

На правах рукописи



ДЕРЯБИНА ВАЛЕНТИНА ИВАНОВНА

**ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
ТОКСИЧНОСТИ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ
КОРМОВ И КОРМОВЫХ ДОБАВОК**

Специальность 02.00.02. – аналитическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора химических наук

Томск - 2014

Работа выполнена на кафедре физической и аналитической химии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

Научный консультант: доктор химических наук, профессор
Слепченко Галина Борисовна

Официальные
оппоненты Носкова Галина Николаевна
доктор химических наук,
ООО «Научно-производственное предприятие
«Томъаналит», заместитель директора

Темерев Сергей Васильевич
доктор химических наук, доцент.
Алтайский государственный университет,
зав. кафедрой аналитической химии

Позняковский Валерий Михайлович
доктор биологических наук, профессор,
Заслуженный деятель науки РФ.
Кемеровский технологический институт пищевой
промышленности, руководитель отдела гигиены
питания и экспертизы товаров НИИ переработки и
сертификации пищевой продукции

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

Защита состоится «29» декабря 2014 г. в 14.30 часов на заседании
диссертационного совета Д.212.269.04 при ФГАОУ ВО НИ ТПУ по адресу:
634050, г. Томск пр. Ленина, 43.

С диссертацией можно ознакомиться в Научно–технической библиотеке ФГАОУ
ВО НИ ТПУ по адресу: 634050, г. Томск, ул. Белинского, 55 и на сайте
<http://portal.tpu.ru/council/911/worklist>

Автореферат разослан «___» _____ 2014 г

Ученый секретарь диссертационного совета
Д.212.269.04

Гиндуллина Т.М.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Решение продовольственной проблемы – одно из приоритетных направлений развития мировой экономики. В России данная 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. 2011г. Утверждены Доктрина продовольственной безопасности Российской Федерации и общероссийские программы, которые направлены на более эффективное развитие агропромышленного комплекса (АПК).

В сфере АПК ведущая роль принадлежит сельскому хозяйству, а именно, животноводству, на долю которого приходится около 60% валовой продукции АПК. Развитие животноводства – это стратегическая задача, которая решается как за счет увеличения и сохранения поголовья скота и птицы, так и за счет производства кормов и кормовых добавок, в том числе обогащенных витаминами и минеральными веществами. Поэтому, вопросы аналитического контроля качества и безопасности кормов и кормовых добавок актуальны в плане развития всей отрасли.

Недостаточность нормативной базы, способной обеспечить эффективный контроль показателей токсичности и биологической ценности кормов и кормовых добавок, 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 методов 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. Поэтому, стандартизация методов ВА на государственном уровне послужит дополнительным

стимулом их использования и позволит более успешно решать проблемы, связанные с качеством кормов и кормовых добавок.

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

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

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

- Создать новые органо-модифицированные электроды, с учетом экологической безопасности, для определения ряда металлов и неорганических элементов методами вольтамперометрии с улучшенными метрологическими показателями.
- Разработать новые подходы и аналитические приемы к повышению чувствительности и селективности вольтамперометрического определения ряда 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 ряд показателей токсичности и биологической ценности.

Научная новизна:

- Созданы новые, с учетом экологической безопасности, органо-модифицированные электроды (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 методами ИК-спектроскопии, оптической и электронной микроскопии.
- 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 водорастворимых витаминов С, В₂, В₆ на стеклоуглеродном электроде (СУЭ) и впервые установлены условия их совместного определения в широком диапазоне измеряемых концентраций.
- Впервые, методом дифференциально-импульсной вольтамперометрии на ртутно-плёночных электродах (РПЭ), получены аналитические сигналы антибиотиков: гентамицина сульфата, тилозин тартрата, цефалексина и установлены условия их определения.
- Методом дифференциально-импульсной вольтамперометрии на СУЭ получен аналитический сигнал афлатоксина В1 и установлены условия определения в диапазоне концентраций 0,01 до 0,12 мг/дм³.
- Выявлены факторы, оказывающие влияние 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 «Энтеросорбент ЭСТ-1». Разработаны способы пробоподготовки для вольтамперометрического определения органических и неорганических форм йода и селена.
- Разработаны алгоритмы пробоподготовки объектов АПК для ВА-определения витаминов (С, В₂, В₆), антибиотиков (гентамицина сульфата, тилозин тартрата, цефалексина) и афлатоксина В1.

Практическая значимость:

- Введение в практику аналитического контроля экологически безопасных органо-модифицированных электродов и новых способов пробоподготовки позволит экспрессно проводить ВА-анализ кормов и кормовых добавок на содержание микроэлементов и некоторых их форм.
- Разработаны и метрологически аттестованы 8 вольтамперометрических методик определения ряда неорганических веществ в объектах АПК с учетом их особенностей.
- Разработаны методики ВА-определения микотоксина (афлатоксина В1), водорастворимых витаминов (С, В₂, В₆), при их совместном присутствии, антибиотиков на основе гентамицина сульфата, тилозин тартрата и цефалексина в объектах АПК.

- Оптимальная схема пробоподготовки сложной матрицы, на основе ионного обмена или сорбции, позволяет разделять органические и неорганические формы йода и селена.
- Предложенный алгоритм пробоподготовки, адаптированный к ВА-методам измерения, может быть использован 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.
- Разработка новых ОМЭ с применением солей арилдиазоний тозилатов, отвечающих требованиям экологической безопасности.
- Вольтамперометрические условия получения аналитических сигналов неорганических элементов (I, Se, Fe, Cu и Ni), водорастворимых витаминов (C, B₂, B₆), 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 микроэлементов и некоторых их органических и неорганических форм 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); Всероссийских конференциях по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2003, -2005, -2006» с международным участием (г.г. Санкт-Петербург, Екатеринбург, Самара); Всероссийских конференциях «Аналитика Сибири и Дальнего Востока» (г.Новосибирск, 2004; г. Красноярск, 2012); Всероссийской конференции «Аналитика России» (г. Москва, 2004); Всероссийских конференциях по электрохимическим методам анализа «ЭМА-2004,-2008,-2012» (г. Уфа, 2004, 2008, 2012); III Всероссийской научной конференции «Химия и химическая технология на рубеже тысячелетий». (г. Томск, 2004); 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); II Международном форуме «Аналитика и аналитики» (г. Воронеж, 2008); Симпозиуме с международным участием «Теория и практика электроаналитической химии» (г. Томск, 2010); 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» (г. Тамбов, 2011); II Международной Казахстанско-Российской конференции по химии и химической технологии. (г. Караганда, 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); Научно-практической конференции «Новые химико-фармацевтические технологии» (г. Москва, 2014).

Публикации. Основные результаты изложены в 60 публикациях, из них 20 статей входит в список журналов, рекомендуемых ВАК, получено 2 патента РФ.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 341 странице печатного текста и состоит из введения, 7 глав, заключения и приложения, содержит 41 таблицу, 85 рисунков. Список литературы включает 392 источника.

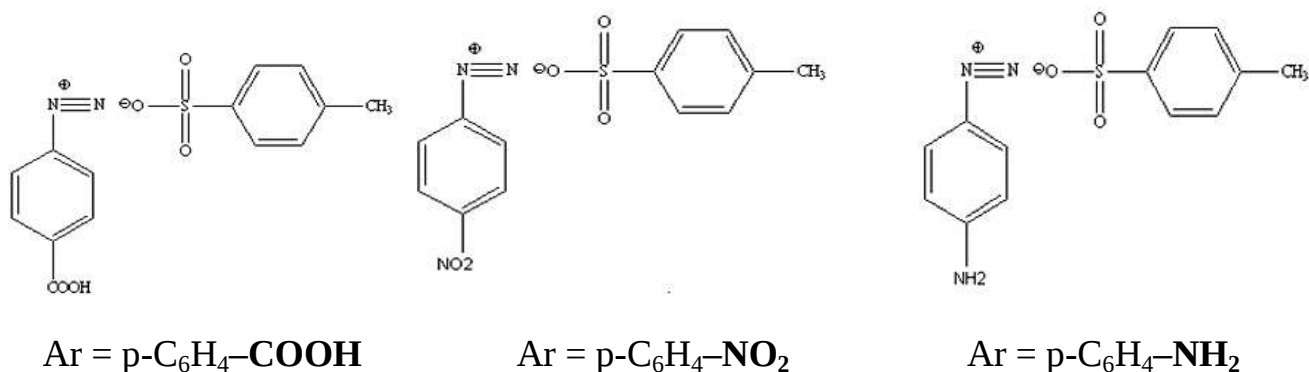
Личный вклад автора состоял в формировании направления и постановке задач исследования, активном участии на всех этапах их экспериментального решения, интерпретации, обсуждении результатов и написании публикаций. Диссертационная работа представляет собой обобщение результатов многолетних исследований, 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 ФГАОУ ВО НИ ТПУ.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

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

В обзоре литературы рассмотрено 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 ВА для определения микроэлементов: Se, I, Fe, Cu, Ni, As; водорастворимых витаминов: С, В₂, В₆; антибиотиков: тилозина тартрата, гентамицина сульфата, цефалексина; микотоксина (афлатоксина В₁) 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. К новому поколению таких электродов можно отнести ОМЭ, где в качестве модификатора использованы соли арилдiazоний тозилата ($\text{ArN}_2^+\text{OTs}^-$) с различными заместителями:



Модификацию поверхности электрода проводили разными способами: погружением электродов в водные растворы diaзониевых солей и электрохимически, в соответствии со схемой модификации (рисунок 1).

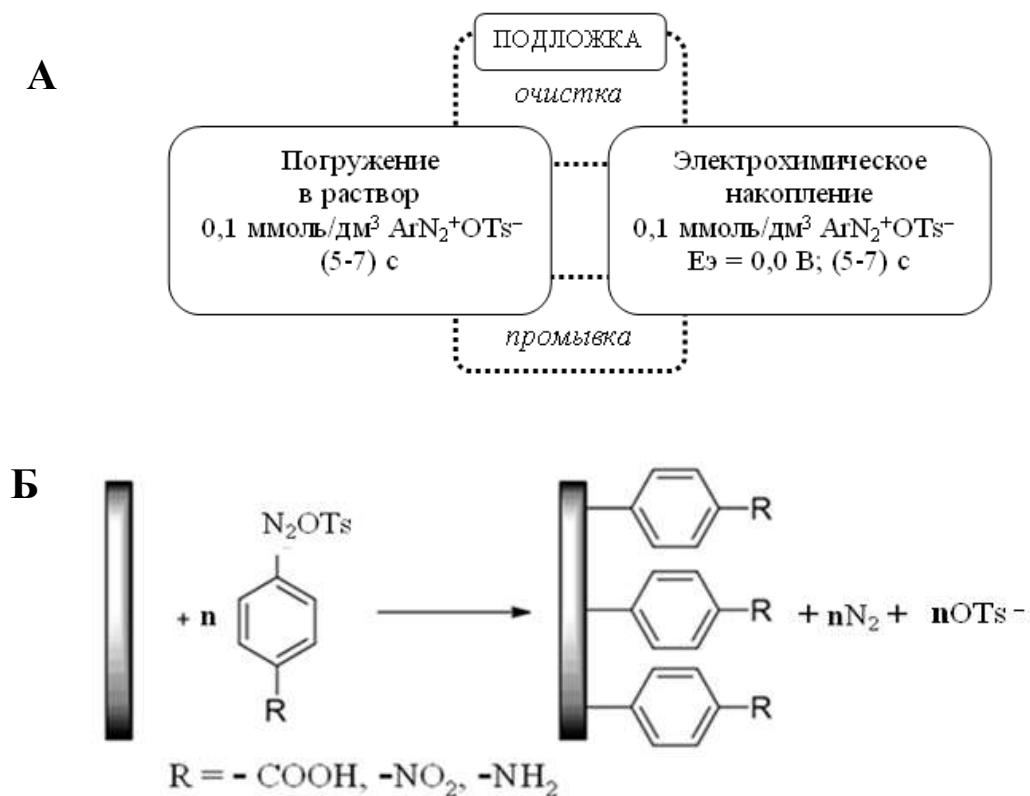


Рисунок 1 – Способы (А) и схема (Б) модификации электрода

Для доказательства наличия модификатора на поверхности ОМЭ использован метод ИК-спектроскопии, получены снимки 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

Минеральная составляющая кормового рациона играет важную роль в организации полноценного кормления животных. Поэтому, для сбалансированного питания, корма обогащают микроэлементами, среди которых значительное место занимают I, Se, Fe, Cu и др. Содержание микроэлементов в кормах регламентируется, т.к. их недостаток или избыток наносит значительный ущерб животноводству.

Для разработки 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 ($\text{Ag}\Theta$) в 0,1 моль /дм³ растворах солей KNO_3 , $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$, $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, 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 $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, который и был использован в дальнейшей работе.

Проведены исследования по выбору соли арилдiazоний тозилата в качестве модификатора. Получены градуировочные зависимости I и Se^{4+} на $\text{Ag}\Theta$, модифицированные солями $\text{ArN}_2^+\text{OTs}^-$ с различными группами заместителей: амино– ($\text{MAg}\Theta\text{-NH}_2$), карбокси– ($\text{MAg}\Theta\text{-COOH}$), нитро– ($\text{MAg}\Theta\text{-NO}_2$) в диапазонах концентраций для йода от 0,003 до 1,2 мг/ дм³ и селена от 0,003 до 1,8 мг/ дм³.

Рассчитаны коэффициенты чувствительности (S , $\text{мА} \cdot \text{дм}^3/\text{г}$). Установлено, что S для 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+} .

На рисунке 2 показаны зависимости тока пика йода и селена от потенциала электролиза и их вольтамперограммы.

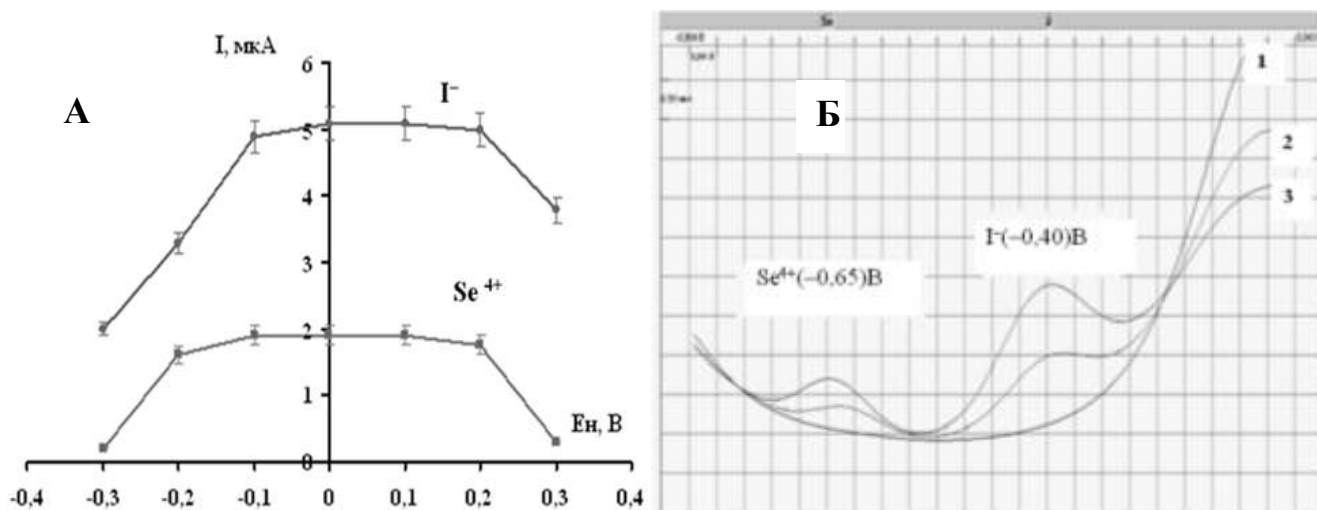


Рисунок 2 – Зависимости тока пика I^- и Se^{4+} от потенциала накопления (А) и вольтамперограммы (Б) при их совместном присутствии

1 – фон: 0,1 М $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$; 2 – $\text{C}_{\text{I}^-} = 0,01 \text{ мг/дм}^3$, $\text{C}_{\text{Se}^{4+}} = 0,01 \text{ мг/дм}^3$

3 – $\text{C}_{\text{I}^-} = 0,02 \text{ мг/дм}^3$, $\text{C}_{\text{Se}^{4+}} = 0,02 \text{ мг/дм}^3$

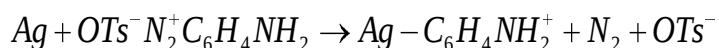
MAgЭ-NH_2 , $E_{\text{э}} = 0,0 \text{ В}$; $\tau = 30 \text{ с}$,

Как видно из рисунка 2 А, на графиках, в диапазоне потенциалов от $-0,8 \text{ В}$ до $+1,8 \text{ В}$, наблюдаются прямолинейные участки, в которых аналитические сигналы микроэлементов максимальны. Эти диапазоны совпадают, что свидетельствует о возможности определении йода и селена при их совместном присутствии. Для дальнейших исследований электрохимического поведения йода и селена выбран потенциал их электролиза $E_{\text{э}} = (0,00 \pm 0,05) \text{ В}$. На вольтамперограммах, полученных при данных условиях (рисунок 2 Б), наблюдаются характерные пики селена и йода при потенциалах $E_{\text{п}}(\text{Se}^{4+}) = -0,65 \text{ В}$, $E_{\text{п}}(\text{I}^-) = -0,40 \text{ В}$.

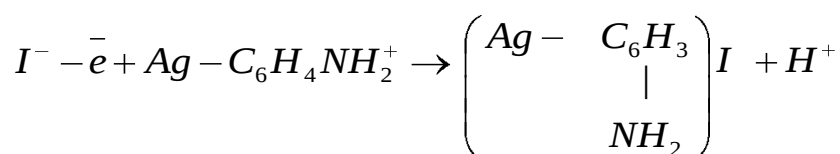
Для изучения механизма электродных реакций проведен расчет кинетических параметров с использованием вращающегося дискового электрода. Как показали результаты исследования, число электронов, принимавших участие в электродном процессе, для йода составляет 0,87, для селена 5,8.

На основании полученных результатов предложен возможный механизм реакций протекающих на MAgЭ-NH_2 с участием $1\bar{e}$ для Γ и $6\bar{e}$ для Se^{4+} :

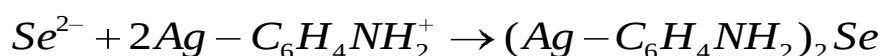
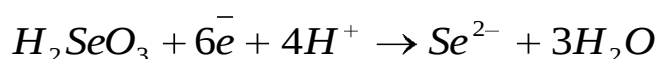
- Электроконцентрирование на поверхности ОМЭ



Йодид-ионов:

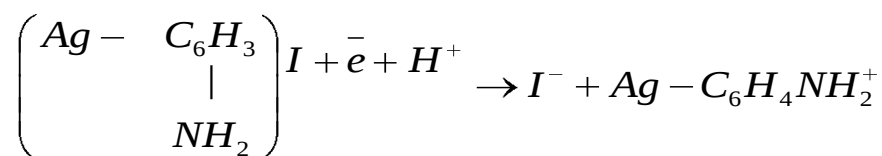


селенит-ионов:

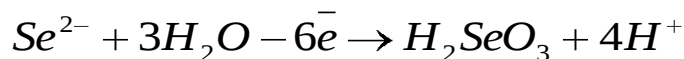
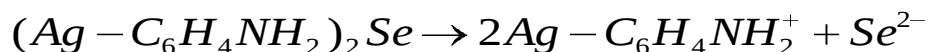


- Электрорастворение осадка с поверхности ОМЭ:

йодид-ионов:



селенит-ионов:



Приведенный выше механизм косвенно подтверждается более ранними работами.

Изучены взаимные влияния аналитических сигналов Se^{4+} и Γ при их совместном присутствии. Установлено, что регистрация аналитических сигналов Se^{4+} допустима в присутствии избытка Γ в 40 раз, а при определении Γ – избытка

Se^{4+} в 200 раз. Определению Γ^- и Se^{4+} не мешают 100 кратный избыток As^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Br^- и Cl^- .

Железо и медь. ВА-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 трилона Б с последующей регистрацией анодных пиков.

При данных 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 (МЗГЭ- NH_2).

Для совместного ВА-определения Fe^{3+} и Cu^{2+} на МЗГЭ- NH_2 проведены исследования по выбору потенциала электролиза.

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

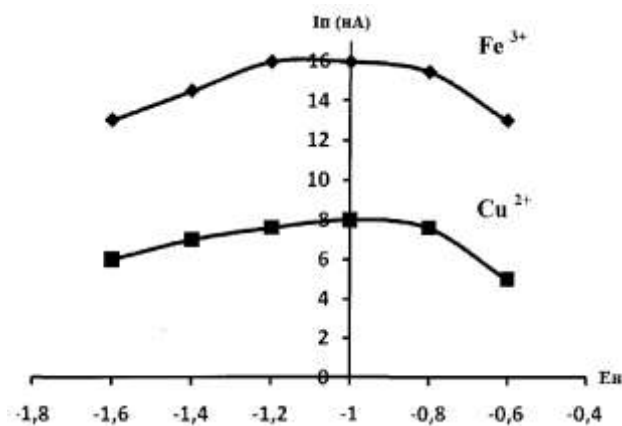


Рисунок 3 – Зависимость тока пика Fe^{3+} и Cu^{2+} от потенциала их накопления на МЗГЭ- NH_2

Фон – 0,02 моль/дм³ трилон Б, $\tau = 60\text{с}$,

$C_{\text{Fe}^{3+}} = 1\text{мг/дм}^3$, $C_{\text{Cu}^{2+}} = 1\text{мг/дм}^3$.

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

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

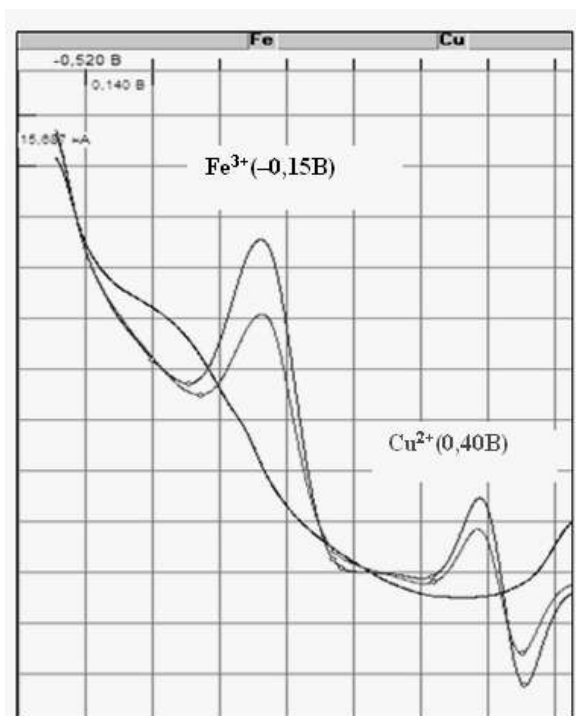


Рисунок 4 – Вольтамперограммы

Fe^{3+} и Cu^{2+} на МЗГЭ- NH_2

1 – фон: 0,02 моль/дм³ трилон Б;

2 – $C_{\text{Fe}^{3+}} = 1 \text{ мг/дм}^3$, $C_{\text{Cu}^{2+}} = 1 \text{ мг/дм}^3$;

3 – $C_{\text{Fe}^{3+}} = 2 \text{ мг/дм}^3$, $C_{\text{Cu}^{2+}} = 2 \text{ мг/дм}^3$.

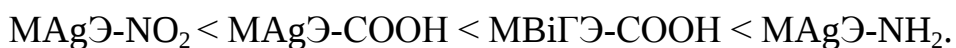
МЗГЭ- NH_2 , $E_{\text{э}} = -1,0 \text{ В}$; $\tau = 30 \text{ с}$

Как видно из рисунка 4, аналитическими сигналами являются величины анодных пиков при потенциалах $(-0,15 \pm 0,05) \text{ В}$ для железа и $(0,40 \pm 0,05) \text{ В}$ для меди, которые пропорционально зависят от концентраций Fe^{3+} и Cu^{2+} .

В ходе исследования установлено мешающее влияние Hg , Pb , Ni , Cd на аналитический сигнал Fe^{3+} и Hg , Zn , Ni , Co на аналитический сигнал Cu^{2+} .

Никель. ВА-метод измерения никеля основан на способности Ni^{2+} накапливаться на поверхности электрода в виде малорастворимого соединения при определенном потенциале на фоне смеси 0,1 моль/дм³ NH_4Cl и 0,1 моль/дм³ диметилглиоксима (ДМГ) с последующей регистрацией катодных пиков.

Проведены исследования по выбору соли арилдиазония с различными группами заместителей ($-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$ и $-\text{NO}_2$) в качестве модификатора. Модификатор наносили на AgЭ и покрытый пленкой висмута графитовый электрод (BiГЭ). Установлено, что чувствительность определения Ni^{2+} на ОМЭ увеличивается в ряду:



На модельных растворах 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 Ni^{2+} от потенциала и времени электролиза (рисунок 5).

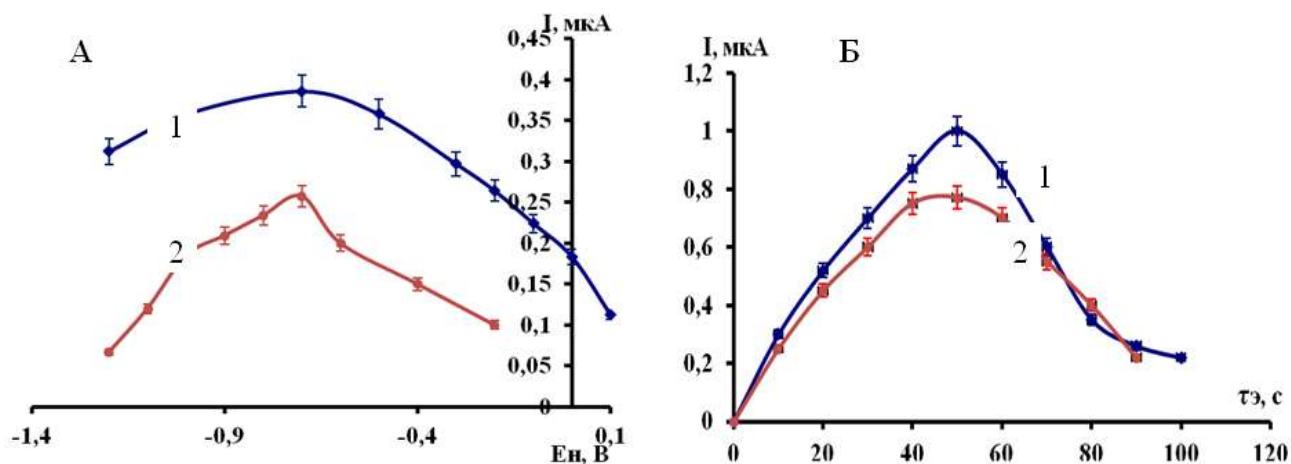


Рисунок 5 – Зависимости тока пика Ni^{2+} на МАгЭ-NH₂ (1) и МВіГЭ-COOH (2) от потенциала (А) и времени (Б) электролиза.

Как видно из рисунка 5 А, максимальные значения тока пика Ni^{2+} на ОМЭ наблюдаются при потенциале накопления $E_z = (-0.7 \pm 0.05)$ В. Оптимальное время электролиза на МАгЭ-NH₂ составляет 60 с и 40 с на МВіЭ-COOH. Дальнейшее увеличение времени электролиза приводит к снижению аналитического сигнала. Возможно, данный эффект обусловлен адсорбцией на границе раздела фаз.

На рисунке 6 представлены вольтамперограммы Ni^{2+} полученные в данных условиях.

Как видно из рисунка 6, аналитическими сигналами Ni^{2+} являются величины катодных пиков при потенциалах $-(1.00 \pm 0.05)$ В и $-(1.10 \pm 0.05)$ В, которые пропорционально зависят от концентрации Ni^{2+} . Для модифицированного ВіГЭ сигнал получен только в отсутствии растворенного в электролите O_2 (рисунок 6 Б).

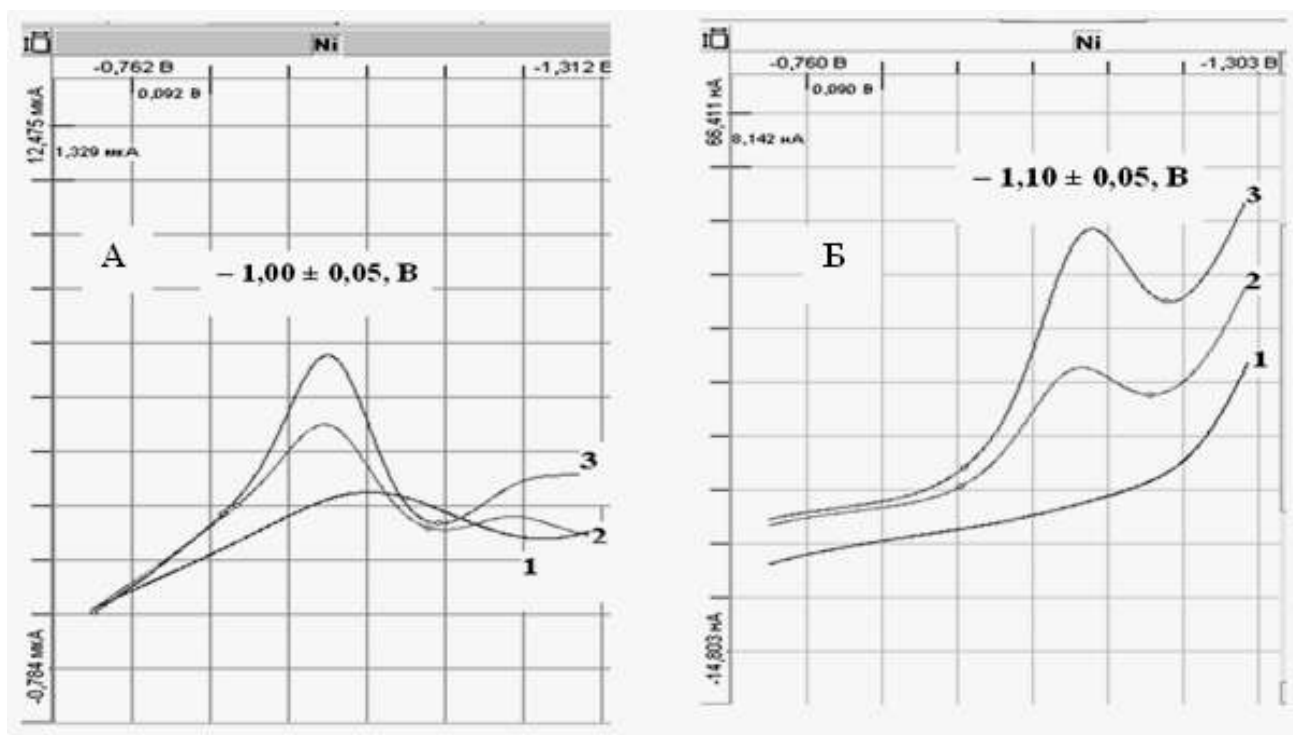


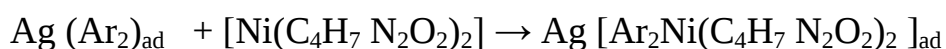
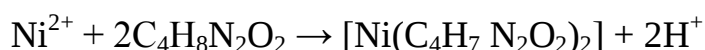
Рисунок 6 – Вольтамперограммы Ni^{2+} на MAgЭ-NH_2 (А) и MBiГЭ-COOH (Б)

$E_{\text{Э}} = -0,7 \text{ В}$; $\tau = 30 \text{ с}$

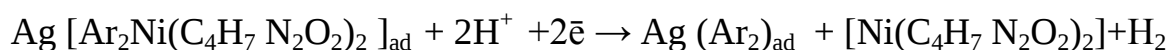
1- фон: $0,1 \text{ М NH}_4\text{Cl} + 0,1 \text{ М ДМГ}$; 2- $C_{\text{Ni}^{+2}} = 0,01 \text{ мг/дм}^3$; 3- $C_{\text{Ni}^{+2}} = 0,02 \text{ мг/дм}^3$

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

1. Адсорбционное концентрирование:



3. Восстановление комплекса



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

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

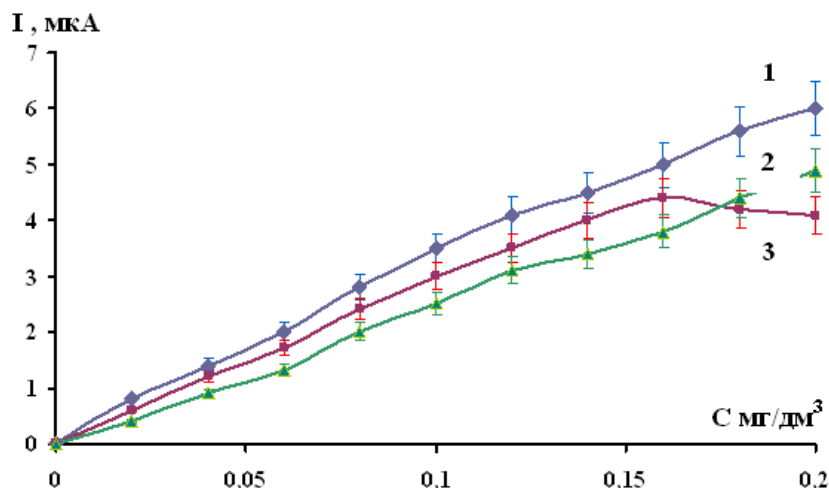


Рисунок 7 – Градуировочные зависимости Ni^{2+}

1. РПЭ,
2. MAgЭ-NH₂,
3. MViЭ-COOH

Как видно из рисунка 7, максимальной чувствительностью и широким диапазоном измеряемых концентраций обладает РПЭ (рисунок 7, график 1), адекватной заменой которому может служить MAgЭ-NH₂ (рисунок 7, график 2) т.к. разница значения тока между ними находится в пределах ошибки измерения. В отсутствии серебряного электрода, в малых диапазонах определяемых концентраций можно использовать MViЭ-COOH (рисунок 7, график 3), но при этом необходимо удалять кислород из фонового электролита.

В ходе исследований установлено мешающее влияние Zn и Pb на аналитический сигнал Ni^{+2} .

Таким образом, наилучшим модификатором для ВА-определения неорганических веществ (I, Se, Fe, Cu и Ni) является арилдиазоний тозилат с -NH₂ группой в качестве заместителя. Использование ОМЭ для ВА-определения As^{3+} 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	MаgЭ-NH ₂		MЭГЭ-NH ₂		MаgЭ-NH ₂	MВЭ-СООН	3ГЭ
-сравнения /вспомогательный	ХСЭ/ХСЭ		ХСЭ		ХСЭ/ХСЭ		ХСЭ
Фоновый электролит	0,1 моль/дм ³ N ₂ H ₄ · Н 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 (Ен), 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 -1,2		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		Ступенчатый		Дифференциально- импульсной		Ступенчатый
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 определения органических веществ

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

Метод ВА-измерения водорастворимых витаминов (В₂, С, В₆) основан на их способности окисляться на СУЭ в течение 30с при определенном потенциале, относительно хлоридсеребряных электродов, на фоне 0,1 моль/дм³ C₄H₅O₆Na·H₂O без удаления кислорода из фонового электролита.

Проведены исследования по выбору потенциала электролиза витаминов С, В₂ и В₆ при их совместном присутствии. Получены зависимости тока пика витаминов от потенциала электролиза и концентраций (рисунок 8).

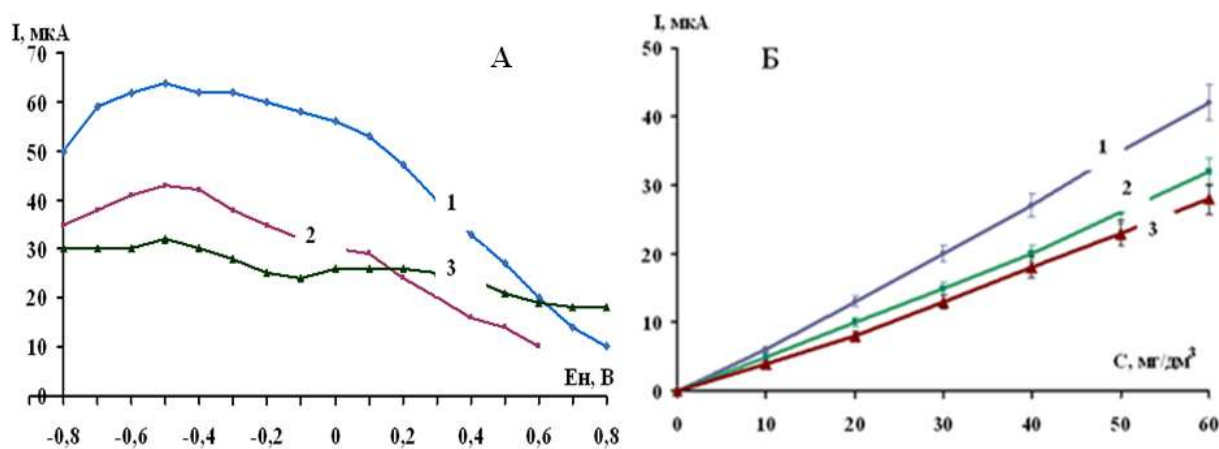


Рисунок 8 – Зависимости тока пика витаминов С (1), В₂ (2) и В₆(3) от потенциала электролиза (А) и концентраций (Б)

Потенциал совместного электролиза витаминов (Еэ = – 0,5В) на СУЭ выбран исходя из зависимостей тока пика витаминов С, В₂ и В₆ от потенциала электролиза (рисунок 8 А). Параметры дифференциально-импульсного режима подобраны экспериментально и составляют: шаг развертки 3 мВ, амплитуда импульса 30мВ,

длительность импульса 40 мс. Регистрацию вольтамперограмм осуществляли со скоростью изменения потенциала $20 \div 35$ мВ/с.

Вольтамперограммы совместного определения витаминов С, В₂ и В₆, полученные в данных условиях, представлены на рисунке 9.

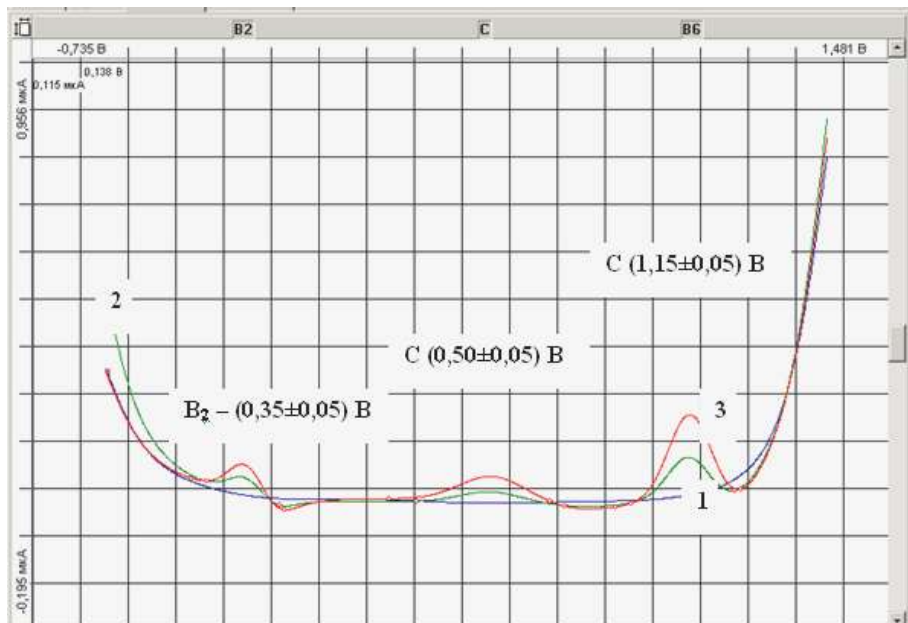


Рисунок 9 – Вольтамперограммы окисления витаминов С, В₂ и В₆ на СУЭ:

$$E_{\text{э}} = -0,7 \text{ В}, \tau = 30 \text{ с}$$

$$1 - 0,1 \text{ моль/дм}^3 \text{ NaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O};$$

$$2 - 2 \text{ мг/дм}^3 \text{ Вит В}_2 + 4 \text{ мг/дм}^3 \text{ Вит В}_6 + 1 \text{ мг/дм}^3 \text{ Вит С}$$

$$3 - 4 \text{ мг/дм}^3 \text{ Вит В}_2 + 8 \text{ мг/дм}^3 \text{ Вит В}_6 + 2 \text{ мг/дм}^3 \text{ Вит С}$$

Как видно из рисунка 9, аналитическими сигналами витаминов являются величины анодных пиков при потенциалах $E_{\text{пВ}_2} = (-0,35 \pm 0,05) \text{ В}$, $E_{\text{пС}} = (0,50 \pm 0,05) \text{ В}$, $E_{\text{пВ}_6} = (1,15 \pm 0,05) \text{ В}$, которые пропорционально зависят от концентраций аттестованных смесей витаминов.

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

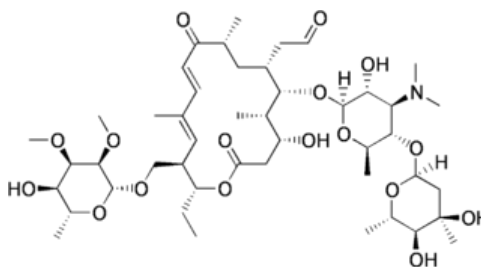
Антибиотики в секторе животноводства, в основном, используют для лечения и профилактики заболеваний. Необоснованное применение антибиотиков, как в ветеринарной практике, так и для повышения продуктивности может

привести к негативным последствиям: аллергические и токсические реакции, подавление защитных механизмов организма животного и т.п. Поэтому, своевременный контроль содержания антибактериальных препаратов является актуальной аналитической задачей, требующей незамедлительного решения.

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.

Электронакопление антибиотиков проводили 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 (Tiltar)



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

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

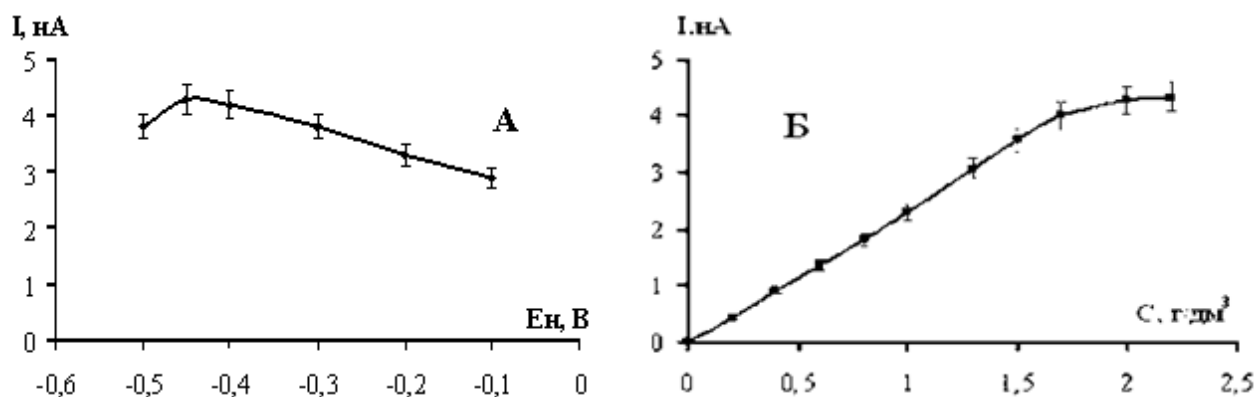


Рисунок 10 - Зависимость тока пика Tiltar от потенциала электролиза (А) и концентрации Tiltar (Б).

Как видно из рисунка 10А, максимальный аналитический сигнал антибиотика наблюдается при потенциале $E_p = -0,3$ В, который и был использован в дальнейшей работе. Линейная зависимость градуировочного графика (рисунок 10 Б) сохраняется в диапазоне концентраций Tiltar ($0,10 \div 1,70$) г/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 рН среды, который оказывает влияние не только на скорость электродного процесса, но и на его механизм. Зависимость потенциала максимума катодного пика Tiltar от рН имеет сложный характер. Изменение рН 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, возможно, 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.

Аналитический сигнал тилозина тартрата, впервые полученный в данных условиях, представлен вольтамперограммой (рисунок 11).

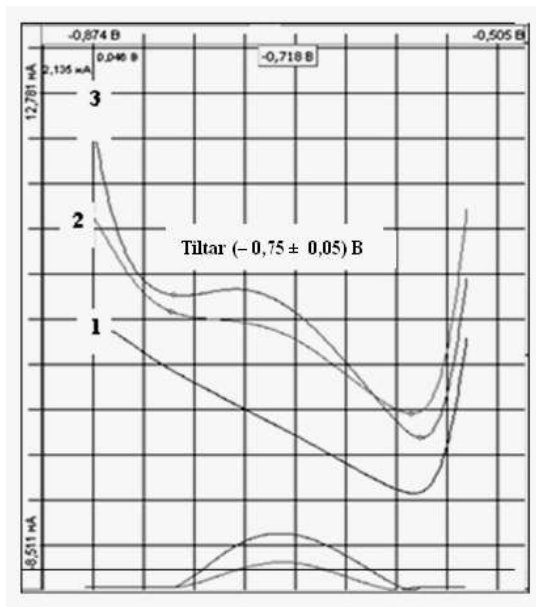


Рисунок 11– Вольтамперограмма
восстановления Tiltar

РПЭ, $\tau_{\text{э}} = 30\text{с}$; $E_{\text{э}} = -0,45\text{ В}$.

1– $0,1\text{ моль /дм}^3\text{ C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot 2\text{HN}_3$, pH 6

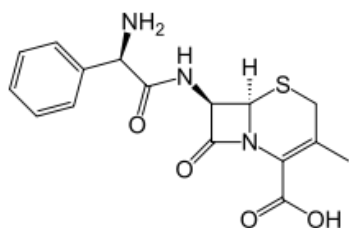
2 – $C_{\text{Tiltar}} = 0,2\text{ г/дм}^3$;

3 – $C_{\text{Tiltar}} = 0,4\text{ г/дм}^3$

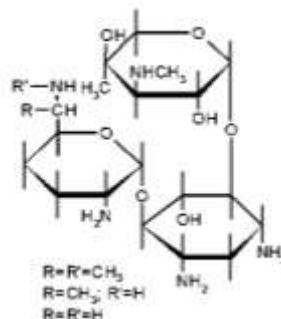
Как видно (рисунок 11, график 2) на вольтамперограмме наблюдается хорошо выраженный сигнал Tiltar при $E_{\text{п}} = -0,75\text{ В}$. При введении добавки аттестованной смеси, аналитический сигнал антибиотика увеличивается пропорционально введенной концентрации (рисунок 11, график 3), что свидетельствует 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 $E_{\text{э}} = -0,35\text{ В}$. Линейная зависимость градуировочного графика сохраняется в диапазоне концентраций от $0,1\text{ г/дм}^3$ до $2,0\text{ г/дм}^3$.

Хорошо воспроизводимые сигналы ГМ регистрируются в 0,1 моль/дм³ растворе натрия виннокислого - кислого ($\text{NaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$) при $E_э = -0,3$ В. Линейная зависимость градуировочного графика сохраняется в диапазоне концентраций от 0,1 г/дм³ до 10,0 г/дм³.

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 рисунке 12.

Как видно из рисунка 12 на вольтамперограммах (графики 2) наблюдаются хорошо выраженные сигналы ЦФ при $E_p = -0,60$ В и ГМ при $E_p = -0,65$ В. При введении добавок аттестованных смесей аналитические сигналы антибиотиков увеличиваются пропорционально введенным концентрациям (графики 3), что свидетельствует о возможности их количественной оценки.

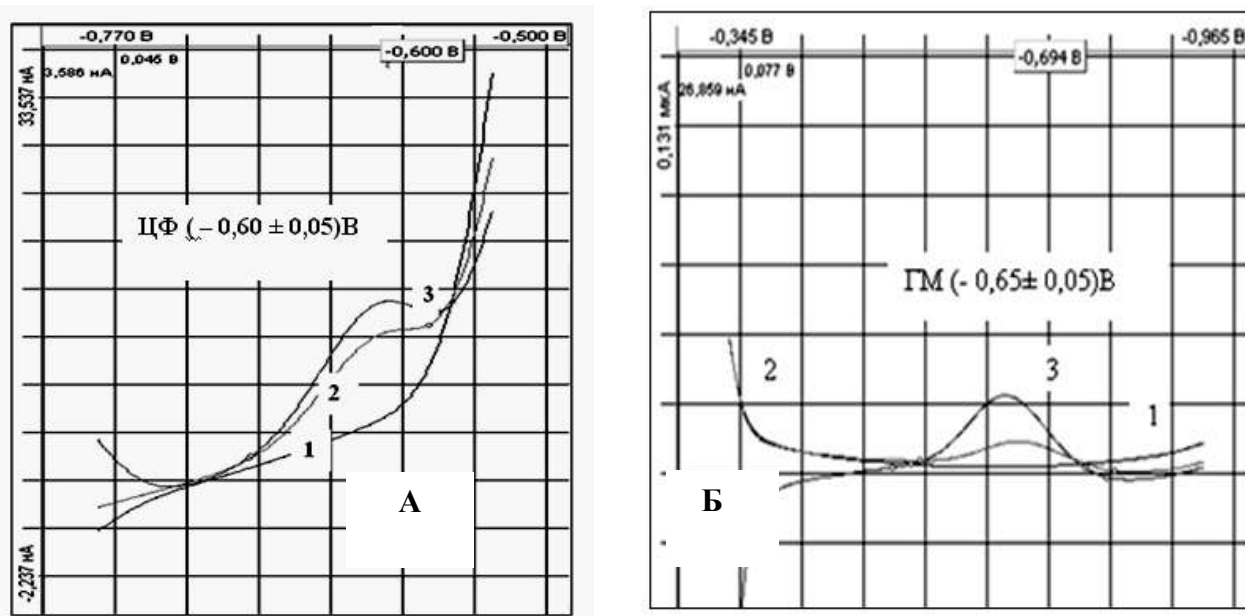


Рисунок 12 – Вольтамперограммы цефалексина (А) и гентамицина сульфата (Б) на РПЭ

1- фон 0,1 М $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, pH 4-5

2 - $C_{\text{ЦФ}} = 0,2$ г/дм³;

3- $C_{\text{ЦФ}} = 0,4$ г/дм³.

$E_э = -0,35$ В, $\tau_э = 30$ с

1- фон 0,1 М $\text{NaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$, pH 5-6

2 - $C_{\text{ГМ}} = 2$ г/дм³;

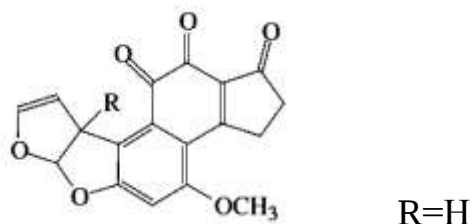
3 - $C_{\text{ГМ}} = 4$ г/дм³.

$E_э = -0,3$ В, $\tau_э = 30$ с;

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

Микотоксины – природные загрязнители зерна, 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.

Афлатоксин В1 (Афл В1).



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: стеклоуглеродный, углеситалловый и графитовый, пропитанный полиэтиленом с парафином в вакууме. Максимальная величина и лучшая воспроизводимость аналитического сигнала Афл В1 получена на стеклоуглеродном электроде (СУЭ), который и был выбран в качестве индикаторного.

С целью получения аналитического сигнала Афл В1, на СУЭ исследованы 0,1 моль/дм³ растворы: NH_4ClO_4 , Na_2HPO_4 и универсальная буферная смесь Бриттона-Робинсона (**УБС**). По лёгкости окисления Афл В1 фоновые электролиты образуют следующий ряд: $\text{NH}_4\text{ClO}_4 < \text{Na}_2\text{HPO}_4 < \text{УБС}$.

Каждый из представленных фоновых электролитов можно использовать для количественного определения Афл В1 (рисунок 13).

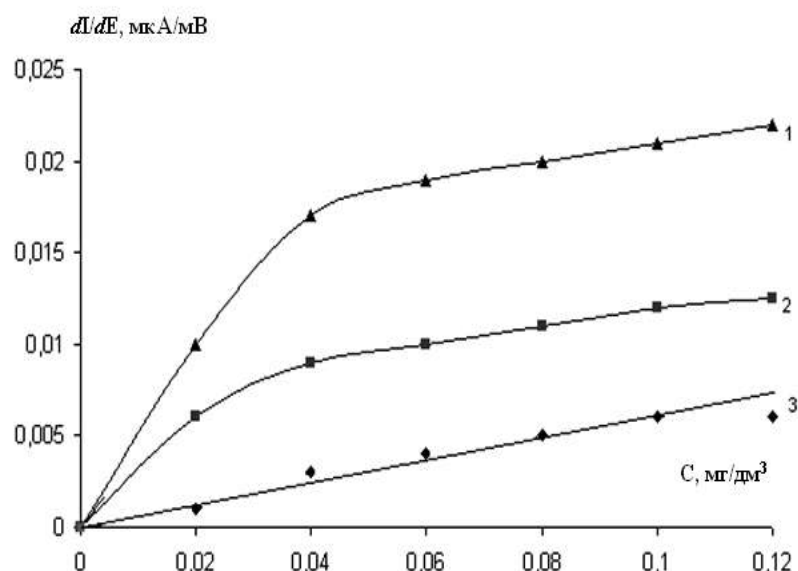


Рисунок 13 – Градуировочные зависимости электроокисления Афл В1 на различных фоновых электролитах, полученные на СУЭ:

1 – Na_2HPO_4 , 2 – УБС (pH 5,33), 3 – NH_4ClO_4

Более чувствительный аналитический сигнал был получен на 0,1 М Na_2HPO_4 . Поэтому в диапазоне малых концентраций (до 0,015 мг/дм³) перспективнее использовать в качестве фонового электролита Na_2HPO_4 (рисунок 13, график 1) или УБС (pH 5,33) (рисунок 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 (рисунок 13, график 3).

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

Как видно из рисунка 14 А, максимальный аналитический сигнал микотоксина наблюдается при потенциале электролиза $E_z = 0,0$ В, который и был использован в дальнейшей работе. Увеличение времени электролиза более 40 с не эффективно, т.к. зависимость (рисунок 14 Б) выходит на предел, что, по-видимому, связано с насыщением поверхности индикаторного электрода.

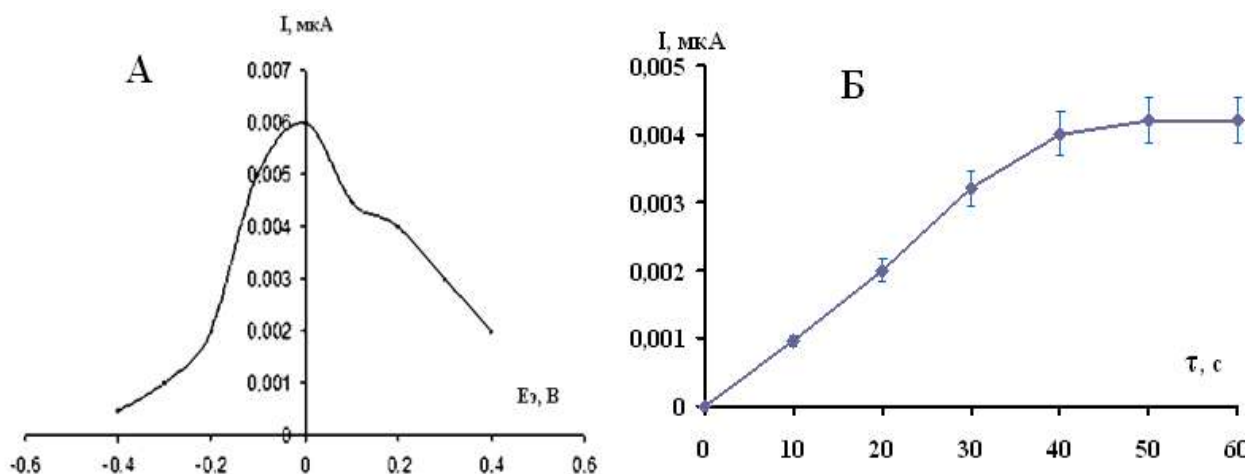


Рисунок 14 – Зависимость тока пика Афл В1 от потенциала (А) и времени (Б) электролиза

На рисунке 15 приведена вольтамперограмма афлатоксина В1, полученная в данных условиях.

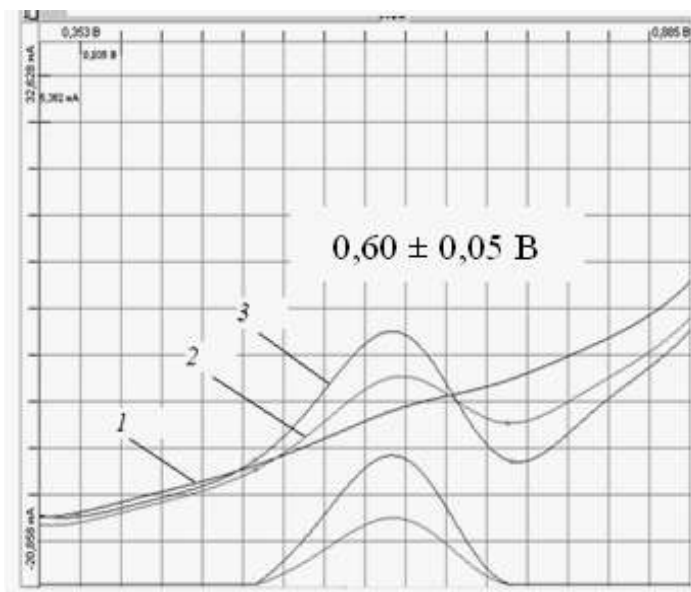


Рисунок 15 – Вольтамперограмма окисления Афл В1

1 – фон 0,1 моль/дм³ NH_4ClO_4 ;

2 – $C_{\text{АфлВ1}} = 0,005$ мг/дм³;

3 – $C_{\text{АфлВ1}} = 0,01$ мг/дм³.

СУЭ, $w = 30$ мВ/с, $\tau = 30$ с, $E_0 = 0,0$ В

Как видно (рисунок 15, график 2), на вольтамперограмме наблюдается хорошо выраженный сигнал Афл В1 при потенциале $E_p = 0,60$ В. При введении добавки аттестованной смеси аналитический сигнал микотоксина увеличивается пропорционально введенной концентрации (рисунок 15, график 3), что свидетельствует о возможности его количественной оценки.

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

Таблица 2 - Рабочие условия ВА-определения органических веществ

Параметры измерения	Значения параметров						
	Витамины			Антибиотики			Микотоксины
	B ₃	C	B ₆	Tiltar	ЦФ	ГМ	
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 NaCl·H ₂ O			0,1 моль/дм ³ C ₆ H ₅ O ₇ ·2HN ₃ pH 4-5	0,1 моль/дм ³ Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ , pH 5-6	0,1 моль/дм ³ NaC ₄ H ₄ O ₆ ·H ₂ O pH 6	0,1 моль/дм ³ NH ₄ ClO ₄ pH 2-3
Удаление кислорода	нет			N ₂	N ₂	N ₂	нет
Потенциал накопления (Ен), В	-0,50 ± 0,05			- 0,45 ± 0,10	- 0,35 ± 0,10	- 0,3 ± 0,1 В	0,0 ± 0,1
Диапазон развёртки потенциалов (Ер), В	-1,0 до 1,2			- 0,45 до -1,0	- 0,35 до -1,0	- 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 ± 0,10	0,5 ± 0,1	1,1 ± 0,1	- 0,75 ± 0,10	- 0,6 ± 0,1	- 0,65 ± 0,10	0,6 ± 0,1

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 представлены результаты исследований по разработке новых и оптимизации известных способов пробоподготовки кормов и кормовых добавок с учетом особенностей определения неорганических элементов и органических веществ, 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 использование УЗ для интенсификации ПП приводит к ускорению разложения 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 лабораторная установка для отгонки и способы ПП, исключаяющие стадию минерализации для ВА-определения общего содержания элементов в исследуемых объектах.

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

В работе показано влияние физических воздействий (УЗ, МВ и $t^{\circ}\text{C}$) и химических реагентов на выход растворимых форм элементов в экстракт.

Установлено, что применение замораживания, УЗ- и МВ- обработок увеличивают выход растворимых форм Se в экстракт до 77%, в сравнении с обычным настаиванием – 73%. По-видимому, такой эффект получен за счет

усиленных процессов массопереноса, диффузии, разрыва клеток и разрушения селенсодержащих белков. Напротив, повышение температуры снижает 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.

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 бидистил. + 0,05 мг/кг Se (IV)	$0,049 \pm 0,005$	$0,048 \pm 0,005$
Вода бидистил. + 0,10 мг/кг Se (IV)	$0,096 \pm 0,009$	$0,097 \pm 0,009$
Вода бидистил. + 0,20 мг/кг Se (IV)	$0,20 \pm 0,02$	$0,19 \pm 0,02$
Экстракт травы донника лекарственного	$1,4 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,1$
Экстракт мяты перечной	$0,056 \pm 0,005$	$0,052 \pm 0,005$

Для более полного извлечения селена, предложены методики экстракций кислотами (HCl , лимонная кислота) и ферментными препаратами (протосубтилин ГЗх, целловиридин ГЗх), которые увеличивают выход общего селена в жидкую фазу до 85%. Возможно, протонирование форм элемента, ферментативное расщепление белковых структур и клеточных мембран способствовало извлечению неорганических и низкомолекулярных органических форм селена в экстракт.

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: время, температура экстракции и подобран осадитель органических веществ (ОВ). В зависимости от

увеличения выхода растворимых форм йода в экстракт, 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 – $(20-30)^\circ C$, 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 предложен **метод ионообменной хроматографии** с применением сильноосновного анионита АВ-17-8 в CH_3COO^- - форме и сильнокислотного катионита КУ-2-8 в H^+ - форме. В ходе исследования установлено, что Se^{4+} количественно поглощается анионитом и практически не сорбируется катионитом при заданных значениях pH. Селен в органической форме, наоборот, поглощается на катионообменнике, а при прохождении раствора через колонку с анионитом переходит в фильтрат (рисунок 16).

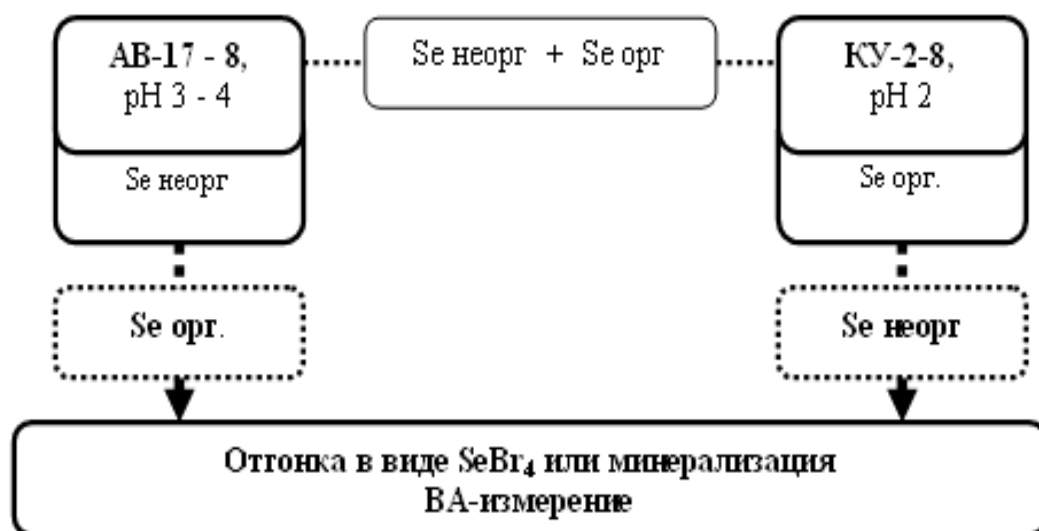


Рисунок 16 – Схема ионного обмена для определения органических и неорганических форм Se

Для определения форм селена в объектах АПК, 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* pH 3-4	на КУ-2-8** pH 2
Донник лекарствен.	$1,9 \pm 0,4$	$1,4 \pm 0,3$	$0,9 \pm 0,2$	$0,45 \pm 0,09$
Мята перечная	$0,08 \pm 0,02$	$0,06 \pm 0,01$	$0,036 \pm 0,008$	$0,019 \pm 0,005$
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 исследованы природные сорбенты: полифепан, сорбент на основе торфа и активированный уголь. При сравнении емкостей поглощения установлено, что наилучшей сорбционной способностью органических форм элементов 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, pH элюента (6-8). На основании полученных результатов разработан алгоритм ПП для определения общего содержания йода и селена и их форм применительно к методам ВА (рисунок 17).

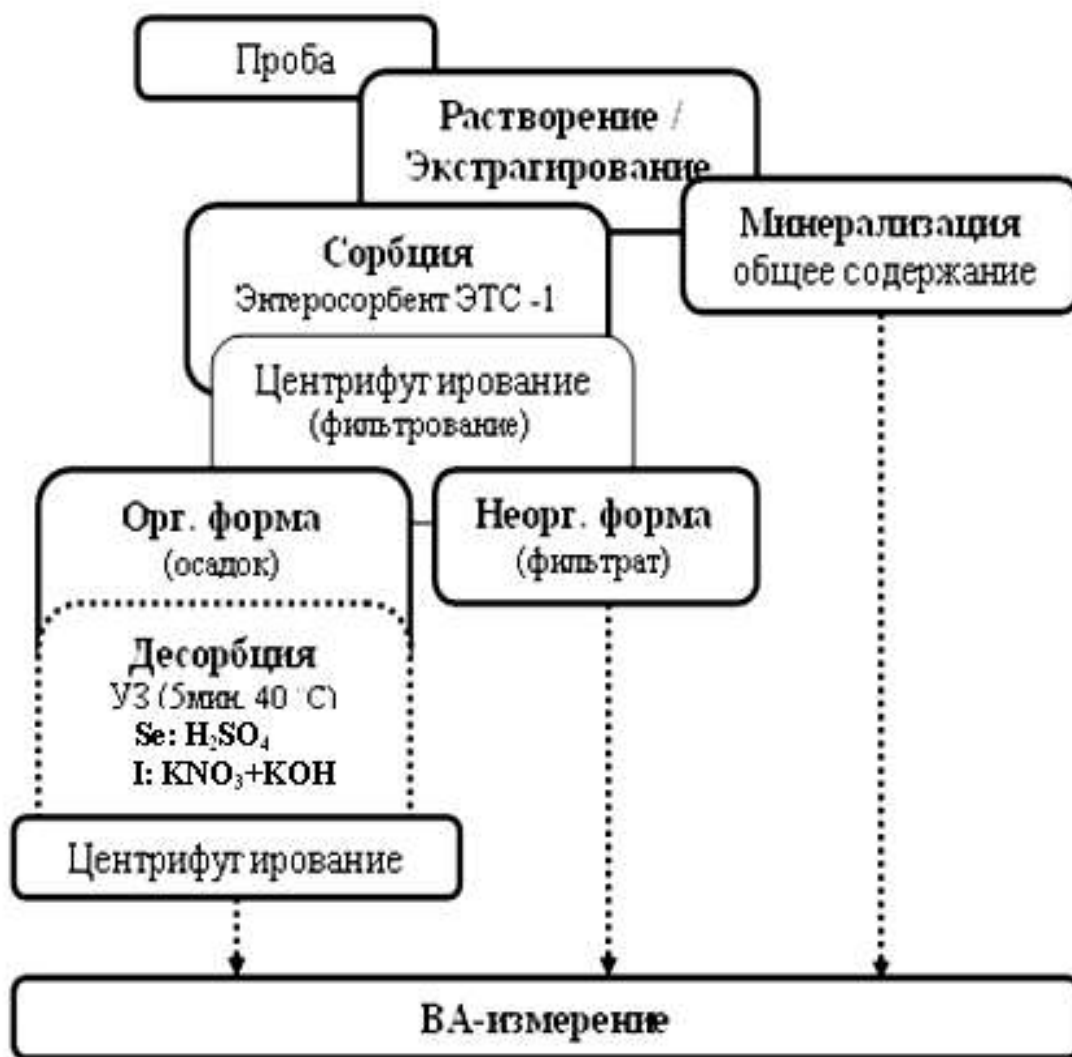


Рисунок 17 – Общая схема пробоподготовки для ВА-определения форм йода и селена

Как показано на схеме (рисунок 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. 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 ⁻	1,0±0,2	1,0 ±0,2	0,29 ±0,06	0,7±0,1
Соя	0,09± 0,02	0,09 ± 0,02	0,5 ±0,1	0,039 ±0,008
Соя + 1,0 мг/кг Иорг +0,1 мг/кг I ⁻	1,2±0,2	1,2 ±0,2	1,0 ±0,2	1,0 ± 0,2
Шрот	0,17±0,03	0,17 ±0,03	менее 0,03	0,17 ± 0,03
Шрот + 0,6 мг/кг Иорг + 5,0 мг/кг I ⁻	6±1	6 ±1	0,6 ±0,1	5 ±1
Рыбная мука	0,25±0,06	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±1	6 ±1	5 ±1	1,0 ± 0,2

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	1,1 ± 0,1	1,4 ± 0,2	2,5 ± 0,3
Обрат сухой	1,1 ± 0,1	Менее 0,05	0,9±0,1	1,0 ± 0,1
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	2,5 ± 0,3
БАД "Сел-Плекс"	122 ± 11	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 микотоксина предложен общий алгоритм ПП, основанный на растворении пробы в подходящем растворителе, с последующим отделением матрицы. Пробы, содержащие антибиотики и витамины С и В₆ растворяют в воде, В₂ – в слабощелочном водном растворе, Афл В1 – в этиловом спирте. При необходимости протеин и наполнитель осаждают ZnSO₄. Используя данный алгоритм ПП, проведен анализ реальных объектов, результаты представлены в таблице 7.

На основании полученных результатов предложен общий подход к разработке алгоритмов пробоподготовки для анализа кормов и кормовых добавок (рисунок 19), суть которого заключается в следующем:

- **При определении общего содержания микроэлементов** используют полное разложение матрицы (мокрая минерализация), отгонку легколетучих соединений компонента, либо экстракцию кислотами или ферментами. Для интенсификации процесса применяют физические воздействия (МВ, УЗ, t°С).

- **При определении форм элементов** (неорганических или органических) концентрирование и/или выделение аналита проводят на ионообменных смолах

(ионный обмен) или на сорбенте (твердофазная экстракция), с последующей десорбцией определяемого компонента подходящим элюентом. Для интенсификации процесса десорбции применяют физические воздействия.

- При определении органических веществ (витаминов, антибиотиков и микотоксина), после растворения пробы, удаляют матрицу (чаще всего наполнители, либо белковые соединения) отстаиванием, центрифугированием или высаливанием.

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

Таблица 7 – Результаты ВА-определения водорастворимых витаминов (В₂, В₆, С), антибиотиков (тилозина тартрата, гентамицина сульфата, цефалексина) и Афл В1

Объект	Аналит	Содержание	
		На упаковке производителя (в пробе)	Найдено
БМВД «Рігімах №5220» Украина	В2, г/кг	38	39 ± 4
	В6, г/кг	16	15 ± 2
ВМД «Хрюша» ООО «Агровит»	В2	0,20 г/кг	0,19± 0,04
	С	10 г/кг	10 ± 2
Премикс ПКК1-2 ЗАО «Витасоль», г. Боровск	В2	0,30 г/кг	0,25 ± 0,04
	В6	0,20 г/кг	0,23 ± 0,05
«Фармазин» «HUPERPHARMA», Болгария	Тилозин тартрат	0,50 г/г	0,48 ± 0,04
«Цефалекс», «SP Veterinaria, SA», Испания	Цефалексин	0,50 г/г	0,51± 0,04
«Гентамицин» ООО «КРК d.d.», Словения	Гентамицина сульфат	0,10 г/г	0,11± 0,02
Отруби диетические пшеничные	Афл В1, мг/кг	(0,009)	0,010 ± 0,003
Модельный раствор	Афл В1, мг/ дм ³	(0,020)	0,018 ± 0,007
		(0,040)	0,039 ± 0,001
		(0,060)	0,055 ± 0,006

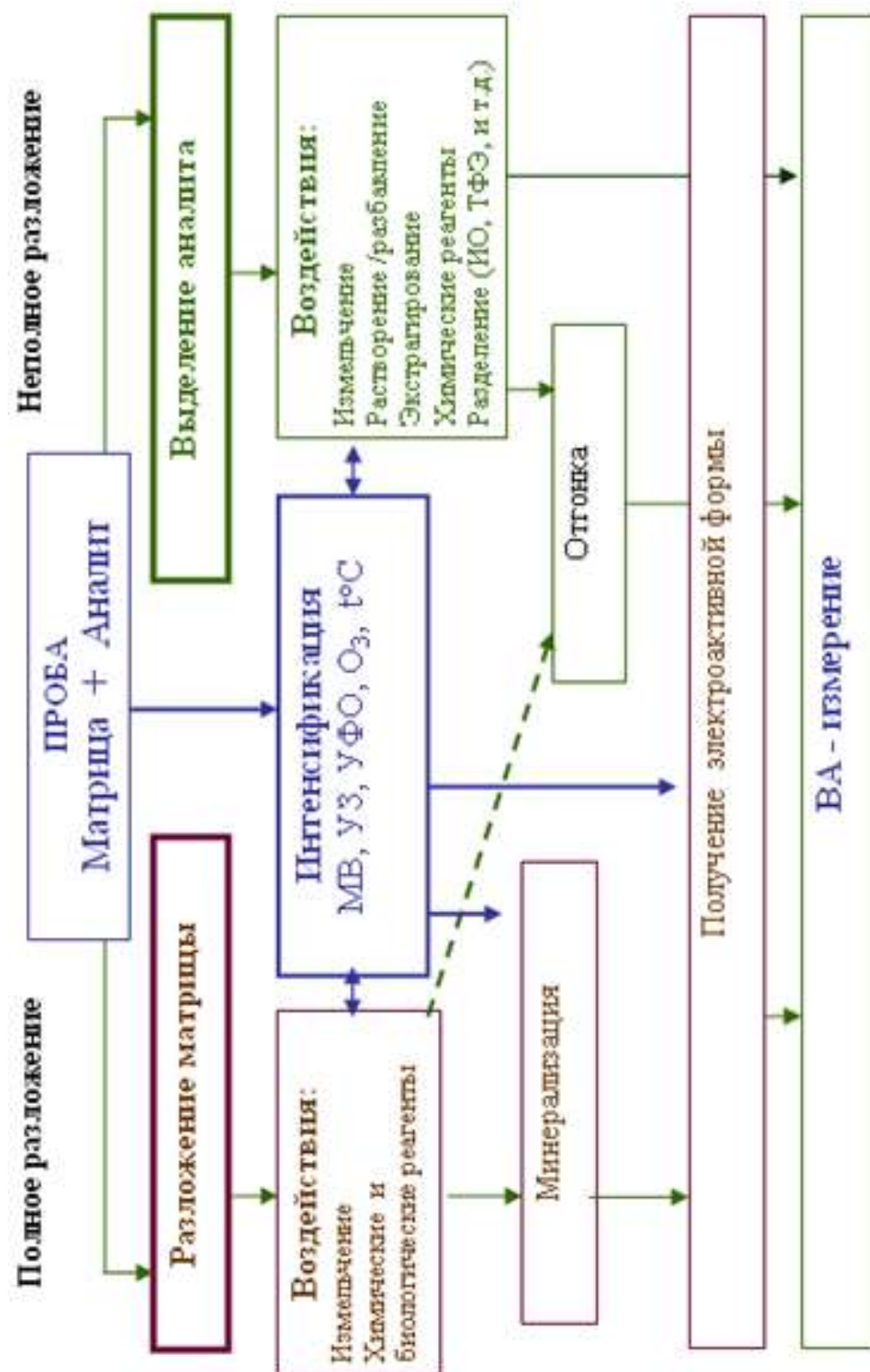


Рисунок 19 – Общая схема пробоподготовки кормов и кормовых добавок с учетом особенностей определения неорганических элементов и органических веществ методами ВА

На основании полученных результатов разработаны 8 методик анализа различных типов вод, кормов и кормовых добавок, которые прошли метрологическую аттестацию в аккредитованной метрологической службе ТПУ, из них 5 методик внесены в Государственный Реестр методик выполнения измерений, применяемых в сферах распространения государственного метрологического контроля и надзора. Получено 2 патента РФ на изобретения.

В сравнении с ГОСТ Р, предлагаемые методики отличаются экспрессностью, экологической безопасностью и невысокой стоимостью анализа.

Применение автоматизированного блока пробоподготовки, опытный образец которого успешно прошел испытания, позволяет разделять формы элементов (органические, неорганические, летучие, растворимые), что значительно сокращает и упрощает процедуру пробоподготовки кормов и кормовых добавок. Предлагаемый блок пробоподготовки, несомненно, также найдет применение в анализе пищевых продуктов и экологических объектов.

ВЫВОДЫ

1. 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 $-NH_2$ и $-COOH$ – заместителями. Подобраны условия модифицирования поверхностей серебряного и золото-графитового электродов, позволяющие улучшить метрологические показатели вольтамперометрических методик определения Se, I, Fe, Cu, Ni. Рассмотрены варианты электрохимических реакций протекающих на органо-модифицированных электродах.

2. Разработаны новые и оптимизированы известные способы ВА - определения ряда микроэлементов и их форм, водорастворимых витаминов, антибиотиков широкого спектра действия и микотоксина. Выбраны условия получения аналитических сигналов микроэлементов (Se, I, Fe, Cu, Ni), витаминов (B_2 , C, B_6), антибиотиков (гентамицина сульфата, тилозин тартрата, цефалексина),

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

3. 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.

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

5. 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., профессору 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 ФГАОУ ВО НИ ТПУ за предоставленные соли диазония и консультации при проведении 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. Deryabina, V.I. Optimization of the voltammetric determination of arsenic in foodstuffs/ E.A. Zakharova, V.I. Deryabina, G.B Slepchenko // Journal of Analytical Chemistry . – 2005 - Vol. 60 - №. 10. - p. 571-575.
3. Дерябина, В. И. Исследование вольтамперометрического поведения йода и селена на новых органо-модифицированных электродах. Разработка методики их определения / В.И. Дерябина, Г.Б.Слепченко, Фам Кам Ньунг, Хо Ши Линь // Журнал аналитической химии. – 2013. – Т. 68, № 10 – С. 991-995.
4. Deryabina, V. I. Voltammetry behavior of iodine and selenium on new organo-modified electrodes: development of a procedure for the determination of iodine and selenium/ V. I.Deryabina , G. B. Slepchenko, C.N. Pham, S. L. Kho // Journal of Analytical Chemistry . - 2013 - Vol. 68 - №. 10. - p. 896-899
5. 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.
6. 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 // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2006.– Т. 72, № 1. – С. 3-7.
7. 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.
8. Дерябина, В. И. Определение неорганических и органических форм йода в кормах методом вольтамперометрии / В. И. Дерябина, Г. Б. Слепченко, Фам Кам

- Ньюнг, Л. А. Малиновская // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2013. – Т.79, №5. – С. 23-26.
9. Дерябина, В.И. Электрохимические сенсоры в анализе биологических объектов и лекарственных препаратов/ Т.М Гиндуллина., Г.Б Слепченко., В.И. Дерябина, Е.А. Нестеров // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2014.– Т.80, № 7. – С.7-13.
10. 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.
11. Дерябина, В.И. Применение арилдиазоний тозилатов для поверхностной модификации электродов при определении неорганических элементов методами вольтамперометрии / В.И. Дерябина, Г.Б. Слепченко, Т.И. Щукина // Современные проблемы науки и образования.– 2014. – № 1; URL: <http://www.science-education.ru/115-12047> (дата обращения: 11.02.2014).
12. Дерябина, В.И. Совместное определение водорастворимых витаминов группы В и С/ В.И. Дерябина, Е.В. Михеева, Г.Б. Слепченко, Т.И. Щукина // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 2; URL: <http://www.science-education.ru/116-12282> (дата обращения: 05.03.2014).
13. Дерябина, В. И. Функциональные напитки антиоксидантного действия / Е.В. Шигина, Л.А. Маюрникова, Г.А. Гореликова, А.В. Пермякова, В.И. Дерябина // Пиво и напитки. – 2006. – № 4. – С. 41-43.
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. Новый подход к решению проблемы получения функциональных напитков антиоксидантного действия/ Е.В. Шигина, Л.А. Маюрникова, Г.А. Гореликова, А.В. Пермякова, В.И. Дерябина // Пиво и напитки. – 2007. – № 4. – С. 17-19.
16. Дерябина, В.И. Вольтамперометрический контроль растительного сырья и БАД на содержание общего селена с использованием отгонки SeBr_4 / Дерябина В.И.,

- Захарова Э.А., Слепченко Г.Б. //Хранение и переработка сельхозсырья. –2009. –№ 8. –С. 47-49.
17. 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.
18. Дерябина, В. И. Характеристика низинных торфов Западной Сибири / В. И. Дерябина, Л. А. Малиновская // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – № 12. – С. 36-38.
19. 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.
20. 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.
21. Дерябина, В.И. Метод вольтамперометрии для определения цефалексина в лекарственных препаратах, применяемых в ветеринарии / В.И. Дерябина, Фам Кам Ньунг, Ю.А. Акенеев, Т.И. Щукина, Д.Н. Сафонов // Достижения науки и техники АПК. – 2013. – № 10. – С. 49-51.
22. Дерябина, В.И. Вольтамперометрический способ определения тилозина тартрата в лекарственных препаратах, применяемых в ветеринарии/ В.И. Дерябина, Фам Кам Ньунг, Ю.А. Акенеев, Д.Н. Сафонов // Достижение науки и техники АПК. –2014.– №3. –С.72-74.
23. 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.

24. 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.
25. Пат. 2459199 Российская Федерация. 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.
26. Пат. 2504761 Российская Федерация. Способ количественного определения никеля методом инверсионной вольтамперометрии на органо- модифицированном электроде / Дерябина В.И., Слепченко Г.Б., Фам Кам Ньунг, Л.А. Малиновская.; заявитель и патентообладатель Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Национальный исследовательский Томский политехнический университет" – № 2012129615/28; заявл 12. 07.2012; опубл. 20.01.2014, Бюл. №2. – 8 с.
27. Дерябина, В.И. Современный подход к вольтамперометрическому анализу селеносодержащих препаратов/ И.О Максимчук., Е.Г. Черемпей, В.И. Дерябина, Г.Б. Слепченко// Сб. тезисов докладов научно-практической конференции «Новые химико-фармацевтические технологии»– М.: РХТУ им. Д.И.Менделеева, 2014, С. 104- 107.
28. Дерябина, В.И. Инверсионная вольтамперометрия йода на органо-модифицированных электродах / Г.Б Слепченко, В.И. Дерябина, Фам Кам Ньунг, Хо Ши Линь, М.Е. Кириллова // Материалы. I-я Международная Российско-Казахстанская конференция по химии и химической технологии. - Томск, 2011. - С. 506-509.

