

На правах рукописи

ДЕРЯБИНА ВАЛЕНТИНА ИВАНОВНА

**ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ КОРМОВ И
КОРМОВЫХ ДОБАВОК НА ПОКАЗАТЕЛИ ТОКСИЧНОСТИ И
БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ**

Специальность 02.00.02. – аналитическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора химических наук

Томск - 2013

Работа выполнена на кафедре физической и аналитической химии
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования «Национальный
исследовательский Томский политехнический университет»

Научный консультант: доктор химических наук,
старший научный сотрудник
Слепченко Галина Борисовна

Официальные оппоненты Майстренко Валерий Николаевич
доктор химических наук, профессор
Башкирский государственный университет.
зав. кафедрой аналитической химии

Ковалева Светлана Владимировна
доктор химических наук, профессор
Томский государственный
педагогический университет
зав. кафедрой неорганической химии

Цюпко Татьяна Григорьевна.
доктор химических наук, профессор
Кубанский государственный университет,
доцент кафедры аналитической химии

Ведущая организация:
Московский государственный университет
тонких химических технологий
имени М.В. Ломоносова

Защита состоится 25. декабря в 14:30 часов на заседании диссертационного
совета Д.212.269.04 при Федеральном государственном бюджетном
образовательном учреждении высшего профессионального образования
«Национальный исследовательский Томский политехнический университет»
по адресу: 634050, г. Томск пр. Ленина, 43.

С диссертацией можно ознакомиться в Научно–технической библиотеке
ФГБОУ ВПО НИ ТПУ по адресу: 634050, г. Томск, ул. Белинского, 55.

Автореферат разослан «....» 2013 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
Д.212.269.04

Гиндуллина Т.М.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы.

В современных условиях развития мировой экономики наиболее сложной проблемой является продовольственная. В России эта проблема решается на государственном уровне в соответствии с Законом РФ № 151-ФЗ «О качестве и безопасности пищевых продуктов» от 05.12. 2005 г; Законом РФ № N 264-ФЗ "О развитии сельского хозяйства" от 29.12.2006; Техническим регламентом Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» от 09.12. 2011 г. Утверждены Доктрина продовольственной безопасности Российской Федерации и Общероссийские программы, которые направлены на более эффективное развитие агропромышленного комплекса (АПК).

Интенсивное развитие АПК решает продовольственную проблему как за счет увеличения и сохранения поголовья скота и птицы, так и за счет производства кормов и кормовых добавок, в том числе, обогащенных минеральными веществами и витаминами. Поэтому, вопросы аналитического контроля качества и безопасности кормов и кормовых добавок очень актуальны в плане развития всей отрасли.

Недостаточность нормативной базы, способной обеспечить эффективный контроль кормов и кормовых добавок на показатели токсичности и биологической ценности ставит задачу разработки новых, более совершенных методик анализа.

Для контроля различных показателей в объектах АПК широко используют варианты оптических и хроматографических методов, в качестве альтернативы которым могут выступить электрохимические методы анализа, и в первую очередь варианты вольтамперометрии (ВА).

Методы ВА позволяют экспрессно, с высокой точностью и селективностью, в широких интервалах определяемых содержаний, при невысоких материальных затратах количественно определять огромный спектр показателей

Наличие отечественного современного оборудования упрощает процедуру анализа и расширяет возможности методов ВА, что очень важно при полномасштабном (серийном и повсеместном) контроле кормовой базы.

В настоящее время методы ВА уже широко используются для контроля качества пищевых продуктов, экологических и биологических объектов, фармпрепаратов. Поэтому применение методов вольтамперометрии для количественной оценки показателей токсичности и биологической ценности в кормах и кормовых добавках имеет огромную перспективу.

Цель исследования. Разработка методического обеспечения вольтамперометрического анализа кормов и кормовых добавок при определении широкого круга неорганических элементов и органических веществ.

Для достижения цели было необходимо решить следующие **задачи**:

- Создать новые органо-модифицированные электроды (ОМЭ) с учетом экологической безопасности для определения ряда металлов и неорганических элементов методами ВА с улучшенными метрологическими показателями
- Разработать новые подходы и аналитические приемы к повышению чувствительности и селективности вольтамперометрического определения металлов, неметаллов и органических веществ.
- Разработать новые и оптимизировать известные способы пробоподготовки кормов и кормовых добавок с учетом особенностей определения неорганических элементов и органических веществ методами вольтамперометрии.
- Разработать и метрологически аттестовать вольтамперометрические методики анализа кормов и кормовых добавок на показатели токсичности и биологической ценности.

Научная новизна.

- Созданы новые с учетом экологической безопасности ОМЭ для ВА - определения I, Se, Fe, Cu, и Ni в более широком диапазоне измеряемых концентраций.

- Показано распределение модификатора по поверхности ОМЭ и изучен его состав с помощью методов ВА, ИК-спектроскопии, а также с применением оптического и электронного микроскопа.

- Впервые на ОМЭ получены вольтамперограммы I, Se, Fe, Cu, и Ni. Установлены физико-химические закономерности процессов на поверхности электрода и предложены возможные механизмы реакций.

- Получены ВА-зависимости витаминов С, В₂, В₆ на СУЭ и впервые установлены условия их совместного определения в широком диапазоне измеряемых концентраций.

- Впервые методом дифференциально-импульсной вольтамперометрии на ртутно-пленочных электродах получены аналитические сигналы антибиотиков широкого спектра действия: гентамицина сульфата, тилозин тартрата, цефалекса и установлены условия их определения в широком диапазоне измеряемых концентраций.

- **Методом** дифференциально-импульсной вольтамперометрии на стеклоуглеродном электроде **получен аналитический сигнал афлатоксина В1. Установлены условия ВА-определения афлатоксина В1 в диапазоне концентраций 0,01 до 0,12 мг/дм³.**

- Выявлены факторы, оказывающие влияющие на выход различных форм I и Se в водные экстракты кормов и кормовых добавок. Впервые установлены условия разделения форм йода и селена на природном сорбенте из торфа «Энтерсорбент ЭСТ-1». Разработаны способы пробоподготовки для вольтамперометрического определения органических и неорганических форм йода и селена.

- Разработаны алгоритмы пробоподготовки в объектах АПК для ВА-определения витаминов (С, В₂, В₆), антибиотиков (гентамицина, тилозин тартрата, цефалексина) и афлатоксина В1.

Практическая значимость. Введение в практику аналитического контроля экологически безопасных ОМЭ электродов и новых способов пробоподготовки позволит экспрессно осуществлять контроль кормов и кормовых добавок проводить ВА- анализ кормов и кормовых добавок на содержание микроэлементов и некоторых их форм.

Разработаны и метрологически аттестованы 6 вольтамперометрических методик определения ряда неорганических веществ в объектах агропромышленного комплекса с учетом их особенностей.

Разработаны методики ВА- определения водорастворимых витаминов (В₂, С, В₆) при их совместном присутствии, антибиотиков на основе гентамицина, тилозин тартрат, цефалексина и микотоксина (афлатоксин В1) в объектах АПК. Разработанные методики использованы в качестве одного из методов контроля органических веществ в объектах АПК, для дозированного введения в рацион животных и контроля подлинности препаратов.

Оптимальная схема пробоподготовки на основе ионного обмена или сорбции сложной матрицы позволяет разделять органические и неорганические формы йода и селена.

Предложенный алгоритм пробоподготовки, адаптированный к вольтамперометрическим методам измерения, может быть использован и для широкого круга физико-химических методов анализа.

Разработан комплекс пробоподготовки, позволяющий в автоматическом режиме проводить твердофазную экстракцию или отгонку легколетучих соединений йода, мышьяка и селена. Опытные образцы прошли испытания в лабораториях ООО «ЮМХ» (г. Томск) и лабораторно-аналитическом центре ГНУ СибНИИ сельского хозяйства и торфа Россельхозакадемии.

Положения, выносимые на защиту:

- Обоснование выбора метода вольтамперометрии и индикаторных электродов для анализа объектов агропромышленного комплекса
- Выбор наиболее перспективных солей арилдиазоний тозилатов для создания органо-модифицированных электродов, отвечающих требованиям экологической безопасности.
- Вольтамперометрические условия получения аналитических сигналов неорганических элементов (I, Se, Fe, Cu и Ni), водорастворимых витаминов (С, В₂, В₆), антибиотиков (гентамицина сульфата, тилозин тартрата, цефалексина) и афлатоксина В1 на различных типах индикаторных электродах методами вольтамперометрии
- Выбор наиболее перспективных природных сорбентов для разделения органических и неорганических форм селена и йода.

- Алгоритм пробоподготовки кормов и кормовых добавок для определения общего содержания, органических и неорганических форм микроэлементов методами вольтамперометрии с учетом особенностей поведения матрицы
- Комплект методик анализа кормов и кормовых добавок методами вольтамперометрии

Апробация работы. Основные материалы диссертации докладывались и обсуждались на региональной научно-практической конференции «Современные проблемы и достижения аграрной науки в животноводстве, растениеводстве и экономике» (г.Томск, 2003,2005, 2007, 2011); V Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика –2003» с международным участием(г.Санкт-Петербург, 2003); VII Всероссийской конференции “Аналитика Сибири и Дальнего Востока” (г.Новосибирск, 2004); Всероссийской конференции «Аналитика России» (г.Москва, 2004); VI Всероссийской конференции по электрохимическим методам анализа «ЭМА -2004» (г.Уфа, 2004); III Всероссийской научной конференции «Химия и химическая технология на рубеже тысячелетий». (г.Томск, 2004); Всероссийской научной конференции «Экоаналитика-2005» – (г.Екатеринбург, 2005); Всероссийской научно-практической конференции «Уралэкология. Природные ресурсы-2005» (г. Уфа, 2005); международной научной конференции «Химия, химическая технология и биотехнология на рубеже тысячелетий». (г.Томск, 2006); IV Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика- 2006». (г. Самара, 2006); Общероссийской с международным участием научной конференции посвященной 75-летию ХФ ТГУ «Полифункциональные химические материалы и технологии». (г.Томск, 2007); VII всероссийской конференции по электрохимическим методам анализа с международным участием «ЭМА-2008». (г.Уфа, 2008); II международном форуме «Аналитика и аналитики». (г.Воронеж, 2008); IX Региональной научно-практической конференции с международным участием. (г.Новосибирск, 2010); симпозиуме с международным участием «Теория и практика электроаналитической химии». (г.Томск, 2010); XLIX международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс» (г.Новосибирск, 2011); I Международной Российско-Казахстанской конференции по химии и химической технологии. (г.Томск, 2011); Научно-практической конференции «Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения» (Украина, 2011); международной конференции, посвященной 115-летию Национального исследовательского института.(г.Томск, 2011); Международной заочной научно-практической конференции «Современные тенденции в науке: новый взгляд» Часть 3. – (г.Тамбов, 2011); II Международной Казахстанско-Российской конференции по химии и химической технологии. (г.Караганда, 2012); VIII Всероссийской конференции по электрохимическим методам анализа «ЭМА – 2012». (г.

УФА, 2012); IX научной конференции «Аналитика Сибири и Дальнего Востока» – (г.Красноярск, 2012); Всероссийской конференции «Химия и химическая технология: достижения и перспективы. (г.Кемерово, 2012); I Международной научно-практической конференции «Технические науки – основа современной инновационной системы» (г. Йошкар-Ола, 2012); Международной научно-технической конференции «Измерение, контроль, информатизация» (г.Барнаул, 2013).; IX всероссийской конференции «Химия и медицина» с молодежной научной школой по органической химии (г. Уфа - Абзаково, 2013).

Публикации. Основные результаты изложены в 54 публикациях, из них **15 статей** входит в список журналов, рекомендуемых ВАК, получено 2 патента РФ.

Объем и структура диссертации.

Работа изложена на 350 страницах печатного текста и состоит из введения, 7 глав, выводов и приложения, содержит 40 таблиц, 70 рисунков. Список литературы включает 401 источник.

Личный вклад автора состоял в формировании направления и постановке задач исследования, активном участии на всех этапах их экспериментального решения, интерпретации, обсуждении результатов и написании публикаций. Диссертационная работа представляет собой обобщение результатов многолетних исследований, полученных автором лично, а также совместно с научным консультантом Г.Б. Слепченко, сотрудниками и аспирантами лаборатории микропримесей кафедры физической и аналитической химии института природных ресурсов ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

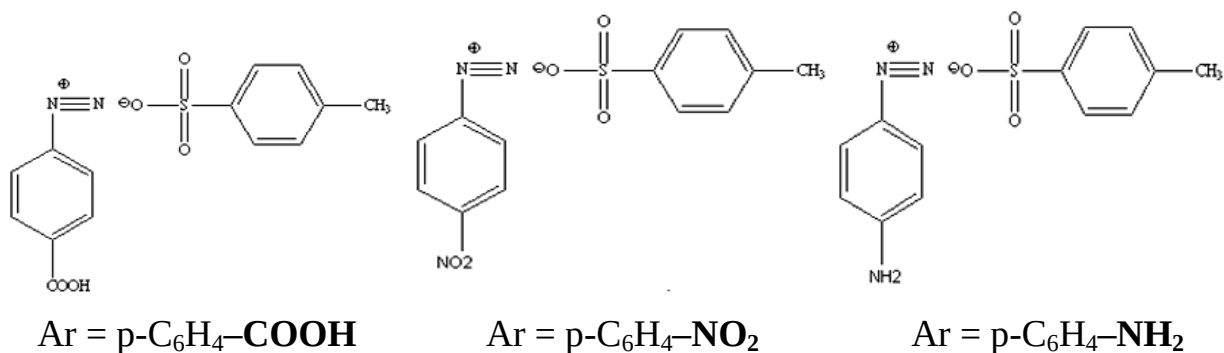
Диссертационная работа выполнена в рамках государственного задания «Наука» по теме 3.2816.2011

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность изучаемой проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, показаны научная новизна, практическая значимость полученных результатов и предоставлена структура работы.

В обзоре литературы рассмотрены современное состояние методов аналитического контроля качества кормов и кормовых добавок; проведен анализ нормативной базы стандартов и аттестованных методик Федерального реестра РФ, периодической литературы и обоснован выбор методов вольтамперометрии для определения микроэлементов: Se, I, Fe, Cu, Ni, As; водорастворимых витаминов: B2, B6, C; антибиотиков: тилозина тартрата, гентамицина сульфата, цефалекса; микотоксина – афлатоксин B1 в исследуемых объектах. Особое внимание уделено методам пробоподготовки, выбору индикаторного электрода и способам его модификации.

Развитие ВА - методов предполагает поиск и получение новых, более безопасных электродов, не уступающих по чувствительности, воспроизводимости и другим эксплуатационным характеристикам традиционным ртутьсодержащим электродам. С этой точки зрения интерес представляет использование модифицированных электродов, где в качестве модификатора были использованы соли арилдiazоний тозилата ($\text{ArN}_2^+\text{OTs}^-$) с различными заместителями:



Модификацию поверхности электрода проводили разными способами: путем помещения электродов в водные растворы diaзониевых солей и электрохимически в соответствии со схемой модификации (рис. 1)

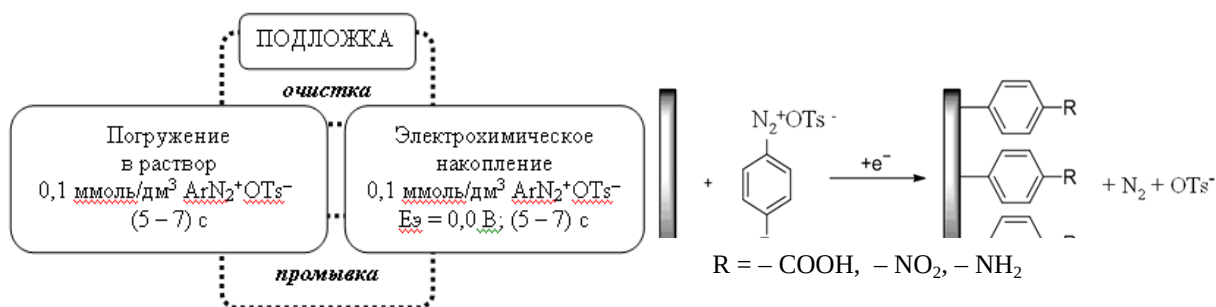


Рисунок 1 – Способы и схема модификации электрода.

Для доказательства наличия функциональных групп на поверхности ОМЭ использован метод ИК-спектроскопии, получены снимки с использованием бинокулярного оптического МБИ-15-У4.2 и электронного растрового JSM – 7500 FA микроскопов.

В ходе исследований установлено, что модификация поверхностей серебряного и углеродсодержащих электродов происходит в энергетически выгодных активных центрах.

Изучение электрохимического поведения и выбор условий вольтамперометрического определения микроэлементов на ОМЭ

Среди факторов кормления важное место занимают минеральные вещества, которые в организме животных не образуются, поэтому вводятся в

рацион вместе с кормом. Среди микроэлементов значительное место занимают I, Se, Fe, Cu, Ni и As, их содержание в кормах регламентируется, т.к. недостаток или избыток наносит значительный ущерб животноводству.

Для разработки ВА- методик анализа кормов и кормовых добавок на содержание I, Se, Fe, Cu, Ni и As исследовано их электрохимическое поведение на различных электродах и выбраны рабочие условия ВА-определения.

Йод и селен. Основные аналитические зависимости йодид - и селенит - ионов изучены на серебряном электроде (AgЭ) в 0,1 моль /дм³ водных растворах солей KNO₃, K₂S₂O₅, N₂H₄ · H₂SO₄, без предварительного удаления кислорода из фонового электролита инертными газами.

При сравнении градуировочных зависимостей, установлено, что максимальные аналитические сигналы и линейные диапазоны концентраций получены на фоне N₂H₄ · H₂SO₄, который и был использован в дальнейшей работе.

На рис. 2 показаны зависимости тока пика от потенциала накопления и вольтамперограммы I⁻ и Se⁴⁺ при их совместном присутствии.

Как видно из рисунка 2 А, на графиках наблюдаются прямолинейные участки в диапазоне потенциалов от - 0,8 В до + 1,8 В, в которых аналитические сигналы микроэлементов максимальны. Эти диапазоны совпадают, что свидетельствует о возможности определения йода и селена при их совместном присутствии. Для дальнейших исследований выбран потенциал накопления $E_{\Sigma} = (0,00 \pm 0,05)$ В. На вольтамперограммах, полученных при данных условиях (рисунок 2 Б), наблюдаются характерные пики селена и йода при потенциалах $E_{\text{п}}(\text{Se}^{4+}) = -0,65$ В, $E_{\text{п}}(\text{I}^{-}) = -0,4$

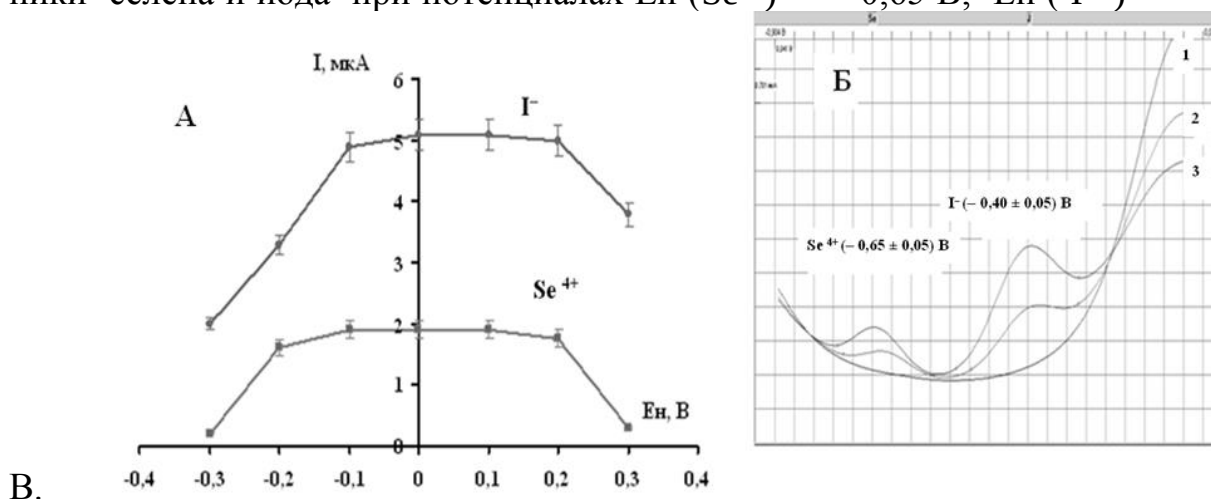


Рисунок 2 – Зависимости тока пика от потенциала накопления (А) и вольтамперограммы (Б) I⁻ и Se⁴⁺ при их совместном присутствии.

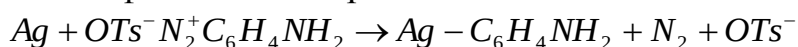
: 1– фон: 0,1 М N₂H₄ · H₂SO₄;
 2 – C(I⁻) = 0,01мг/дм³, C(Se⁴⁺) = 0,01мг/дм³
 3 – C(I⁻) = 0,02 мг/дм³, C(Se⁴⁺) = 0,02 мг/дм³
 $E_{\Sigma} = 0,0$ В; $\tau = 30$ с,

Проведены исследования по выбору соли аридазоний тозилата в качестве модификатора ОМЭ. Получены градуировочные зависимости I^- и Se^{4+} на электродах, модифицированных солями $ArN_2^+OTs^-$ с различными группами заместителей: карбокси - ($MAgЭ - COOH$), amino - ($MAgЭ - NH_2$) и нитро - ($MAgЭ - NO_2$) нанесенных на серебряную подложку и рассчитаны коэффициенты чувствительности (S). В диапазонах концентраций: для йода от 0,003 до 1,2 мг/дм³ и селена от 0,003 до 1,8 мг/дм³ установлено, что S ($MAgЭ - NH_2$) примерно в 1,8 раз выше коэффициента чувствительности ртутно-пленочного электрода (**РПЭ**), применяемого для определения I^- и в 1,3 раза выше ртутно-графитового электрода (**РГЭ**), который используется для определения Se^{4+} .

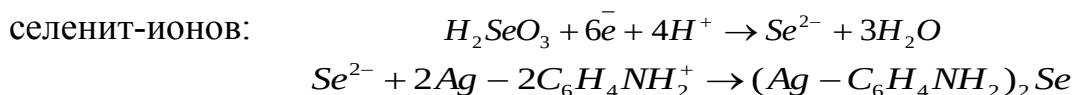
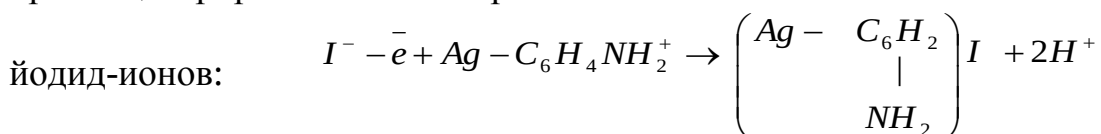
Для изучения механизма электродных реакций проведен расчет кинетических параметров с использованием вращающегося дискового электрода. Как показали результаты исследования, число электронов, принимающих участие в электродном процессе электроокисления йода, составляет 0,87. Для селена 5,8. Данный факт дает основание предполагать, что в электродном процессе для йода принимает участие $1e^-$ и H^+ , для селена – $6e^-$ и $4H^+$.

На основании проведенных исследований предложен возможный механизм реакций протекающих на $MAgЭ - NH_2$:

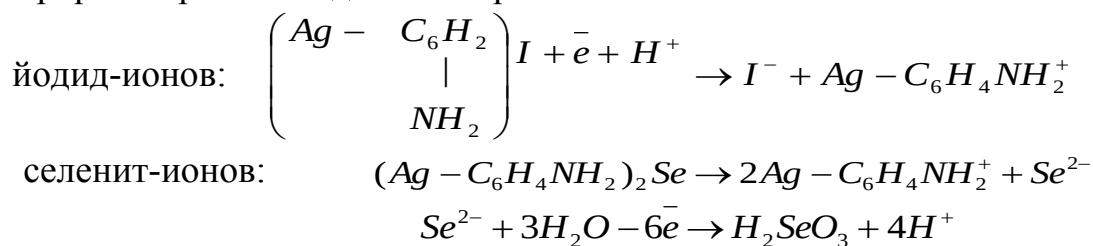
- Модификация электрода:



- Электроконцентрирование на поверхности ОМЭ



- Электрорастворение осадка с поверхности ОМЭ:



Приведенный выше механизм косвенно подтверждается более ранними работами.

Изучены взаимные влияния аналитических сигналов Se и I при их совместном присутствии. Установлено, что регистрация аналитических сигналов Se^{4+} допустима в присутствии избытка I^- в 40 раз, а при определении I^- – избытка Se^{4+} в 200 раз. Определению I^- и Se^{4+} не мешают 100 кратный избыток следующих элементов: As, Cu, Fe, Br и Cl.

Железо и медь. Инверсионно-вольтамперометрический метод измерения железа и меди основан на способности Fe^{3+} и Cu^{2+} накапливаться на поверхности золото-графитового электрода (ЗГЭ) в виде малорастворимых соединений при определенном потенциале относительно хлоридсеребряного электрода на фоне $0,02$ моль/дм³ раствора трилона Б с последующей регистрацией анодных пиков.

Для совместного ВА определения Fe^{3+} и Cu^{2+} на модельных растворах проведены исследования по выбору потенциала накопления ($E_{\text{э}}$, В).

На рисунке 3 представлены полученные в данных условиях зависимости тока пика от потенциала накопления Fe^{3+} и Cu^{2+} .

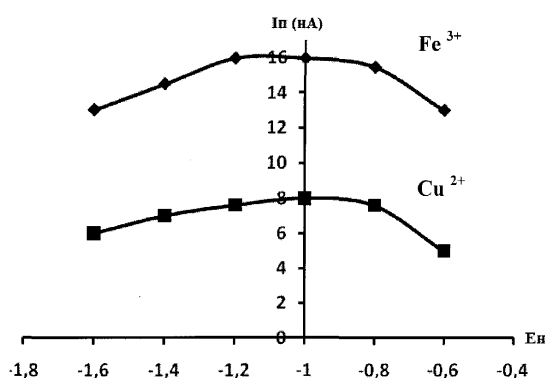


Рисунок 3 – Зависимость тока пика от потенциала накопления Fe^{3+} и Cu^{2+} на ЗГЭ

Фон – $0,02$ моль/дм³ трилон Б,
 $\tau = 60$ с, $C(\text{Fe}^{3+}) = 1$ мг/дм³,
 $C(\text{Cu}^{2+}) = 1$ мг/дм³.

Как видно из рисунка 3 в диапазоне потенциалов от $-1,2$ В до $-0,9$ В, аналитические сигналы Fe^{3+} и Cu^{2+} имеют максимальное значение, что свидетельствует о возможности их совместного определения. Поэтому, для дальнейших исследований выбран потенциал накопления $E_{\text{э}} = -1,0$ В.

На рисунке 4 представлены полученные в данных условиях вольтамперограммы Fe^{3+} и Cu^{2+} при их совместном присутствии.

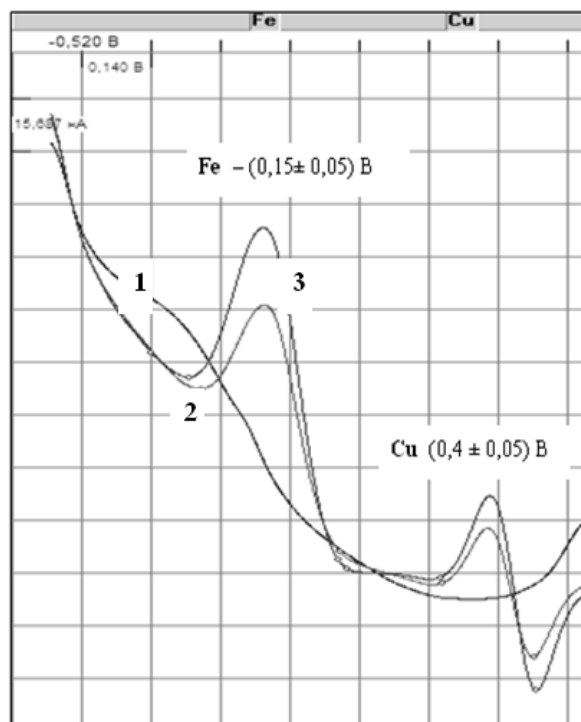


Рисунок 4 – Вольтамперограммы Fe^{3+} и Cu^{2+} на ЗГЭ

1 – фон: $0,02$ моль/дм³ трилон Б;
2 – $C(\text{Fe}^{3+}) = 1$ мг/дм³, $C(\text{Cu}^{2+}) = 1$ мг/дм³;
3 – $C(\text{Fe}^{3+}) = 2$ мг/дм³, $C(\text{Cu}^{2+}) = 2$ мг/дм³.

Как видно из рисунка 4, аналитическими сигналами являются величины анодных пиков при потенциалах минус $(0,15 \pm 0,05)$ В для железа и $(0,30 \pm 0,05)$ В для меди, которые пропорционально зависят от концентраций Fe^{3+} и Cu^{2+} .

При данных рабочих условиях получены градуировочные зависимости Fe^{3+} и Cu^{2+} на ЗГЭ, модифицированных солями $\text{ArN}_2^+\text{OTs}^-$ с различными группами заместителей ($-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$ и $-\text{NO}_2$) и рассчитаны коэффициенты чувствительности. Установлено, что максимальным S как для Fe^{3+} так и для Cu^{2+} обладает ЗГЭ, модифицированный арилдиазоний тозилатом с $-\text{NH}_2$ группой в качестве заместителя ($\text{МЗГЭ} - \text{NH}_2$).

В ходе исследования установлено мешающее влияние Hg и Pb на аналитический сигнал Fe^{3+} , а также 20-и кратные избытки Ni и Cd . Определению Cu^{2+} мешают Hg и 20-и кратные избытки Zn , Ni и Co .

Никель. Инверсионно – вольтамперометрический метод измерения никеля основан на способности Ni^{2+} накапливаться на поверхности AgЭ в виде малорастворимого соединения при определенном потенциале на фоне смеси $0,1 \text{ моль/дм}^3 \text{ NH}_4\text{Cl}$ и $0,03 \text{ см}^3 0,1 \text{ моль/дм}^3 \text{ диметилглиоксима (ДМГ)}$ без удаления кислорода, с последующей регистрацией катодных пиков.

На рисунке 5 А представлены вольтамперограммы Ni^{2+} полученные в данных условиях.

Как видно из рисунка 5 А, аналитическим сигналом Ni является величина катодного пика при потенциале $E_p = -(1,00 \pm 0,05) \text{ В}$, которая пропорционально зависят от концентраций Ni^{2+} .

Проведены исследования по выбору модификатора. В качестве подложки использованы AgЭ и покрытый пленкой висмута графитовый электрод (ВiГЭ). Установлено, что чувствительность определения Ni на модифицированном AgЭ увеличивается в ряду:

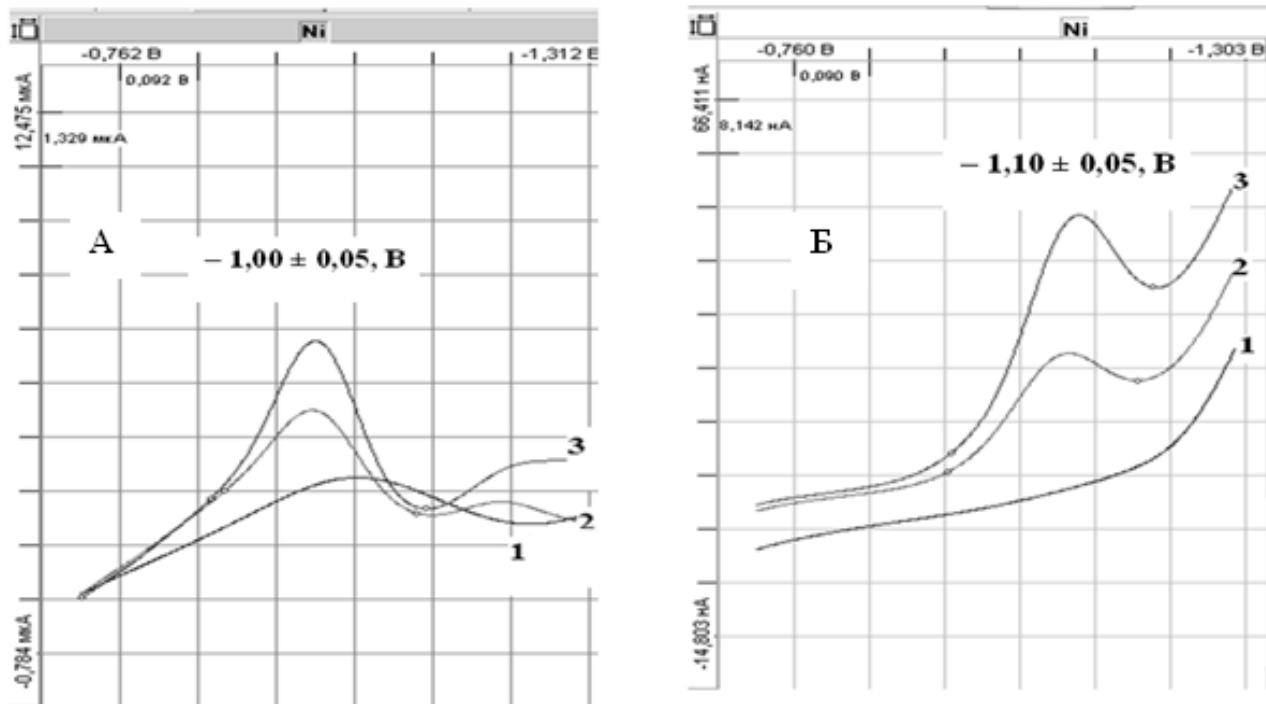


Рисунок 5 – Вольтамперограммы Ni^{2+} на AgЭ (А) и $\text{MВiГЭ} - \text{COOH}$ (Б)
 $E_{\text{э}} = -0,7 \text{ В}$; $\tau = 30 \text{ с}$

1- фон: 0,1 М NH_4Cl + 0,1 М ДМГ ; 2- $\text{C}(\text{Ni}^{+2}) = 0,01 \text{ мг/дм}^3$;
 3- $\text{C}(\text{Ni}^{+2}) = 0,02 \text{ мг/дм}^3$

Для модифицированного ВiГЭ сигнал получен только на электроде, модифицированном $\text{ArN}_2^+\text{OTs}^-$ с – COOH группой в качестве заместителя (МВiГЭ – COOH) в отсутствии растворенного в электролите O_2 (рисунок 7 Б).

Как видно из рисунка 5 Б, аналитическим сигналом Ni является величина катодного пика при потенциале $E_p = -(1,10 \pm 0,05) \text{ В}$, которая пропорционально зависят от концентраций Ni^{2+} .

Проведены исследования по выбору рабочих условий (E_z , и времени электролиза) получения аналитического сигнала Ni^{2+} на ОМЭ. Результаты представлены в виде зависимостей тока пика от потенциала и времени накопления Ni^{2+} на рисунке 6.

Как видно из рисунка 6 А максимальные значения тока пика для ОМЭ имеют одно значение потенциала накопления $E_z = (-0,7 \pm 0,05) \text{ В}$, оптимальное время электролиза для МАгЭ – NH_2 составляет 60 с и 40 с для МВiГЭ- COOH . Дальнейшее увеличение времени электролиза приводит к снижению аналитического сигнала. Возможно, данный эффект обусловлен положительной адсорбцией на границе раздела фаз.

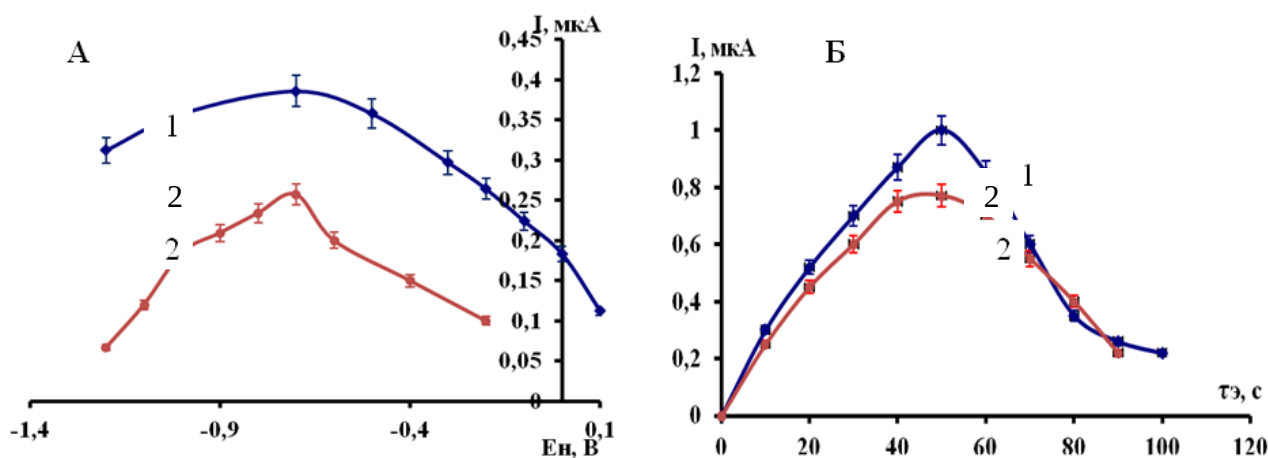
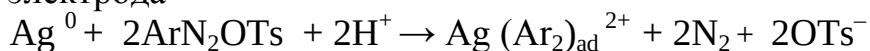


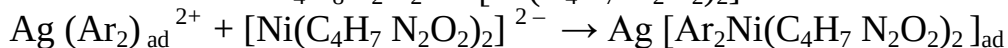
Рисунок 6 – Зависимости тока пика Ni^{2+} на МАгЭ- NH_2 (1) и МВiГЭ- COOH (2) от потенциала (А) и времени (Б) электролиза.

На примере получения аналитического сигнала Ni^{2+} на МАгЭ- NH_2 предложен возможный механизм реакции на поверхности электрода:

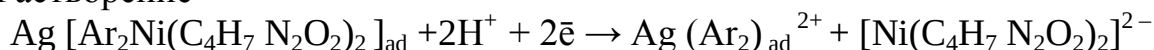
1. Модификация электрода



2. Концентрирование



3. Растворение



где $\text{Ar} = \text{n} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{NH}_2$

В ходе эксперимента получены градуировочные зависимости Ni^{2+} на различных электродах, которые представлены на рисунке 7.

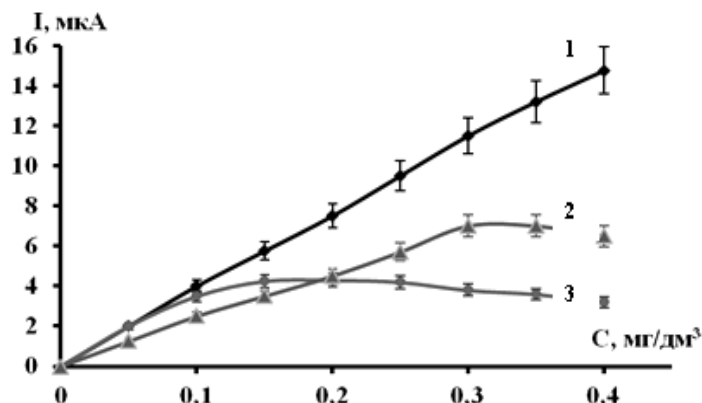


Рисунок 7 - Градуировочная зависимость Ni^{2+}

- 1– РПЭ,
- 2 – МAgЭ- NH_2
- 3 – МВигЭ- COOH ,

Как видно из рис. 7, максимальной чувствительностью и широким диапазоном измеряемых концентраций обладает РПЭ (рис.7, график 1). Однако, МAgЭ- NH_2 (рис.7, график 2) в малых диапазонах, не уступает РПЭ т.к. разница значения тока между ними находится в пределах ошибки измерения. В отсутствии серебряной подложки, адекватной заменой может служить и МВигЭ- COOH (рис.7, график 3).

В ходе исследований установлено, что определению Ni^{2+} не мешает 100 кратный избыток следующих элементов Fe, Zn, Hg и 30 кратный избыток Cu, Pb, Cd.

Таким образом, наилучшим модификатором для ВА- определения неорганических веществ (I, Se, Fe, Cu и Ni) является арилдиазоний тозилат с $-\text{NH}_2$ группой в качестве заместителя. Использование ОМЭ для ВА-определения As не эффективно, т.к. значительно сужается диапазон измеряемых концентраций по сравнению с «классическим» ЗГЭ. Поэтому ВА- измерение As^{3+} проводили по методике ФР.1.31.2011.09196. МУ08-47/247. Зерно и продукты его переработки, силос из зеленых растений, корма, комбикорма, комбикормовое сырье и кормовые добавки. Инверсионно-вольтамперометрическая методика определения содержания железа, йода, кобальта, марганца, мышьяка, никеля, ртути и селена.

На основании экспериментальных данных в таблице 1. представлены условия получения аналитических сигналов микроэлементов методами ВА.

Таблица 1– Рабочие условия получения аналитических сигналов микроэлементов методом ВА

Параметры измерения	Значения параметров						
	Se ⁴⁺	I [–]	Fe ³⁺	Cu ²⁺	Ni ²⁺		As ³⁺
Используемая система	3-х электродная		2-х электродная		3-х электродная		2-х электродная
Электроды - индикаторный	AgЭ, MAgЭ–NH ₂		ЗГЭ, МЗГЭ–NH ₂		MAgЭ–NH ₂	MBiЭ–COOH	ЗГЭ
-сравнения /вспомогательный	XCЭ/XCЭ		XCЭ		XCЭ/XCЭ		XCЭ
Фоновый электролит	0,1 моль/дм ³ N ₂ H ₄ · H ₂ SO ₄		0,1 моль/дм ³ трилон Б		0,1 моль/дм ³ NH ₄ Cl + 0,1 моль/дм ³ ДМГ		0,02 моль/дм ³ трилон Б
Удаление кислорода	нет		нет		нет	N ₂	N ₂
Потенциал накопления (Еэ), В	0,0 ± 0,05		–1,0± 0,05		– 0,7 ± 0,05		–1,0 ± 0,05
Диапазон развёртки потенциалов (Ер), В	от 0,0 до -1,02		от –0,6 до 0,6		от – 0,7 до – 1,3		от –0,6 до +0,6
Скорость изменения потенциала (w), мВ/с	35		30		27-30		60-90
Режим регистрации	Дифференциально- импульсный		Постоянно-токовый		Дифференциально-импульсной		Постоянно-токовый
Потенциал пика (Еп), В	–0,65± 0,05	– 0,4 ± 0,05	– 1,00 ± 0,05	–1,10 ± 0,05	– 1,00 ± 0,05	-1,10 ± 0,05	+0,05 ± 0,05

Изучение электрохимического поведения и выбор условий вольтамперометрического поведения органических веществ.

Водорастворимые витамины. Обогащение рационов и комбикормов витаминными концентратами, содержащими витамины С, В₂ и В₆ – важное условие повышения полноценности кормления и продуктивности животноводства.

Совместное ВА -определение группы водорастворимых витаминов (В₂, С, В₆) основано на их способности электроокисления на стеклоуглеродном электроде (СУЭ) при определенных потенциалах относительно хлоридсеребряных электродов на фоне 0,1 моль/дм³ C₄H₅O₆Na·H₂O.

Проведены исследования по выбору потенциала накопления витаминов при их совместном присутствии. Полученные зависимости представлены на рисунке 8 А.

Как видно из рисунка 8 А, зависимости токов окисления витаминов от потенциала предварительного электролиза имеют общий диапазон потенциалов от – 0,5 до – 0,3 В. Это дало основание предположить о возможном совместном накоплении витаминов на СУЭ. Для работы был выбран потенциал электролиза Еэ = – 0,4В. Исследования по выбору режима регистрации вольтамперограмм витаминов проводили при линейном и дифференциально-импульсном наложении потенциала. Параметры дифференциально-импульсного режима подобраны экспериментально и составляют: шаг развертки 3 мВ; амплитуда импульса 30мВ; длительность импульса 40 мс. При таких условиях регистрируются удобные для измерения поляризационные кривые витаминов с четко выраженными максимумами и хорошей воспроизводимостью. Поэтому для количественного определения витаминов рекомендован вариант дифференциально-импульсной вольтамперометрии.

При регистрации вольтамперограмм витаминов оптимальными являются скорости изменения потенциала 20 ÷ 35 мВ/с. При более высоких скоростях чувствительность повышается, но при этом увеличивается остаточный ток. Использование меньших скоростей существенно снижает величину анодных токов.

Для оценки диапазона измерений, при выбранных рабочих условиях, получены градуировочные зависимости витаминов (рисунок 8 Б)

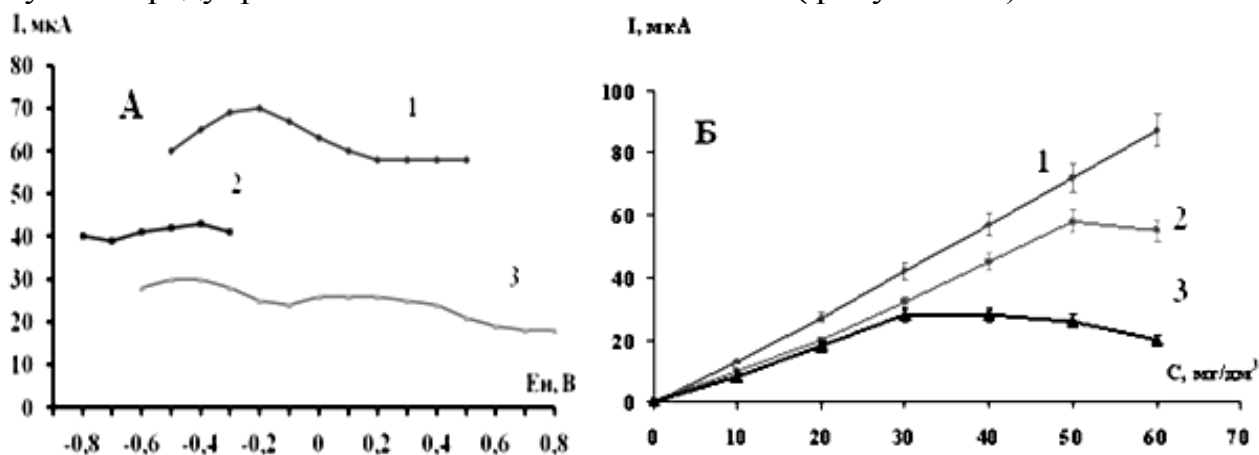


Рисунок 8- Зависимости тока пика витаминов С (1), В₂ (2) и В₆(3) от потенциала электролиза (А) и концентрации (Б).

Как видно из рисунка 8 Б, в растворе фонового электролита (0,1 моль/дм³ C₄H₅O₆Na·H₂O) линейный характер градуировочных зависимостей витаминов (рис. 8 Б) лежит в довольно широких диапазонах определяемых концентраций. Верхняя граница определения всех витаминов возможна в пределах до 30 мг/ дм³.

Полученные в данных условиях вольтамперограммы совместного определения витаминов представлены на рисунке 9.

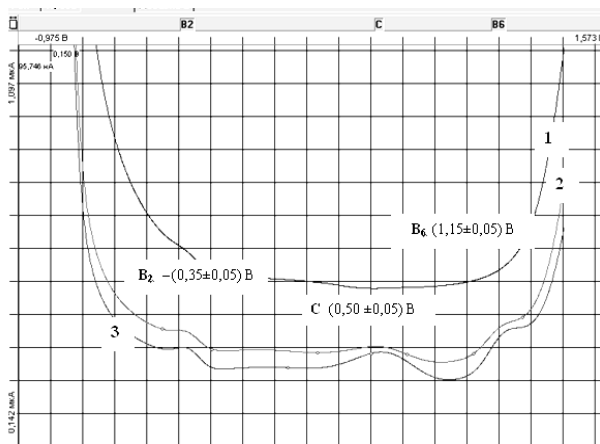


Рисунок 9 – Вольтамперограмма окисления витаминов на СУЭ:

$E_z = -0,4 \text{ В}$, $\tau = 30 \text{ с}$.

- 1 – 0,1 М NaC₄H₄O₆·H₂O;
- 2 – 2 мг/дм³ Вит В₂ + 2 мг/дм³ Вит В₆ + 1 мг/дм³ Вит С
- 3 – 4 мг/дм³ Вит В₂ + 4 мг/дм³ Вит В₆ + 2 мг/дм³ Вит С

Как видно из рисунка 9, аналитическими сигналами витаминов являются величины анодных пиков при потенциалах E_p (Вит В₂) = - (0,35 ± 0,05) В, E_p (Вит С) = (0,50 ± 0,05) В, E_p (Вит В₆) = (1,15 ± 0,05) В которые пропорционально зависят от концентраций витаминов.

На основании экспериментальных данных предложены условия совместного получения аналитических сигналов водорастворимых витаминов методом ВА, которые представлены в таблице 2.

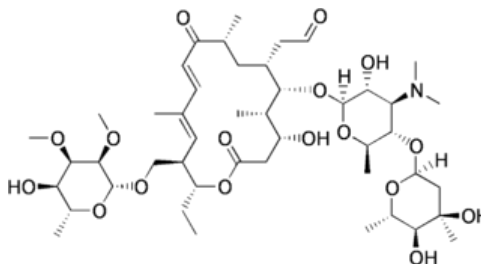
Антибиотики получили основное применение в медицинской практике, другая же важная область их использования - сельское хозяйство, особенно, животноводство. Связано это с тем, что, во-первых, в промышленном производстве большое количество животных содержат на относительно малых площадях, что и предопределяет распространение различных инфекций. Во-вторых, выращивание и содержание животных предусматривает медикаментозную обработку. В-третьих, широкомасштабная профилактика антибиотиками необходима и при транспортировке животных для снятия стресса.

Проведены исследования по выбору индикаторного электрода для получения аналитических сигналов антибиотиков широкого спектра действия: тилозина тартрата, цефалексина и гентамицина сульфата. В ходе исследований установлено, что чувствительность определения антибиотиков на различных

типах электродов увеличивается в ряду: ГЭ < СУЭ < РПЭ. Поэтому все исследования проведены на РПЭ.

На РПЭ проводили электронакопление антибиотиков в соответствующем фоне в течение 30 с при заданном потенциале электролиза с последующим катодным растворением. Перемешивание раствора и удаление кислорода осуществлялось током азота. В качестве фоновых электролитов использовали 0,1 моль/дм³ растворы: (NH₄)₂SO₄, KCl, Na₃C₆H₅O₇, C₆H₈O₇ · 2HN₃, C₄H₅O₆Na · H₂O, C₄H₆O₆, C₆H₈O₇, буферный раствор Бриттона-Робинсона и цитратно-фосфатные буферные смеси (0,2 моль/дм³ Na₂HPO₄ и 0,1 моль/дм³ H₃C₆H₅O₇).

Тилозин тартрат (Tyltar)



На модельных растворах проведены исследования по выбору рабочих условий (фоновый электролит, потенциал и время электролиза) получения аналитического сигнала Tyltar. Установлено, что лучшим фоновым электролитом является 0,1 моль/дм³ C₆H₈O₇·2HN₃, на фоне которого регистрируется вольтамперограммы с четко выраженным сигналом и хорошей воспроизводимостью. Поэтому в дальнейшей работе мы использовали в качестве индифферентного электролита раствор цитрата аммония.

Получены зависимости тока пика от потенциала электролиза и концентрации Tyltar на РПЭ (рисунок 10)

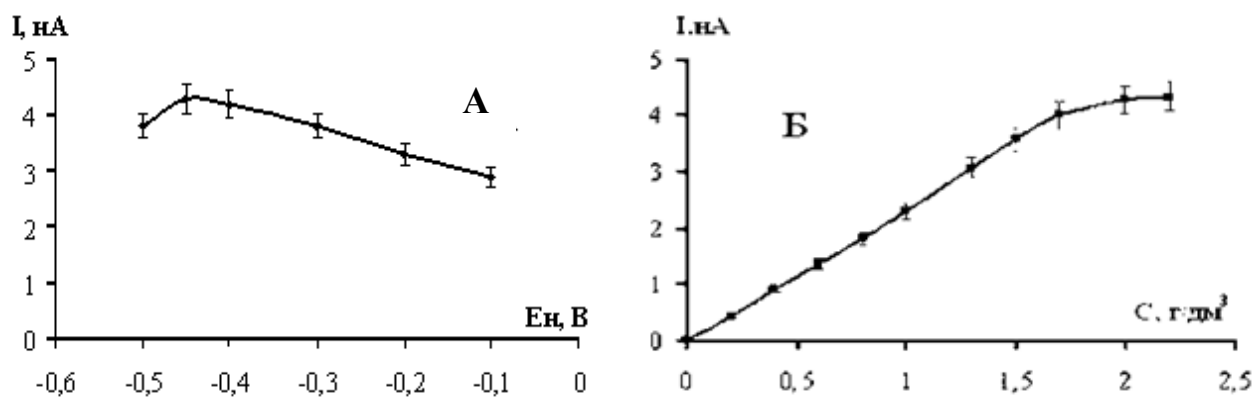


Рисунок 10 - Зависимость тока пика Tyltar от потенциала электролиза (А) и концентрации Tyltar (Б).

Как видно на рис. 10, А максимальный аналитический сигнал антибиотика наблюдается при потенциале Еэ = - 0,3 В, который и был использован в дальнейшей работе. Линейная зависимость градуировочного графика (рис 10, Б) сохраняется в диапазоне концентраций Tyltar (0,10 ÷ 1,70 мг/дм³). При более высоких концентрациях наблюдается отклонение от линейности

градуировочного графика, что, по-видимому, связано с насыщением поверхности индикаторного электрода.

Важным фактором при определении лекарственных препаратов является pH среды, который оказывает влияние не только на скорость электродного процесса, но и на его механизм. Зависимость потенциала максимума катодного пика Tyltar от pH имеет сложный характер. Изменение pH 6 приводило либо к изменению формы пика, либо к его смещению. Смещение потенциала в сторону более отрицательных значений, говорит о затруднении процесса восстановления антибиотика, что, по-видимому, связано с предшествующей протолитической реакцией депротонизации протонированных форм тилозина тартрата. Депротонизация может предшествовать стадии передачи электрона от электрода к молекуле деполяризатора или протекает одновременно с ней. Аналогичный эффект наблюдали и для других антибиотиков.

Впервые полученный в данных условиях аналитический сигнал тилозина тартрата, представлен вольтамперограммой (рисунок 11)

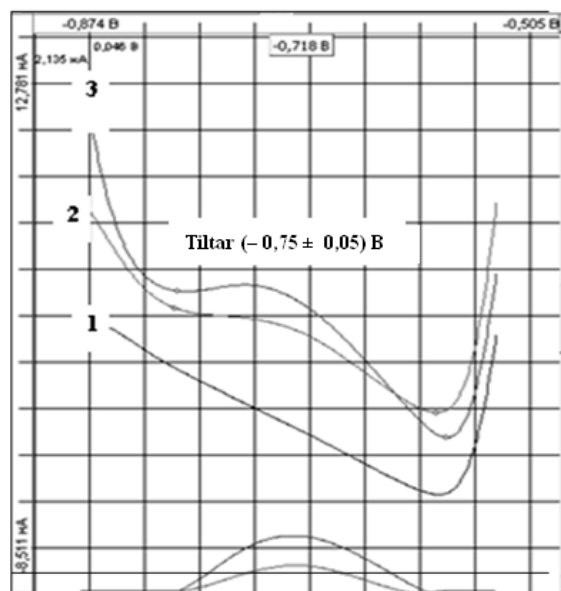


Рисунок 11– Вольтамперограмма восстановления Tyltar

РПЭ, $\tau_0 = 30$ с; $E_0 = -0,45$ В.

1– $0,1$ моль /дм³ $C_6H_8O_7 \cdot 2HN_3$, pH 6

2 – C (Tyltar) = $0,2$ г/дм³;

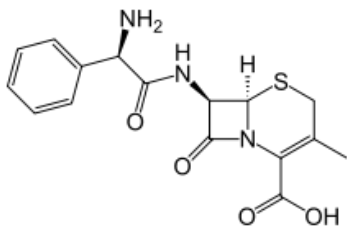
3 – C (Tyltar) = $0,4$ г/дм³

Как видно, (рис. 11, график 2) на вольтамперограмме наблюдается хорошо выраженный сигнал Tyltar при $E_p = -0,75$ В. При введении добавки АС, аналитический сигнал антибиотика увеличивается пропорционально введенной концентрации (рис. 11, график 3), что свидетельствует о возможности

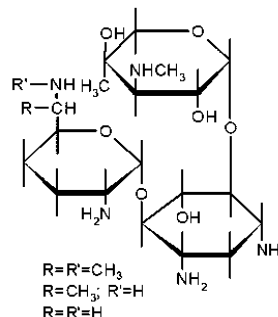
его количественной оценки.

Аналогичные исследования проведены по выбору рабочих условий (фоновый электролит и потенциал электролиза) ВА - определения цефалексина и гентамицина сульфата.

Цефалексин (ЦФ)



Гентамицина сульфат (ГМ)



Установлено, что хорошо воспроизводимые сигналы ЦФ регистрируются в $0,1 \text{ моль/дм}^3$ растворе цитрата натрия ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) при потенциале $E_z = -0,35 \text{ В}$. Линейная зависимость градуировочного графика сохраняется в диапазоне концентраций от $0,1 \text{ г/дм}^3$ до $2,0 \text{ г/дм}^3$.

Для ГМ хорошо воспроизводимые сигналы регистрируются в $0,1 \text{ моль/дм}^3$ растворе натрия виннокислого - кислого ($\text{NaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$) при $E_z = -0,3 \text{ В}$. Линейная зависимость градуировочного графика сохраняется в диапазоне концентраций от $0,1 \text{ г/дм}^3$ до $10,0 \text{ г/дм}^3$.

При более высоких концентрациях наблюдаются отклонение от линейности градуировочного графика, что, по-видимому, связано с насыщением поверхности индикаторного электрода.

Вольтамперограммы ЦФ и ГМ, впервые полученные в данных условиях, показаны на рис. 12.

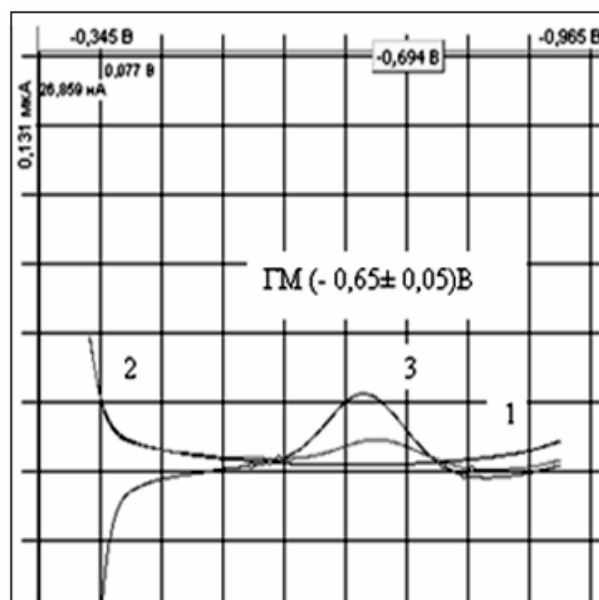
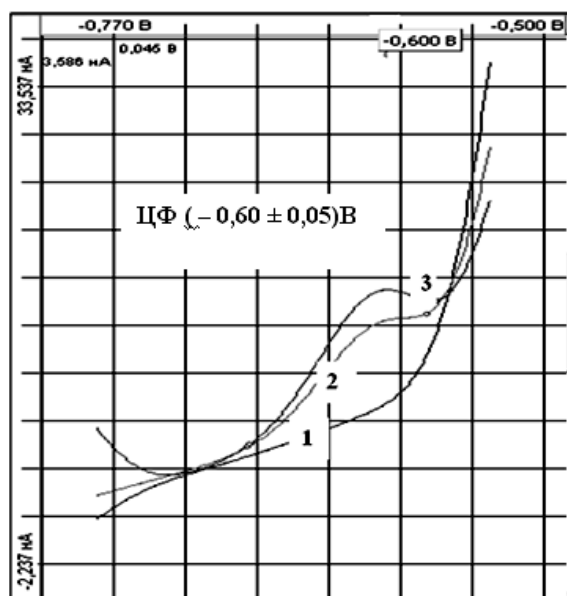


Рисунок 12 – Вольтамперограммы антибиотиков (ЦФ и ГМ) на РПЭ

- 1- фон $0,1 \text{ М Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, pH 4-5
- 2 - $C(\text{ЦФ}) = 0,2 \text{ мг/дм}^3$;
- 3- $C(\text{ЦФ}) = 0,4 \text{ мг/дм}^3$.

- 1- фон $0,1 \text{ М NaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$, pH 5-6
- 2 – $C(\text{ГМ}) = 2 \text{ мг/дм}^3$;
- 3 – $C(\text{ГМ}) = 4 \text{ мг/дм}^3$.

$$E_э = -0,35 \text{ В}, \tau_э = 30 \text{ с}$$

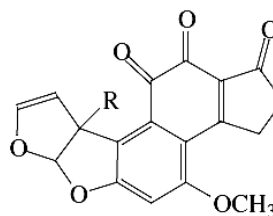
$$E_э = -0,3 \text{ В}, \tau_э = 30 \text{ с};$$

Как видно из рис. 12 на вольтамперограммах (график 2) наблюдаются хорошо выраженные пики Цф при $E_p = -0,60 \text{ В}$ и ГМ при $E_p = -0,65 \text{ В}$. При введении добавок АС аналитические сигнал антибиотиков увеличиваются пропорционально введенным концентрациям (график 3), что свидетельствует о возможности их количественной оценки.

На основании полученных результатов в таблице 2 представлены рабочие условия ВА - определения антибиотиков.

Микотоксины – природные загрязнители зерна (злаковых, бобовых, подсолнечника), овощей и фруктов; образуются под действием развивающихся в них микроскопических грибов; отличаются по химическому строению, токсичности и механизму действия. Общим признаком всех микотоксинов является токсичность большей частью для животных. Самым сильным и опасным гепатоканцерогеном из всех афлатоксинов является афлатоксин В1 (Афл В1).

Афлатоксин В1 (Афл В1).

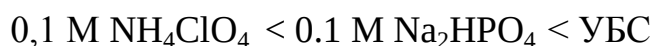


R=H

На модельных растворах впервые проведены исследования по выбору рабочих условий (электрод, фоновый электролит, потенциал и время электролиза) для ВА - определения Афл В1

Для выбора индикаторного электрода использовали углеродные электроды различных типов: графитовый электрод, пропитанный полиэтиленом с парафином в вакууме; стеклоуглеродный и углеситаловый электроды. Наибольшую величину аналитического сигнала, наименьшее значение остаточного тока и лучшую воспроизводимость сигналов на вольтамперограмме наблюдали на СУЭ, который и был выбран в качестве рабочего.

С целью получения аналитического сигнала исследованы $0,1 \text{ мль/дм}^3$ водно-солевые фоновые электролиты: NH_4ClO_4 , Na_2HPO_4 , и универсальной буферной смеси Бриттона-Робинсона (УБС). По лёгкости окисления Афл В1 на СУЭ используемые фоновые электролиты можно расположить в ряд:



Каждый из представленных фоновых электролитов можно использовать для количественного определения Афл В1 (рисунок 13). Более чувствительный аналитический сигнал был получен на $0,1 \text{ М } \text{Na}_2\text{HPO}_4$. Поэтому в диапазоне малых концентраций (до $0,015 \text{ мг/дм}^3$) перспективнее использовать в качестве фонового электролита $0,1 \text{ М } \text{Na}_2\text{HPO}_4$ (рис. 13, график 1) или УБС (рН=5,33)

(рис.13, график 2), так как в данном диапазоне наблюдаются максимальные значения токов аналитического сигнала Афл В1. Однако лучшим фоновым электролитом является перхлорат аммония (NH_4ClO_4), на котором регистрируются хорошо воспроизводимые пики окисления и сохраняется линейная зависимость градуировочных графиков в широком диапазоне концентраций (рис.13 , график 3).

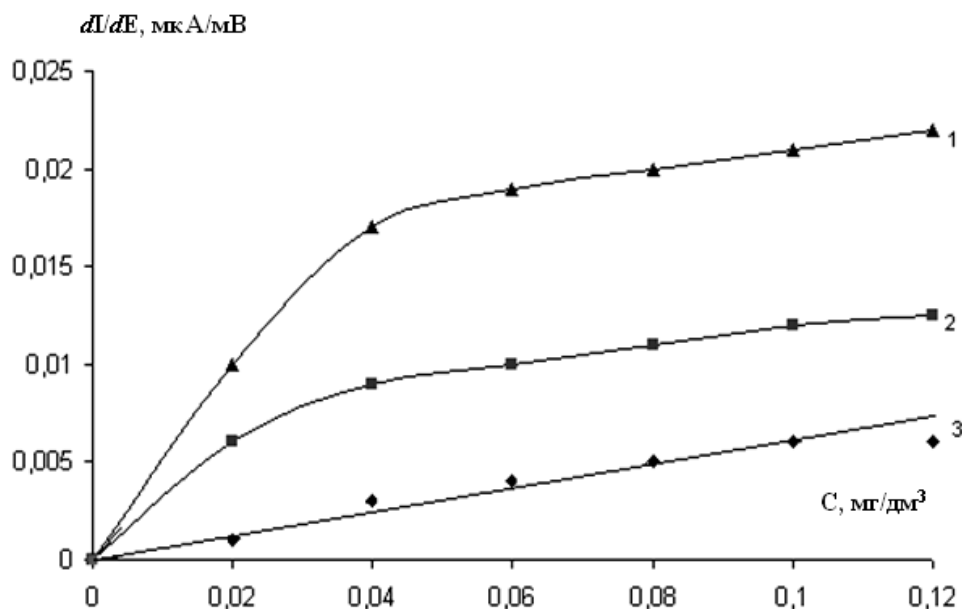


Рисунок 13. - Градуировочные зависимости электроокисления Афл В1 на различных фоновых электролитах, полученные на СУЭ:
1 – Na_2HPO_4 , 2 – УБС (рН 5,33), 3 – NH_4ClO_4 ,

На фоне 0,1 моль/дм³ NH_4ClO_4 получены зависимости тока пика от потенциала и времени электролиза (рисунок 14) .

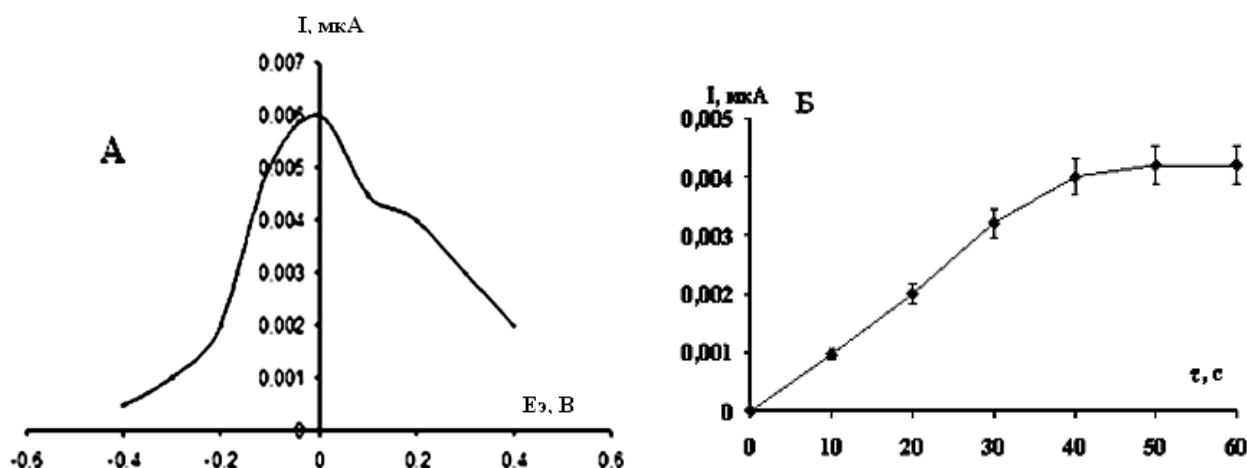


Рисунок 14 - Зависимость тока пика от потенциала (А), времени (Б) электролиза Афл В1.

Как видно из рис. 14 А максимальный аналитический сигнал микотоксина наблюдается при потенциале электролиза $Eэ = 0,0 \text{ В}$, который и был

использован в дальнейшей работе. Оптимальное время электролиза 40 с, т.к. при дальнейшем увеличении времени накопления полученная зависимость выходит на предел, что, по-видимому, связано с насыщением поверхности индикаторного электрода.

На рисунке 15 приведена вольтамперограмма афлатоксина В1, полученная на фоновом электролите 0,1 М NH_4ClO_4 .

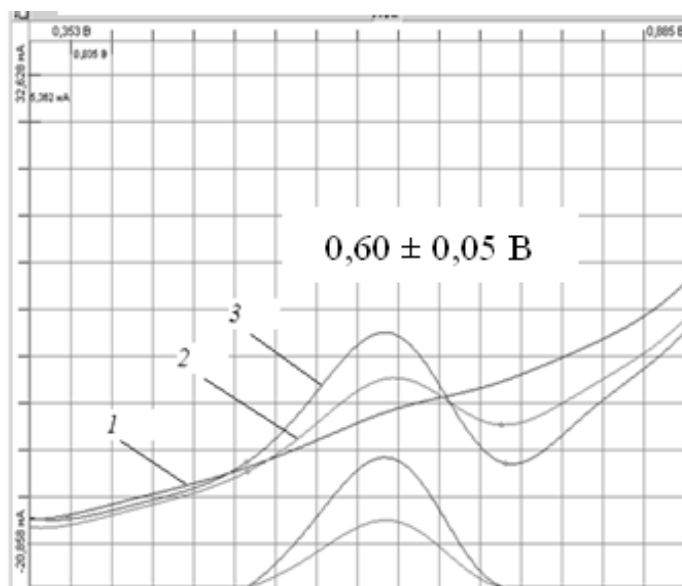


Рисунок 15- Вольтамперограмма электроокисления Афл В1
1 – фон 0,1 моль/дм³ NH_4ClO_4 ;
2 – С (АфлВ1)= 0,005 мг/дм³;
3 – С (АфлВ1)= 0,01 мг/дм³.
СУЭ, $w = 30$ мВ/с, $t_{\text{э}}=30$ с.
 $E_{\text{э}} = 0,0$ В

Как видно, (рис. 15, график 2) на вольтамперограмме наблюдается хорошо выраженный сигнал Афл В1 при потенциале $E_{\text{п}} = 0,60$ В. При введении добавки АС, аналитический сигнал микотоксина увеличивается пропорционально введенной концентрации (рис. 15, график 3), что свидетельствует о возможности его количественной оценки.

На основании полученных результатов предложены рабочие условия ВА - определения афлатоксина В1 (таблица 2).

Подготовка проб кормов и кормовых добавок

Пробоподготовка (ПП) обычно сложный, многостадийный процесс, цель которой – привести пробу и определяемый элемент в физическую и химическую форму, пригодную для измерения аналитического сигнала с требуемыми метрологическими характеристиками. В работе сделана попытка усовершенствования известных и разработки новых алгоритмов способов пробоподготовки исследуемых объектов применительно к методу ВА.

Мокрая минерализация основана на полном окислении органических веществ (ОВ) и связана с большими временными затратами, введением большого количества реагента-окислителя, что может быть источником загрязнений пробы. Для ускорения стадии пробоподготовки исследуемых объектов, при ВА-определении микроэлементов были использованы различные способы интенсификации: обработка ультразвуком (УЗ), микроволновым излучением (МВ), и температурой ($t^{\circ}\text{C}$). Установлено, что использования УЗ для

интенсификации ПП приводит к ускорению разложение продуктов растительного происхождения.

При определении общего содержания As и Se любым методом альтернативой способу минерализации матрицы является **отгонка** мышьяка и селена в виде их летучих соединений (AsCl_3 , SeBr_4). В работе представлены установка для отгонки и способы ПП, исключаящие стадию минерализации для ВА - определения общего содержания элементов в исследуемых объектах.

Таблица 2 - Рабочие условия ВА - определения органических веществ

Параметры измерения	Значения параметров						
	Витамины			Антибиотики			Микотоксин
	В2	С	В6	Tiltar	ЦФ	ГМ	Афл В1
Электроды - индикаторный	СУЭ			РПЭ	РПЭ	РПЭ	СУЭ
-сравнения / вспомогательный	ХСЭ/ ХСЭ			ХСЭ/ ХСЭ	ХСЭ/ ХСЭ	ХСЭ/ ХСЭ	ХСЭ/ ХСЭ
Фоновый электролит	0,1 моль/дм ³ NaC ₄ H ₄ O ₆ ·H ₂ O			0,1 моль /дм ³ C ₆ H ₈ O ₇ ·2HN ₃ рН 6	0,1 моль /дм ³ Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ , рН 4-5	0,1 моль /дм ³ NaC ₄ H ₄ O ₆ ·H ₂ O рН 5-6	0,1 моль/дм ³ NH ₄ ClO ₄
Удаление кислорода	нет			N ₂	N ₂	N ₂	нет
Потенциал накопления (Еэ), В	- 0,4 ± 0,05			– 0,45 ± 0,05	– 0, 35 ± 0,05	– 0,3 ± 0,05 В	0,0± 0,05
Диапазон развёртки потенциалов (Ер), В	-1,0 до 1,2			– 0,45 до – 1,0	– 0,5 до –0,8	– 0,3 до – 1,0	0,0 до 1,1
Скорость изменения потенциала (w), мВ/с	20 -30			20-30	20-30	25 - 30	27-30
Режим регистрации	Дифференциально-импульсный						
Потенциал пика (Еп), В	- 0,35 ± 0,05	0,50 ± 0,05	1,10± 0,05	– 0,75 ± 0,05	– 0,60 ± 0,05	– 0,65 ± 0,05	0,60 В ± 0,05

В качестве примера в таблице 3 показаны результаты определения общего содержания селена с использованием отгонки в виде SeBr_4 на стадии пробоподготовки.

Таблица 3 – Результаты определения общего содержания селена с использованием отгонки в виде SeBr_4 на стадии пробоподготовки ($P=0,95$; $n=3$)

Объект анализа	Содержание селена, мг/дм ³	
	После минерализации	После отгонки в виде SeBr_4
Вода бидистилл. + 0,05 мг/кг Se (IV)	$0,049 \pm 0,002$	$0,048 \pm 0,002$
Вода бидистилл. + 0,10 мг/кг Se (IV)	$0,096 \pm 0,00$	$0,097 \pm 0,005$
Вода бидистилл. + 0,20 мг/кг Se (IV)	$0,20 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,01$
Экстракт травы донника лекарственного	$1,43 \pm 0,09$	$1,33 \pm 0,09$
Экстракт мяты перечной	$0,056 \pm 0,005$	$0,052 \pm 0,005$

В работе показано влияние физических воздействий ($УЗ$, $МВ$ и t °C) и химических реагентов на выход растворимых форм элементов экстракт.

Установлено, применение $УЗ$ - и $МВ$ - обработки и замораживания повышают выход растворимых форм Se в экстракт до 77%, в сравнении с обыкновенным настаиванием – 73%. По – видимому, такой эффект получен за счет усиленных процессов массопереноса, диффузии, разрыва клеток и разрушения селенсодержащих белков. Напротив, повышение температуры уменьшает выход селена в водный экстракт до 9-24% за счет потерь летучих форм селена и возможной коагуляции селенсодержащих белков, которые оседают в жмыхе или в осадке после фильтрации и центрифугирования экстракта.

Для более полного извлечения общего селена, на примере травы донника лекарственного, предложены методики экстракций кислотами (HCl , лимонная кислота) и ферментными препаратами протеолитического и целлюлолитического действия (Протосубтилин ГЗх, Целловиридин ГЗх), которые повышают выход общего селена в жидкую фазу до 81- 85%. Возможно, протонирование неорганических и органических форм элемента, ферментативного расщепления белковых структур и клеточных мембран способствовало извлечению неорганических и низкомолекулярных органических форм селена в раствор.

Отметим, что ферментные препараты подобраны только для объектов растительного происхождения и возможности их использования для других объектов нами не исследовались.

Применительно к ВА - анализу исследован способ ПП, основанный на извлечении йода из образцов кормов четвертичными аммониевыми основаниями. Экспериментально установлены условия экстракции йодид-иона: время и

температура экстракции и подобран осадитель органических веществ (ОВ). В зависимости от выхода общего йода, применяемые в ходе исследования осадители можно расположить в ряд: $N_2H_4 \cdot H_2SO_4 < TXY < ZnSO_4$

На основании полученных результатов, как альтернатива щелочному сплавлению, предложены условия ПП для определения общего содержания йода в кормах и кормовых добавках: экстрагент – 10% раствор тетрабутиламмония гидроксида ($[(C_4H_9)_4N]^+OH$), осадитель – соль $ZnSO_4$, время экстракции – 45 минут, время осаждения – 15 минут, температура экстракции и осаждения – (20-30)°C, pH раствора (7- 8). Предложенный алгоритм ПП позволяет провести анализ кормов и кормовых добавок в течение полутора часов, вместо 6-8 часов при «классическом» способе ПП.

Для разделения органических и неорганических форм Se в работе использован **метод ионообменной хроматографии** на сильноосновном анионите АВ-17-8 в CH_3COO^- – форме и сильноокислотном катионите КУ-2-8 в H^+ -форме. В ходе исследования установлено, что ионы Se^{4+} количественно поглощаются на анионите и практически не сорбируются катионитом при заданных значениях pH. Селен в органической форме, наоборот, выделяется на катионообменнике и переходит в фильтрат при прохождении раствора через колонку с анионитом (рисунок 16).

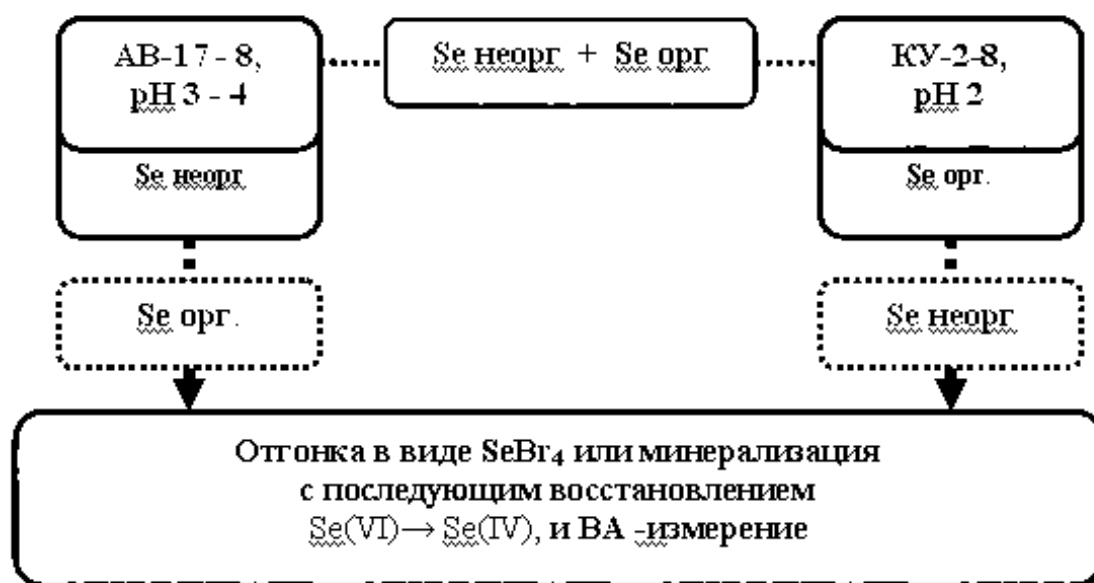


Рисунок 16 – Схема ионного обмена для определения органических и неорганических форм Se

Для определения форм селена в растениях и кормовых добавках предложена методика извлечения растворимых форм Se водной экстракцией в сочетании с ионным обменом, с последующей минерализацией элюата и ВА-измерением аналитического сигнала Se (IV) на ОМЭ. Полученные результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты ВА – определения форм Se с использованием ионного обмена на стадии пробоподготовки (n = 3, P=0,95)

Объект	Получено Se, мг/кг в пересчете на сухое вещество			
	Минерализация сухой пробы	В водном экстракте (растворе)		
		До ионного обмена	После ионного обмена	
			на АВ-17-8* рН 3-4	на КУ-2-8** рН 2
Донник лекарствен.	1,9 ± 0,4	1,4 ± 0,3	0,85 ± 0,15	0,45 ± 0,09
Мята перечная	0,079 ± 0,017	0,056 ± 0,014	0,036 ± 0,008	0,019 ± 0,005
БАД "Сел-Плекс"	122 ± 12	108 ± 11	91 ± 9	19 ± 2

*В элюате определяли Se орг, ,

** В элюате определяли Se неорг.

Для сорбции органических форм I и Se исследовали природные сорбенты: полифепан, сорбент на основе торфа и активированный уголь. При сравнении емкостей поглощения установлено, что наилучшей сорбционной способностью обладает сорбент из торфа «Энтеросорбент ЭТС -1», с емкостью поглощения для селена 0,02 мг/г и 0,044 мг/г для йода. В ходе исследований установлены условия сорбции (в статическом режиме): масса навески сорбента (0,25-0,30) г, время сорбции – 60 мин, рН элюента (6-8). На рис.17 представлена общая схема ПП для определения общего содержания йода и селена и их форм применительно к методам ВА.

Как показано на схеме (рис. 17), для определения общего содержания элементов использовали минерализацию. Для разделения органических и неорганических форм в анализируемый раствор вводили навеску сорбента, при этом органические формы количественно сорбировались на «Энтеросорбенте ЭСТ -1», а неорганические оставались в растворе. После фильтрования смеси, в фильтрате методом ВА определяли концентрацию неорганических форм, а осадок подвергали дальнейшей обработке с целью выделения органических форм. Для этого сорбент подвергали УЗ обработке, и после центрифугирования в надосадочной жидкости определяли концентрацию органических форм элементов.

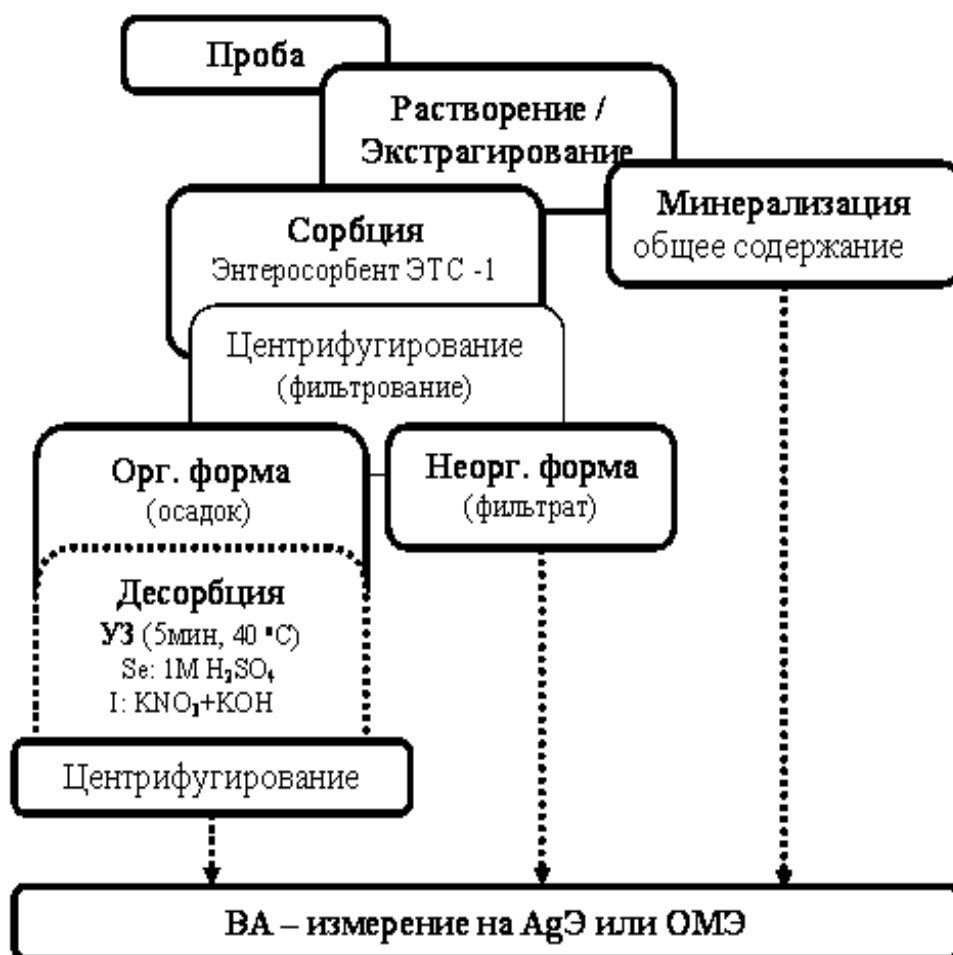


Рисунок 17 - Общая схема ВА- определения форм I и Se

Полученные результаты представлены в таблицах 5 и 6.

Таблица 5 – Результаты ВА – определения форм йода с использованием сорбции на стадии пробоподготовки (n = 3, P=0,95)

Объект	Содержание Иобщ. и его форм, мг/кг			
	МУ08-47/247	Предлагаемый способ		
	Иобщ	Иобщ	Иорг	I ⁻
Концентрат ПК *	0,17 ± 0,04	0,19 ± 0,04	менее 0,03	0,18 ± 0,04
Концентрат ПК+0,3мг/кгИорг+0,5мг/кг I ⁻	0,95±0,21	0,97 ± 0,19	0,29 ± 0,06	0,69±0,14
Соя	0,088± 0,018	0,09 ± 0,02	0,49 ± 0,11	0,039 ± 0,008
Соя + 1,0 мг/кг Иорг + 0,1 мг/кг I ⁻	1,18±0,24	1,2 ± 0,2	0,97 ± 0,20	0,98 ± 0,21
Шрот	0,167±0,033	0,17 ± 0,03	менее 0,03	0,17 ± 0,03
Шрот + 0,6 мг/кг Иорг + 5,0 мг/кг I ⁻	5,7±1,1	5,8 ± 1,2	0,58 ± 0,12	5,2 ± 1,0
Рыбная мука	0,25±0,07	0,28 ± 0,06	0,08 ± 0,02	0,19 ± 0,04
Рыбная мука + 5,0 мг/кг Иорг + 1,0 мг/кг I ⁻	6,2±1,4	6,3 ± 1,3	4,9 ± 1,1	0,98 ± 0,25

Таблица 6 – Результаты ВА – определения форм селена с использованием сорбции на стадии пробоподготовки (n = 3, P=0,95)

Проба	Содержание Se общ. и его форм, мг/кг			
	МУ 08-47/247	Предлагаемый способ		
	Se общ	Se орг	Se неорг	Se общ
Сенаж разнотравный	0,98 ± 0,09	Менее 0,05	0,96 ± 0,09	1,0 ± 0,1
Сенаж разнотравный + 0,50 мг/кг Se неорг + 1,0 мг/кг Se орг	2,4 ± 0,2	1,05 ± 0,09	1,38 ± 0,14	2,5 ± 0,2
Обрат сухой	1,1 ± 0,1	Менее 0,05	0,93 ± 0,09	0,95 ± 0,09
Обрат сухой + 0,50 мг/кг Se неорг + 1,0 мг/кг Se орг	2,4 ± 0,2	0,98 ± 0,09	1,5 ± 0,2	2,47 ± 0,25
БАД "Сел-Плекс"	122 ± 12	106 ± 11	93 ± 9	20 ± 2

На основании полученных результатов, создан опытный экземпляр автоматизированного блока ПП, который позволяет в автоматическом режиме проводить отгонку или сорбцию легколетучих элементов Se, As, I (рисунок 18) .



Рисунок 18 – Схема автоматизированного блока пробоподготовки для ВА - определения форм элементов

Для определения витаминов, антибиотиков и АФл В1 предложен общий алгоритм ПП, основанный на растворении пробы в подходящем растворителе, с последующим отделением органической матрицы. Пробы, содержащие антибиотики и витамины растворяют в воде, АФл В1 – в этиловом спирте. При необходимости протеин осаждают $ZnSO_4$. Используя данный алгоритм, проведен анализ реальных объектов, результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Результаты ВА – определения витаминов (В2, В6, С) и АФл В1

Объект	Аналит	Содержание	
		На упаковке производителя	Найдено
БМВД «Pigimax №5220» Украина	В2, г/кг	38	39 ± 4
	В6, г/кг	16	15 ± 2
ВМД «Хрюша» ООО «Агровит»	В2, г/кг	0,2	$0,19 \pm 0,04$
	С, г/кг	10	$9,7 \pm 1,5$
Премикс ПКК1-2 ЗАО «Витасоль», г. Боровск	В2, г/кг	0,3	$0,25 \pm 0,04$
	В6, г/кг	0,2	$0,23 \pm 0,05$
«Фармазин» «НУВЕРНАРМА», Болгария	Тилозин тартрат, г/г	0,5	$0,48 \pm 0,04$
«Цефалекс», «SP Veterinaria, SA», Испания	Цефалексин, г/г	0,5	$0,51 \pm 0,04$
«Гентамицин» ООО «КРК d.d.», Словения	Гентамицина сульфат, г/г	0,1	$0,11 \pm 0,02$
Отруби диетические пшеничные	Афл В1, мг/кг	0,009	$0,010 \pm 0,003$
Модельный раствор	Афл В1, мг/ дм ³	0,02	$0,018 \pm 0,007$
		0,04	$0,039 \pm 0,001$
		0,06	$0,055 \pm 0,006$

На основании полученных результатов предложен общий алгоритм пробоподготовки для анализа кормов и кормовых добавок, который представлен на рисунке 19.

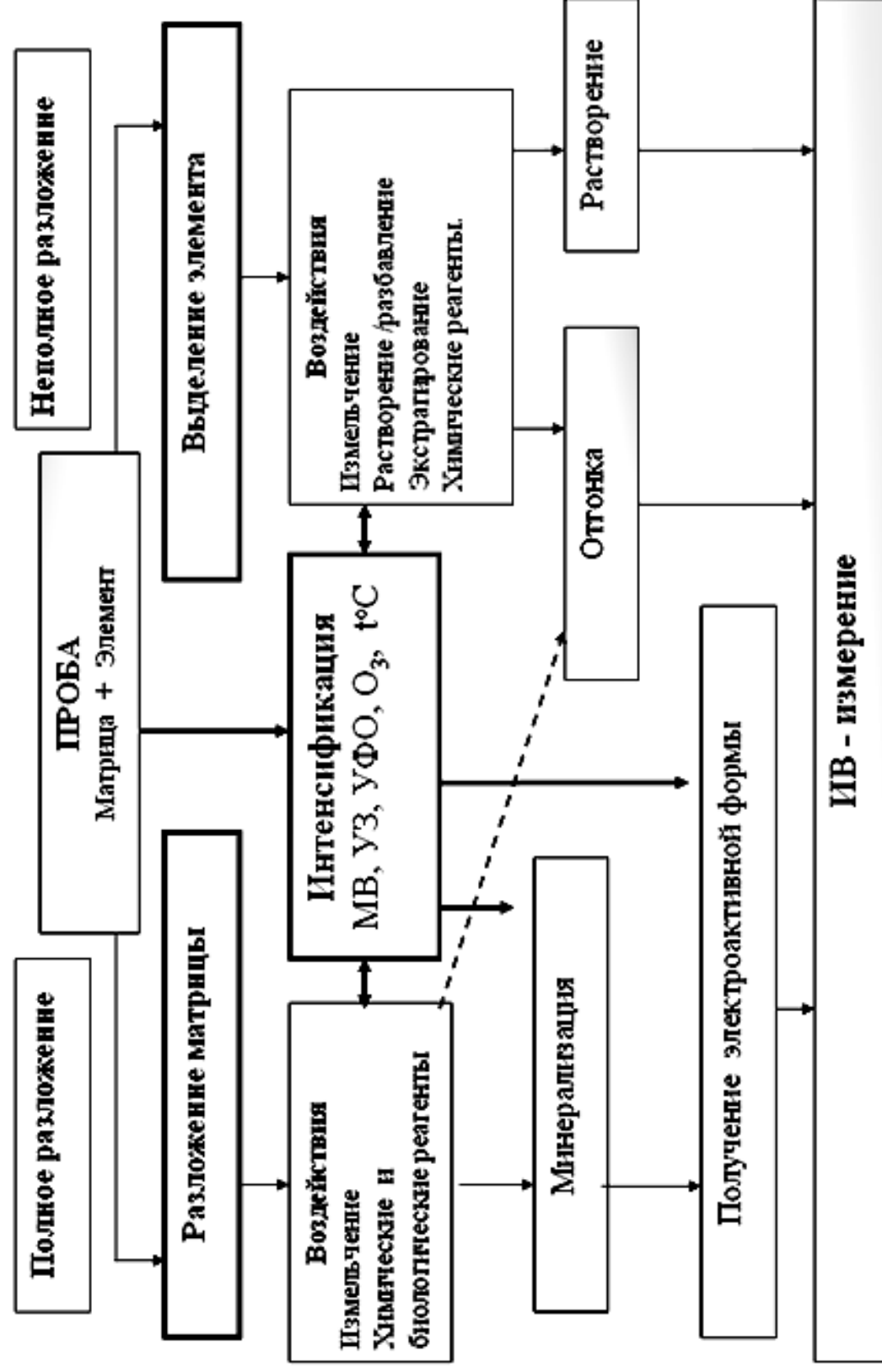


Рисунок 19 – Общая схема пробоподготовки кормов и кормовых добавок на показатели токсичности и биологической ценности, адаптированный к методам ВА

Общий подход анализа кормов и кормовых добавок заключается в следующем:

- **при определении общего содержания микроэлементов** используют полное разложение матрицы (мокрая минерализация), отгонка легколетучих соединений компонента, либо экстракция (кислотами или ферментами). Для интенсификации процесса применяют физические воздействия (МВ, УЗ, $t^{\circ}\text{C}$)

- **при определении форм элементов** (неорганических или органических) применяют концентрацию и выделение аналита на ионообменных смолах (ионный обмен) или сорбенте (твердофазная экстракция), с последующей десорбцией определяемого компонента подходящим элюентом. Для интенсификации процесса десорбции применяют физические воздействия (чаще всего УЗ).

- **при определении органических веществ** (витаминов, антибиотиков и микотоксинов), после растворения пробы удаляют матрицу (чаще всего это какие либо наполнители, либо белковые соединения) отстаиванием / центрифугированием или высаливанием.

Затем, выделенный аналит, при необходимости, переводят в электроактивную форму для последующего определения методом ВА.

Используя данный алгоритм пробоподготовки, разработаны методики определения микроэлементов, витаминов, антибиотиков и микотоксина, суть которых изложена в 7 главе.

ВЫВОДЫ

- Проведен мониторинг объектов агропромышленного комплекса на показатели токсичности и биологической ценности. Показана необходимость аналитического контроля микроэлементов (Se, I, Fe, Cu, Ni, As), витаминов (B₂, C, B₆), антибиотиков (гентамицина сульфата, тилозин тартрата, цефалекса), афлатоксина В₁ в кормах и кормовых добавках.
- Разработаны способы получения новых органо-модифицированных электродов для определения ряда металлов и неорганических элементов методами ВА. Изучено вольтамперометрическое поведение солей арилдиазоний тозилата на различных электродах. Предложено в качестве модификаторов использовать арилдиазоний тозилаты с - NH₂ и - COOH – заместителями. Подобраны условия модифицирования поверхностей серебряного и графитового электродов, позволяющие улучшить метрологические показатели вольтамперометрических методик определения Se, I, Fe, Cu, Ni. Рассмотрены варианты электрохимических реакций протекающих на органо-модифицированных электродах.
- Разработаны новые и оптимизировать известные способы ВА - определения ряда микроэлементов и их форм, водорастворимых витаминов, антибиотиков широкого спектра действия и микотоксинов. Выбраны условия получения аналитических сигналов микроэлементов (Se, I, Fe, Cu, Ni, As), витаминов (B₂, C, B₆), антибиотиков (гентамицина сульфата, тилозин тартрата, цефалекса),

афлатоксина В1. Определены величины минимально определяемых концентраций, пределов обнаружения и диапазонов измеряемых концентраций.

- Предложен универсальный алгоритм пробоподготовки различных типов вод, кормов и кормовых добавок, основанный на различных вариантах выделения аналита и разложения матрицы. На основе сочетания экстракции и сорбции (или ионного обмена) разработаны алгоритмы методик определения органических и неорганических форм йода и селена. Создан опытный экземпляр блока пробоподготовки, который позволяет в автоматическом режиме проводить отгонку или сорбцию легколетучих элементов Se, As, I.

- Разработаны и метрологически аттестованы вольтамперометрические методики совместного определения йода и селена; железа и меди в водах, кормах и кормовых добавках.

- Разработаны и метрологически аттестованы вольтамперометрические методики определения неорганических и органических форм йода и селена в водах, кормах и кормовых добавках.

В **приложении** представлены материалы, подтверждающие практическую значимость проведенных исследований: патенты, акты внедрений, свидетельства об аттестации методик.

Выражаю огромную благодарность своему научному консультанту, д.х.н., проф., кафедры физической и аналитической химии института природных ресурсов ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» Слепченко Г.Б. за научные консультации и ценные советы на различных этапах выполнения данного исследования; коллективу ООО «ЮМХ» (г. Томск) за совместное проведение исследований; Г.Т. Вилисову за помощь в создании опытного экземпляра блока пробоподготовки.

Особая благодарность сотрудникам кафедры биотехнологии и органической химии ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» за предоставленные соли диазония и консультации при проведении исследований, а также главному специалисту по животноводству Администрации Томского района Томской области, к.с.н. Лычевой Т.В. и ветеринарный врачу ЗАО "Аграрная группа" птицефабрики "Томская". Сафонову Д.Н. за предоставленные образцы для исследований.

Основные результаты диссертации опубликованы в работах:

1. Дерябина, В. И. Пути оптимизации вольтамперометрического определения мышьяка в пищевых продуктах / Э. А. Захарова, В. И. Дерябина, Г. Б. Слепченко // Журнал аналитической химии. – 2005. – Т. 60, № 6. – С. 571-575.

2. Дерябина, В. И. Изучение вольтамперометрического поведения йода и селена на новых органо-модифицированных электродах. Разработка методики их определения / Г. Б. Слепченко, Фам Кам Ньунг, Хо Ши Линь // Журнал аналитической химии. – 2013. – Т. 68, № 10 – С. 1-4.

3. Дерябина, В. И. Пробоподготовка пищевых и биологических объектов при вольтамперометрическом определении неорганических примесей (обзор) / В.

И. Дерябина, Г. Б. Слепченко, Э. А. Захарова // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2004. – Т. 70, № 7. – С. 3-18.

4. Дерябина, В. И. Определение мышьяка в водах методом инверсионной вольтамперометрии с разными способами пробоподготовки / В. И. Дерябина, Э. А. Захарова, Г. Б. Слепченко, Н. А. Чучунова Н.А. // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2006. – Т. 72, № 1. – С. 3-8.

5. Дерябина, В. И. Вольтамперометрический контроль содержания селена и его форм в растениях (донник лекарственный) с использованием экстракции и ионного обмена / В. И. Дерябина, Л. Н. Скворцова, Э. А. Захарова, Г. Б. Слепченко // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2006. – Т. 72, № 11. – С. 7-10.

6. Дерябина, В. И. Определение неорганических и органических форм йода в кормах методом вольтамперометрии / В. И. Дерябина, Г. Б. Слепченко, Фам Кам Ньунг, Л. А. Малиновская // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2013. – №5 - С. 23-26.

7. Дерябина, В. И. Новые подходы к определению никеля методом вольтамперометрии / В. И. Дерябина, Т. В. Акользина, Нохойжав Гэрэлтуяа // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 8 (3). – С. 590-594.

8. Дерябина, В. И. Вольтамперометрическое определение содержания селена и его форм в различных объектах / В. И. Дерябина, Г. Б. Слепченко, Н. М. Дубова, Н. П. Пикула, А. А. Бакибаев, М. И. Тартынова, Ш. К. Амерханова // Вестник Карагандинского университета. Серия «Химия». – 2011. – №2 (62). – С. 8-13.

9. Deryabina, V. I. Nghiên cứu phương pháp von-ampe hòa tan xác định sắt trong nước trên điện cực bạc biến tính hữu cơ / V. I. Deryabina, Hồ Sỹ Linh, Phạm Cẩm Nhung, G. B. Slepchenko, Đinh Thị Trường Giang // Tạp chí Hóa học và ứng dụng, Việt Nam, số 2 (18), 2013 = Study on the stripping voltammetry determination of ferrous in water on organo modified electrodes. // Journal of chemistry and application. - Vietnam, 2013. – №2(18). – P. 41-44.

10. Дерябина, В. И. Определение йода в кормах и кормовых добавках методом вольтамперометрии / В. И. Дерябина, Г. Б. Слепченко, Фам Кам Ньунг, Хо Ши Линь, Т. В. Лычева, М. Е. Кириллова // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – № 11. – С. 42- 44.

11. Дерябина, В. И. Характеристика низинных торфов Западной Сибири / В. И. Дерябина, Л. А. Малиновская // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – № 12. – С. 36-38.

12. Дерябина, В. И. Вольтамперометрическое определение форм селена в кормах с использованием природных сорбентов / В. И. Дерябина, Г. Б. Слепченко, Фам Кам Ньунг, Т. В. Лычева, Л. А. Малиновская // Достижения науки и техники АПК. – 2012. – № 11. – С. 31-34.

13. Дерябина, В. И. Совместное вольтамперометрическое определение железа и меди в кормах и кормовых добавках / В. И. Дерябина, Г. Б. Слепченко, Хо Ши Линь, Т. В. Лычева, Л. А. Малиновская // Достижения науки и техники АПК. – 2013. – № 1. – С. 23-25.

14. Дерябина, В. И. Разработка способов экстракции для определения различных форм селена в доннике лекарственном / В. И. Дерябина, Э. А. Захарова, Е. В. Шигина, Л. А. Маюрникова // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2007. – № 1. – С. 42-45.

15. Дерябина, В. И. Функциональные напитки антиоксидантного действия / В. И. Дерябина, Е. В. Шигина, Л. А. Маюрникова // Пиво и напитки. – 2006. – № 4. – С. 41-43.

16. Пат. 2459199 Российская Федерация, МПК G 01 N27 / 48 (2006.01) Способ количественного определения йода методом инверсионной вольтамперометрии. / Дерябина В.И., Слепченко Г.Б., Фам Кам Ньунг, М.Е. Кириллова.; заявитель и патентообладатель Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Национальный исследовательский Томский политехнический университет" – № 2011112099/28; заявл. 30.03.2011; опубл. 20.08.2011, Бюл. №23. – 8 с.

17. Решение о выдаче патента. Заявка № 2012129615/28(046467) Российская Федерация, МПК G 01 N 27 / 00. Способ количественного определения никеля методом инверсионной вольтамперометрии на органо-модифицированном электроде. / Дерябина В.И., Слепченко Г.Б., Фам Кам Ньунг, Малиновская Л.А.; заявл. 12.07.2012; реш.о выдаче – 07.08.2013 – 5 с.