сенсор МИП-Neo				
Neo	10,0 · 10 ⁻³	(10,3 ± 0,5) · 10 ^{-3**}	(10,5 ± 0,4) · 10 ⁻³	2,3
	50,0 · 10 ⁻³	(50,4 ± 0,4) · 10 ^{-3**}	(50,1 ± 0,7) · 10 ⁻³	0,7

Примечание: *- концентрация установлена методом спектрофотометрически

** - концентрация установлена методом ВЭЖХ

Для оценки влияния неорганических ионов на сигнал амперометрического сенсора проведено измерение 0,01 г/дм³ растворов некоторых веществ (HCl, H₂SO₄, NaOH, NaCl, Na₂SO₄), нанесенных на МИП-сенсоры (Табл. 5.16).

Таблица 5.16.

Влияние неорганических компонентов на определение антибиотиков в модельных растворах амперометрическими сенсорами (n = 5, P = 0,95)

Анализируемое вещество	C, г/дм ³	ΔI, мкА	S _r , %	C, г/дм ³	ΔI, мкА	S _r , %
	Сенсор МИП-Ceft			Сенсор МИП-Cef		
Целевой антибиотик	0,01	2,44 ± 0,09	1,9	0,01	2,83 ± 0,09	1,3
NaOH	0,01	0,69 ± 0,04	4,9	0,01	0,67 ± 0,02	2,9
NaCl	0,01	0,55 ± 0,01	2,1	0,01	0,52 ± 0,03	4,5
HCl	0,01	0,60 ± 0,02	3,0	0,01	0,61 ± 0,03	3,8
Na ₂ SO ₄	0,01	0,64 ± 0,02	2,5	0,01	0,73 ± 0,04	4,3
H ₂ SO ₄	0,01	0,75 ± 0,03	2,8	0,01	0,78 ± 0,01	2,0
	Сенсор МИП-Cefot			Сенсор МИП-Cefur		
Целевой антибиотик	0,01	2,42 ± 0,07	1,2	0,01	1,92 ± 0,08	1,7
NaOH	0,01	0,48 ± 0,02	3,8	0,01	0,62 ± 0,03	3,4
NaCl	0,01	0,57 ± 0,02	3,1	0,01	0,56 ± 0,02	3,0
HCl	0,01	0,53 ± 0,01	1,6	0,01	0,54 ± 0,03	4,5
Na ₂ SO ₄	0,01	0,65 ± 0,01	1,9	0,01	0,66 ± 0,04	4,7
H ₂ SO ₄	0,01	0,71 ± 0,03	3,9	0,01	0,72 ± 0,02	2,2

Продолжение таблицы 5.16.

Анализируемое вещество	Сенсор МИП-Strep			Сенсор МИП-Neo		Сенсор МИП-Sulf	
	C, г/дм ³	ΔI , мкА	S_r , %	ΔI , мкА	S_r , %	ΔI , мкА	S_r , %
Целевой антибиотик	0,01	$2,03 \pm 0,06$	1,2	$2,52 \pm 0,09$	1,5	$2,61 \pm 0,07$	1,1
NaOH	0,01	$0,69 \pm 0,02$	2,8	$0,65 \pm 0,04$	4,7	$0,67 \pm 0,03$	3,9
NaCl	0,01	$0,58 \pm 0,03$	3,5	$0,72 \pm 0,03$	2,9	$0,63 \pm 0,04$	4,9
HCl	0,01	$0,63 \pm 0,04$	4,5	$0,57 \pm 0,03$	3,7	$0,56 \pm 0,02$	3,5
Na ₂ SO ₄	0,01	$0,67 \pm 0,04$	4,6	$0,60 \pm 0,02$	3,0	$0,71 \pm 0,04$	4,7
H ₂ SO ₄	0,01	$0,53 \pm 0,03$	4,8	$0,54 \pm 0,01$	2,4	$0,65 \pm 0,02$	2,8

Экспериментально установлено, что сигнал сенсоров в этих растворах близок к сигналу сенсоров для дистиллированной воды. Это означает, что МИП-сенсоры практически не дают сигнала при контакте с растворами неорганических веществ, что подтверждает возможность применения сенсоров для анализа реальных образцов, таких как молоко или сточные воды, которые часто содержат соли и кислотно-щелочные компоненты.

5.3. Определение антибиотиков в молочных продуктах и сточной воде амперометрическими МИП-сенсорами

В последние годы сточные воды стали серьезным источником загрязнения, поскольку содержат широкий спектр вредных компонентов, включая промышленные химикаты, поверхностно-активные вещества, тяжелые металлы, нефтепродукты, органические вещества (бытовые отходы, пищевые остатки, жиры), патогенные микроорганизмы, фармацевтические соединения, в частности, антибиотики.

Антибиотики поступают в сточные воды из различных источников: сточные воды больниц, животноводческих ферм и фармацевтических предприятий. Попадая в системы очистки сточных вод, эти вещества не

удаляются полностью и продолжают проникать в поверхностные и подземные воды, а иногда даже в питьевую. Несмотря на низкие концентрации, они оказывают значительное влияние на микробные сообщества, способствуя распространению генов устойчивости к антибиотикам и снижая эффективность лечения заболеваний. Кроме того, антибиотики токсичны для водных организмов и нарушают баланс водных экосистем. Поэтому определение антибиотиков в сточных водах является необходимым для защиты окружающей среды и здоровья человека [218].

Применение антибиотиков в сельском хозяйстве имеет серьезные последствия: оно загрязняет экосистемы и приводит к их накоплению в продукции животноводства, такой как мясо, субпродукты, молоко и яйца. Особую опасность для здоровья человека представляют остатки антибиотиков в молочных продуктах, поскольку они повышают риск развития онкологических заболеваний, мутагенных эффектов, тератогенеза, нефро- и гепатотоксичности, репродуктивных нарушений и аллергических реакций [10]. Таким образом, контроль содержания антибиотиков в молоке и его производных является необходимым условием безопасности потребителей.

В работе получены вольтамперные зависимости для МИП-сенсоров при контакте с молоком (Рис. 5.5 и Рис. Б.5 Приложения Б). Результаты представлены в таблице 5.17. Показано, что предельные значения напряжения для всех исследованных антибиотиков на МИП-сенсоре снижаются при измерении в молоке по сравнению с водной средой. Это свидетельствует о том, что в молочной среде электрический ток возникает при более низком напряжении. Снижение предельного напряжения может быть объяснено рядом факторов. Во-первых, молоко содержит неорганические ионы (Ca^{2+} , K^+ , Na^+), белки и лактозу, вследствие чего его электропроводность выше по сравнению с дистиллированной водой. При повышенной проводимости перенос электрических зарядов на поверхности электрода происходит легче, что приводит к появлению тока при более низком напряжении.

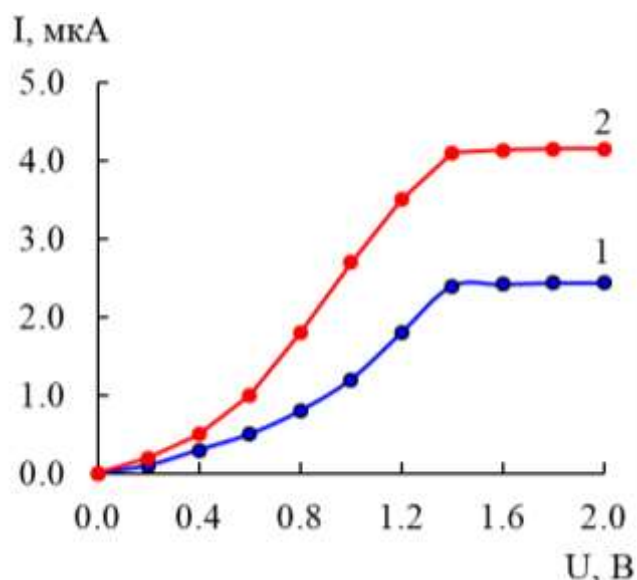


Рис. 5.5. Вольтамперные кривые для МИП-сенсоров при контакте с молоком (1) и с цефтриаксоном натрия в молоке (2)

Таблица 5.17.

Предельное напряжение антибиотиков для МИП-сенсоров в воде и молоке

Антибиотик	С, г/дм ³	Объем капли, мкл	Предельное напряжение U, В	
			Вода	Молоко
Ceftr	0,0001	10	4,01 ± 0,04	1,41 ± 0,02
Cef	0,0001	10	1,03 ± 0,01	0,99 ± 0,01
Cefot	0,0001	10	1,54 ± 0,02	1,22 ± 0,03
Cefur	0,0001	10	2,02 ± 0,03	1,20 ± 0,04
Strep	0,0001	10	3,52 ± 0,06	2,02 ± 0,05
Neo	0,0001	10	3,02 ± 0,05	1,62 ± 0,02

Во-вторых, молекулы белков и жиров, присутствующие в молоке, способны образовывать слабые связи или физические взаимодействия с молекулами антибиотика, что облегчает их перенос и накопление вблизи поверхности полимерного импринтированного слоя. Таким образом, МИП-сенсор не только работает в водной среде, но также дает хороший сигнал в сложной среде, такой как молоко. Это позволяет использовать МИП-сенсор для определения остаточного содержания антибиотиков в молочных продуктах.

В работе проведена апробация сенсоров МИП-Ceftr, МИП-Cef, МИП-Strep, МИП-Neo при определении остаточного количества антибиотиков в образцах молока и сточной воде (Табл. 5.18).

Таблица 5.18.

Сравнение средних двух серий данных определения антибиотиков в жидких средах ВЭЖХ и МИП-сенсорами

($n = 5$; $P = 0,95$; $F_{\text{табл}} = 6,39$; $t_{\text{табл}} = 2,306$)

Метод определения	Объект	C , г/дм ³	$S^2 \cdot 10^{-7}$	F	$S_p \cdot 10^{-4}$	t_{\pm}
Цефтриаксон натрия (Ceftr)						
ВЭЖХ	Модельный раствор Ceftr	$(10,2 \pm 0,6) \cdot 10^{-3}$	2,04	1,70	4,02	1,754
МИП-Ceftr		$(9,8 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	1,19			
ВЭЖХ	Молоко (Авида 1,5%, Эконива 2,5%, Вкуснотеево 3,2%) / Сточная вода	–	–	–	–	–
МИП-Ceftr		–	–			
Цефазолин натрия (Cef)						
ВЭЖХ	Модельный раствор Cef	$(10,1 \pm 0,3) \cdot 10^{-3}$	1,11	1,09	3,41	1,647
МИП-Cef		$(9,7 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	1,21			
ВЭЖХ	Молоко (Авида 1,5%, Эконива 2,5%, Вкуснотеево 3,2%) / Сточная вода	–	–	–	–	–
МИП-Cef		–	–			
Стрептомицин сульфат (Strep)						
ВЭЖХ	Модельный раствор Strep	$(10,5 \pm 0,7) \cdot 10^{-3}$	2,76	1,18	5,04	0,880
МИП-Strep		$(10,2 \pm 0,6) \cdot 10^{-3}$	2,34			
ВЭЖХ	Молоко (Авида 1,5%, Эконива 2,5%, Вкуснотеево 3,2%) / Сточная вода	–	–	–	–	–
МИП-Strep		–	–			
Неомицин сульфат (Neo)						
ВЭЖХ	Модельный раствор Neo	$(10,3 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$	1,85	1,94	3,74	1,012
МИП-Neo		$(10,5 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	0,95			
ВЭЖХ	Молоко (Авида 1,5%, Эконива 2,5%, Вкуснотеево 3,2%) / Сточная вода	–	–	–	–	–
МИП-Strep		–	–			

Примечание: S^2 – дисперсия; F – критерий Фишера; S_p – средневзвешенное стандартное отклонение; t_{\pm} – критерий Стьюдента.

Метод ВЭЖХ был использован в качестве референтного метода. Результаты анализа показали отсутствие существенных различий между ВЭЖХ и МИП-сенсорами и показано, что антибиотики не были обнаружены в исследованных образцах молока и сточной воде.

Молочные продукты и сточные воды содержат множество различных соединений, которые могут оказывать влияние на электрический сигнал в процессе анализа с использованием сенсоров. Поэтому метод добавок применяли для оценки влияния «матрицы» этих образцов на величину аналитического сигнала амперометрического сенсора (Табл. 5.19).

Таблица 5.19.

Определение антибиотиков в жидких средах методом добавок

(n = 5, P = 0,95)

Анализируемые объекты	C, г/дм ³	C _{доб} , г/дм ³	C _x , г/дм ³	S _r , %
Сенсор на основе МИП-Ceftr				
Модельный раствор Ceftr	0,0001	0,001	$(10,9 \pm 0,5) \cdot 10^{-5}$	3,9
Молоко «Эконива», «Вкуснотеево», «Молвест», «Ферменское 1», «Ферменское 2»		0,001	–	–
Сметана «Ферменская»		0,001	–	–
Творог «Ферменский»		0,001	–	–
Сточная вода		0,001	–	–
Сенсор на основе МИП-Cef				
Модельный раствор Cef	0,0001	0,001	$(9,7 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	1,7
Молоко «Эконива», «Вкуснотеево», «Молвест», «Ферменское 1», «Ферменское 2»		0,001	–	–
Сметана «Ферменская»		0,001	–	–
Творог «Ферменский»		0,001	–	–
Сточная вода		0,001	–	–

Продолжение таблицы 5.19.

Анализируемые объекты	C , г/дм ³	$C_{\text{доб}}$, г/дм ³	C_x , г/дм ³	S_r , %
Сенсор на основе МИП-Cefot				
Модельный раствор Cefot	0,0001	0,001	$(10,4 \pm 0,6) \cdot 10^{-5}$	4,9
Молоко «Эконива», «Вкуснотеево», «Молвест», «Ферменское 1», «Ферменское 2»		0,001	–	–
Сметана «Ферменская»		0,001	–	–
Творог «Ферменский»		0,001	–	–
Сточная вода		0,001	–	–
Сенсор на основе МИП-Cefur				
Модельный раствор Cefur	0,0001	0,001	$(10,6 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	1,4
Молоко «Эконива», «Вкуснотеево», «Молвест», «Ферменское 1», «Ферменское 2»		0,001	–	–
Сметана «Ферменская»		0,001	–	–
Творог «Ферменский»		0,001	–	–
Сточная вода		0,001	–	–
Сенсор на основе МИП-Strep				
Модельный раствор Strep	0,0001	0,001	$(9,8 \pm 0,5) \cdot 10^{-5}$	4,2
Молоко «Эконива», «Вкуснотеево», «Молвест», «Ферменское 1», «Ферменское 2»		0,001	–	–
Сметана «Ферменская»		0,001	–	–
Творог «Ферменский»		0,001	–	–
Сточная вода		0,001	–	–
Сенсор на основе МИП-Neo				
Модельный раствор Neo	0,0001	0,001	$(10,3 \pm 0,4) \cdot 10^{-5}$	4,7
Молоко «Эконива», «Вкуснотеево», «Молвест», «Ферменское 1», «Ферменское 2»		0,001	–	–
Сметана «Ферменская»		0,001	–	–
Творог «Ферменский»		0,001	–	–
Сточная вода		0,001	–	–
Сенсор на основе МИП-Sulf				
Модельный раствор Sulf	0,0001	0,001	$(9,5 \pm 0,1) \cdot 10^{-5}$	1,2
Молоко «Эконива», «Вкуснотеево», «Молвест», «Ферменское 1», «Ферменское 2»		0,001	–	–
Сметана «Ферменская»		0,001	–	–
Творог «Ферменский»		0,001	–	–
Сточная вода		0,001	–	–

Данные экспериментов свидетельствуют об отсутствии влияния состава «матрицы» молочных продуктов и сточной воды на сигнал сенсора. Высокая воспроизводимость методики подтверждается величиной относительного стандартного отклонения (S_r) менее 5%, полученной при анализе антибиотиков.

Таким образом, полученные данные подтверждают возможность селективного определения антибиотиков в молочных продуктах и сточных водах с использованием амперометрических сенсоров, модифицированных молекулярно-импринтированными полимерами. В исследованных образцах антибиотики не обнаружены.

Заключение к главе 5

В ходе работы установлено влияние некоторых факторов на сигнал сенсора. Сенсор без полимерного слоя обладает наименьшим сопротивлением и самыми высокими предельными напряжениями, тогда как НП-сенсор характеризуется максимальным сопротивлением и отсутствием селективности. МИП-сенсор, напротив, имеет более низкие предельные напряжения и меньшее сопротивление по сравнению с НП, что может свидетельствовать о наличии специфических центров распознавания в полимерной матрице. Предельные напряжения зависят от структуры антибиотика и условий среды: в молоке они ниже, чем в воде, из-за высокой электропроводности и взаимодействия компонентов с антибиотиками.

Установлено, что разработанные амперометрические сенсоры с МИПами на основе антибиотиков цефтриаксона натрия, цефазолина натрия, цефотаксима натрия, цефуроксима натрия, стрептомицина сульфата, неомицина сульфата и сульфаниламида, обладают высокой селективностью к целевым молекулам, использованным в качестве шаблонов при синтезе. Значения импринтинг-фактора (IF) для МИП-сенсоров составили 4,3 – 6,3, что подтверждает их эффективность.

При эксплуатации МИП-сенсоров наблюдается снижение чувствительности сенсора, что связано с постепенной деградацией активной поверхности, и, как следствие, сокращением их срока службы.

Определены метрологические характеристики амперометрических сенсоров на основе МИП. Проведен анализ в индивидуальных и многокомпонентных модельных смесях. Установлено, что сенсоры на основе МИП в многокомпонентном растворе распознают только целевые молекулы антибиотиков.

Сравнение результатов определения антибиотиков классическими методами и амперометрическими МИП-сенсорами показало, что средние

значения измерений статистически не различаются, что свидетельствует об отсутствии систематической погрешности.

Сенсоры МИП обладают селективностью и чувствительностью, практически не подвергаясь влиянию присутствия неорганических компонентов в модельном растворе. Это подтверждает их практическую применимость в сложных матрицах, таких как молоко и сточные воды, даже при наличии солей или кислотно-щелочных компонентов.

МИП-сенсоры апробированы при определении антибиотиков в сточных водах и молочных продуктах. Антибиотики в исследованных пробах обнаружены не были, что подтверждено также методом ВЭЖХ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ свойств полученных полимеров и экспериментальных данных по определению антибиотиков МИП-сенсорами в жидких средах позволил сформулировать следующие выводы.

1. Установлено изменение ИК-спектров антибиотиков, подвергшихся воздействию температуры. Структура молекул антибиотиков изменяется при температуре свыше 120 °С, происходит разрушение С=О, N–Н связей, что указывает на необходимость проводить синтез МИП ниже температур их разложения.

2. На основании данных спектрофотометрии определены константы ионизации (рК) функциональных групп антибиотиков: цефтриаксона натрия, цефазолина натрия, цефотаксима натрия, цефуроксима натрия и построены диаграммы состояния ионных форм антибиотиков в зависимости от рН среды.

3. Показана высокая способность к связыванию целевых антибиотиков МИПами по сравнению с неимпринтированными полимерами, характеризующаяся высокими значениями импринтинг-фактора. Снижение сорбционной способности МИПов к антибиотикам в ряду Cef > Cefur > Cefot > Ceftr > Strep > Neo связано с различиями в структуре молекул исследуемых антибиотиков. Оценка пористой структуры показала, что молекулярный импринтинг способствует увеличению удельной поверхности и объема пор, а также формированию селективных распознающих полостей, соответствующих размеру и структуре молекулы-шаблона.

4. Методом сканирующей силовой микроскопии установлено, что неимпринтированный полиимид характеризуется равномерной поверхностью и высоким содержанием микропор, тогда как для МИП наблюдается увеличение перепада высот и перераспределение пор в сторону мезо- и макропор. Эти изменения обусловлены участием молекулы-шаблона в перестройке полимерной матрицы в процессе термоимидизации. Показано,

что несмотря на большее количество микропор в неимпринтированном полимере, чувствительность этих сенсоров остается низкой, тогда как МИП-сенсоры демонстрируют высокую чувствительность к целевым антибиотикам. Это может свидетельствовать о формировании отпечатков не только на поверхности полимерной пленки, но и на внутренних стенках мезо- и макропор.

5. Разработаны амперометрические сенсоры с молекулярными отпечатками антибиотиков: цефтриаксона натрия, цефазолина натрия, цефотаксима натрия, цефуроксима натрия, стрептомицина сульфат, неомицина сульфат, сульфаниламида и определены их вольтамперные характеристики. Предельное напряжение для сенсоров, не имеющих селективного слоя, остается неизменным при контакте с растворами всех рассмотренных антибиотиков, что свидетельствует об отсутствии селективности. Для сенсоров с полимерными покрытиями установлено снижение предельного напряжения и увеличение полного сопротивления системы $R_{\text{чистый сенсор}} < R_{\text{МИП}} < R_{\text{НП}}$.

Модификация сенсоров молекулярно-импринтированными полимерами повышает их селективность, чувствительность при определении антибиотиков. МИП-сенсоры характеризуются низкими коэффициентами перекрестного реагирования и высокими значениями импринтинг-факторов. Установлено влияние природы растворителя, температуры и pH на аналитический сигнал МИП-сенсоров. Так, повышение температуры с 10 °С до 50 °С и снижение от pH 4 до pH 10 способствуют увеличению сигнала сенсоров.

6. Показана возможность определения антибиотиков в модельных и реальных растворах амперометрическими сенсорами на основе молекулярно-импринтированного полимера в диапазоне концентраций $0,1 - 1,0 \cdot 10^{-5}$ г/дм³, с пределами обнаружения ниже ПДК. Проведенная оценка способности амперометрических МИП-сенсоров определять целевые антибиотики в модельных индивидуальных растворах, бинарных, тройных и четверных

смесях, показала высокую специфичность МИП-материала. Сравнение результатов, полученных сенсорами и референтными методами (спектрофотометрия и ВЭЖХ), выявило отсутствие систематической погрешности между МИП-сенсорами и референтными методами. Кроме того, сенсоры практически не дают сигнала при контакте с растворами неорганических веществ, что позволило апробировать полученные МИП-сенсоры при анализе реальных образцов, таких как молоко и сточные воды. Во всех исследованных образцах присутствие антибиотиков не обнаружено, что дополнительно подтверждено методом ВЭЖХ.

Перспективы дальнейшей разработки темы связаны с разработкой амперометрических сенсоров более широкого круга антибиотиков для контроля качества пищевых продуктов, анализа комбикормов и мониторинга состояния окружающей среды.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- A – количество сорбированного на поверхности полимера;
- A_1 – количество десорбированного с поверхности полимера;
- as, s – ассиметричные и симметричные колебания;
- C – концентрация;
- Cef – цефазолин натрия;
- Cefur – цефуроксим натрия;
- Ceftr – цефтриаксон натрия;
- Cefot – цефотаксим натрия;
- D – коэффициенты распределения;
- E – электрическая проводимость;
- F – критерия Фишера;
- f – число степеней свободы; фактор упаковки;
- I – значение тока;
- ΔI – разность тока;
- IF – импринтинг-фактор;
- K – коэффициенты десорбции;
- M – молярная масса;
- m – масса;
- n – количество параллельных измерений; число аналитических серий;
- N_A – число Авогадро;
- Нео – неомицина сульфат;
- pK – константа протолиза;
- P – вероятность;
- r – радиус пор;
- R – степень извлечения; сопротивление;
- R^2 – коэффициент детерминации;

S – площадь; стандартное отклонение; коэффициент чувствительности;

S_r – относительное стандартное отклонение;

S_p – средневзвешенное стандартное отклонение;

S^2 – дисперсия;

$S_{уд}$ – удельная поверхность;

Strep – стрептомицин сульфат;

Sulf – сульфаниламид;

t – время; коэффициент Стьюдента;

$T_{пл}$ – температура плавления;

$T_{разл}$ – температура разложения;

U – предельное напряжение;

V – объем;

W_0 – суммарный объем пор;

x_i – результат единичного измерения;

\bar{x} – среднее арифметическое исследуемой величины;

Δ – погрешность;

ε – доверительный интервал; коэффициент молярного поглощения;

λ – длина волны;

ν – волновое число; частота колебания;

ν, δ – валентные и деформационные колебания;

ρ – плотность.

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;

МИП – молекулярно-импринтированный полимер;

МИП-сенсоры – сенсоры на основе молекулярно-импринтированных полимеров;

МИП-Cef – молекулярно-импринтированный полимер с отпечатком цефазолина натрия;

МИП-Cefur – молекулярно-импринтированный полимер с отпечатком цефуросима натрия;

МИП-Ceftr – молекулярно-импринтированный полимер с отпечатком цефтриаксона натрия;

МИП-Cefot – молекулярно-импринтированный полимер с отпечатком цефотаксима натрия;

МИП-Sulf – молекулярно-импринтированный полимер с отпечатком сульфаниламида;

МИП-Strep – молекулярно-импринтированный полимер с отпечатком стрептомицина сульфат;

МИП-Neo – молекулярно-импринтированный полимер с отпечатком неомицина сульфат;

МС – масс-спектрометрия;

НП – неимпринтированный полимер;

ПАК – полиамидокислота;

ПДК – предельно допустимая концентрация;

ПМ – ароматический сополимер 1,2,4,5-бензолтетракарбоновой кислоты с 4,4'-диаминодифенилоксидом;

ПМО – полимер с молекулярными отпечатками;

ПР – коэффициент перекрестного реагирования

ССМ – сканирующая силовая микроскопия;

СФ – спектрофотометрия;

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках / Н. С. Егоров. – Москва : МГУ, 2004. – 528 с.
2. Глухарева Т. В. Основы получения и применения антибиотиков / Т. В. Глухарева, И. С. Селезнева, Е. Н. Уломский. – Екатеринбург : УрФУ, 2021. – 150 с.
3. Глущенко Н. Н. Фармацевтическая химия / Н. Н. Глущенко, Т. В. Плетенева, В. А. Попков. – Москва : Академия, 2004. – 384 с.
4. Freitas A. A. R. Development and Validation of Analytical Methodologies for the Determination of Antibiotics in Food of Animal Origin for Human Consumption / A. A. R. Freitas. – Coimbra: Universidade de Coimbra, 2015. – 281 p.
5. Ланчини Д. Антибиотики / Д. Ланчини, Ф. Паренти. – Москва : Мир, 1985. – 272 с.
6. Бузмакова У. А. Химическая классификация и методы определения антибиотиков / У. А. Бузмакова, О. С. Кудряшова // Вестник Пермского университета. Химия. – 2018. – Т.8, № 1. – С. 6-28.
7. Обухова Е. С. Антибиотики. Механизм действия. Формирование лекарственной резистентности / Е. С. Обухова, А. М. Образцова, А. М. Рожина. – Петрозаводск : ПетрГУ, 2021. – 80 с.
8. Харкевич Д. А. Фармакология / Д. А. Харкевич. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 736 с.
9. Семенова Е. Н. Сравнительная характеристика методов количественного определения, используемых при стандартизации и последующей оценке качества антибиотиков / Е. Н. Семенова, Е. И. Саканян, С. И. Кулешова // Вестник российской военно-медицинской академии. – 2017. – Т. 59, № 3. – С. 140-146.
10. Arsène M. M. J. The public health issue of antibiotic residues in food and feed: Causes, consequences, and potential solutions / M. M. J. Arsène, A. K. L.

- Davares, P. I. Viktorovna [et al.] // *Veterinary World*. – 2022. – Vol. 15, № 3. – P. 662-671.
11. Жукова О. В. Фармакоэпидемиологический анализ потребления лекарственных препаратов в многопрофильном стационаре – элемент управления качеством медицинской помощи и основа оценки импортозамещения / О. В. Жукова, О. В. Руина, М. В. Хазов [и др.] // *Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. – 2022. – Т. 15, № 1. – С. 51-58.
 12. Zhang Q. Q. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: Source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance / Q. Q. Zhang, G. G. Ying, C. G. Pan [et al.] // *Environmental Science & Technology*. – 2015. – Vol. 49, № 11. – P. 1-40.
 13. Boeckel T. P. V. Global trends in antimicrobial use in food animals / T. P. V. Boeckel, C. Brower, M. Gilbert, R. Laxminarayan // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2015. – Vol. 112, № 18. – P. 5649-5654.
 14. Boeckel T. P. V. Reducing antimicrobial use in food animals / T. P. V. Boeckel, E. E. Glennon, D. Chen [et al.] // *Science*. – 2017. – Vol. 357, № 6358. – P. 1350-1352.
 15. Захарочкина Е. Р. Жизненно необходимые и важнейшие лекарственные препараты: антибиотики / Е. Р. Захарочкина // *Ремедиум. Журнал о Российском рынке лекарств и медицинской техники*. – 2013. – № 6. – С. 34-43.
 16. Кулапина Е. Г. Твердоконтактные и планарные сенсоры для определения цефотаксима в водных и биологических средах / Е. Г. Кулапина, М. С. Тютликова // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология*. – 2017. – Т. 17, № 1. – С. 14-18.
 17. Dehdashtian S. Fabrication of a novel, sensitive and selective electrochemical sensor for antibiotic cefotaxime based on sodium montmorillonite nonoclay/electroreduced graphene oxide composite modified carbon paste

- electrode / S. Dehdashtian, M. Behbahani, A. Noghrehabadi // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. – 2017. – Vol. 801. – P. 450-458.
18. Кулапина О. И. Ионметрическое определение цефуроксима и цефуроксим аксетила в биологических и лекарственных средах / О. И. Кулапина, М. С. Михайлова, Е. Г. Кулапина. // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология*. – 2013. – Т. 13, № 3. – С. 40-45.
 19. Kumar S. Synthesis and optimization of ceftriaxone-loaded solid lipid nanocarriers / S. Kumar, G. Bhanjana, A. Kumar // *Chemistry and Physics of Lipids*. – 2016. – Vol. 200. – P. 126-132.
 20. Cheatham S. C. Steady-state pharmacokinetics and pharmacodynamics of cefepime administered by prolonged infusion in hospitalised patients / S. C. Cheatham, K. M. Shea, D. P. Healy [et al.] // *International Journal of Antimicrobial Agents*. – 2011. – Vol. 37, № 1. – P. 46-50.
 21. Abraha A. Study Self-association, Optical Transition Properties and Thermodynamic Properties of Neomycin Sulfate Using UV-Visible Spectroscopy / A. Abraha, A. V. Gholap, A. Belay // *International Journal of Biophysics*. – 2016. – Vol. 6, № 2. – P. 16-20.
 22. Папуниди Э. К. Изыскание альтернативных путей замены кормовых антибиотиков биологически активными добавками природного происхождения в рамках концепции органического сельского хозяйства / Э. К. Папуниди, А. Б. Выштакалюк // *Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства*. – 2020. – № 22. – С. 426-429.
 23. Минаева Л. П. Антибиотики в сельском хозяйстве как фактор формирования антимикробной резистентности и источник контаминации пищевой продукции / Л. П. Минаева, С. А. Шевелева // *Успехи медицинской микологии*. – 2019. – Т. 20. – С. 441-444.
 24. Мурленков Н. В. Проблемы и факторы развития антибиотикорезистентности в сельском хозяйстве / Н. В. Мурленков,

- N. V. Murlenkov // Биология в сельском хозяйстве. – 2019. – Т. 25, № 4. – С. 11-14.
25. Epps A. V. Antibiotic Residues in Animal Waste: Occurrence and Degradation in Conventional Agricultural Waste Management Practices / A. V. Epps, L. Blaney // Current Pollution Reports. – 2016. – Vol. 2. – P. 135-155.
26. Walia K. Understanding policy dilemmas around antibiotic use in food animals & offering potential solutions / K. Walia, M. Sharma, S. Vijay, B. R. Shome // Indian Journal of Medical Research. – 2019. – Vol. 149, № 2. – P. 107-118.
27. Мирошникова М. С. Применение антибиотиков в сельском хозяйстве и альтернативы их использования / М. С. Мирошникова, Е. П. Мирошникова, А. Е. Аринжанов, Ю. В. Килякова // Аграрный научный журнал. – 2021. – № 5. – С. 65-70.
28. Косенко И. М. Резистентность бактерий к антибиотикам – старая проблема. Есть ли решения? / И. М. Косенко // Лечение и профилактика. – 2019. – Т. 9, № 4. – С. 56-62.
29. Rahman M. S. Determination of antibiotic residues in milk and assessment of human health risk in Bangladesh / M. S. Rahman, M. M. Hassan, S. Chowdhury // Heliyon. – 2021. – Vol. 7, № 8. – P. 1-8.
30. Ананьев В. Ю. Опыт внедрения современных методов анализа пищевой продукции в рамках обеспечения государственного санитарно-эпидемиологического надзора / В. Ю. Ананьев, М. В. Зароченцев, О. В. Моргачев, И. З. Мустафина // Здоровье населения и среда обитания. – 2022. – Т. 30, № 10. – С. 81-91.
31. László N. LC-MS study of the heat degradation of veterinary antibiotics in raw milk after boiling / N. László, K. Lányi, P. Laczay // Food Chemistry. – 2018. – Vol. 267. – P. 178-186.
32. Олсуфьева Е. Н. Обзор рисков контаминации антибиотиками молочной продукции / Е. Н. Олсуфьева, В. С. Янковская, Н. И. Дунченко // Антибиотики и химиотер. – 2022. – Т. 67, № 7-8. – С. 82-96.

33. Попов П. А. Методы обнаружения остаточных концентраций антибиотиков в молоке / П. А. Попов, М. П. Бутко, С. А. Лавина [и др.] // Научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2020. – № 163. – С. 135-144.
34. Трегубова И. Н. Исследование качества пастеризованного молока и определение в нём остаточного содержания хинолонов / И. Н. Трегубова, А. И. Грудев, Е. Г. Шубина [и др.] // Ветеринарная патология. – 2020. – № 4. – С. 42-48.
35. Абакумова А. А. Метод определения антибиотиков в аспекте повышения качества и безопасности винодельческой продукции / А. А. Абакумова, М. В. Антоненко, Т. И. Гугучкина // Научные труды СКФНЦСВВ. – 2017. – Т. 13. – С.143-145.
36. Sun X. Detection method optimization, content analysis and stability exploration of natamycin in wine / X. Sun, X. Li, P. Wang [et al.] // Food Chemistry. – 2016. – Vol. 194. – P. 928-937.
37. Соколова Л. И. Определение антибиотиков (левомицетина и тетрациклина) в пищевых продуктах с различными матрицами / Л. И. Соколова, К. О. Белюстова, Ю. О. Привар [и др.] // Техника и технология пищевых производств. – 2015. – Т. 38, № 3. – С. 146-152.
38. Petcu C. D. Study regarding the honey contamination degree assessed in a specialized production unit / C. D. Petcu, E. Ciobotaru-Pîrvu, O. Ghimpețeanu [et al.] // Scientific Papers. Series D. Animal Science. – 2020. – Vol. 63, № 1. – P. 442-449.
39. Demirhan B. E. Detection of Antibiotic Residues in Blossom Honeys from Different Regions in Turkey by LC-MS/MS Method / B. E. Demirhan, B. Demirhan // Antibiotics. – 2022. – Vol. 11, № 3. – P. 357-367.
40. Ghimpețeanu O. M. Antibiotic Use in Livestock and Residues in Food-A Public Health Threat: A Review / O. M. Ghimpețeanu, E. N. Pogurschi, D. C. Popa [et al.] // Foods. – 2022. – Vol. 11, № 10. – P. 1-25.

41. Wu X. Treated Wastewater Irrigation: Uptake of Pharmaceutical and Personal Care Products by Common Vegetables under Field Conditions / X. Wu, J. L. Conkle, F. Ernst, J. Gan // *Environmental Science & Technology*. – 2014. – Vol. 48, № 19. – P. 11286-11293.
42. Ahmed M. B. M. Distribution and Accumulative Pattern of Tetracyclines and Sulfonamides in Edible Vegetables of Cucumber, Tomato, and Lettuce / M. B. M. Ahmed, A. U. Rajapaksha, J. E. Lim [et al.] // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2015. – Vol. 63, № 2. – P. 398-405.
43. Нетесова К. Ю. Разработка методики идентификации антибиотиков – производных фторхинолона в сточных водах для нужд экотоксикологического мониторинга / К. Ю. Нетесова, Л. В. Евсеева, Н. Г. Бондарь [и др.] // *Вестник КазНМУ*. – 2018. – № 1. – С. 322-325.
44. Hossain A. Occurrence and ecological risk of pharmaceuticals in river surface water of Bangladesh / A. Hossain, S. Nakamichi, M. Habibullah-Al-Mamun [et al.] // *Environmental Research*. – 2018. – Vol. 165. – P. 258-266.
45. Anand U. Occurrence, transformation, bioaccumulation, risk and analysis of pharmaceutical and personal care products from wastewater: a review / U. Anand, B. Adelodun, C. Cabreros [et al.] // *Environmental Chemistry Letters*. – 2022. – Vol. 20. – P. 3883-3904.
46. Zhang Y. Occurrence and distribution of antibiotic resistance genes in sediments in a semi-enclosed continental shelf sea / Y. Zhang, J. Lu, J. Wu [et al.] // *Science of the Total Environment*. – 2020. – Vol. 720. – P. 1-11.
47. Zeng Q. Occurrence and distribution of antibiotics and resistance genes in greenhouse and open-field agricultural soils in China / Q. Zeng, J. Sun, L. Zhu // *Chemosphere*. – 2019. – Vol. 224. – P. 900-909.
48. Ben Y. Efficient detection and assessment of human exposure to trace antibiotic residues in drinking water / Y. Ben, M. Hu, X. Zhang [et al.] // *Water Research*. – 2020. – Vol. 175. – P. 1-11.
49. Liu Y. Occurrence, fate, and risk assessment of antibiotics in typical pharmaceutical manufactories and receiving water bodies from different

- regions / Y. Liu, D. Cai, X. Li [et al.] // PLoS ONE. – 2023. – Vol. 18, № 1. – P. 1-18.
50. Дроздова Е. В. Эколого-гигиенические аспекты мониторинга остаточных количеств антибактериальных препаратов в объектах окружающей среды / Е. В. Дроздова, Д. С. Грек, Т. С. Трешкова // Здоровье и окружающая среда. – 2010. – № 15. – С. 50-55.
51. Удалова А. Ю. Методы выделения, концентрирования и определения антибиотиков тетрациклиновой группы / А. Ю. Удалова, С. Г. Дмитриенко, В. В. Апяри // Журнал аналитической химии. – 2015. – Т. 70, № 6. – С. 577-593.
52. Полянских Е. И. Методика контроля остаточного содержания хлорамфеникола (левомицетина) в пищевой продукции животного происхождения / Е. И. Полянских, А. Г. Полоневич, Л. Л. Белышева // Журнал аналитической химии. – 2019. – Т. 74, № 6. – С. 455-463.
53. Алсовэйди А. К. М. Методы и подходы для определения антибиотиков / А. К. М. Алсовэйди, О. А. Караваяева, О. И. Гулий // Антибиотики и химиотер. – 2022. – Т. 67, № 1-2. – С. 53-61.
54. Belova D. D. Identification of Residual Traces of Antibiotics in Food / D. D. Belova, E. N. Kharchenko, O. S. Chaplygina // Journal of Medicinal and Chemical Sciences. – 2022. – Vol. 5, № 3. – P. 385-392.
55. Getahun M. Evaluation of Antibiotics Residues in Milk and Meat Using Different Analytical Methods / M. Getahun, R. B. Abebe, A. K. Sendekie [et al.] // International Journal of Analytical Chemistry. – 2023. – Vol. 23, № 1. – P. 1-13.
56. Бельтюкова С. В. Методы определения антибиотиков в пищевых продуктах (Обзор) / С. В. Бельтюкова, Е. О. Ливенцова // Методы и объекты химического анализа. – 2013. – Т. 8, № 1. – С. 4-13.
57. Paal M. Simultaneous quantification of cefepime, meropenem, ciprofloxacin, moxifloxacin, linezolid and piperacillin in human serum using an isotope-dilution HPLCMS/MS method / M. Paal, M. Zoller, C. Schuster [et al.] //

- Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2018. – Vol. 152. – P. 102-110.
58. Крюк Т. В. Спектрофотометрическое определение цефалоспориновых антибиотиков III поколения по реакции с Cu (II) / Т. В. Крюк, Т. Г. Тюрина, Т. А. Кудрявцева // Вестник Донецкого национального университета. Серия А: Естественные науки. – 2021. – № 1. – С. 78-82.
 59. Labuzova Y. Y. Voltammetric determination of cefotaxime using potassium peroxomonosulfate / Y. Y. Labuzova // New of pharmacy. – 2015. – Vol. 1, № 81. – P. 21-24.
 60. McGlinchey T. A. A review of analytical methods for the determination of aminoglycoside and macrolide residues in food matrices / T. A. McGlinchey, P. A. Rafter, F. Regan, G. P. McMahon // Analytica Chimica Acta. – 2008. – Vol. 624, № 1. – P. 1-15.
 61. Injac R. Optimized Method for Determination of Amoxicillin, Ampicillin, Sulfamethoxazole, and Sulfacetamide in Animal Feed by Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography and Comparison with High-Performance Liquid Chromatography / R. Injac, N. Kočevar, B. Štrukelj // Croatica Chemica Acta. – 2009. – Vol. 82, № 3. – P. 685-694.
 62. Сулковская А. А. Исследование содержания антибиотиков в пищевых продуктах / А. А. Сулковская, И. М. Почицкая, Н. В. Комарова // Пищевая промышленность: наука и технологии. – 2023. – Т. 16, № 1 (59). – С. 85-94.
 63. Starek M. Thin-layer chromatography methods for the determination of non steroidal anti-inflammatory drugs and cephalosporin antibiotics: A review / M. Starek, M. Dabrowska, J. Skuciński // Recent Patents on Chemical Engineering. – 2010. – Vol. 3, № 1. – P. 49-73.
 64. Hancu G. Thin layer chromatographic analysis of beta-lactam antibiotics / G. Hancu, B. Simon, H. Kelemen [et al.] // Advanced Pharmaceutical Bulletin. – 2013. – Vol. 3, № 2. – P. 367-371.

65. Мирошникова М. С. Тетрациклиновые антибиотики в животноводстве и ветеринарии / М. С. Мирошникова // Шаг в науку. – 2021. – № 2. – С. 10-20.
66. Akay C. Simultaneous LC determination of trimethoprim and sulphamethoxazole in pharmaceutical formulations / C. Akay, S. A. Ozkan // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2002. – Vol. 30, № 4. – P. 1207-1213.
67. Ang C. Y. Rapid determination of Ampicillin in bovine milk by liquid chromatography with fluorescence detection / C. Y. Ang, W. Luo // Journal of AOAC International. – 1997. – Vol. 80, № 1. – P. 25-30.
68. Huang C. Determination of Cefaclor by UPLC-MS-MS for a Chinese Pharmacokinetic Study / C. Huang, W. Wang, L. Miao // Journal of Chromatographic Science. – 2014. – Vol. 52, № 7. – P. 636-640.
69. Jin H. E. Determination of cefadroxil in rat plasma and urine using LC-MS/MS and its application to pharmacokinetic and urinary excretion studies / H. E. Jin, I. B. Kim, Y. C. Kim [et al.] // Journal of Chromatography B. – 2014. – Vol. 947-948. – P. 103-110.
70. Fatima A. Simultaneous and Rapid Determination of Amoxicillin and Clavulanic Acid in Pharmaceutical Formulations by Reversed-phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC) Method / A. Fatima, S. B. S. Naqvi, D. S. A. Khaliq [et al.] // African journal of pharmaceutical sciences and pharmacy. – 2013. – Vol. 4, № 1. – P. 58-69.
71. Wankhede A. R. Development and Validation of RP-HPLC Method For Simultaneous Estimation of Cefixime and Cloxacillin in Tablet Dosage Form / A. R. Wankhede, P. Y. Mali, V. Karne [et al.] // International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives. – 2010. – Vol. 1, № 2. – P. 317-320.
72. Saranya C. H. L. Simultaneous Determination of Cefotaxime Sodium and Paracetamol by LC-MS / C. H. L. Saranya, J. C. Thejaswini, B. M. Gurupadayya, B. Y. K. Sruthi // IOSR Journal of Pharmacy. – 2014. – Vol. 4, № 2. – P. 12-18.

73. Cha J. M. Trace determination of β -lactam antibiotics in surface water and urban wastewater using liquid chromatography combined with electrospray tandem mass spectrometry / J. M. Cha, S. Yang, K. H. Carlson // *Journal of Chromatography A*. – 2006. – Vol. 1115, № 1-2. – P. 46-57.
74. Qureshi T. LC/UV determination of cefradine, cefuroxime, and cefotaxime in dairy milk, human serum and wastewater samples / T. Qureshi, N. Memon, S. Q. Memon [et al.] // *SpringerPlus*. – 2013. – Vol. 2, № 1. – P. 575-582.
75. Wang P. Determination of cephalosporin antibiotics in water samples by optimized solid phase extraction and high performance liquid chromatography with ultraviolet detector / P. Wang, T. Yuan, J. Hu, Y. Tan // *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. – 2011. – Vol. 91, № 13. – P. 1267-1281.
76. Амелин В. Г. Идентификация и определение токсикантов с использованием стандартной добавки в пищевых продуктах, продовольственном сырье и кормах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии/времяпролетной масс-спектрометрии высокого разрешения / В. Г. Амелин, А. М. Андоралов, Н. М. Волкова [и др.] // *Аналитика и контроль*. – 2015. – Т. 19, № 2. – С. 189-207.
77. Ohmori T. Simultaneous determination of eight beta-lactam antibiotics in human serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry / T. Ohmori, A. Suzuki, T. Niwa [et al.] // *Journal of Chromatography B*. – 2011. – Vol. 879, № 15-16. – P. 1038-1042.
78. Borner K. Determination of linezolid in human serum and urine by high-performance liquid chromatography / K. Borner, E. Borner, H. Lode // *International Journal of Antimicrobial Agents*. – 2001. – Vol. 18, № 3. – P. 253-258.
79. Кальницкая О. И. Методы определения антибиотиков / О. И. Кальницкая // *Молочная промышленность*. – 2008. – № 6. – С. 82-83.

80. Jain G. K. Development and validation of an HPTLC method for determination of minocycline in human plasma / G. K. Jain, N. Jain, Z. Iqbal [et al.] // *Acta Chromatographica*. – 2007. – № 19. – P. 197-205.
81. Снесарев С. В. Потенциометрические сенсоры на основе комплексов серебра (I) с некоторыми β -лактамными антибиотиками и катионами тетраалкиламмония : специальность 02.00.02 «Аналитическая химия» : автореферат диссертации ... кандидата химических наук / Снесарев Сергей Владимирович ; Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского. – Саратов, 2012. – 24 с.
82. Кулапина Е. Г. Исследование поведения цефиксима в водных и биологических средах спектрофотометрическим методом / Е. Г. Кулапина, О. И. Кулапина, В. Д. Анкина // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология*. – 2020. – Т. 20, № 1. – С. 10-15.
83. Al-Uzri W. A. Spectrophotometric determination of amoxicillin in pharmaceutical preparations through diazotization and coupling reaction / W. A. Al-Uzri // *Iraqi Journal of Science*. – 2012. – Vol. 53, № 4. – P. 713-723.
84. Raksawong P. A polypyrrole doped with fluorescent CdTe quantum dots and incorporated into molecularly imprinted silica for fluorometric determination of ampicillin / P. Raksawong, P. Nurerk, K. Chullasat [et al.] // *Microchimica Acta*. – 2019. – Vol. 186, № 6. – P. 338-345.
85. Mohammad A. A. Determination of Cefalexin by Direct (UV-Vis) Spectrophotometer and Indirect (Flame Atomic Absorption) Technique / A. A. Mohammad // *Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2009. – Vol. 18, № 1. – P. 49-55.
86. Nagaraja P. A sensitive spectrophotometric method for the determination of sulfonamides in pharmaceutical preparations / P. Nagaraja, S. D. Naik, A. K. Shrestha, A. Shivakumar // *Acta Pharmaceutica*. – 2007. – Vol. 57, № 3. – P. 333-342.

87. Fernández-González A. Micelle-mediated spectrofluorimetric determination of ampicillin based on metal ion-catalysed hydrolysis / A. Fernández-González, R. Badía, M. E. Díaz-García // *Analytica Chimica Acta*. – 2003. – Vol. 484, № 2. – P. 223-231.
88. Moreno A. H. Rapid and selective UV spectrophotometric method for the analysis of ceftazidime / A. H. Moreno, H. R. N. Salgado // *Journal of AOAC International*. – 2009. – Vol. 92, № 3. – P. 820-823.
89. Шведене Н. В. Ионметрическое определение β -лактамных антибиотиков / Н. В. Шведене, С. В. Боровская // *Журнал аналитической химии*. – 2003. – Т. 58, № 11. – С. 1208-1213.
90. Pfaffen V. Determination of Azithromycin by an Alternative FIA Amperometric Method for Different Pharmaceutical Applications / V. Pfaffen, S. N. Faudone, N. R. Sperandeo [et al.] // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. – 2013. – Vol. 52, № 14. – P. 4973-4977.
91. Bitew Z. Recent reports on electrochemical determination of selected antibiotics in pharmaceutical formulations: A mini review / Z. Bitew, M. Amare // *Electrochemistry Communications*. – 2020. – Vol. 121. – P. 1-13.
92. Bailón-Pérez M. I. Trace determination of beta-lactam antibiotics in environmental aqueous samples using off-line and on-line preconcentration in capillary electrophoresis / M. I. Bailón-Pérez, A. M. García-Campaña, C. Cruces-Blanco, M. O. Iruela // *Journal of Chromatography A*. – 2008. – Vol. 1185, № 2. – P. 273-280.
93. Deng B. Pharmacokinetics of amoxicillin in human urine using online coupled capillary electrophoresis with electrogenerated chemiluminescence detection / B. Deng, A. Shi, L. Li, Y. Kang // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2008. – Vol. 48, № 4. – P. 1249-1253.
94. Bailón-Pérez M. I. Analysis of different β -lactam antibiotics in pharmaceutical preparations using micellar electrokinetic capillary chromatography / M. I. Bailón-Pérez, L. C. Rodríguez, C. Cruces-Blanco // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2007. – Vol. 43, № 2. – P. 746-752.

95. Sun H. Effective Separation and Simultaneous Determination of Four Fluoroquinolones in Milk by CE with SPE / H. Sun, W. Zhao, P. He // *Chromatographia*. – 2008. – Vol. 68. – P. 425-429.
96. Варнавская Д. А. Иммуноферментный метод количественного определения антибиотиков в молоке / Д. А. Варнавская, А. Н. Зяблов // *Материалы VI Международной научно-методической конференции «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. поиск новых физиологически активных веществ».* "Фармообразование-2016", (г. Воронеж, 21-23 апреля 2016 г.). – Воронеж, 2016. – С. 202-204.
97. Li H. Generic Hapten Synthesis, Broad-Specificity Monoclonal Antibodies Preparation, and Ultrasensitive ELISA for Five Antibacterial Synergists in Chicken and Milk / H. Li, S. Ma, X. Zhang [et al.] // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2018. – Vol. 66, № 42. – P. 11170-11179.
98. Wang G. Directional evolution of TetR protein and development of a fluoroimmunoassay for screening of tetracyclines in egg / G. Wang, W. Q. Xia, J. X. Liu [et al.] // *Microchemical Journal*. – 2019. – Vol. 150. – P. 1-8.
99. Petrović J. Detection of enrofloxacin residues by microbiological screening method / J. Petrović, B. Kartalović, R. Ratajac [et al.] // *Biotechnology in Animal Husbandry*. – 2019. – Vol. 35, № 1. – P. 49-59.
100. Mungroo N. A. Biosensors for the Detection of Antibiotics in Poultry Industry- A Review / N. A. Mungroo, S. Neethirajan // *Biosensors*. – 2014. – Vol. 4, № 4. – P. 472-493.
101. Conzuelo F. Disposable amperometric magneto-immunosensor for direct detection of tetracyclines antibiotics residues in milk / F. Conzuelo, M. Gamella, S. Campuzano [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2012. – Vol. 737. – P. 29-36.
102. Бейлинсон Р. М. Амперометрические биосенсоры для определения тетрациклина / Р. М. Бейлинсон, А. А. Явишева, Н. Ю. Лопатко, Э. П. Медянцева // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. – 2022. – Т. 88, № 11. – С. 5-13.

103. Cervera-Chiner L. High Fundamental Frequency Quartz Crystal Microbalance (HFF-QCMD) Immunosensor for detection of sulfathiazole in honey / L. Cervera-Chiner, Y. Jiménez, A. Montoya [et al.] // *Food Control*. – 2020. – Vol. 115. – P. 1-23.
104. Gu Y. On-chip multiplex electrochemical immunosensor based on disposable 24-site fluidic micro-array screen printing analytical device for multi-component quantitative analysis / Y. Gu, J. Wang, M. Pan [et al.] // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2018. – Vol. 260. – P. 499-507.
105. Singh B. Electrochemical Biosensors for the Detection of Antibiotics in Milk: Recent Trends and Future Perspectives / B. Singh, A. Bhat, L. Dutta [et al.] // *Biosensors*. – 2023. – Vol. 13, № 9. – P. 867-905.
106. Кулапина Е. Г. Экспрессное определение цефазолина в малых объемах проб с применением планарных потенциометрических сенсоров / Е. Г. Кулапина, В. В. Чанина // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология*. – 2019. – Т. 19, № 1. – С. 4-10.
107. Иванова И. И. Определение цефазолина в жидких средах модифицированными пьезоэлектрическими сенсорами / И. И. Иванова, А. А. Шаповалова, А. Н. Зяблов // *Прикладные информационные аспекты медицины*. – 2021. – Т. 24, № 3. – С.43-51.
108. Петрова О. К. Определение антибиотиков цефалоспоринового ряда пьезоэлектрическими сенсорами в водных растворах / О. К. Петрова, И. И. Иванова, А. А. Шаповалова, А. Н. Зяблов // *Прикладные информационные аспекты медицины*. – 2023. – Т. 26, № 1. – С.56-62.
109. Зяблов А. Н. Определение остаточных количеств цефотаксима в жидких средах пьезоэлектрическими сенсорами / А. Н. Зяблов, А. А. Шаповалова // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. – 2022. – Т. 88, № 2. – С. 15-20.
110. Barhoum A. Fundamentals of Sensor Technology: Principles and Novel Designs / A. Barhoum, Z. Altintas. – Woodhead Publishing, 2023. – 874 p.

111. Као Ньят Линь. Применение пьезосенсоров для определения карбоновых кислот в промежуточных продуктах производства пищевого этанола / Као Ньят Линь, О. В. Дуванова, С. Ю. Никитина, А. Н. Зяблов // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2019. – Т. 85, № 4. – С. 11-16.
112. Li Y. Recent advances in molecularly imprinted polymer-based electrochemical sensors / Y. Li, L. Luo, Y. Kong [et al.] // Biosensors and Bioelectronics. – 2024. – Vol. 249. – P. 1-16.
113. Bou-Maroun E. Carbon Electrode Modified with Molecularly Imprinted Polymers for the Development of Electrochemical Sensor: Application to Pharmacy, Food Safety, Environmental Monitoring, and Biomedical Analysis / E. Bou-Maroun // Chemosensors. – 2023. – Vol. 11. – P. 548-560.
114. Джумадилов Т. К. Синтез молекулярно-импринтированных полимеров комплементарных к ионам лантана и скандия / Т. К. Джумадилов, Л. К. Ыскак, Б. Тотхускызы [и др.] // Chemical Journal of Kazakhstan. – 2021. – Т. 1, № 73. С. 52-62.
115. He Y. Recent advances in protein-imprinted polymers: synthesis, applications and challenges / Y. He, Z. Lin // Journal of Materials Chemistry B. – 2022. – Vol. 10, № 35. – P. 6571-6589.
116. Лисичкин Г. В. Материалы с молекулярными отпечатками: синтез, свойства, применение / Г. В. Лисичкин, Ю. А. Крутяков // Успехи химии. – 2006. – № 75. – С. 998-1017.
117. Гендриксон О. Д. Молекулярно-импринтированные полимеры и их применение в биохимическом анализе / О. Д. Гендриксон, А. В. Жердев, Б. Б. Дзантиев // Успехи биологической химии. – 2006. – № 46. – С. 149-192.
118. Zhang H. Non-covalent molecular imprinting with emphasis on its application in separation and drug development / H. Zhang, L. Ye, K. Mosbach // Journal of Molecular Recognition. – 2006. – Vol. 19, № 4. – P. 248-259.
119. Huang D. L. Application of molecularly imprinted polymers in wastewater treatment: a review / D. L. Huang, R. Z. Wang, Y. G. Liu [et al.] //

- Environmental Science and Pollution Research. – 2015. – Vol 22, № 2. – P. 963-977.
120. Rocha L. R. Preparation of novel semi-covalent molecularly imprinted polymer for highly improved adsorption performance of tetracycline in aqueous medium / L. R. Rocha, M. G. Segatelli, C. R. T. Tarley // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis Open. – 2024. – Vol. 4. – P. 1-12.
121. Hasanah A. N. Factors Affecting Preparation of Molecularly Imprinted Polymer and Methods on Finding Template-Monomer Interaction as the Key of Selective Properties of the Materials / A. N. Hasanah, N. Safitri, A. Zulfa [et al.] // Molecules. – 2021. – Vol. 26, № 18. – P. 5612-5634.
122. Cowen T. Synthetic Mechanism of Molecular Imprinting at the Solid Phase / T. Cowen, E. Stefanucci, E. Piletska [et al.] // Macromolecules. – 2020. – Vol. 53, № 4. – P. 1435-1442.
123. Cao X. Preparation of Magnetic Dummy Template Molecularly Imprinted Polymers for the Determination of Aminoglycosides Antibiotics in Milk / X. Cao, Z. Zhang, G. Liu [et al.] // Food Analytical Methods. – 2021. – Vol. 14. – P. 2111-2120.
124. Бондаревский А. С. Сорбционные покрытия пьезокварцевых сенсоров на основе полимеров с молекулярными отпечатками для определения динонилфталата и кофеина / А. С. Бондаревский, И. Г. Соболева, Т. Н. Ермолаева // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2010. – Т. 10, № 3. – С. 378-384.
125. Gkika D. A. Application of molecularly imprinted polymers (MIPs) as environmental separation tools / D. A. Gkika, A. K. Tolkou, D. A. Lambropoulou [et al.] // RSC Applied Polymers. – 2024. – Vol. 2. – P. 127-148.
126. Moein M. M. Recent Applications of Molecularly Imprinted Sol-Gel Methodology in Sample Preparation / M. M. Moein, A. Abdel-Rehim, M. Abdel-Rehim // Molecules. – 2019. – Vol. 24, № 16. – P. 1-12.

127. Sajini T. A brief overview of molecularly imprinted polymers: Highlighting computational design, nano and photo-responsive imprinting / T. Sajini, B. Mathew // *Talanta Open*. – 2021. – Vol. 4. – P. 1-20.
128. BelBruno J. J. *Molecularly Imprinted Polymers* / J. J. BelBruno // *Chemical Reviews*. – 2019. – Vol. 119, № 1. – P. 94-119.
129. Ansari S. Novel developments and trends of analytical methods for drug analysis in biological and environmental samples by molecularly imprinted polymers / S. Ansari, M. Karimi // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2017. – Vol. 89. – P. 146-162.
130. Tarley C. R. T. *Chemical Imprinting Technology Applied to Analytical Chemistry: Current Status and Future Outlook in Brazil* / C. R. T. Tarley // *Brazilian Journal of Analytical Chemistry*. – 2022. – Vol. 9, № 35. – P. 7-11.
131. Gui R. Recent advances and future prospects in molecularly imprinted polymers-based electrochemical biosensors / R. Gui, H. Jin, H. Guo, Z. Wang // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2018. – Vol. 100. – P. 56-70.
132. El-Schich Z. *Molecularly Imprinted Polymers in Biological Applications* / Z. El-Schich, Y. Zhang, M. Feith [et al.] // *BioTechniques*. – 2020. – Vol. 69, № 6. – P. 407-419.
133. Babaeipour V. Pre-polymerization process simulation, synthesis and investigation the properties of dipicolinic acid molecularly imprinted polymers / V. Babaeipour, F. Jabbari // *Polymer Bulletin*. – 2024. – Vol. 81. – P. 1495-1512.
134. Kadhem A. J. *Molecularly Imprinted Polymers (MIPs) in Sensors for Environmental and Biomedical Applications: A Review* / A. J. Kadhem, G. J. Gentile, M. M. F. Cortalezzi // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26, № 20. – P. 1-34.
135. Herrera-Chacón A. *Molecularly imprinted polymers - towards electrochemical sensors and electronic tongues* / A. Herrera-Chacón, X. Cetó, M. Valle // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2021. – Vol. 413. – P. 6117-6140.
136. Long F. *Imprinted electrochemical sensor based on magnetic multi-walled carbon nanotube for sensitive determination of kanamycin* / F. Long, Z. Zhang,

- Z. Yang [et al.] // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. – 2015. – Vol. 755. – P. 7-14.
137. Erdem A. Molecularly imprinted polymer-based sensors: Design and advances in the analysis of DNA and protein / A. Erdem, H. Senturk, M. Karakus // *Talanta Open*. – 2025. – Vol. 12. – P. 1-22.
138. Leibl N. Molecularly Imprinted Polymers for Chemical Sensing: A Tutorial Review / N. Leibl, K. Haupt, C. Gonzato, L. Duma // *Chemosensors*. – 2021. – Vol. 9, № 6. – P. 123-142.
139. Зяблов А. Н. Проточно-инжекционное определение валина пьезокварцевым сенсором, модифицированным полимером с молекулярными отпечатками / А. Н. Зяблов, С. И. Говорухин, О. В. Дуванова [и др.] // *Аналитика и контроль*. – 2014. – Т. 18, № 4. – С. 438-440.
140. Королев А. И. Определение содержания карбоновых кислот в производственных растворах пьезоэлектрическими датчиками модифицированными полимерами с молекулярными отпечатками / А. И. Королев, С. А. Заварыкина, А. Н. Зяблов [и др.] // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2020. – Т. 20, № 2. – С. 271-276.
141. Зяблов А. Н. Определение бензоата натрия в жидкостях пьезоэлектрическим сенсором модифицированным молекулярно-импринтированным полимером / А. Н. Зяблов, Ву Хоанг Иен // *Журнал аналитической химии*. – 2022. – Т. 77, № 12. – С. 1133-1137.
142. Vybornyi A. Yu. Application of Piezoelectric Sensors for the Determination of Aspartame in Fluids / A. Yu. Vybornyi, O. A. Shuvalova, A. N. Zyablov, Cao Nhat Linh // *Inorganic Materials*. – 2024. – Vol. 60, № 1. – P. 375-378.
143. Saylan Y. Biosensing Applications of Molecularly Imprinted-Polymer-Based Nanomaterials / Y. Saylan, S. Kılıç, A. Denizli // *Processes*. – 2024. – Vol. 12, № 1. – P. 177-194.

144. Carballido L. Applications of molecularly imprinted polymers and perspectives for their use as food quality trackers / L. Carballido, T. Karbowskiak, P. Cayot [et al.] // Chem. – 2022. – Vol. 8, № 9. – P. 2330-2341.
145. Zhao G. Recent Advances in Molecularly Imprinted Polymers for Antibiotic Analysis / G. Zhao, Y. Zhang, D. Sun [et al.] // Molecules. – 2023. – Vol. 28, № 1. – P. 335-360.
146. Branton A. Evaluation of the Physicochemical and Thermal Properties of Consciousness Energy Healing Treated Cefazolin Sodium / A. Branton, M. K. Trivedi, D. Trivedi [et al.] // Organic and Medicinal chemistry. – 2019. – Vol. 8, № 3. – P. 1-7.
147. Vilanti A. Physicochemical stability of high-concentration cefuroxime aqueous injection reconstituted by a centralised intravenous additive service / A. Vilanti, M. Helin-Tanninen, A. Isotalo [et al.] // European Journal of Hospital Pharmacy. – 2023. – Vol. 32, № 1. – P. 51-56.
148. Wozniak T. J. Analytical Profile of Cefuroxime Sodium / T. J. Wozniak, J. R. Hicks // Analytical Profiles of Drug Substances. – 1991. – Vol. 20. – P. 209-236.
149. Безъязычная А. А. Определение цефтриаксона в биологическом материале / А. А. Безъязычная, В. К. Шорманов, Л. Е. Сипливая // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". – 2018. – № 1. – С. 128-132.
150. Голубева М. В. Ионные равновесия в водном растворе цефтриаксона / М. В. Голубева, В. Г. Алексеев // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 6. – С. 494-497.
151. Consortti L. P. A Critical Review of Analytical Methods for Quantification of Cefotaxime / L. P. Consortti, H. R. N. Salgado // Critical Reviews in Analytical Chemistry. – 2017. – Vol. 47, № 4. – P. 359-371.
152. Бобровская О. В. Методология формирования новых биологически активных соединений на основе взаимодействия сульфаниламидов с

эффирами ацилпировиноградных кислот : автореф. дисс. ... канд. хим. наук. / О. В. Бобровская. – Пермь. – 2021. – 50 с.

153. Алексеев В. Г. Ионные равновесия в растворах пенициллинов, цефалоспоринов и их металлокомплексов : специальность 02.00.04 «Физическая химия» : автореферат диссертации ... кандидата химических наук / Алексеев Владимир Георгиевич ; Тверский государственный университет. – Тверь, 2009. – 31 с.
154. Kariem A. G. Development and validation of an RP-HPLC method for estimation of cefuroxime axetil and its degradation products in tablets / A. G. Kariem, A. A. Algaradi, A. G. Al-Kaf, T. Alssmani // *Pharmacy & Pharmacology International Journal*. – 2016. – Vol. 4, № 5. – P. 398-404.
155. Orgován G., Noszál B. NMR analysis and site-specific protonation constants of streptomycin / G. Orgován, B. Noszál // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2012. – Vol. 59. – P. 78-82.
156. Stenholm A. Neomycin removal using the white rot fungus *Trametes versicolor* / A. Stenholm, M. Hedeland, C. E. Pettersson // *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. – 2022. – Vol. 57, № 6. – P. 436-447.
157. Кочук Е. В. Определение сульфаниламидов методами ВЭЖХ и спектрофотометрии после сорбционного концентрирования : специальность 02.00.02 «Аналитическая химия» : автореферат диссертации ... кандидата химических наук / Кочук Елена Валентиновна; Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова. – Москва, 2013. – 25 с.
158. Al-Ameri S. A. H. Synthesis, Characterization and HPLC Analysis of Streptomycin with its Derivatives / S. A. H. Al-Ameri, A. H. Abdullah, O. M. Kamil [et al.] // *Journal of Pioneering Medical Sciences*. – 2023. – Vol. 12, № 4. – P. 43-46.
159. Yu F. Improved Neomycin Sulfate Potency in *Streptomyces fradiae* Using Atmospheric and Room Temperature Plasma (ARTP) Mutagenesis and

Fermentation Medium Optimization / F. Yu, M. Zhang, J. Sun [et al.] // *Microorganisms*. – 2022. – Vol. 10, № 1. – P. 1-17.

160. Хальзова С. А. Определение синтетических красителей в жидких средах пьезоэлектрическими сенсорами, модифицированными полимерами с молекулярными отпечатками : специальность 02.00.02 «Аналитическая химия» : диссертация ... кандидата химических наук / Хальзова Светлана Александровна ; Воронежский государственный университет. – Воронеж, 2017. – 157 с.
161. Omairi R. Antibiotic residues in milk and milk products: A momentous challenge for the pharmaceutical industry and medicine / R. Omairi, M. Krayem, S. Khaled [et al.] // *World Journal of Pharmacology*. – 2022. – Vol. 11, № 4. – P. 48-55.
162. Ву Хоанг Иен. Определение консервантов в пищевых продуктах пьезосенсорами на основе молекулярно-импринтированных полимеров : специальность 1.4.2 «Аналитическая химия» : диссертация ... кандидата химических наук / Ву Хоанг Иен ; Воронежский государственный университет. – Воронеж, 2023. – 115 с.
163. Альберт А. Константы ионизации кислот и оснований / А. Альберт, Е. Сергент. – Москва : Химия, 1964. – 180 с.
164. Хальзова С. А. Определение азокрасителей в безалкогольных напитках методом ТСХ / С. А. Хальзова, А. Н. Зяблов // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2022. – Т. 22, № 3. – С. 252-260.
165. Казицына Л. А. Применение УФ, ИК и ЯМР спектроскопии в органической химии / Л. А. Казицына, Н. Б. Куплетская. – Москва : Высшая школа, 1971. – 264 с.
166. Као Ньят Линь. Определение карбоновых кислот в производственных растворах модифицированными пьезоэлектрическими сенсорами : специальность 02.00.02 «Аналитическая химия» : диссертация ... кандидата химических наук / Као Ньят Линь ; Воронежский государственный университет. – Воронеж, 2019. – 128 с.

167. Pedroso T. M. Methods for Qualitative Analysis of Cefazolin Sodium Raw Material and Pharmaceutical Product / T. M. Pedroso, H. R. N. Salgado // Physical Chemistry. – 2013. – Vol. 3, № 2. – P. 29-38.
168. Elsayed M. A. A Physical-Chemical Study of the Interference of Ceftriaxone Antibiotic with Copper Chloride Salt / M. A. Elsayed, M. M. Mowafak, E. S. Sherine // Bioinorganic Chemistry and Applications. – 2021. – Vol. 2021, № 1. – P. 1-15.
169. Consortti L. P. Green Method for Quantification of Sodium Cefotaxime in Lyophilized Powder by Infrared Spectroscopy / L. P. Consortti, H. R. N. Salgado // Journal of Pharmaceutical Sciences & Emerging Drugs. – 2017. – Vol. 5, № 1. – P. 1-6.
170. Supriya A. Formulation and Invitro Characterization of Neomycin Loaded Chitosan Nanoparticles / A. Supriya, J. Sundaraseelan, B. R. Srinivas Murthy, M. B. Priya. // Acta Scientific Pharmaceutical Sciences. – 2018. – Vol. 2, № 2. – P. 34-40.
171. Kaif M. Formulation, Characterization, and Evaluation of Neomycin Sulphate Emulgel Incorporating Tea Tree Oil for Treatment of Bacterial Skin Infections / M. Kaif, A. Singh, Dr.J.N. Mishra // Eurasian Journal of Analytical Chemistry. – 2024. – Vol. 19, № 1. – P. 230-239.
172. Topaclı A. Investigation on sulfanilamide and its interaction with some metals and lincomycin by infrared spectroscopy / A. Topaclı, B. Kesimli // Spectroscopy Letters. – 2024. – Vol. 34, № 4. – P. 513-526.
173. Брук Б. С. Полярографические методы : Физические и физико-химические методы контроля состава и свойств веществ / Б. С. Брук. – Москва : Энергия, 1965. – 112 с.
174. Фам Тхи Гам. Определение антибиотиков в жидкостях амперометрическим сенсором, модифицированным молекулярно-импринтированным полимером / Фам Тхи Гам, Као Ньят Линь, А. Н. Зяблов, Нгуен Ань Тьен // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2025. – Т. 91, № 9. – С. 28-35.

175. Фам Тхи Гам. Определение стрептомицина в молоке амперометрическими сенсорами / Фам Тхи Гам, А. Н. Зяблов, Фам Тхи Бик Нгок // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2025. – Т. 28, № 2. – С. 43-47.
176. Фам Тхи Гам. Определение антибиотиков в сточных водах амперометрическими сенсорами / Фам Тхи Гам, О. А. Тертышникова, А. Н. Зяблов [и др.] // Журнал аналитической химии. – 2025. – Т. 80, № 9. – С. 996-1002.
177. Бюллер К. У. Тепло- и термостойкие полимеры / К. У. Бюллер. – Москва : Химия, 1984. – 1056 с.
178. Зяблов А. Н. Определение цефтриаксона в молоке амперометрическими сенсорами / А. Н. Зяблов, М. Е. Дядищев, Фам Тхи Гам, Фам Тхи Бик Нгок // БиоЭкоМед. – 2025. – Т. 2, № 2. – С. 73-76.
179. Пьезоэлектрический сенсор на основе молекулярно-импринтированного полимера для определения олеиновой кислоты : патент 137946 Российская Федерация : МПК H01L41/08 / Зяблов А. Н., Дуванова О. В. [и др.] ; заявитель и патентообладатель Воронежский государственный университет. – № 2013144500/28 ; заявл. 03.10.2013 ; опубл. 27.02.2014.
180. Фам Тхи Гам. Наноструктурный анализ поверхности полиимидных пленок / Фам Тхи Гам, А. Н. Зяблов, М. В. Гречкина // Химия, физика и механика материалов. – 2024. – Т. 42, № 3. – С. 71-81.
181. Ботова Н. С. Морфологический анализ полимерных пленок / Н. С. Ботова, Фам Тхи Гам, А. Н. Зяблов // Химия, физика и механика материалов. – 2025. – Т. 4, № 47. – С. 80-89.
182. Зяблов А. Н. Определение аминокислот в водных растворах пьезоэлектрическими сенсорами на основе молекулярно-импринтированных полимеров: специальность 02.00.02 «Аналитическая химия» : диссертация ... доктора химических наук / Зяблов Александр

- Николаевич ; Воронежский государственный университет. – Воронеж, 2014. – 371 с.
183. Scanning Probe Microscopy Image Processing Software «FemtoScan Online». M. Advanced Technologies Center. spm@nanoscopy.org
184. Установка с кондуктометрическим детектором для исследования процессов сорбции : патент 156900 Российская федерация : МПК G01N30/00 / Зяблов А. Н., Дуванова О. В. [и др.] ; заявитель и патентообладатель Воронежский государственный университет. – № 2014154569/28 ; заявл. 31.12.2014 ; опубл. 20.11.2015.
185. Фам Тхи Гам. Сорбция антибиотиков цефалоспоринового ряда молекулярно-импринтированными полимерами / Фам Тхи Гам, А. Н. Зяблов, Као Ньят Линь, Нгуен Ань Тьен // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2025. – Т. 25, № 3. – С. 436-443.
186. Liu R. Adsorption and Desorption Characteristics of Cd²⁺ and Pb²⁺ by Micro and Nano-sized Biogenic CaCO₃ / R. Liu, Y. Guan, L. Chen, B. Lian // *Frontiers in Microbiology*. – 2018. – Vol. 9, № 41. – P. 1-9.
187. Дерффель К. Статистика в аналитической химии / К. Дерффель. – Москва : Мир, 1994. – 267 с.
188. Чарыков А. К. Математическая обработка результатов химического анализа : Методы обнаружения и оценки ошибок / А. К. Чарыков. – Ленинград : Химия, 1984. – 168 с.
189. Bitas D. Molecularly Imprinted Polymers as Extracting Media for the Chromatographic Determination of Antibiotics in Milk / D. Bitas, V. Samanidou // *Molecules*. – 2018. – Vol. 23, № 2. – P. 1-33.
190. Deshpande A. D. Degradation of β -lactam antibiotics / A. D. Deshpande, K. G. Baheti, N. R. Chatterjee // *Current Science*. – 2004. – Vol. 87, № 12. – P. 1684-1695.
191. Kim S. H. Effect of pH and temperature on the biodegradation of oxytetracycline, streptomycin, and validamycin A in soil / S. H. Kim,

- S. Y. Park, G. E. Kim, E. H. Jho // *Applied Biological Chemistry*. – 2023. – Vol. 66, № 63. – P. 1-8.
192. Rechelo B. S. Quantitative analysis of cefazolin sodium in lyophilized powder by infrared spectrophotometry: Green, low cost, fast and effective / B. S. Rechelo, A. C. Kogawa, H. R. N. Salgado // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2019. – Vol. 208. – P. 157-161.
193. Okamoto Y. Degradation kinetics and isomerization of cefdinir, a new oral cephalosporin, in aqueous solution. 1 / Y. Okamoto, K. Kiriya, Y. Namiki [et al.] // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 1996. – Vol. 85, № 9. – P. 976-983.
194. Nurkeeva Z. S. Polycomplexes of poly(acrylic acid) with streptomycin sulfate and their antibacterial activity / Z. S. Nurkeeva, V. V. Khutoryanskiya, G. A. Muna [et al.] // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. – 2004. – Vol. 57, № 2. – P. 245-249.
195. Trius N. V. Use of IR spectroscopy for identifying sulfanilamide preparations / N. V. Trius // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 1979. – Vol. 13. – P. 1200-1203.
196. Benmebarek S. Synthesis and characterization of a new complex based on antibiotic: Zirconium complex / S. Benmebarek, S. A. Boussaa, I. E. Benmebarek [et al.] // *Applied Rheology*. – 2023. – Vol. 33, № 1. – P. 1-9.
197. Srivastav G. Vibrational Spectra and molecular structure of Sulfanilamide: IR and Low Temperature Raman Studies and DFT Investigation of Monomeric and Dimeric Forms / G. Srivastav, B. Yadav, R. K. Yadav, R. A. Yadav // *Vibrational Spectroscopy*. – 2021. – Vol. 112. – P. 1-52.
198. Silverstein R. M. *Spectrometric Identification of Organic Compounds* / R. M. Silverstein, F. X. Webster. – New York : John Wiley & Sons, Inc., 1997. – 495 p.
199. Тарасевич Б. Н. ИК спектры основных классов органических веществ : справочные материалы / Б. Н. Тарасевич. – Москва : МГУ, 2012. – 55 с.

200. Фам Тхи Гам. Структурно-групповой анализ молекулярно-импринтированных полимеров с отпечатками антибиотиков по данным метода ИК-спектроскопии / Фам Тхи Гам, А. Н. Зяблов, Конг Хонг Хань // Ионообменные материалы в сорбционных, хроматографических и мембранных процессах – ИОНИТЫ-2025 : Материалы XVI Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 175-летию открытия явления ионного обмена и 25-летию журнала «Сорбционные и хроматографические процессы», (19 – 21 ноября 2025 г.). – Воронеж, 2025. – С. 176-177.
201. Дьяконова О. В. Особенности формирования структуры полиамидокислотных мембран в зависимости от температуры синтеза / О. В. Дьяконова, С. А. Соколова, А. Н. Зяблов, Ю. А. Жиброва // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2007. – Т. 7, № 5. – С. 873-877.
202. Фам Тхи Гам. Оценка сорбции цефуроксима натрия и цефотаксима натрия молекулярно-импринтированными полимерами / Фам Тхи Гам, Као Ньят Линь, А. Н. Зяблов // Известия высших учебных заведений. Серия «Химия и химическая технология». – 2025. – Т. 68, № 10. – С. 64-70.
203. Vaikosen E. N. Spectroscopic Fingerprinting of Aminoglycosides and Determination of Neomycin Sulphate Through Oxidative Ion-pair Complex Formation using Ammonium Molybdate / E. N. Vaikosen, B. U. Ebeshi, C. R. Worlu // Current Pharmaceutical Analysis. – 2018. – Vol. 14. – P. 1-9.
204. Грег С. Адсорбция, удельная поверхность, пористость / С. Грег, К. Синг. – Москва : Мир, 1984. – 310 с.
205. Адамова Л. В. Сорбционный метод исследования пористой структуры наноматериалов и удельной поверхности наноразмерных систем / Л. В. Адамова, А. П. Сафронов. – Екатеринбург : УГУ АМГ, 2008. – 62 с.
206. Фам Тхи Гам. Сорбция неомицина сульфата молекулярно-импринтированными полимерами / Фам Тхи Гам, А. Н. Зяблов, Фам Тхи Бик Нгок // Разделение и концентрирование в аналитической химии и

- радиохимии : Материалы VII Всероссийского симпозиума с международным участием, (21 – 27 сентября 2025 г.) . – Краснодар, 2025. – С. 101.
207. Фам Тхи Гам. Оценка некоторых структурных характеристик пленок с молекулярными отпечатками антибиотиков / Фам Тхи Гам, Фам Тхи Бик Нгок, А. Н. Зяблов // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2024. – Т. 24, № 6. – С. 1031-1035.
208. Фам Тхи Гам. Анализ поверхности пленок с молекулярными отпечатками неомидина сульфата / Фам Тхи Гам, А. Н. Зяблов, Конг Хонг Хань // "Оптические хемо-и биосенсоры" в рамках ежегодной международной конференции Saratov Fall Meeting – 2025 : Тезисы докладов, (29 сентября – 3 октября 2025 г.). – Саратов, 2025. – С. 54.
209. Burgot J. L. General Analytical Chemistry : Electrochemical Analysis Methods / J. L. Burgot. – Boca Raton : CRC Press, 2024. – 442 p.
210. Stuart S. Classification and nomenclature of electroanalytical techniques / S. Stuart // Pure and Applied Chemistry. – 1976. – Vol. 45, № 2. – P. 81-97.
211. Фам Тхи Гам. Определение стрептомицина сульфата и неомидина сульфата в жидких средах амперометрическими сенсорами, модифицированными молекулярно-импринтированным полимером / Фам Тхи Гам, Е. В. Бобринская, А. Н. Зяблов [и др.] // Аналитика и контроль. – 2025. – Т. 29, № 4. С. 293-302.
212. Božić B. Coordination and redox interactions of β -lactam antibiotics with Cu^{2+} in physiological settings and the impact on antibacterial activity / B. Božić, J. Korać, D. M. Stanković [et al.] // Free Radical Biology and Medicine. – 2018. – Vol. 129. – P. 279-285.
213. Воронин А. В. Получение молекулярно импринтированного полимера на основе производных акриловой кислоты для изолирования производных пирролидинофенона из биологических жидкостей / А. В. Воронин, И. В. Сынбулатов // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2020. – Т. 23, № 12. – С. 18-23.

214. Фам Тхи Гам. Определение цефазолина в сточной воде модифицированным амперометрическим сенсором / Фам Тхи Гам, А. Н. Зяблов, Фам Тхи Бик Нгок // XIII Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика» : Сборник тезисов, (19 – 23 мая 2025 г.). – Санкт-Петербург, 2025. – С. 110.
215. Фам Тхи Гам. Определение цефотаксима в молоке модифицированным амперометрическим сенсором / Фам Тхи Гам, А. Н. Зяблов, Фам Тхи Бик Нгок // XXII Менделеевский съезд по общей и прикладной химии, посвященный 190-летию Д.И. Менделеева и 300-летию основания Российской академии наук : Сборник тезисов докладов в 7 томах, (7 – 12 октября 2024 г.). – Федеральная территория «Сириус», 2024. –Т. 7. –С. 57.
216. Фам Тхи Гам. Определение цефазолина в жидких средах амперометрическими сенсорами / Фам Тхи Гам, А. Н. Зяблов // Физико-химические процессы в конденсированных средах и на межфазных границах, ФАГРАН–2024 : Материалы X Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 190-летию со дня рождения Д.И. Менделеева, (23 – 25 сентября 2024 г.). – Воронеж, 2024. – С. 151-153.
217. Гинкин Г. Г. Закон Ома (для переменного тока) / Г. Г. Гинкин. – Москва : Радиоиздат, 1937. – 176 с.
218. Rajak P. Antibiotics in wastewater: Exploring the sources, links to antibiotic resistance, and strategies for their removal / P. Rajak, A. Ganguly, S. Dey, K. Sen // Cleaner Water. – 2025. – Vol. 4. – P. 1-15.

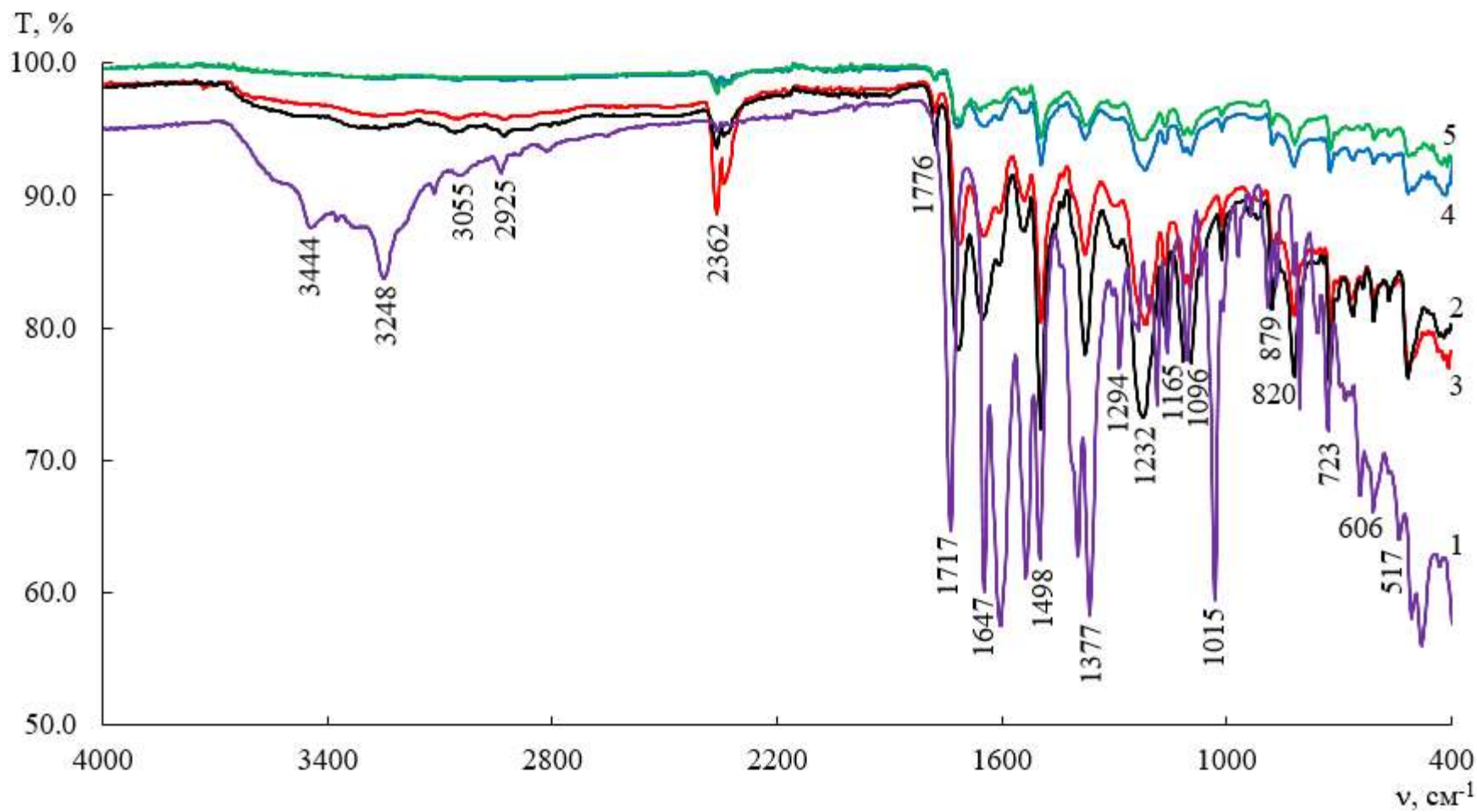


Рис. А.1. ИК-спектры полимерных пленок

- 1 – цефтриаксон натрия; 2 – полиимид; 3 – полиимид с сорбированным цефтриаксоном натрия;
 4 – полимер до удаления отпечатка; 5 - молекулярно-импринтированный полимер

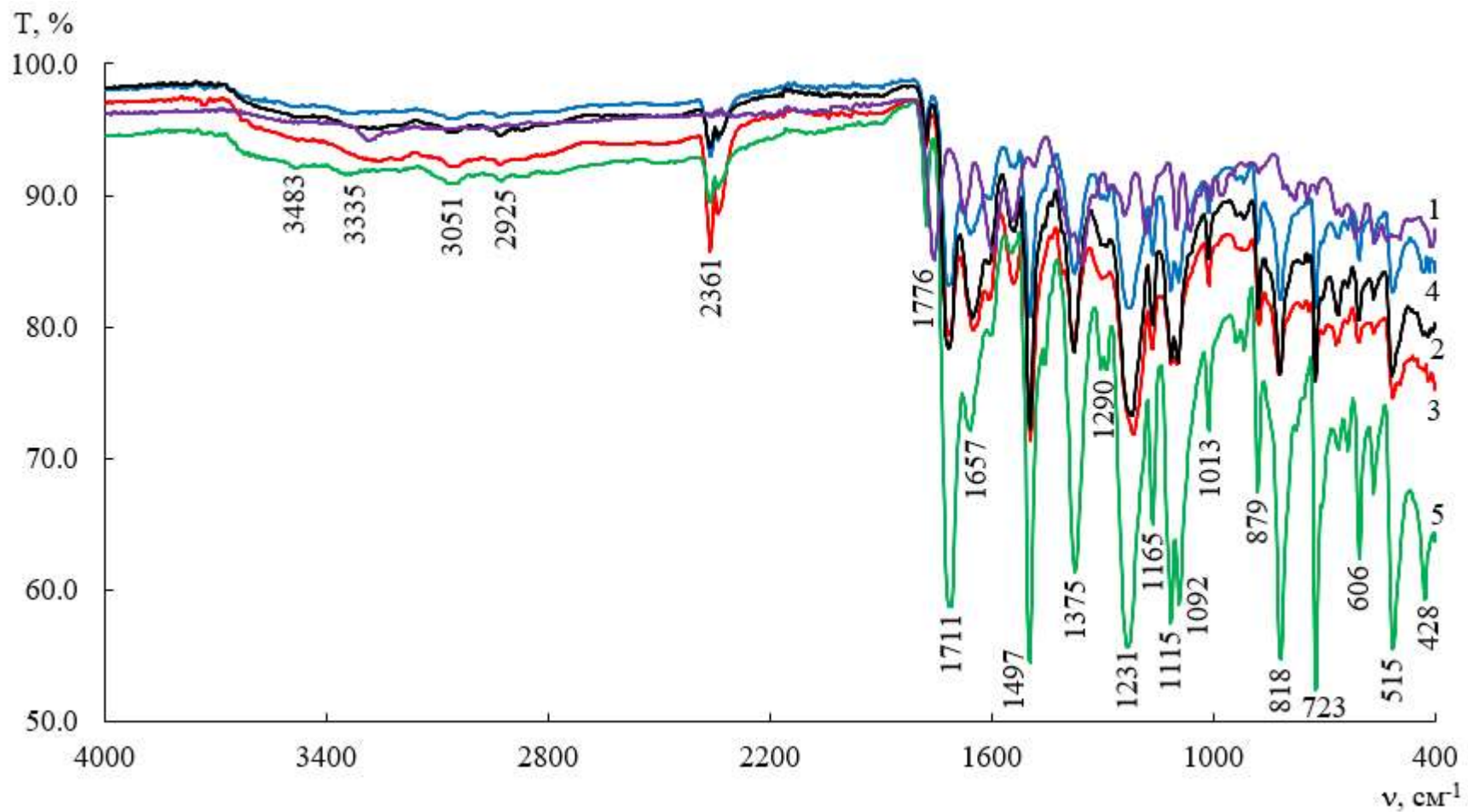


Рис. А.2. ИК-спектры полимерных пленок

- 1 – цефазолин натрия; 2 – полиимид; 3 – полиимид с сорбированным цефазолином натрия;
 4 – полимер до удаления отпечатка; 5 - молекулярно-импринтированный полимер

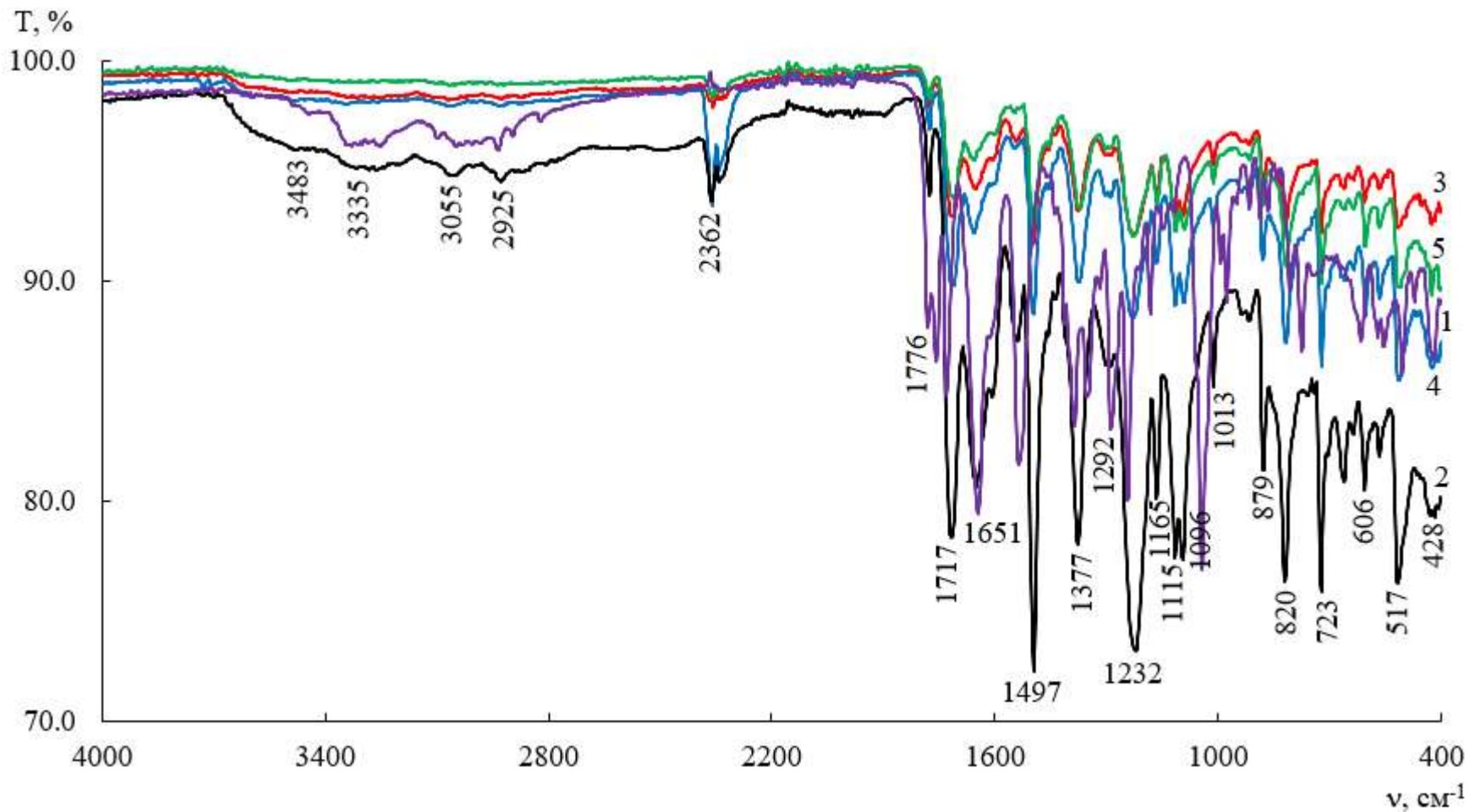


Рис. А.3. ИК-спектры полимерных пленок

- 1 – цефотаксим натрия; 2 – полиимид; 3 – полиимид с сорбированным цефотаксимом натрия;
 4 – полимер до удаления отпечатка; 5 - молекулярно-импринтированный полимер

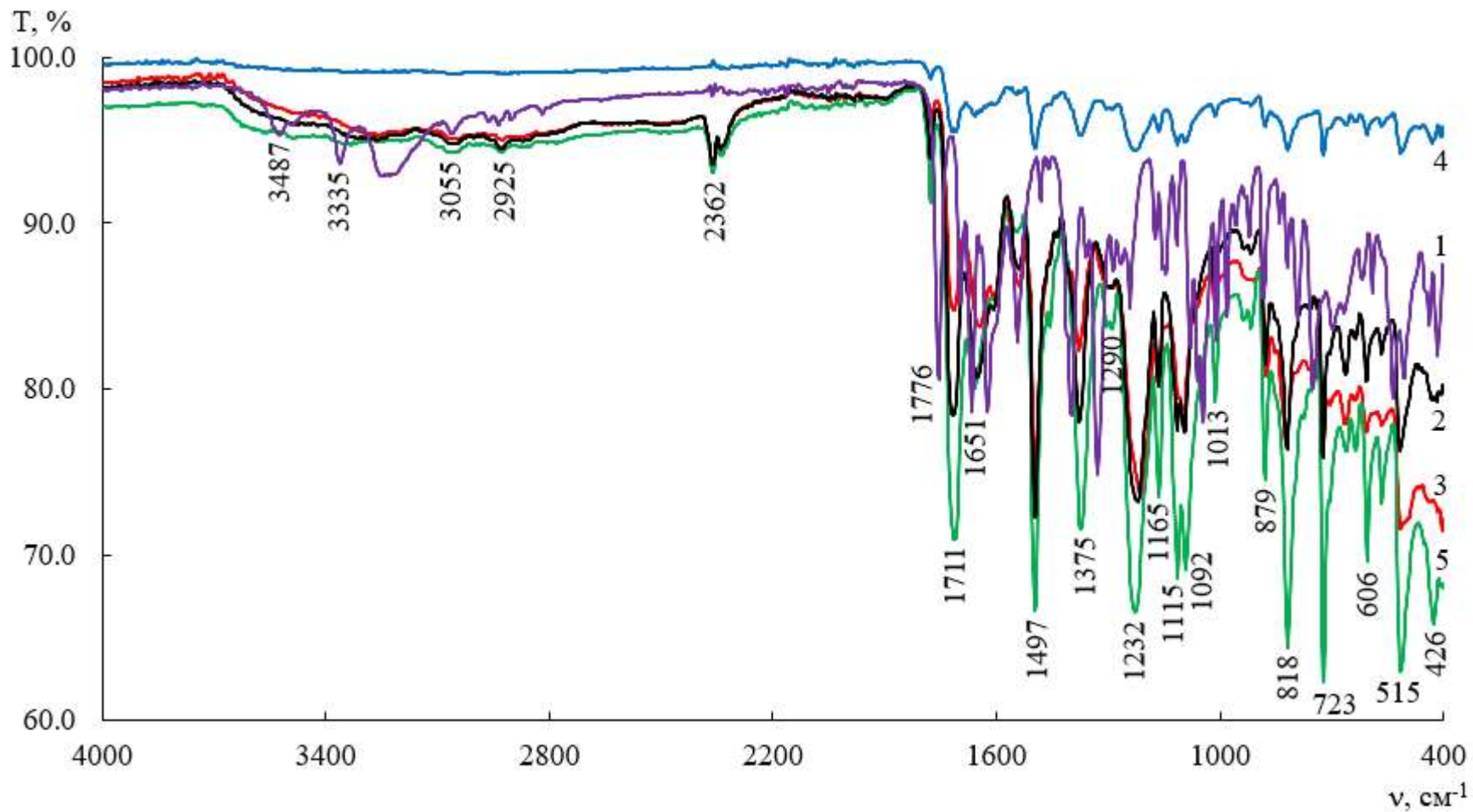


Рис. А.4. ИК-спектры полимерных пленок

- 1 – цефуроксим натрия; 2 – полиимид; 3 – полиимид с сорбированным цефуроксимом натрия;
 4 – полимер до удаления отпечатка; 5 - молекулярно-импринтированный полимер

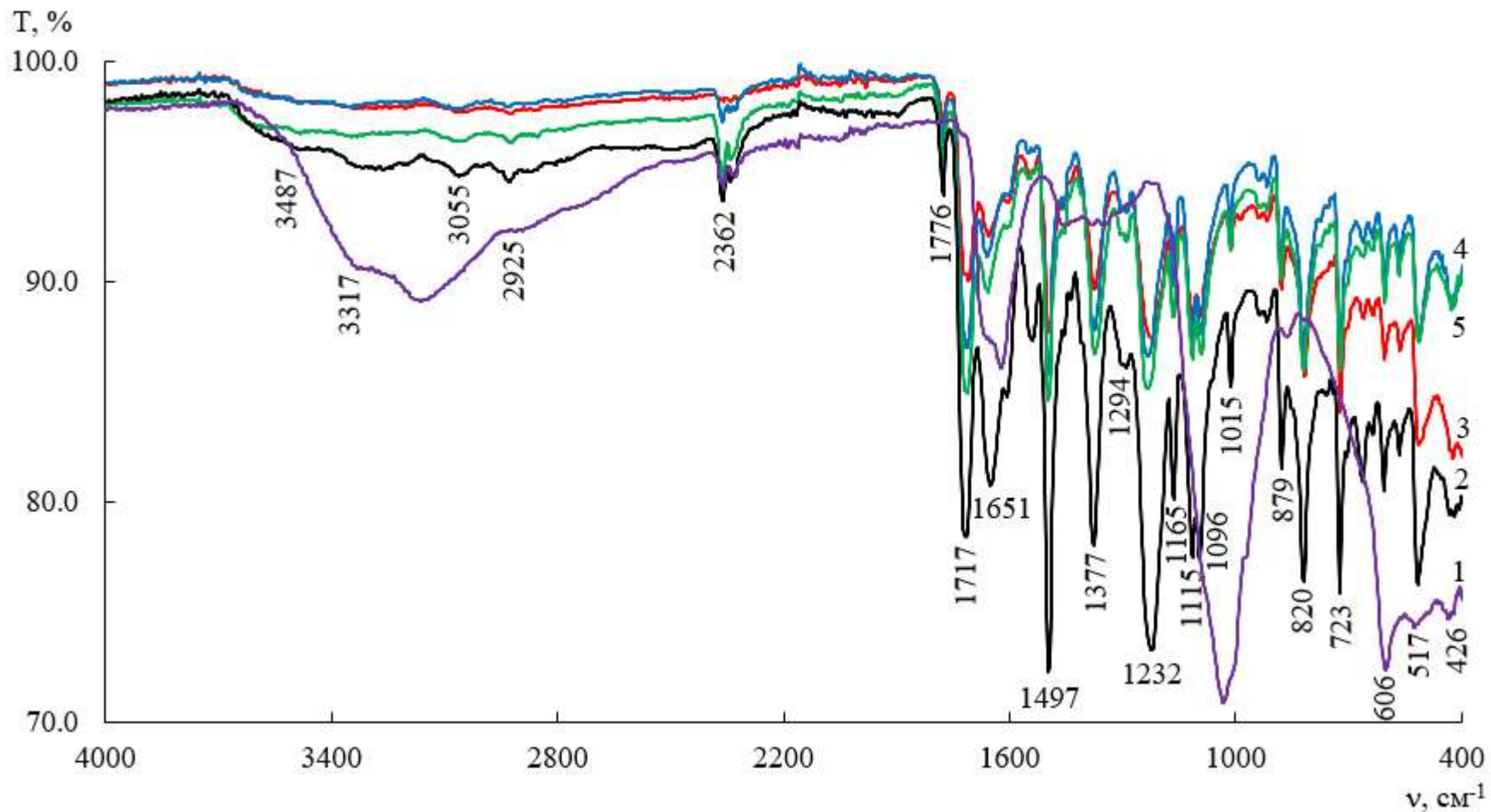


Рис. А.5. ИК-спектры полимерных пленок

- 1 – стрептомицина сульфат; 2 – полиимид; 3 – полиимид с сорбированным стрептомицином сульфата;
 4 – полимер до удаления отпечатка; 5 - молекулярно-импринтированный полимер

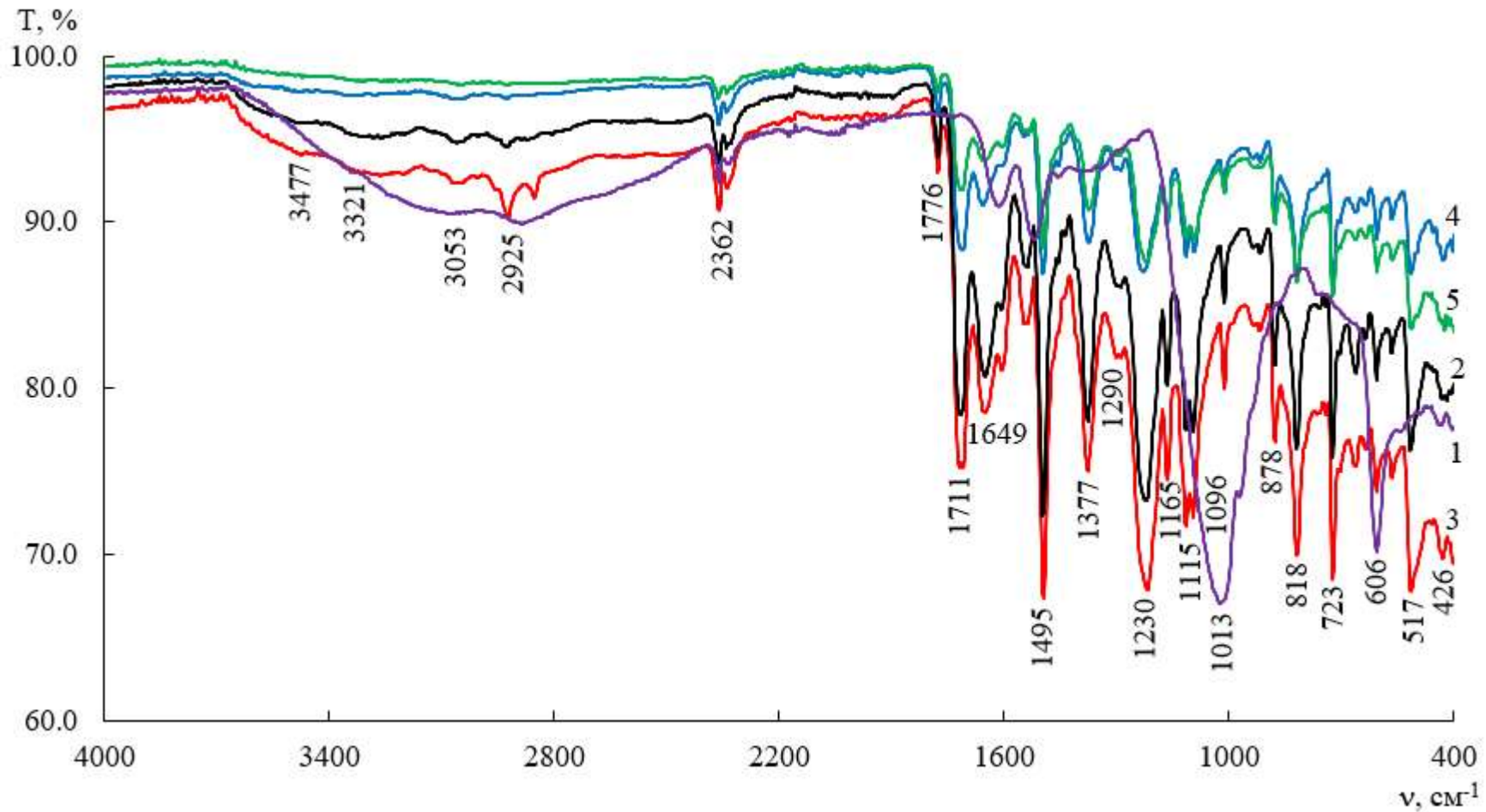


Рис. А.6. ИК-спектры полимерных пленок

- 1 – неомицина сульфат; 2 – полиимид; 3 – полиимид с сорбированным неомицином сульфата;
 4 – полимер до удаления отпечатка; 5 - молекулярно-импринтированный полимер

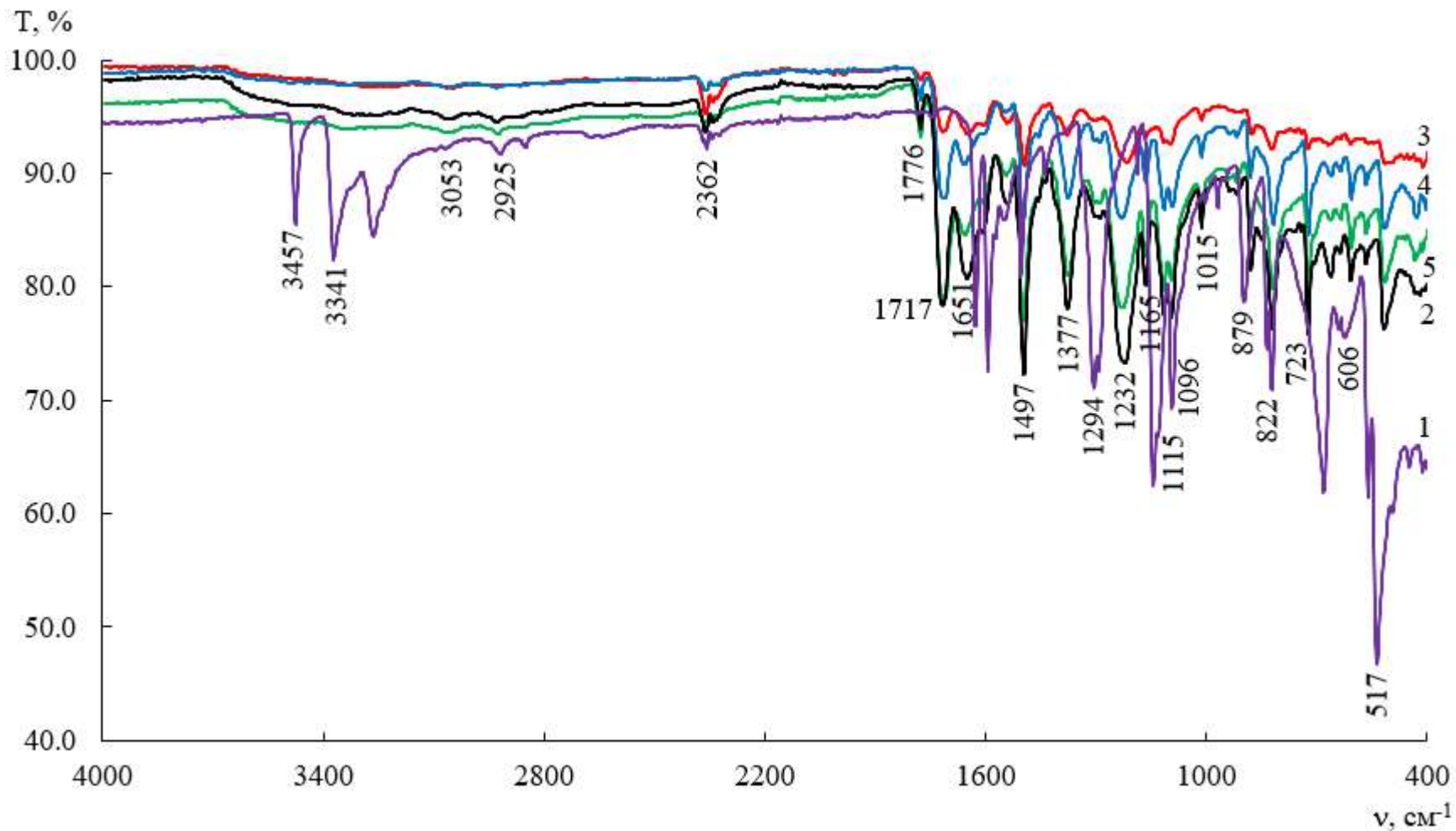


Рис. А.7. ИК-спектры полимерных пленок

- 1 – сульфаниламид; 2 – полиимид; 3 – полиимид с сорбированным сульфаниламидом;
 4 – полимер до удаления отпечатка; 5 - молекулярно-импринтированный полимер

Таблица А.1.

Характеристические частоты групп атомов в полимерах и цефазолине

Отнесение колебаний	Частота колебания ν , см^{-1}					
	[198, 199]	Cef	НП	НП+Cef	МИП+Cef	МИП-Cef
$>\text{N}-\text{H}\dots\text{H}_2\text{O}$	3300-3000	3050	3053	3051	3051	3051
$\nu_{\text{as}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1790-1740	1757	1776	1776	1776	1776
$\nu_{\text{s}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1730-1690	-	1717	1717	1718	1712
$>\text{N}-\text{H}\dots\text{H}_2\text{O}$	1650-1550	1595	1606	1606	1603	1601
$-\text{NH}_2\dots\text{H}_2\text{O}$	1550-1510	1543	1539	1541	1539	1543
Скелетные $\nu \text{C}-\text{C}$ в бензольном кольце	1530-1475	1485	1497	1495	1497	1497
$-\text{COO}^-\dots\text{H}_2\text{O}$	1390-1360	1368	1377	1379	1375	1375
$\nu \text{C}-\text{O}$	1320-1210	1284	1294	1295	1290	1290
$-\text{COO}^-\dots\text{H}_2\text{O}$	1230-1200	1240	1232	1230	1232	1231
$\delta_{\text{ip}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	1250-950	1184	1165	1167	1165	1165
$\delta \text{C}-\text{C}$	1125-1090	1099	1115, 1096	1115, 1099	1115, 1094	1115, 1092
Неплоские δ -колебаний OH -групп в $-\text{C}-\text{OH}$	1020-890	1007	1015	1013	1013	1013
$\delta_{\text{oop}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	900-690	792	820	822	818	818
$\delta_{\text{oop}} \text{OH}$ в $-\text{COOH}$	750-650	719	723	723	723	723
$\delta \text{O}=\text{C}-\text{N}$ (Амид IV)	~620	615	606	608	606	606

Таблица А.2.

Характеристические частоты групп атомов в полимерах и цефотаксиме

Отнесение колебаний	Частота колебания ν , см^{-1}					
	[198, 199]	Cefot	НП	НП+Cefot	МИП+Cefot	МИП-Cefot
$>\text{N}-\text{H}\dots\text{H}_2\text{O}$	3300-3000	3049	3055	3051	3053	3055
$\nu_{\text{as}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1790-1740	1763	1776	1776	1776	1776
$\nu_{\text{s}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1730-1690	1730	1717	1711	1711	1711
$>\text{N}-\text{H}\dots\text{H}_2\text{O}$	1650-1550	1614	1607	1607	1603	1601
$-\text{NH}_2\dots\text{H}_2\text{O}$	1550-1510	1535	1539	1543	1545	1544
Скелетные $\nu \text{C}-\text{C}$ в бензольном кольце	1530-1475	-	1497	1495	1497	1495
$-\text{COO}^- \dots \text{H}_2\text{O}$	1390-1360	1387	1377	1373	1375	1373
$\nu \text{C}-\text{O}$	1320-1210	1288	1294	1290	1292	1292
$-\text{COO}^- \dots \text{H}_2\text{O}$	1230-1200	1244	1232	1232	1232	1232
$\delta_{\text{ip}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	1250-950	1182	1165	1165	1165	1163
$\delta \text{C}-\text{C}$	1125-1090	1119	1115, 1096	1115, 1094	1115, 1094	1113, 1092
Неплоские δ -колебаний OH -групп в $-\text{C}-\text{OH}$	1020-890	972	1015	1013	1013	1013
$\delta_{\text{oop}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	900-690	823	820	820	818	818
$\delta_{\text{oop}} \text{OH}$ в $-\text{COOH}$	750-650	740	723	723	721	721
$\delta \text{O}=\text{C}-\text{N}$ (Амид IV)	~ 620	615	606	608	606	604

Таблица А.3.

Характеристические частоты групп атомов в полимерах и цефуроксиме

Отнесение колебаний	Частота колебания ν , см^{-1}					
	[198, 199]	Cefur	НП	НП+Cefur	МИП+Cefur	МИП-Cefur
$>\text{N}-\text{H}\dots\text{H}_2\text{O}$	3300-3000	3057	3055	3055	3053	3053
$\nu_{\text{as}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1790-1740	1755	1776	1776	1775	1776
$\nu_{\text{s}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1730-1690	1697	1717	1717	1711	1711
$>\text{N}-\text{H}\dots\text{H}_2\text{O}$	1650-1550	1623	1606	1607	1601	1601
$-\text{NH}_2\dots\text{H}_2\text{O}$	1550-1510	1543	1539	1537	1537	1543
Скелетные $\nu \text{C}-\text{C}$ в бензольном кольце	1530-1475	1481	1497	1495	1497	1497
$-\text{COO}^-\dots\text{H}_2\text{O}$	1390-1360	1395	1377	1379	1375	1373
$\nu \text{C}-\text{O}$	1320-1210	1286	1294	1294	1290	1290
$-\text{COO}^-\dots\text{H}_2\text{O}$	1230-1200	1242	1232	1230	1232	1232
$\delta_{\text{ip}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	1250-950	1157	1165	1167	1165	1163
$\delta \text{C}-\text{C}$	1125-1090	1116	1115, 1096	1113, 1099	1113, 1092	1115, 1092
Неплоские δ -колебаний OH -групп в $-\text{C}-\text{OH}$	1020-890	1011	1015	1013	1015	1013
$\delta_{\text{oop}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	900-690	824	820	822	818	818
$\delta_{\text{oop}} \text{OH}$ в $-\text{COOH}$	750-650	698	723	723	723	723
$\delta \text{O}=\text{C}-\text{N}$ (Амид IV)	~620	615	606	606	606	606

Таблица А.4.

Характеристические частоты групп атомов в полимерах и стрептомицине

Отнесение колебаний	Частота колебания ν , см^{-1}					
	[198, 199]	Strep	НП	НП+Strep	МИП+Strep	МИП-Strep
$>\text{N}-\text{H}\dots\text{H}_2\text{O}$	3300-3000	3143	3051	3055	3055	3053
$\nu_{\text{as}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1790-1740	-	1776	1775	1776	1776
$\nu_{\text{s}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1730-1690	1709	1717	1711	1715	1711
$>\text{N}-\text{H}\dots\text{H}_2\text{O}$	1650-1550	1622	1606	1605	1601	1601
$-\text{NH}_2\dots\text{H}_2\text{O}$	1550-1510	1519	1539	1546	1547	1545
Скелетные $\nu \text{C}-\text{C}$ в бензольном кольце	1530-1475	-	1497	1495	1497	1499
$-\text{COO}^-\dots\text{H}_2\text{O}$	1390-1360	1379	1377	1375	1375	1375
$\nu \text{C}-\text{O}$	1320-1210	1308	1294	1294	1290	1290
$-\text{COO}^-\dots\text{H}_2\text{O}$	1230-1200	-	1232	1230	1234	1234
$\delta_{\text{ip}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	1250-950	-	1165	1163	1165	1167
$\delta \text{C}-\text{C}$	1125-1090	-	1115, 1096	1115, 1094	1115, 1094	1115, 1092
Неплоские δ -колебаний OH -групп в $-\text{C}-\text{OH}$	1020-890	974	1015	1013	1015	1015
$\delta_{\text{oop}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	900-690	862	820	818	818	818
$\delta_{\text{oop}} \text{OH}$ в $-\text{COOH}$	750-650	-	723	723	723	723
$\delta \text{O}=\text{C}-\text{N}$ (Амид IV)	~620	602	606	606	606	606

Таблица А.5.

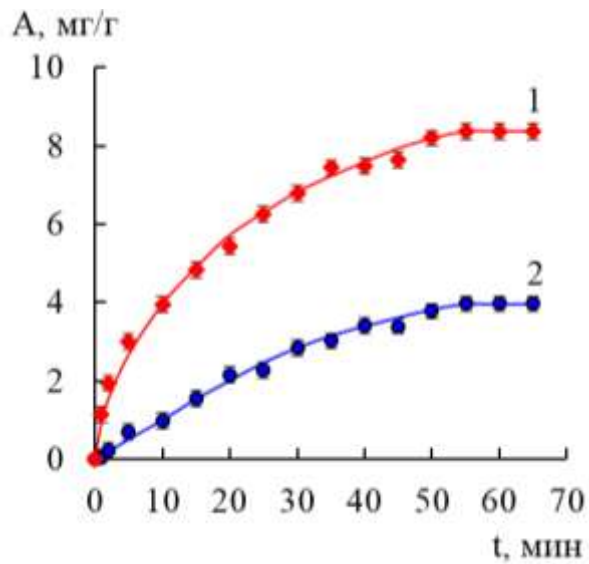
Характеристические частоты групп атомов в полимерах и неомидине

Отнесение колебаний	Частота колебания ν , см^{-1}					
	[198, 199]	Neo	НП	НП+Neo	МИП+Neo	МИП-Neo
$>\text{N}-\text{H}\dots\text{H}_2\text{O}$	3300-3000	3055	3055	3055	3053	3053
$\nu_{\text{as}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1790-1740	-	1776	1776	1776	1776
$\nu_{\text{s}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1730-1690	-	1717	1711	1711	1715
$>\text{N}-\text{H}\dots\text{H}_2\text{O}$	1650-1550	1612	1607	1606	1603	1603
$-\text{NH}_2\dots\text{H}_2\text{O}$	1550-1510	1521	1539	1537	1539	1535
Скелетные $\nu \text{C}-\text{C}$ в бензольном кольце	1530-1475	1521	1497	1495	1497	1495
$-\text{COO}^-\dots\text{H}_2\text{O}$	1390-1360	1375	1377	1377	1375	1375
$\nu \text{C}-\text{O}$	1320-1210	-	1294	1290	1288	1288
$-\text{COO}^-\dots\text{H}_2\text{O}$	1230-1200	1244	1232	1230	1234	1230
$\delta_{\text{ip}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	1250-950	-	1165	1165	1165	1165
$\delta \text{C}-\text{C}$	1125-1090	-	1115, 1096	1115, 1096	1115, 1094	1115, 1094
Неплоские δ -колебаний OH -групп в $-\text{C}-\text{OH}$	1020-890	1024	1015	1013	1015	1013
$\delta_{\text{oop}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	900-690	866	820	818	820	820
$\delta_{\text{oop}} \text{OH}$ в $-\text{COOH}$	750-650	-	723	723	723	723
$\delta \text{O}=\text{C}-\text{N}$ (Амид IV)	~620	606	606	606	606	606

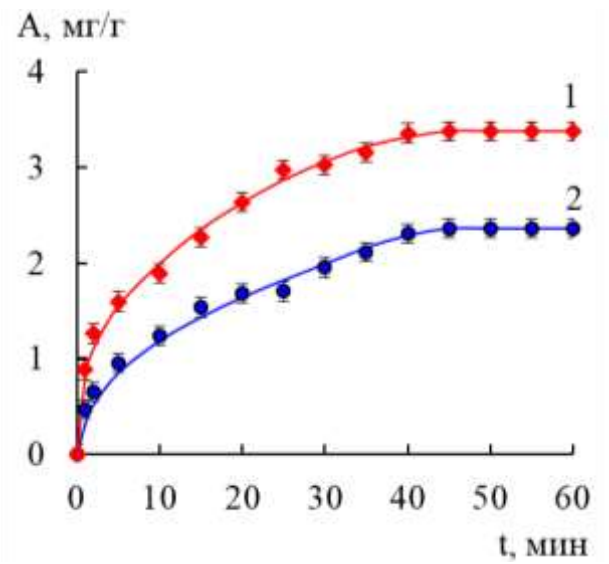
Таблица А.6.

Характеристические частоты групп атомов в полимерах и сульфаниламиде

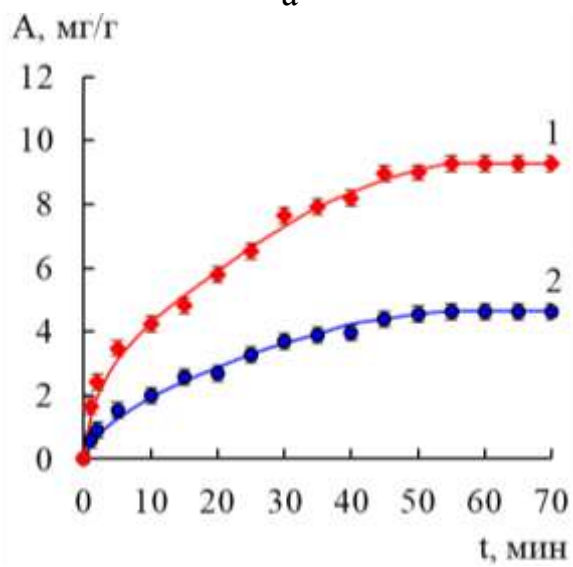
Отнесение колебаний	Частота колебания ν , см^{-1}					
	[198, 199]	Sulf	НП	НП+Sulf	МИП+Sulf	МИП-Sulf
$>\text{N}-\text{H}\dots\text{H}_2\text{O}$	3300-3000	-	3053	3053	3053	3055
$\nu_{\text{as}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1790-1740	1744	1776	1776	1776	1776
$\nu_{\text{s}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1730-1690	-	1717	1717	1711	1711
$>\text{N}-\text{H}\dots\text{H}_2\text{O}$	1650-1550	1593	1607	1607	1603	1603
$-\text{NH}_2\dots\text{H}_2\text{O}$	1550-1510	1546	1537	1541	1542	1543
Скелетные $\nu \text{C}-\text{C}$ в бензольном кольце	1530-1475	1504	1497	1495	1495	1497
$-\text{COO}^-\dots\text{H}_2\text{O}$	1390-1360	1390	1377	1379	1375	1375
$\nu \text{C}-\text{O}$	1320-1210	1304	1294	1294	1288	1290
$-\text{COO}^-\dots\text{H}_2\text{O}$	1230-1200	-	1232	1230	1234	1234
$\delta_{\text{ip}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	1250-950	1144	1165	1165	1163	1165
$\delta \text{C}-\text{C}$	1125-1090	1093	1115, 1096	1096	1115, 1094	1115, 1094
Неплоские δ -колебаний OH -групп в $-\text{C}-\text{OH}$	1020-890	1003	1015	1013	1015	1015
$\delta_{\text{oop}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	900-690	822	820	822	818	818
$\delta_{\text{oop}} \text{OH}$ в $-\text{COOH}$	750-650	681	723	723	723	723
$\delta \text{O}=\text{C}-\text{N}$ (Амид IV)	~620	620	606	608	606	606



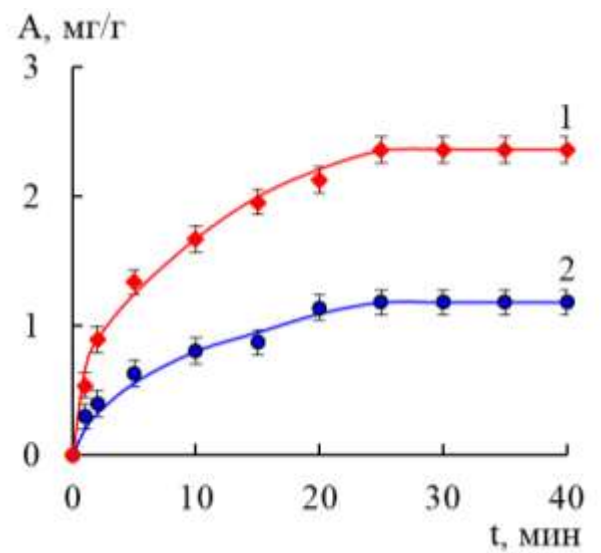
а



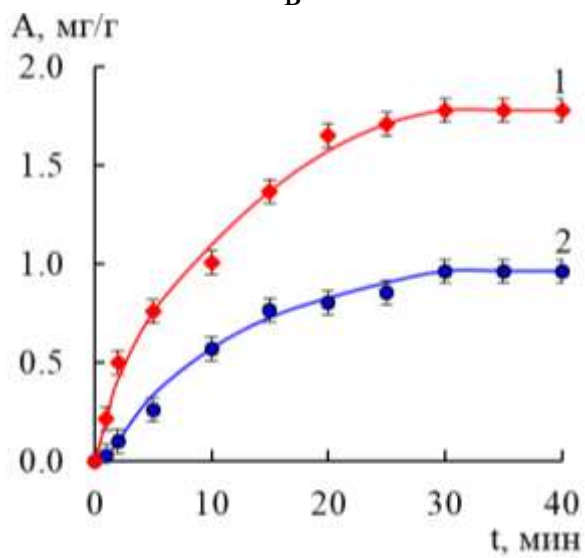
б



в



г



д

Рис. А.8. Кинетические кривые

сорбции антибиотиков

а – цефазолин натрия,

б – цефотаксим натрия,

в – цефуроксим натрия,

г – стрептомицина сульфат,

д – неомицина сульфат

1 – МИП-антибиотик; 2 – НП

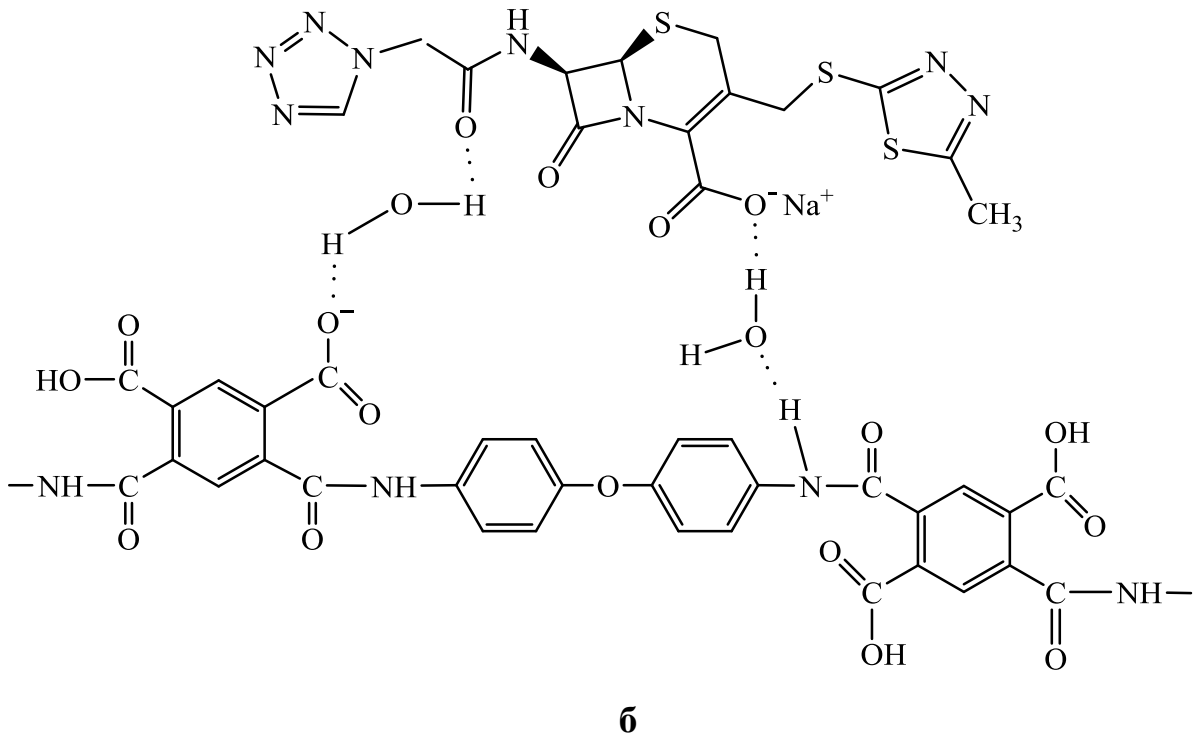
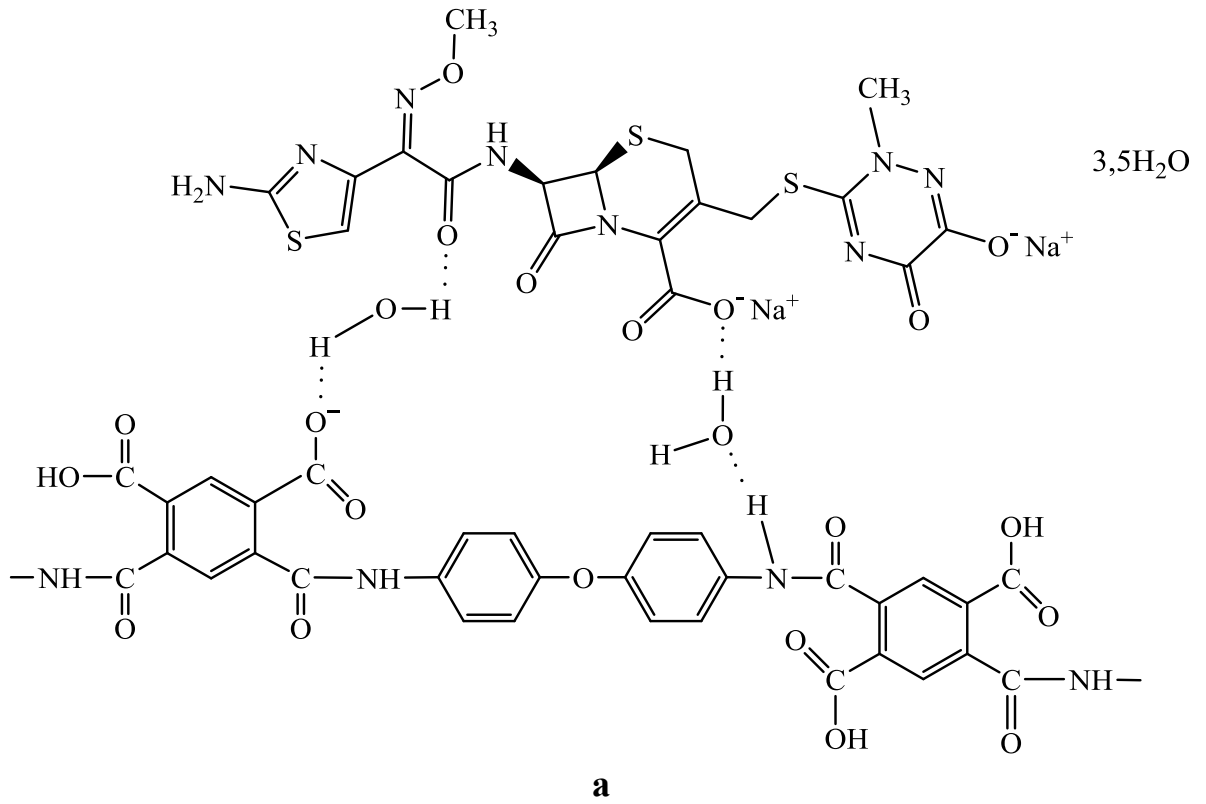


Рис. А.9. Схема образования Н-связей молекул антибиотиков и структурного звена полиимида

а – цефтриаксон натрия, б – цефазолин натрия

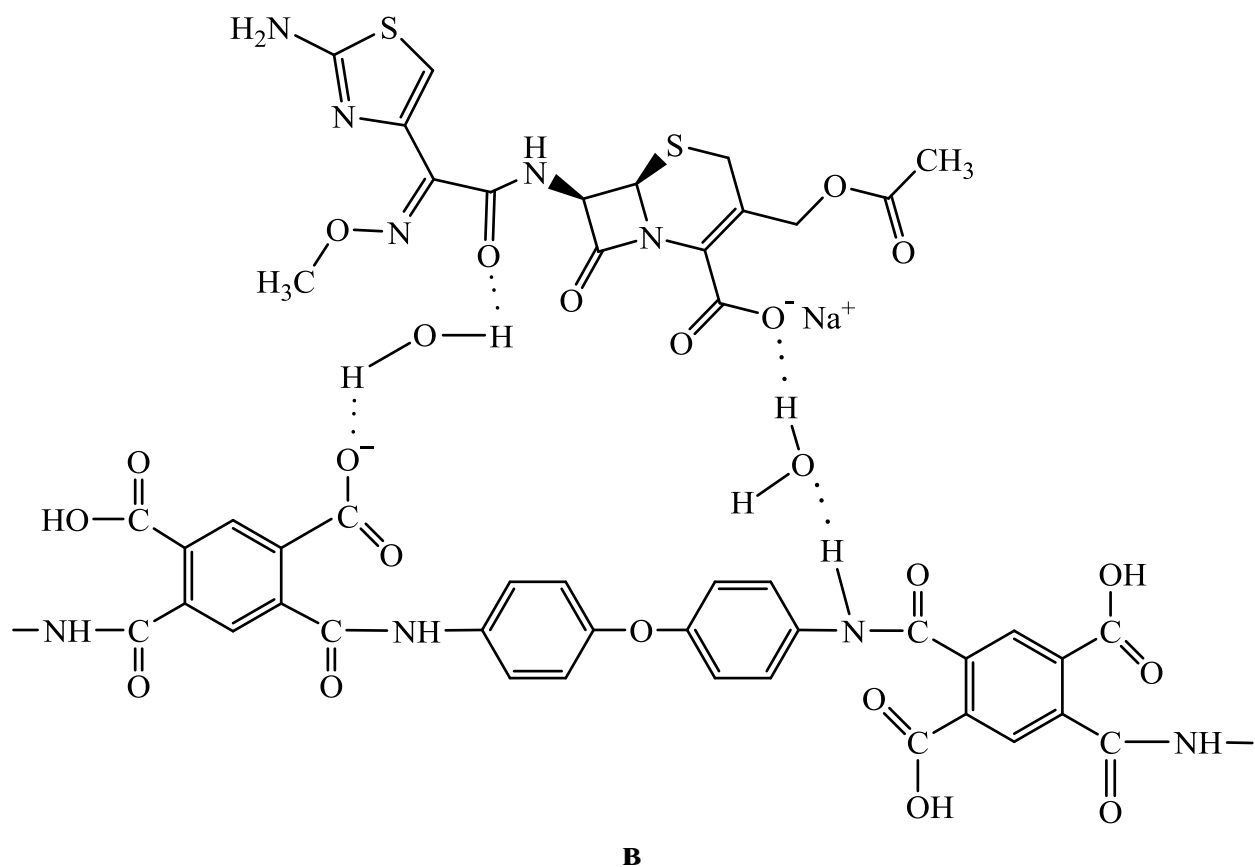


Рис. А.9. Схема образования Н-связей молекул цефотаксима натрия (в) и структурного звена полиимида

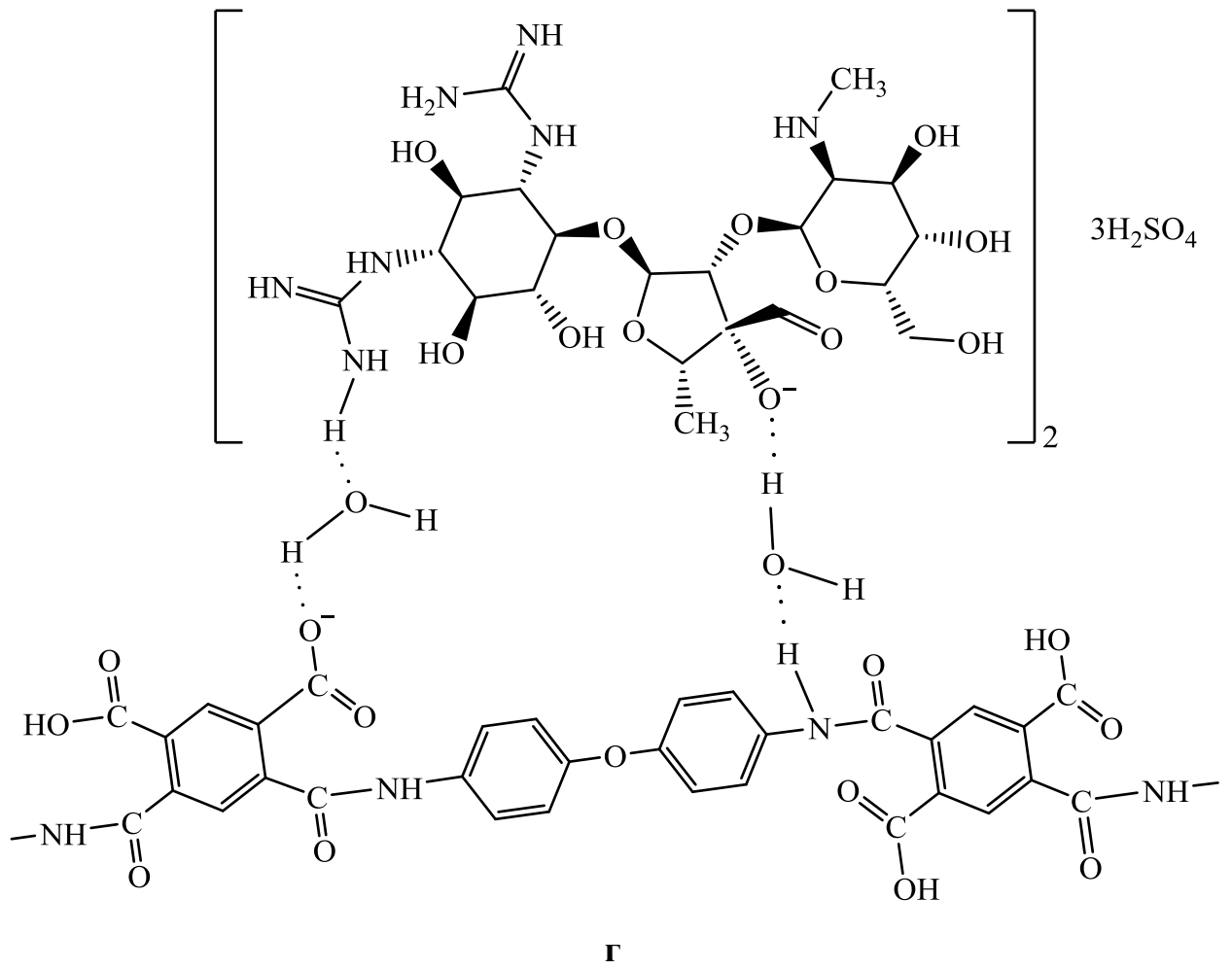


Рис. А.9. Схема образования Н-связей молекул стрептомицина сульфата (г) и структурного звена полиимида

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

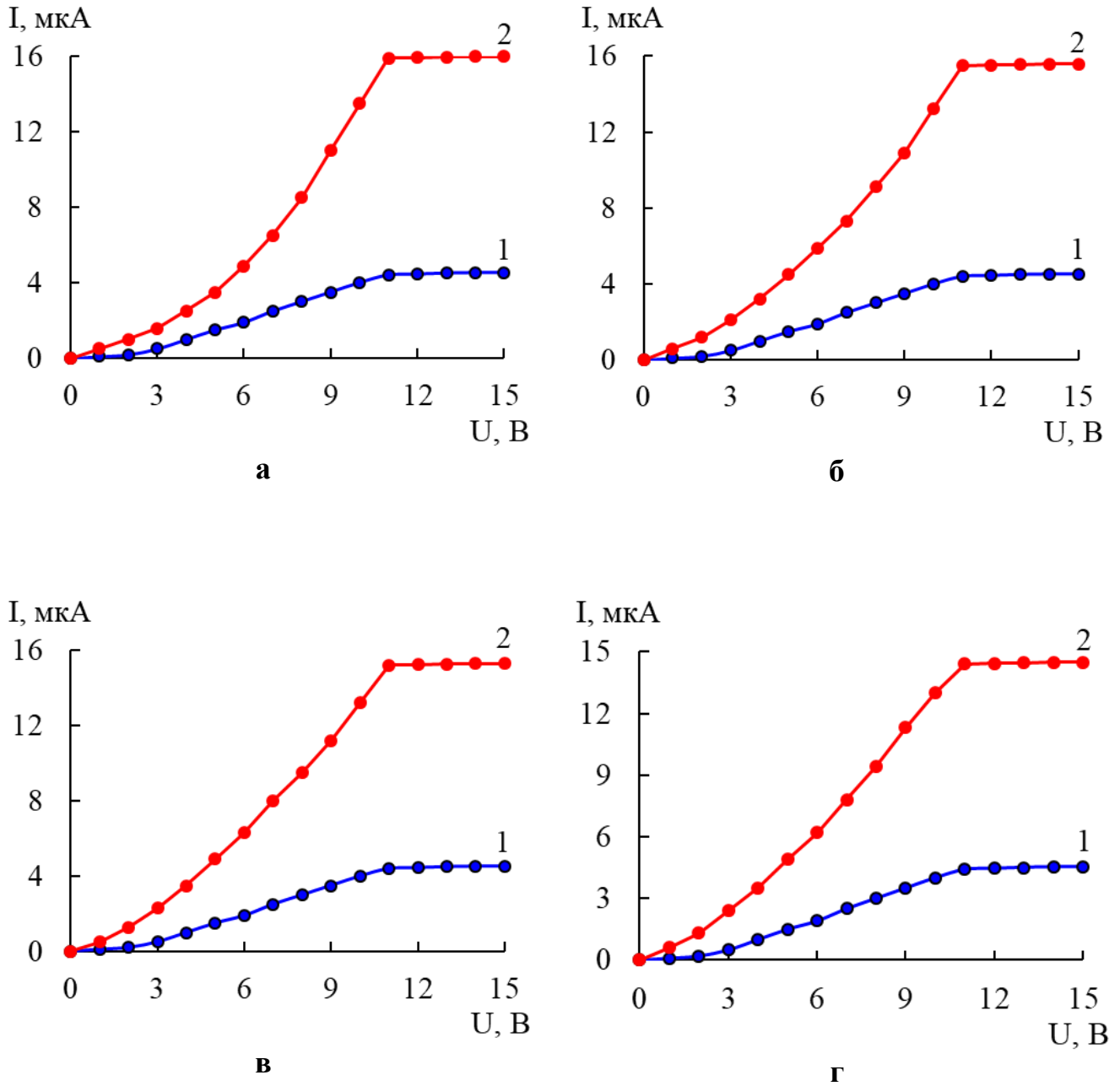


Рис. Б.1. Вольтамперные кривые для чистого сенсора

а – цефазолин натрия, б – цефотаксим натрия, в – цефуроксим натрия,
г – стрептомицина сульфат

1 – H_2O ; 2 – водный раствор антибиотика

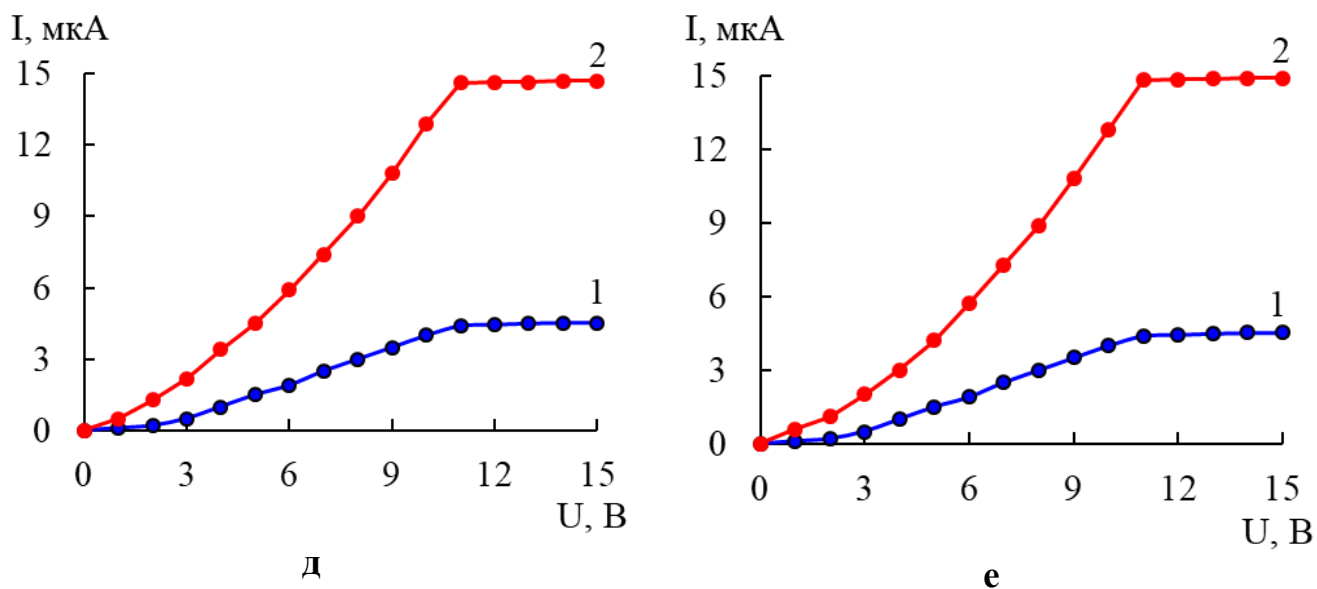


Рис. Б.1. Вольтамперные кривые для чистого сенсора

д – неомицина сульфат, е – сульфаниламид

1 – H₂O; 2 – водный раствор антибиотика

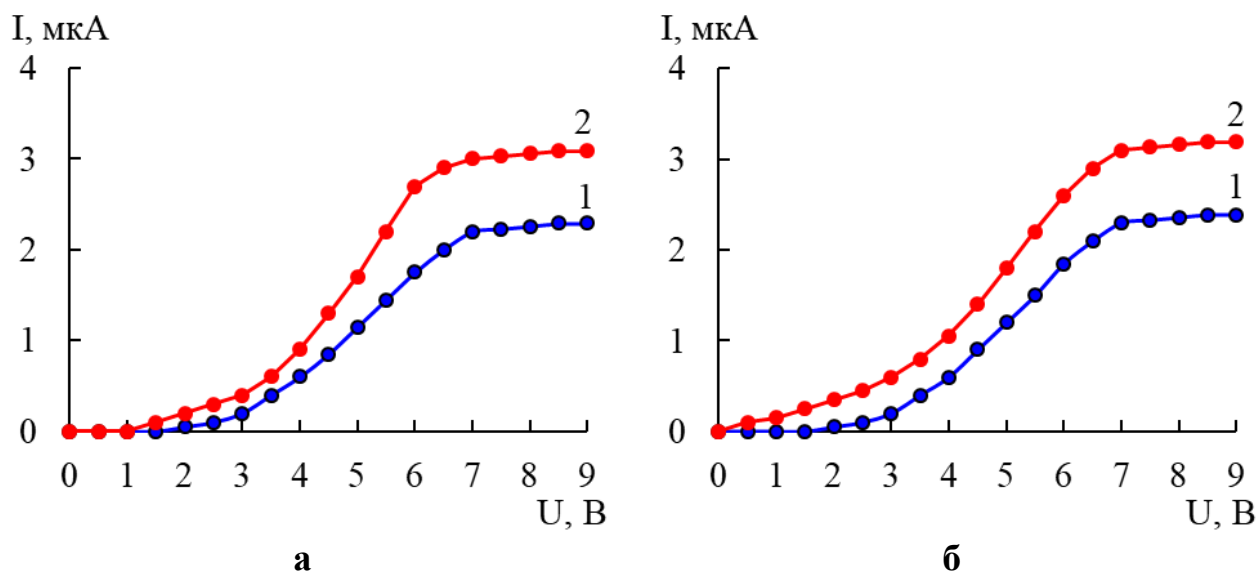
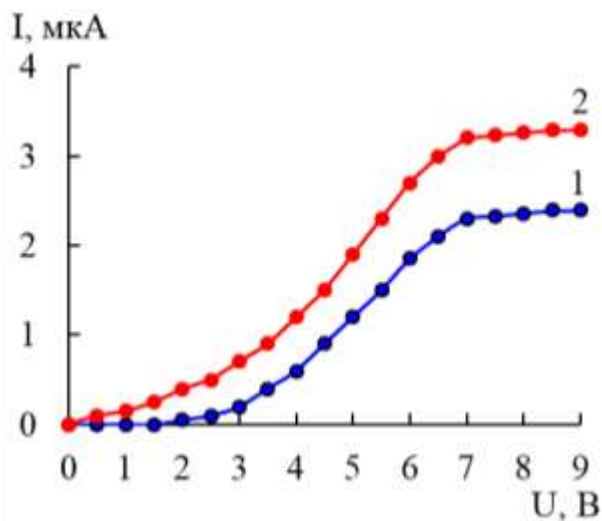


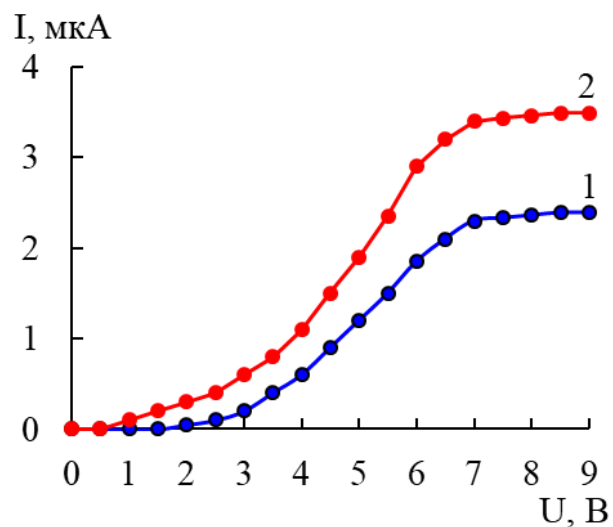
Рис. Б.2. Вольтамперные кривые для неимпринтированного сенсора

а – цефазолин натрия, б – цефотаксим натрия

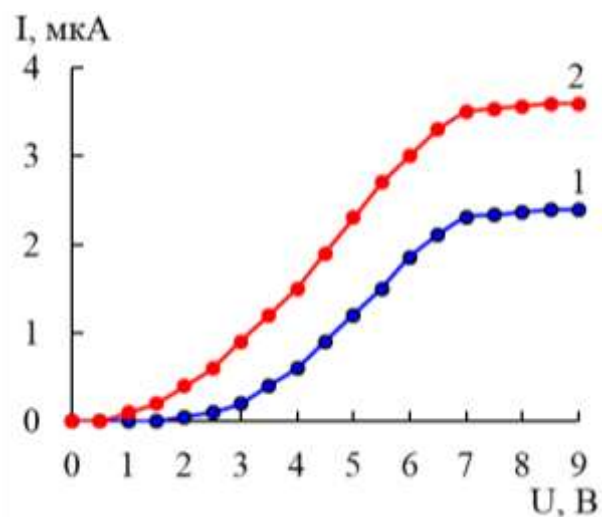
1 – H₂O; 2 – водный раствор антибиотика



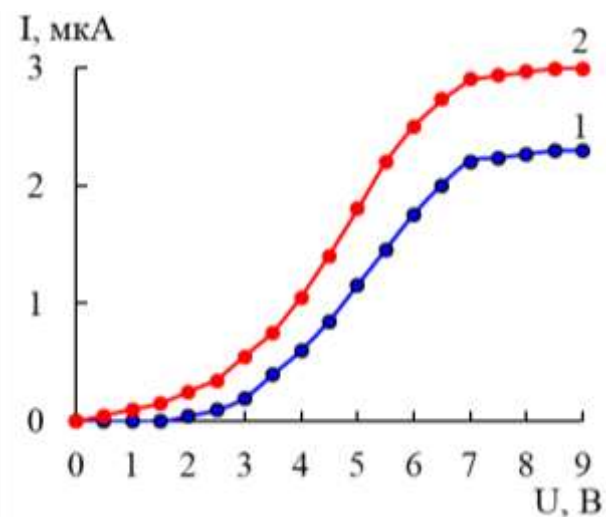
в



г



д



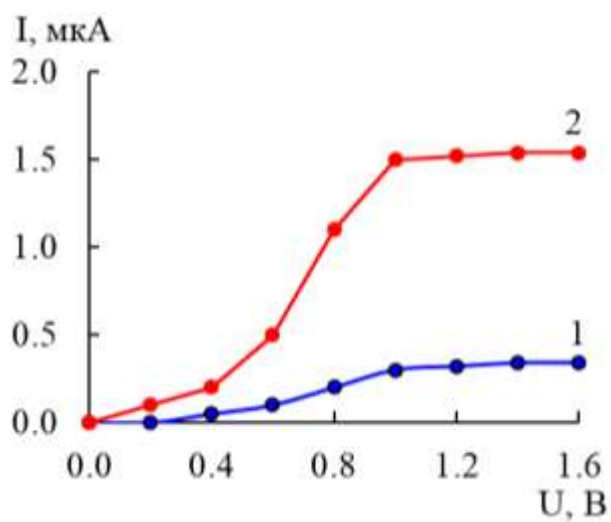
е

Рис. Б.2. Вольтамперные кривые для неимпринтированного сенсора

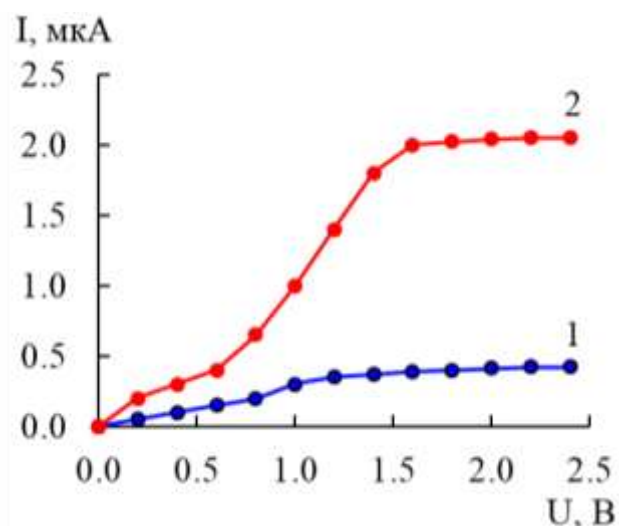
в – цефуроксим натрия, г – стрептомицина сульфат,

д – неомицина сульфат, е – сульфаниламид

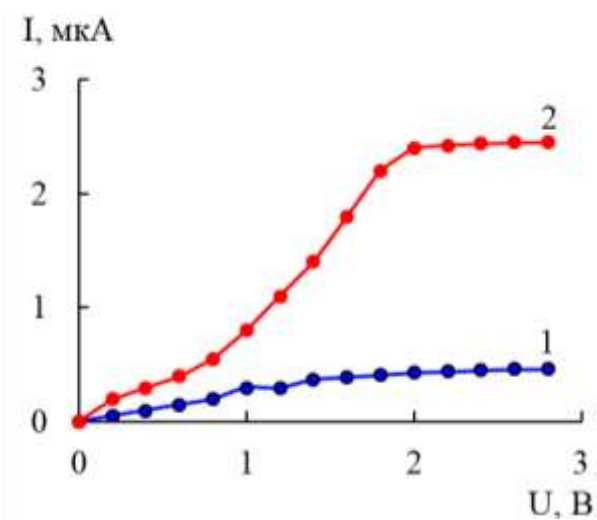
1 – H_2O ; 2 – водный раствор антибиотика



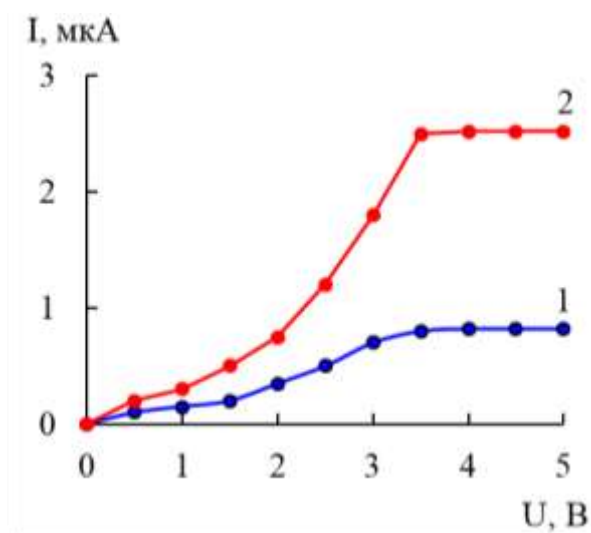
а



б



в



г

Рис. Б.3. Вольтамперные кривые для МИП-сенсоров в воде

а – цефазолин натрия, б – цефотаксим натрия, в – цефуроксим натрия,

г – стрептомицин сульфат

1 – H_2O ; 2 – водный раствор антибиотика

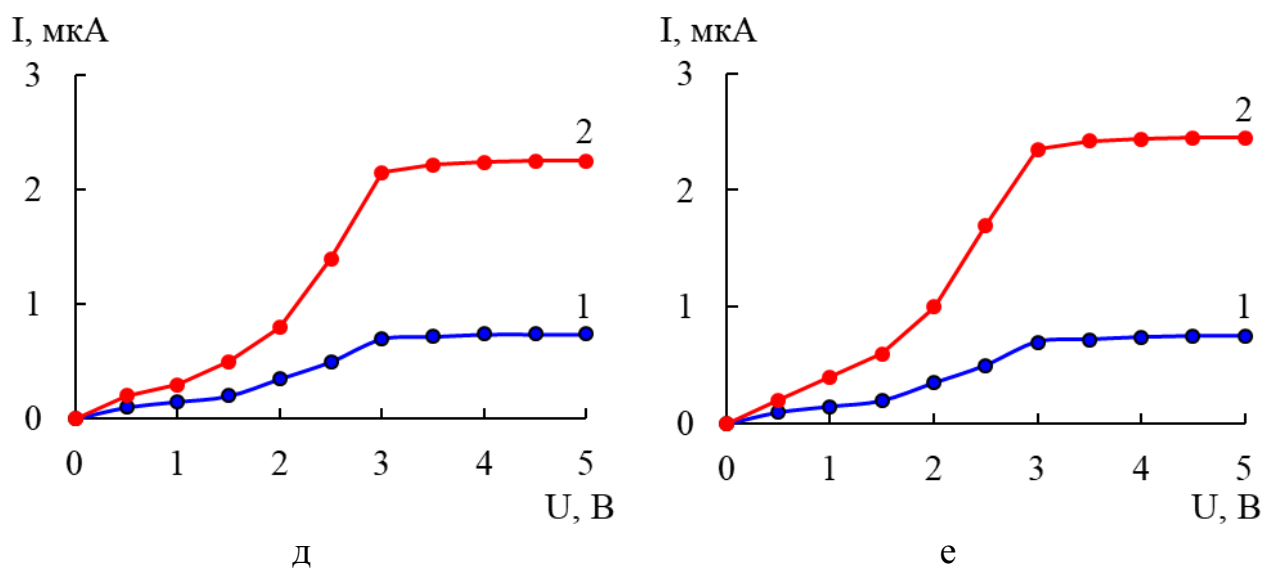


Рис. Б.3. Вольтамперные кривые для МИП-сенсоров в воде

д – неомидина сульфат, е – сульфаниламид

1 – H_2O ; 2 – водный раствор антибиотика

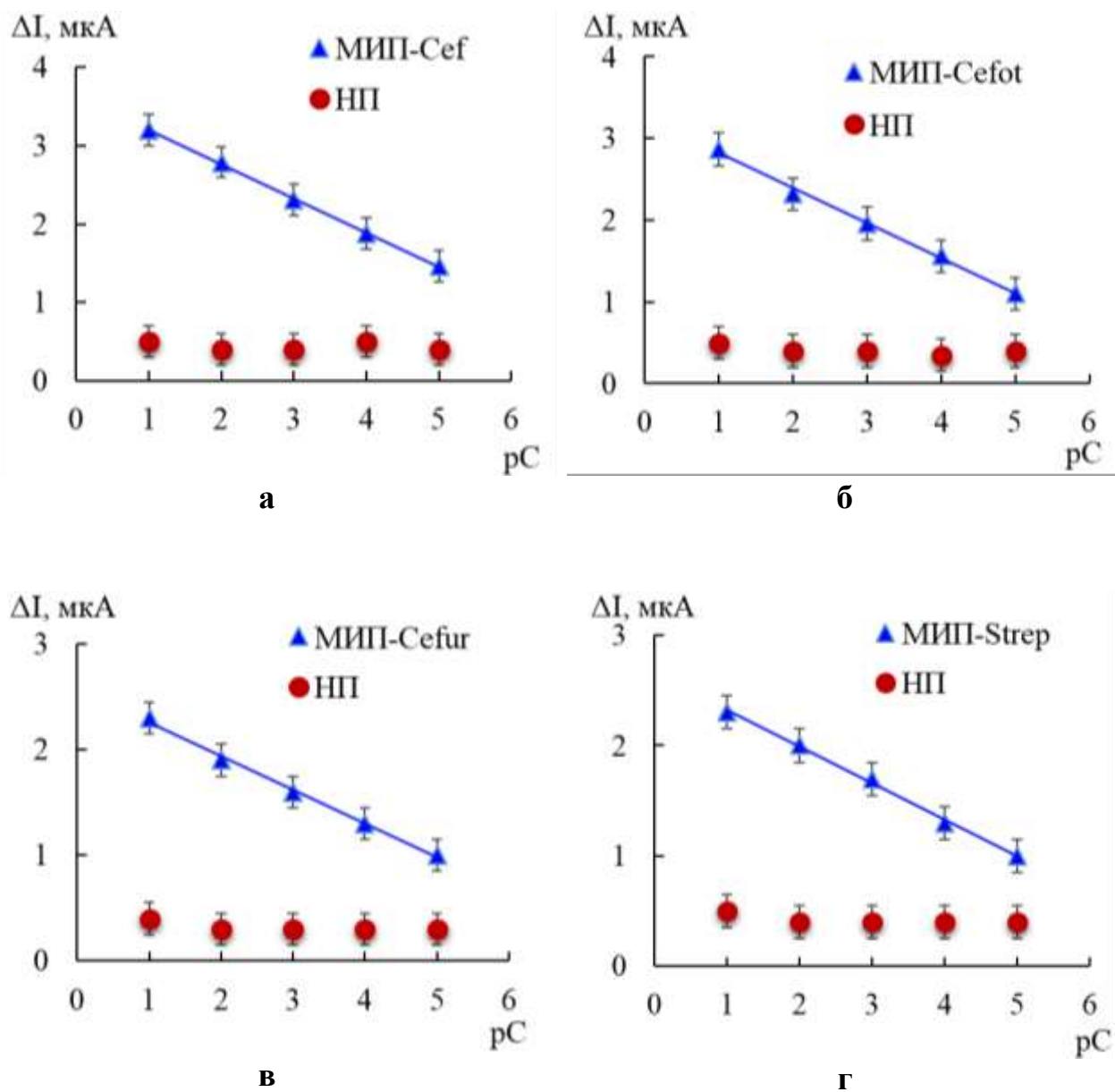


Рис. Б.4. Зависимость разности тока амперометрического сенсора в растворе от логарифма концентрации антибиотика

а – сенсор МИП-Cef, б – сенсор МИП-Cefot,
в – сенсор МИП-Cefur, г – сенсор МИП-Strep

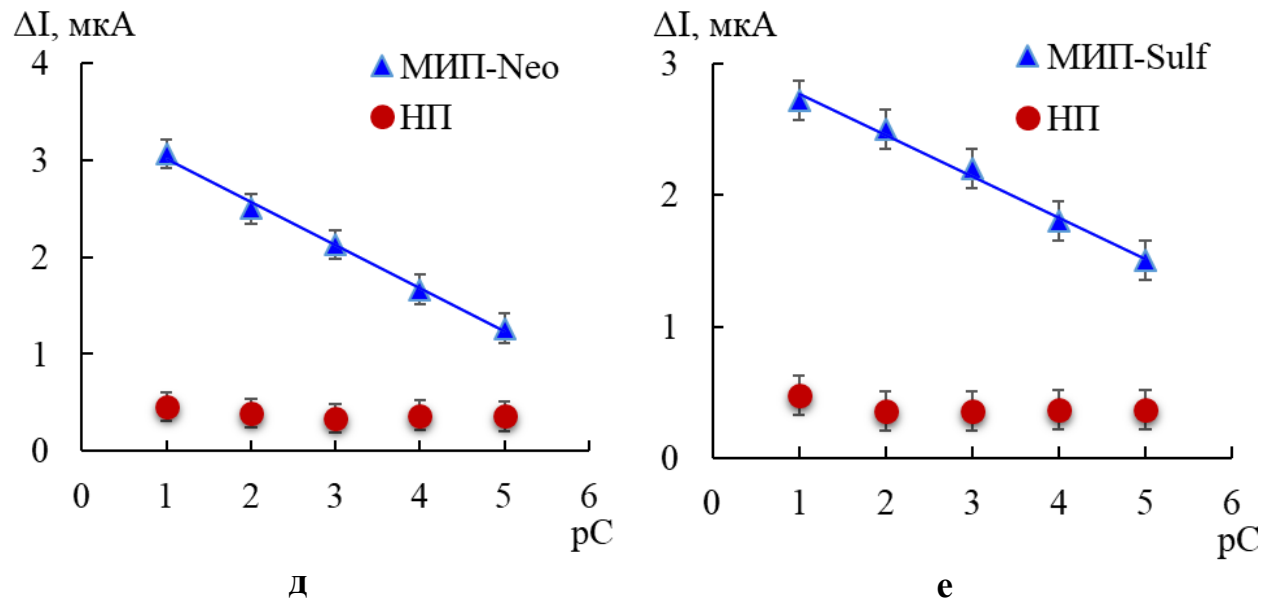
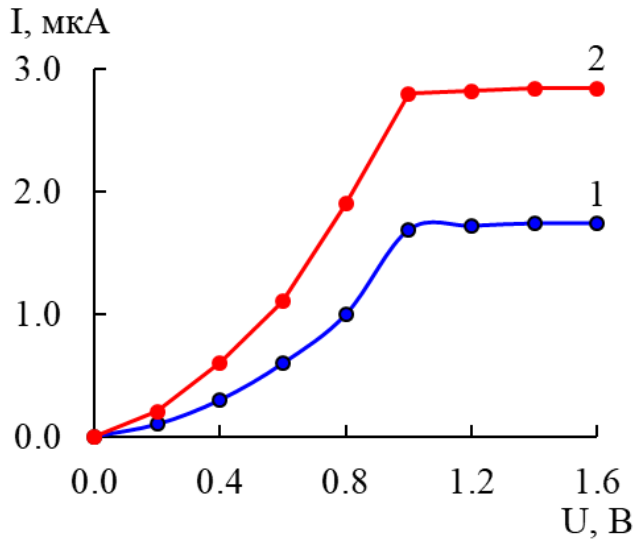
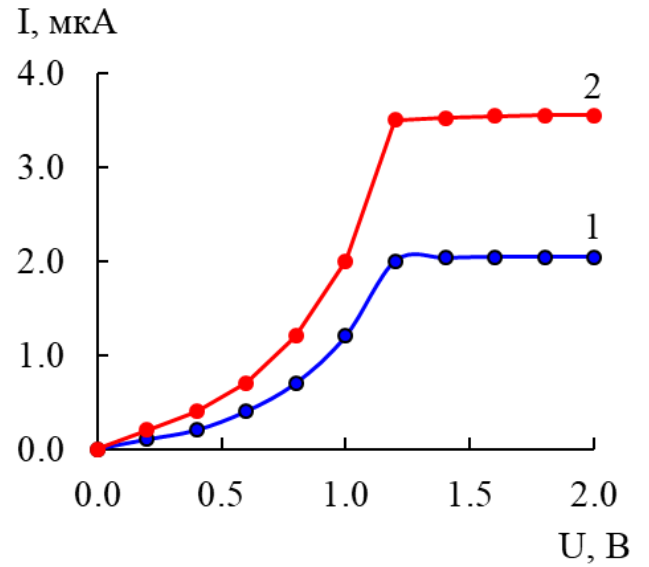


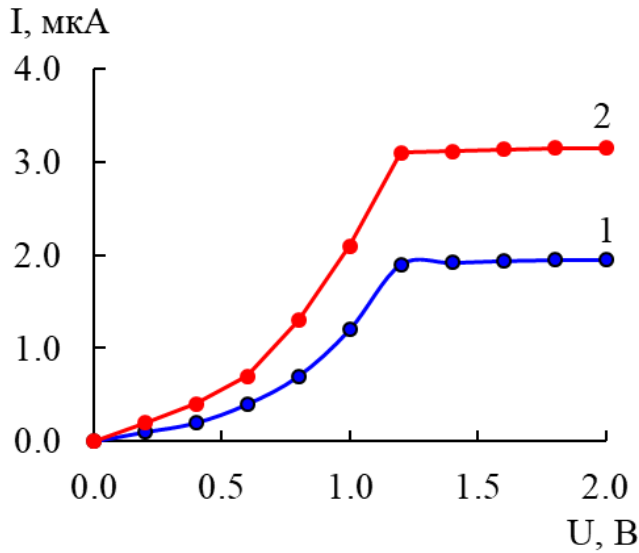
Рис. Б.4. Зависимость разности тока амперометрического сенсора в растворе от логарифма концентрации антибиотика
д – сенсор МИП-Neo, е – сенсор МИП-Sulf



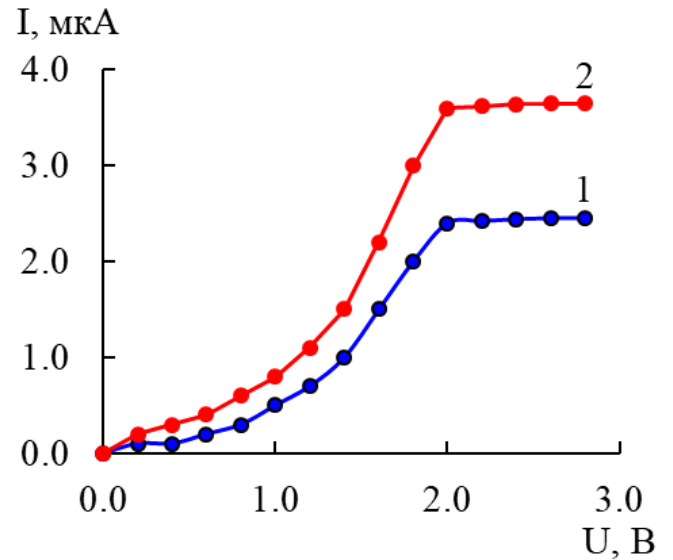
а



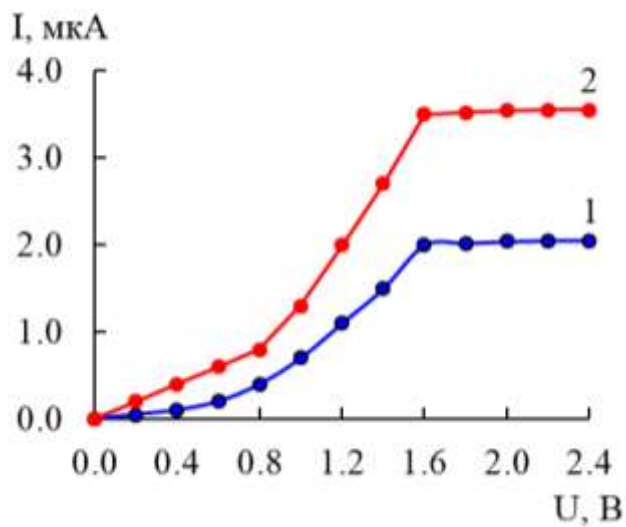
б



в



г



д

Рис. Б.5. Вольтамперные кривые для МИП-сенсоров

а – цефазолин натрия, б – цефотаксим натрия,

в – цефуроксим натрия, г –

стрептомицин сульфат, д – неомицин сульфат

1 – Молоко; 2 – Антибиотик в молоке

Таблица Б.1.

Определение цефотаксима натрия и цефуроксима натрия в модельных смесях методом «введено-найдено» (n = 5, P = 0,95)

Анализируемое вещество	С, г/дм ³		S _r , %
	Введено	Найдено	
Сенсор на основе МИП-Cefot			
Cefot	0,01	$(10,5 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	3,5
Cef / Ceftr / Cefur / Strep / Sulf	0,01	–	–
Раствор Cefot и Cefur	Cefot	$(10,4 \pm 0,3) \cdot 10^{-3}$	2,4
	Cefur		
Раствор Cefot, Cef и Ceftr	Cefot	$(9,5 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$	4,4
	Cef		
	Ceftr		
Раствор Cefot, Cefur, Strep и Sulf	Cefot	$(10,5 \pm 0,6) \cdot 10^{-3}$	4,9
	Cefur		
	Strep		
	Sulf		
Сенсор на основе МИП-Cefur			
Cefur	0,01	$(10,1 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$	4,3
Cef / Ceftr / Cefot / Strep / Sulf	0,01	–	–
Раствор Cefur и Ceftr	Cefur	$(9,6 \pm 0,3) \cdot 10^{-3}$	3,8
	Ceftr		
Раствор Cefur, Cefot и Cef	Cefur	$(10,6 \pm 0,7) \cdot 10^{-3}$	5,1
	Cefot		
	Cef		
Раствор Cefur, Ceftr, Strep и Sulf	Cefur	$(10,2 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	3,4
	Ceftr		
	Strep		
	Sulf		

Продолжение таблицы Б.1.

Определение цефотаксима натрия и цефуросима натрия в модельных смесях
методом «введено-найдено» (n = 5, P = 0,95)

Анализируемое вещество	С, г/дм ³		S _r , %	
	Введено	Найдено		
Сенсор на основе МИП-Strep				
Strep	0,01	$(10,2 \pm 0,6) \cdot 10^{-3}$	4,7	
Neo / Cef / Cefot / Cefur / Sulf	0,01	–	–	
Раствор Strep и Neo	Strep	0,01	$(9,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-3}$	2,7
	Neo			
Раствор Strep, Cefot и Cefur	Strep	0,01	$(9,7 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	3,2
	Cefot			
	Cefur			
Раствор Strep, Neo, Cef и Sulf	Strep	0,01	$(10,2 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	3,5
	Neo			
	Cef			
	Sulf			
Сенсор на основе МИП-Neo				
Neo	0,01	$(10,5 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	2,9	
Strep / Ceftr / Cefot / Cefur / Sulf	0,01	–	–	
Раствор Neo и Strep	Neo	0,01	$(10,3 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	2,8
	Strep			
Раствор Strep, Cefot и Cefur	Neo	0,01	$(10,5 \pm 0,6) \cdot 10^{-3}$	4,9
	Cefot			
	Cefur			
Раствор Strep, Neo, Cef и Sulf	Neo	0,01	$(9,8 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	3,1
	Strep			
	Ceftr			
	Sulf			

Продолжение таблицы Б.1.

Определение цефотаксима натрия и цефуросима натрия в модельных смесях методом «введено-найдено» ($n = 5, P = 0,95$)

Анализируемое вещество	С, г/дм ³		S _r , %	
	Введено	Найдено		
Сенсор на основе МИП-Sulf				
Sulf	0,01	$(9,5 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$	3,1	
Ceftr / Cef / Cefot / Cefur / Strep / Neo	0,01	–	–	
Раствор Sulf и Ceftr	Sulf	0,01	$(10,4 \pm 0,6) \cdot 10^{-3}$	4,3
	Ceftr	0,01		
Раствор Sulf, Cefot и Cef	Sulf	0,01	$(9,9 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$	4,4
	Cefot	0,01		
	Cef	0,01		
Раствор Sulf, Cefur, Strep и Neo	Sulf	0,01	$(10,1 \pm 0,2) \cdot 10^{-3}$	1,8
	Cefur	0,01		
	Strep	0,01		
	Neo	0,01		