

Анализ вещества

Substances analysis

DOI: <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2020-86-9-5-13>**МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПЛАНАРНЫЕ СЕНСОРЫ
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ЦЕФАЛОСПОРИНОВЫХ
АНТИБИОТИКОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДАХ**

© Елена Григорьевна Кулапина^{1*}, Ольга Ивановна Кулапина²,
Влада Денисовна Анкина², Сергей Борисович Орлов²

¹ Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83; *e-mail: kulapinaeg@mail.ru

² Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112; e-mail: olgakulapina@mail.ru; vlada.ankina@mail.ru

*Статья поступила 20 марта 2020 г. Поступила после доработки 8 июня 2020 г.
Принята к публикации 24 июня 2020 г.*

Экспрессное определение цефалоспориновых антибиотиков в биологических жидкостях необходимо для оценки физиологических и биохимических процессов, протекающих в организме. Разработаны планарные немодифицированные и модифицированные полианилином (0,3 – 1 %), наночастицами NiZnFeO и их бинарными смесями потенциометрические сенсоры различных типов на основе ассоциатов тетрадециламмония (ТДА) с комплексными соединениями серебра(I) — β -лактама, чувствительные к цефазолину (Cef), цефуроксиму (Cefur) и цефтриаксону (Ceftr). В сенсорах I типа электродно-активные компоненты (ЭАС) и модификаторы вносили в углеродсодержащие чернила, в сенсорах II типа использовали поливинилхлоридные пластифицированные немодифицированные и модифицированные мембраны на основе $[\text{Ag}_2(\text{Ceftr})_2]_2 \cdot 2\text{ТДА}$. Оценены электроаналитические и операционные характеристики немодифицированных и модифицированных планарных сенсоров в водных растворах цефазолина, цефуроксима, цефтриаксона и на фоне ротовой жидкости. Показано, что введение модификаторов в углеродсодержащие чернила сенсоров приводит к стабилизации их потенциала, увеличению угловых коэффициентов электродных функций, снижению предела обнаружения антибиотиков до $1,7 \cdot 10^{-5}$ моль/л, уменьшению времени отклика и дрейфа потенциала. Наиболее эффективным модификатором оказались наночастицы NiZnFeO. Для сенсоров II типа электродные функции линейны в интервале концентраций $3,1 \cdot 10^{-5} - 0,1 \cdot 10^{-1}$ моль/л цефтриаксона. В зависимости от содержания ЭАС в фазе мембран немодифицированных планарных сенсоров угловые коэффициенты электродных функций изменяются в пределах 25 – 27 мВ/рС и соответствуют нернстовским значениям для двухзарядных ионов. Интервалы линейности электродных функций сенсоров идентичны при всех исследуемых концентрациях ЭАС; с увеличением $S_{\text{ЭАС}}$ уменьшаются дрейф потенциала и время отклика. Разработанные планарные сенсоры использовали для определения цефалоспориновых антибиотиков в модельных водных растворах, лекарственных препаратах и ротовой жидкости.

Ключевые слова: цефазолин; цефуроксим; цефтриаксон; потенциометрический сенсор; полианилин; наночастицы; лекарственные и биологические среды.

**MODIFIED PLANAR SENSORS FOR DETERMINATION OF SOME
CEPHALOSPORIN ANTIBIOTICS IN BIOLOGICAL AND MEDICINAL MEDIA**

© Elena G. Kulapina^{1*}, Olga I. Kulapina², Vlada D. Ankina², Sergey B. Orlov²

¹ N. G. Chernyshevsky Saratov National Research State University, 83 Astrakhanskaya ul., Saratov, 410012, Russia; *e-mail: kulapinaeg@mail.ru

² V. I. Umumovsky Saratov State Medical University, 112 Bol'shaya Kazach'ya ul., Saratov, 410012, Russia; e-mail: olgakulapina@mail.ru; vlada.ankina@mail.ru

Received March 20, 2020. Revised June 8, 2020. Accepted June 24, 2020.

Pluripotential cephalosporin antibiotics of different generations active against Gram-negative bacteria are used when treating urinary tract infections, mild and moderate pyelonephritis, acute otitis in children,

etc. Rapid determination of cephalosporin antibiotics in the biological fluids is important to evaluate physiological and biochemical processes resulting from their metabolism in a human organism. Planar potentiometric sensors of different types — unmodified and modified with polyaniline (0.3–1%), NiZnFeO nanoparticles, and their binary mixes — are developed on the basis of associates of tetradecylammonium (TDA) with complex compounds silver (I) — β -lactam $[\text{Ag}(\text{I}) - (\beta\text{-lac})_2]$ which are sensitive to some cephalosporin antibiotics, i.e., cefazoline (Cef), cefuroksime (Cefur) and ceftriaxone (Ceftr). In the sensors of type I, electrode-active components (EAC) and modifiers were added to carbon-containing ink, whereas in type II sensors the polyvinylchloride plasticized unmodified and modified membranes based on $[\text{Ag}_2(\text{Ceftr})_2]_2 \cdot 2\text{TDA}$ were used. Electroanalytic and operational characteristics of unmodified and modified planar sensors in aqueous solutions of cefazoline, cefuroxime, ceftriaxone and against the background of oral fluid were estimated. It is shown that introduction of the modifiers into sensor membranes leads to stabilization of their potential, increases angular coefficients of electrode functions, decreases the antibiotic detection limit to $1.7 \times 10^{-5} \text{ M}$, reduces the response time and potential drift. Nanoparticles of NiZnFeO appeared to be the most effective modifier. For the sensors of type II linearity of electrode functions is observed in the range of ceftriaxone concentrations of $3.1 \times 10^{-5} - 0.1 \times 10^{-1} \text{ M}$. Depending on the content of the electrode active components in the membrane phase of the unmodified planar sensors, the values of the angular coefficients of the electrode functions vary within 25–27 mV/pC and correspond to the values of the non-static value for doubly-charged ions. The linearity intervals of sensor electrode functions are identical at all EAC concentrations under study; as Ceas increases, potential drift and response time decreases. The developed planar sensors were used for determination of cephalosporin antibiotics in model aqueous solutions, medicinal preparations and oral fluid.

Keywords: cefazoline; cefuroxime; ceftriaxone; potentiometric sensor; polyaniline; nanoparticles; medicinal and biological media.

Введение

В последнее время для анализа различных объектов все чаще используют планарные сенсоры, достоинствами которых являются низкая стоимость, простота изготовления, возможность миниатюризации и работы в режиме online. Способы изготовления мембран, углеродсодержащих чернил сенсоров, чувствительных к поверхностно-активным веществам, оптимизированы авторами работы [1], влияние типа и содержания пластификаторов на характеристики сенсоров рассмотрено в работе [2].

Сравнение планарных электродов, изготовленных с использованием двух коммерческих углеродных чернил, проведено в работе [3]. Поверхность электродов обрабатывали с помощью ультразвука и электрохимического анодирования. При обработке электродов диметилформамидом улучшались их электрохимические характеристики [4].

В настоящее время все больше внимание уделяют поискам новых модификаторов поверхности электродов. Наиболее перспективным в электрохимическом анализе является модифицирование сенсоров материалами на основе углерода, наночастиц металлов и их оксидов, которые характеризуются высокой электропроводностью, имеют широкую область поляризуемости, низкий фоновый ток, а также отличаются низкой стоимостью [5].

Электроды с трафаретной печатью, модифицированные оксидом графена и наночастицами золота, использовали для определения дофамина, аскорбиновой и мочево́й кислот в моче человека [6]; модифицированные оксидом графена и наночастицами диоксида марганца — для определения коэнзима Q-10 и α -липоевой кислоты в

пищевых продуктах [7]; модифицированные наночастицами золота — для определения леводопы в сыворотке крови человека [9], трестазы в образцах растений [8], гентамицина в фармацевтических препаратах [10], флуклоксациллина в плазме крови и моче человека [11].

Модифицированные твердоконтактные и планарные сенсоры на основе углеродных материалов для определения цефуроксима и цефалексина предложены авторами работ [12, 13].

На сегодняшний день актуальной проблемой является осуществление лекарственного мониторинга, который обеспечивает выбор адекватной индивидуальной дозы и схемы применения антибиотиков для повышения эффективности и безопасности лечения. Цефалоспориновые антибиотики различных поколений, обладающие широким спектром активности в отношении грамотрицательных бактерий, применяют при лечении инфекций мочевыводящих путей, пиелонефрита легкой и средней тяжести, острого отита у детей и др. [14, 15]. Эффективность лечения в значительной степени зависит от индивидуального восприятия препарата, степени накопления вещества органами и тканями, а также от времени распада антибиотика в организме. Экспрессное определение цефалоспориновых антибиотиков в биологических жидкостях необходимо для оценки физиологических и биохимических процессов организма.

В основном для определения цефалоспориновых антибиотиков в лекарственных и биологических средах используют спектрометрические, хроматографические и вольтамперометрические методы анализа [6]. Потенциометрические сенсоры позволяют проводить экспрессное определение различных веществ, в том

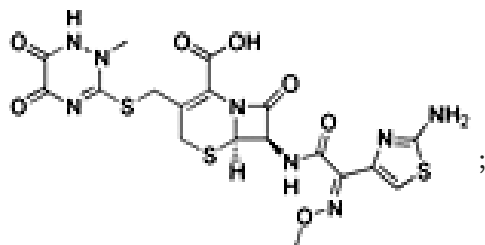
числе и в микрообъемах проб. В литературе описаны потенциометрические сенсоры, чувствительные к некоторым β -лактамам антибиотикам [12, 13, 16].

В последнее время все большее внимание привлекают простые, безболезненные, неинвазивные методы исследования, такие как сливадиагностика. Смешанная слюна (ротовая жидкость — ЖРП) обладает целым спектром свойств, что позволяет применять ее для исследования различных патологических состояний [17]. Существует выраженная связь между характеристиками слюны и параметрами крови [18].

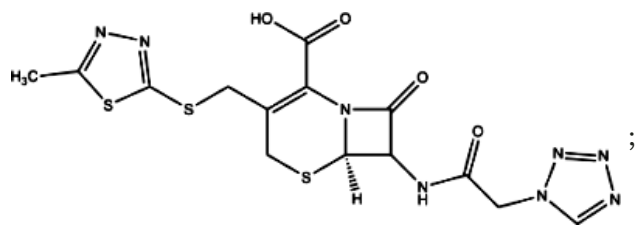
Цель настоящей работы — создание немодифицированных и модифицированных планарных потенциометрических сенсоров различных типов на основе ассоциатов тетрадециламмония (TDA) с комплексными соединениями серебра (I) — β -лактама для экспрессного детектирования некоторых цефалоспориновых антибиотиков в водных и биологических средах.

Экспериментальная часть

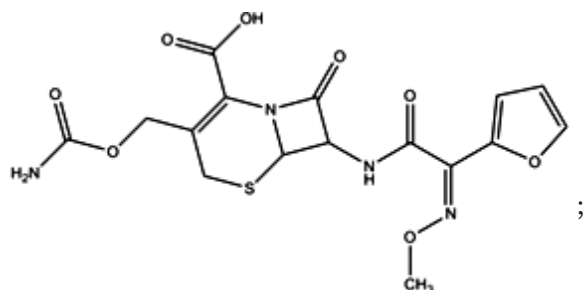
Аппаратура и реактивы. Объектами настоящего исследования служили цефалоспориновые антибиотики различных поколений: цефазолин (Cef) — кислотный антибиотик I поколения —



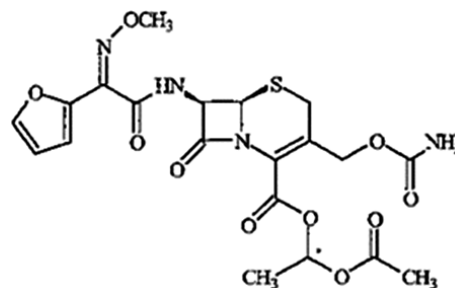
цефуросим (Cefur1) — кислотный антибиотик II поколения —



цефтриаксон (Ceftr) — амфотерный антибиотик III поколения —



цефуросим аксетил — эфир цефуросима —

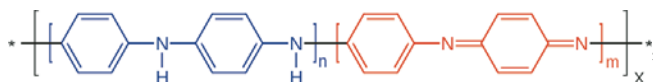


Для приготовления 0,01 М растворов антибиотиков использовали следующие препараты: «Цефазолин» производства ОАО «Биосинтез» (г. Пенза); «Цефурус» (ОАО «Синтез», г. Курган); «Цефуросим» (ОАО «Красфарма», г. Красноярск); «Цефурабол» (ООО «АБОЛмед», г. Новосибирск); «Цефтриаксон» (Vertex Exports, Индия и ОАО «Биосинтез», г. Москва) — в виде порошков по 1,0 г во флаконах и «Цефуросим аксетил» — в форме суспензии «Зиннат» (Glaxo Operations UK, Ltd, Великобритания).

Навески препаратов растворяли в дистиллированной воде; рабочие растворы с концентрациями $1 \cdot 10^{-2}$, $5 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-3}$, $5 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л получали последовательным разбавлением исходных растворов.

В качестве электродно-активных соединений (ЭАС) использовали ионные ассоциаты тетрадециламмония с комплексными соединениями Ag (I) — β -lac. 0,01 М раствор бромида тетрадециламмония (Sigma Aldrich) готовили растворением 0,0329 г вещества в 5 мл хлороформа (в делительной воронке). Растворы нитрата серебра (0,01 М) и хлорида натрия (0,1 М) готовили растворением точных навесок в дистиллированной воде.

Модификаторами служили коммерческие препараты: полианилин (эмеральдин) (ПАНи)



наночастицы NiZnFeO ($d = 50$, Sigma-Aldrich) и бинарные смеси ПАНи с наночастицами в соотношении 1:1.

Синтез ЭАС — $[Ag(\beta\text{-lac})_2]TDA$ — осуществляли в два этапа: 1) 5 мл 0,02 М водного раствора цефтриаксона (цефазолина, цефуросима) помещали в коническую колбу, добавляли 5 мл 0,01 М раствора нитрата серебра и 1–2 капли NaOH для создания щелочной среды ($pH \approx 8$), смесь тщательно перемешивали; 2) в делительную воронку помещали 5 мл водного раствора комплексного соединения серебра (I) — антибиотик и 5 мл 0,01 М раствора TDA в хлороформе, полученную смесь встряхивали в течение двух часов, затем хлороформный слой отделяли от водной

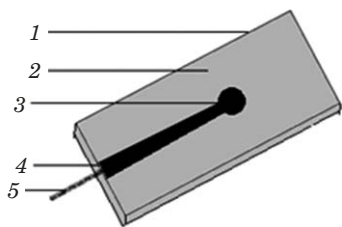
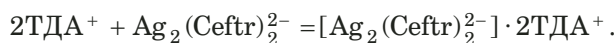


Рис. 1. Конструкция сенсора, изготовленного методом трафаретной печати: 1 — полимерная подложка; 2 — изоляционный слой; 3 — рабочая область; 4 — углеродсодержащие чернила с ЭАС; 5 — токоотвод

Fig. 1. Design of screen-printed sensor: 1 — polymer substrate; 2 — insulating layer; 3 — working area; 4 — carbon-containing ink with EAC; 5 — electrical lead-out

фазы в предварительно взвешенный бюкс и оставляли под тягой до полного испарения хлороформа.

Синтез ЭАС с использованием цефтриаксона осуществляли по реакции



Мембраны сенсоров содержали в качестве инертной матрицы поливинилхлорид (ПВХ) марки С-70 (чда), растворитель-пластификатор — дибутилфталат (ДБФ) и электродно-активное соединение ($S_{\text{ЭАС}} = 1 - 3\%$). В модифицированных мембранах соотношение модификатор:ЭАС = 1:1.

Углеродсодержащие чернила готовили, помещая в стеклянные бюксы 0,3627 г ДБФ, 0,6166 г порошка углерода и 0,0399 г ЭАС. Бюкс помещали на магнитную мешалку, при небольшом нагревании добавляли 2 мл растворителя (смесь ацетона и циклогексанона в соотношении 1:1) и постепенно — навеску ПВХ массой 1,0156 г. Смесь перемешивали до гомогенного состояния. Оптимальное соотношение компонентов углеродсодержащих чернил: 30 – 32 % углерода, 16 – 18 % ПВХ, 48 – 50 % пластификатора, 2 – 5 % ЭАС [13].

В работе исследовали как немодифицированные планарные сенсоры (ЭАС вносили в углеродсодержащие чернила, $S_{\text{ЭАС}} = 2\%$), так и модифицированные сенсоры I типа (в углеродсодержащие чернила вносили ЭАС и модификаторы — полианилин (0,3 – 1,0 %), наночастицы NiZnFeO и бинарные смеси полианилина и наночастиц и II типа (на углеродсодержащие чернила наносили ПВХ-мембраны, содержащие 1 – 3 % ЭАС и модификаторы).

Размер сенсоров различных типов составлял 30 × 12 мм (рис. 1). В качестве подложек использовали ПВХ, полиэфирное волокно, акриловый пластик.

Подготовка сенсоров к работе. Сенсоры перед началом работы кондиционировали в течение

сутки в $1 \cdot 10^{-3}$ М растворах соответствующих антибиотиков.

Измерения ЭДС проводили с использованием элементов с переносом типа:

Ag, AgCl/KCl_{нас}//исследуемый раствор/углеродсодержащие чернила;

Ag, AgCl/KCl_{нас}//исследуемый раствор/мембрана/модификатор/углеродсодержащие чернила.

Контакт между полуэлементами осуществляли с помощью солевого мостика, заполненного насыщенным раствором хлорида калия; электрод сравнения — хлоридсеребряный ЭВЛ-1МЗ. Значение ЭДС цепи измеряли с помощью иономера И-160 М при температуре $20 \pm 3^\circ\text{C}$ (погрешность измерения ЭДС — ± 1 мВ).

Для удаления белковых компонентов из смешанной слюны доноров использовали центрифугу ЦЛМИ-Р10-01 — «Элекон» (Россия), весы аналитические HR-250А (252 г/0,1 мг, AND, Япония).

Обсуждение результатов

Цефазолин и цефуроксим — антибиотики кислотного типа — полностью диссоциируют при pH = 5. Цефалоспорины подвержены гидролизу: при раскрытии β-лактамного кольца образуется 7-аминоцефалоспороновая кислота [14]. Цефуроксим аксетил — эфир цефуроксима — гидролизует до цефуроксима (в водной среде и кишечнике) [15].

Цефтриаксон относится к антибиотикам амфотерного типа, в боковой цепи содержит аминоктиазольную группу; атом азота тиазольного цикла является слабоосновным и способен присоединять протон. Для цефтриаксона характерны две константы кислотной диссоциации; в водных растворах антибиотик существует в форме катиона (в сильнокислой среде), цвиттер-иона (в слабокислой) и двузарядного аниона (в нейтральной и щелочной) [19].

Известно, что β-лактамы антибиотики образуют устойчивые комплексные соединения с катионами металлов [20], что влияет на их антимикробную активность, токсичность и устойчивость к гидролизу. Координация лигандов происходит через карбоксильную и бета-лактамную группы: координируется атом кислорода, также возможно участие в координации гетероциклов боковых цепей, что увеличивает устойчивость комплексов [20]. Серебро как кислота Льюиса проявляет свойства акцептора и образует донорно-акцепторную связь с тиогруппой цефалоспориновых антибиотиков, образуя при этом отрицательно заряженные соединения [21].

Спектрофотометрическим методом установлены соотношения компонентов в комплексных соединениях серебро (I) – β-лактамы (1:2). Цефтри-

аксон предпочтительно образует полиядерные комплексы состава $\text{Ag}_2\text{L}_2^{2-}$, что подтверждено данными потенциометрического титрования [20]. Показано применение ассоциатов тетраалкиламмония с комплексными соединениями $\text{Ag} - \beta\text{-lac}$ в качестве активных компонентов мембран, чувствительных к β -лактамам антибиотикам [22].

Электроаналитические свойства планарных сенсоров. Время отклика сенсоров определяли при скачкообразном изменении концентрации растворов антибиотиков на порядок от меньшей концентрации к большей. Исследуемые сенсоры на основе $[\text{Ag}(\beta\text{-lac})_2]\text{TDA}$ характеризуются небольшим временем отклика: для модифицированных полианилином и наночастицами NiZnFeO — в пределах 5 – 10 с, для немодифицированных — 10 – 20 с (табл. 1.)

На рис. 2 в качестве примера представлены *электродные функции* немодифицированных и модифицированных сенсоров I типа в растворах цефтриаксона, в табл. 1 — электроаналитические характеристики цефазолин-селективных сенсоров. Сенсоры проявляют чувствительность к исследуемым антибиотикам и могут быть использованы для их определения в водных растворах.

Механизм формирования потенциалов одинаков для немодифицированных и модифицированных сенсоров в растворах исследуемых антибиотиков: потенциалопределяющие реакции, протекающие в углеродсодержащих чернилах и на границе раздела электрод-раствор, связаны с диссоциацией ионообменников и комплексных соединений $\text{Ag} - \beta\text{-лактам}$ и ионным обменом антибиотиков на поверхности раздела [13]. Модификаторы стабилизируют электродный потенциал, так как выполняют функцию медиатора электронного переноса. Полианилин и наночастицы увеличивают проводимость и облегчают перенос заряда на границе раздела мембрана — электронный проводник.

Сравнение электроаналитических свойств сенсоров показывает, что модифицирование поверхности мембран приближает крутизну электродных функций к нернстовским значениям для

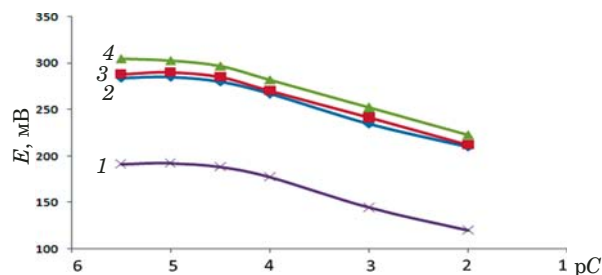


Рис. 2. Электродные функции цефтриаксон-селективных планарных сенсоров в водных средах: немодифицированный (1); модифицированный ПАНИ (2), наночастицами (3), наночастицами и ПАНИ (4)

Fig. 2. Electrode functions of ceftriaxone selective planar sensors in aqueous media: unmodified (1), modified with PANI (2), nanoparticles (3), both nanoparticles and PANI (4)

однозарядных (в случае цефазолина, цефуроксима) и двузарядных ионов (в случае цефтриаксона); сокращается время отклика, уменьшается предел обнаружения антибиотиков, а интервалы линейности электродных функций одинаковы для исследуемых немодифицированных и модифицированных сенсоров. В целях улучшения электроаналитических свойств сенсоров в растворах исследуемых антибиотиков использование наночастиц NiZnFeO оказалось наиболее эффективным.

Процесс перехода от ионной проводимости мембраны к электронной в проводнике достаточно сложен. Модификаторы осуществляют функции медиатора электронного переноса, электрокатализатора, способствуют химической конверсии аналита, его физико-химическому концентрированию на поверхности электрода [23].

Электроаналитические свойства сенсоров на основе $[\text{Ag}(\text{Cef})_2]\text{TDA}$ (табл. 1) и $[\text{Ag}_2(\text{Ceftr})_2]\text{TDA}$ идентичны в растворах однозарядных ионов цефазолина и цефуроксима. Сенсоры на основе различных электродно-активных компонентов дают одинаковый отклик на эти антибиотики. Поэтому нет необходимости синтезировать различные электродно-активные компоненты, можно использовать один из них. Для определения цефтриаксона необходимо использовать сен-

Таблица 1. Электроаналитические характеристики немодифицированных и модифицированных планарных сенсоров на основе $[\text{Ag}(\text{Cef})_2]\text{TDA}$ в растворах цефазолина ($n = 3$; $P = 0,95$)

Table 1. Electroanalytical characteristics of unmodified and modified planar sensors based on $[\text{Ag}(\text{Cef})_2]\text{TDA}$ in cefazoline solutions ($n = 3$; $P = 0.95$)

Модификатор	Линейный диапазон электродных функций, моль/л	$S \pm \Delta S$, мВ/рС	$C_{\min}$, моль/л	τ , с ($10^{-4} - 10^{-3}$ моль/л)	ΔE , мВ/сут
—	$5 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-1}$	48 ± 4	$3 \cdot 10^{-5}$	20 – 35	6 – 9
ПАНИ	$5 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-1}$	54 ± 3	$2 \cdot 10^{-5}$	10 – 15	5 – 6
NiZnFeO	$5 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-1}$	57 ± 3	$2 \cdot 10^{-5}$	5 – 10	3 – 4
ПАНИ + NiZnFeO	$5 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-1}$	55 ± 3	$2 \cdot 10^{-5}$	5 – 10	4 – 6

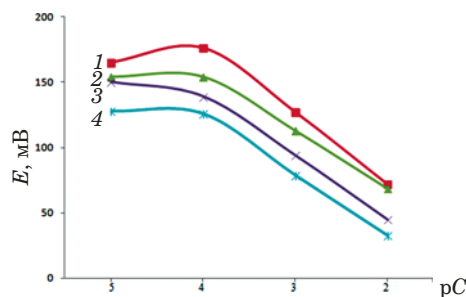


Рис. 3. Электродные функции модифицированных ПАНИ планарных сенсоров в растворах цефуроксима (1) и суспензии «Зиннат»: 2 — 1 нед., 3 — 2 нед., 4 — 3 нед.

Fig. 3. Electrode functions of PANi-modified planar sensors in cefuroxime solution (1) and “Zinnat” suspension solution: 2 — 1 week; 3 — 2 weeks; 4 — 3 weeks

сор на основе ассоциатов тетрадециламмония с комплексными соединениями серебра (I) — цефтриаксон (двузарядный ион).

Для определения срока службы сенсоров регистрировали электродные функции в растворах антибиотиков на протяжении длительного времени и по изменению угла наклона судили о чувствительности данных электродов к антибиотикам. Угловой коэффициент электродных функций в растворах цефазолина и цефуроксима изменяется в пределах 54–57 мВ/рС и 28–29 мВ/рС — в растворе цефтриаксона. Эти значения угловых коэффициентов сохраняются в течение 1,5–2 мес. Со временем угловой коэффициент уменьшается и составляет 35–40 мВ/рС для однозарядных и 17–20 мВ/рС — для двузарядных ионов. На рис. 3 представлены электродные функции в растворах цефуроксима и суспензии «Зиннат», зарегистрированные в течение трех недель.

Срок службы немодифицированных сенсоров составляет 1,5 мес, модифицированных — 2 мес.

Электрохимический отклик планарных сенсоров изучили при различной кислотности среды. Кислотность изменяли в диапазоне рН 1–14, добавляя к $1 \cdot 10^{-2}$ М растворам антибиотиков 0,05 М HCl и 0,05 М NaOH. Показано, что

отклик планарных сенсоров не зависит от рН среды в диапазоне 7,0–10,0. Изучено влияние ионной силы раствора на отклик сенсоров (ионную силу создавали добавлением к растворам антибиотиков 0,05 М раствора KCl): оптимальное значение $\mu = 0,1$.

Оценили коэффициенты потенциометрической селективности модифицированных наночастицами NiZnFeO β -lac-селективных сенсоров по отношению к цефазолину, цефотаксиму и цефтриаксону методом смешанных растворов.

Сенсоры на основе $[\text{Ag}(\beta\text{-lac})_2]\text{TDA}$ не обладают специфичностью по отношению к основному иону — они проявляют чувствительность и к другим цефалоспорином (цефуроксиму, цефтриаксону, цефазолину). Близость коэффициентов селективности к единице свидетельствует о том, что сенсоры селективны как к основному, так и к мешающим ионам. Значение K_{ij}^{pot} по отношению к неорганическим анионам, входящим в состав ротовой жидкости (Cl^- , Br^- , I^- , HCO_3^- , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}), составляют $n \cdot 10^{-2}$ – $n \cdot 10^{-3}$ [12].

Исследуемые сенсоры могут быть использованы для детектирования индивидуальных цефалоспориновых антибиотиков или их суммарного содержания в присутствии 100–1000-кратных избытков неорганических ионов в лекарственных и биологических средах.

Поскольку объектом исследования была выбрана жидкость ротовой полости или смешанная слюна (ЖРП), изучили электроаналитические свойства сенсоров разных типов на фоне ЖРП (табл. 2). Пробоподготовка ЖРП доноров и методика ионометрического определения антибиотиков в ЖРП представлены в работе [13].

Сенсоры проявляют чувствительность к цефтриаксону, цефазолину и цефуроксиму, и их можно использовать для определения антибиотиков на фоне ЖРП. Наблюдается отклонение электродных потенциалов в сторону отрицательных значений, что может быть связано с сильным фоновым влиянием неорганических и органических ионов, входящих в состав ЖРП.

Таблица 2. Электрохимические характеристики планарных сенсоров I типа в водных растворах цефтриаксона и на фоне ЖРП (ЭАС — $[\text{Ag}_2(\text{Ceftr})_2] \cdot 2\text{TDA}$; $n = 3$; $P = 0,95$)

Table 2. Electrochemical characteristics of planar sensors of type I in aqueous solutions of ceftriaxone and against LRP background (EAS: $[\text{Ag}_2(\text{Ceftr})_2] \cdot 2\text{OAA}$; $n = 3$; $P = 0.95$)

Модификатор	Водные среды				Биологические среды (ЖРП)			
	$S \pm \Delta S$, мВ/рС	τ , с ($1 \cdot 10^{-3}$ – $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	C_{min} , моль/л	ΔE , мВ/сут	$S \pm \Delta S$, мВ/рС	τ , с ($1 \cdot 10^{-3}$ – $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	C_{min} , моль/л	ΔE , мВ/сут
—	28 ± 4	15–30	$2,6 \cdot 10^{-5}$	3–4	19 ± 4	30–35	$2,7 \cdot 10^{-5}$	3–4
Полианилин	28 ± 3	15–20	$2 \cdot 10^{-5}$	2–3	19 ± 3	20–25	$2,5 \cdot 10^{-5}$	3–4
Наночастицы	29 ± 2	10–15	$1,7 \cdot 10^{-5}$	2–3	22 ± 2	15–20	$2,2 \cdot 10^{-5}$	2–3
Наночастицы и полианилин	29 ± 3	10–15	$1,9 \cdot 10^{-5}$	2–4	21 ± 4	15–20	$2,3 \cdot 10^{-5}$	2–3

Планарные сенсоры II типа содержали мембраны с различной концентрацией ЭАС (1 – 3 %). В качестве примера изучили поведение сенсоров II типа в растворах цефтриаксона. Стационарные значения потенциалов сенсоров в $1 \cdot 10^{-3}$ М растворах цефтриаксона достигаются в течение 15 – 20 с в зависимости от концентрации ЭАС.

Исследовали влияние концентрации ЭАС в фазе мембраны (1, 2, 3 %) на электрохимические характеристики немодифицированных и модифицированных ПАНИ планарных сенсоров (табл. 3).

Линейность электродных функций наблюдается в интервале концентраций антибиотиков $3,1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-1}$ моль/л при всех исследуемых концентрациях ЭАС (1, 2, 3 %). В зависимости от содержания электродно-активных компонентов в фазе мембран немодифицированных планарных сенсоров угловые коэффициенты электродных функций меняются в пределах 25 – 27 мВ/рС и соответствуют нернстовским значениям для дивалентных ионов. С увеличением $C_{ЭАС}$ до 3 % уменьшаются дрейф потенциала и время отклика и снижается предел обнаружения.

Планарные сенсоры II типа имеют большее время отклика, значительный дрейф потенциала и меньший срок службы по сравнению с сенсорами I типа. По своим свойствам модифицированные сенсоры I типа превосходят сенсоры II типа, кроме того, технология их изготовления гораздо проще. Таким образом, для определения исследуемых антибиотиков в водных и биологических

средах следует рекомендовать модифицированные сенсоры I типа.

Применение модифицированных сенсоров для определения исследуемых антибиотиков в водных средах. Планарные сенсоры I типа использованы для определения цефтриаксона, цефазолина, цефуроксима в модельных водных растворах и ротовой жидкости. В табл. 4 в качестве примера приведены результаты ионометрического определения цефазолина в модельных водных растворах и на фоне ЖРП.

Относительная погрешность (D) определения антибиотика в модельных водных растворах и на фоне ротовой жидкости не превышает 9 %.

Определение основного вещества в суспензии «Зиннат». Исследуемые сенсоры на основе $[Ag(Cefur)_2]TDA$ были использованы для определения основного вещества в лекарственном препарате «Зиннат» (в виде мелкодисперсных гранул): действующее вещество — цефуроксим аксетил 0,150 г (эквивалентно 125 мг цефуроксима); вспомогательные вещества — стеариновая кислота, сахароза, ароматизатор «тутти-фрутти», ацесульфам калия, аспартам, повидон-К30, камедь ксантановая.

Навеску гранулированного препарата «Зиннат» растворяли в мерной колбе на 25 мл в дистиллированной воде (концентрация цефуроксим аксетила — 0,01 моль/л). Последовательным разбавлением готовили $1 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-5}$ М растворы суспензии. Измеряли ЭДС с индикаторным и хлоридсеребряным электродами. Рас-

Таблица 3. Электроаналитические характеристики сенсоров II типа, модифицированных ПАНИ, при различных концентрациях активного компонента в фазе мембран ($n = 3$; $P = 0,95$)

Table 3. Electroanalytical characteristics of PANI-modified sensors of type II at different concentrations of the active component in the membrane phase ($n = 3$; $P = 0.95$)

$C_{ЭАС}, \%$	$S \pm \Delta S, \text{ мВ/рС}$	$\tau, \text{ с } (1 \cdot 10^{-3} - 1 \cdot 10^{-2} \text{ М})$	$C_{\min}, \text{ моль/л}$	$\Delta E, \text{ мВ/сут}$
1,0	25 ± 3	20 – 25	$2,7 \cdot 10^{-5}$	6 – 7
2,0	25 ± 2	20 – 25	$2,6 \cdot 10^{-5}$	5 – 7
3,0	26 ± 2	15 – 20	$2,3 \cdot 10^{-5}$	4 – 5

Таблица 4. Результаты ионометрического определения цефазолина в модельных водных растворах и на фоне ЖРП ($n = 3$; $P = 0,95$)

Table 4. The results of ionometric determination of cefazoline in model aqueous solutions and against LRP background of ($n = 3$; $P = 0.95$)

Введено, мг/10 мл	Найдено в модельных растворах			Найдено в ЖРП		
	$m, \text{ мг/10 мл}$	S_r	$D, \%$	$m, \text{ мг/10 мл}$	S_r	$D, \%$
27,7	$26,5 \pm 3,1$	0,02	4,3	$28,6 \pm 2,2$	0,01	3,2
16,6	$15,5 \pm 1,1$	0,03	6,6	$16,0 \pm 0,9$	0,01	3,6
11,1	$12,1 \pm 0,8$	0,03	9,0	$11,9 \pm 0,6$	0,02	7,2
2,8	$2,9 \pm 0,3$	0,02	4,0	$2,9 \pm 0,2$	0,01	3,2
1,7	$1,8 \pm 0,2$	0,02	8,4	$1,7 \pm 0,1$	0,01	2,4
1,1	$1,2 \pm 0,1$	0,04	9,1	$1,2 \pm 0,1$	0,03	9,0

твор суспензии оставляли на несколько недель для контроля изменений содержания цефуроксима аксетила в препарате. По зависимости ЭДС от отрицательного логарифма концентрации свежеприготовленного раствора цефуроксима аксетила определяли концентрацию антибиотика в суспензии через 1 – 3 недели.

Заключение

Таким образом, разработаны немодифицированные и модифицированные полианилином, наночастицами NiZnFeO и их бинарными смесями планарные сенсоры различных типов на основе углеродсодержащих чернил и ионных ассоциатов тетрадециламмония с комплексными соединениями серебра (I) – β -лактама (цефтриаксон, цефазолин, цефуроксим).

Оценены электроаналитические и операционные характеристики исследуемых сенсоров в водных и биологических средах. Показано, что введение модификаторов в мембраны приводит к стабилизации потенциала сенсоров, увеличению угловых коэффициентов электродных функций, снижению предела обнаружения антибиотиков, уменьшению времени отклика и дрейфа потенциала.

Разработанные сенсоры использовали для экспрессного детектирования антибиотиков в модельных водных растворах, ротовой жидкости и для определения основного вещества в суспензии «Зиннат», что особенно важно из-за ограниченного срока ее хранения. Сенсоры можно использовать для определения антибиотиков в мутных растворах.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Makarova N. M., Kulapina E. G.** New potentiometric screen-printed sensors for determination of homologous sodium alkylsulfates / *Sens. Actuators, B*. 2015. Vol. 210. P. 817 – 824. DOI: 10.1016/j.snb.2014.12.128.
2. **Макарова Н. М., Кулапина Е. Г.** Планарные сенсоры для определения полиоксипропилированных соединений / *Электрохимия*. 2017. Т. 53. № 11. С. 1432 – 1439.
3. **Gornall D. D., Collyer S. D., Higson S. P. J.** Investigations into the use of screenprinted carbon electrodes as templates for electrochemical sensors and sonochemically fabricated micro-electrode arrays / *Sens. Actuators, B*. 2009. Vol. 141. N 2. P. 581 – 591. DOI: 10.1016/j.snb.2009.06.051.
4. **Alemayehu P. Washe, Pablo Lozano-Sánchez, Diego Bejarano-Nosas, Ioanis Katakis.** Facile and versatile approaches to enhancing electrochemical performance of screen printed electrodes / *Electrochim. Acta*. 2013. Vol. 91. P. 166 – 172. DOI: 10.1016/j.electacta.2012.12.110.
5. **Wang J., Tian B., Nascimento V. B., Agnes L.** Performance of screen-printed carbon electrodes fabricated from different carbon inks / *Electrochim. Acta*. 1998. Vol. 43. N 23. P. 3459 – 3465. DOI: 10.1016/S0013-4686(98)00092-9.
6. **Ji D., Liu Z., Liu L., et al.** Smartphone-based integrated voltammetry system for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine, and uric acid with graphene and gold nanoparticles modified screen-printed electrodes / *Biosens. Bioelectron.* 2018. Vol. 119. P. 55 – 62. DOI: 10.1016/j.bios.2018.07.074.
7. **Charoenkitamorn K., Chaiyo S., Chailapakul O., Siangproh W.** Low-cost and disposable sensors for the simultaneous determination of coenzyme Q10 and β -lipoic acid using manganese (IV) oxide-modified screen-printed graphene electrodes / *Anal. Chim. Acta*. 2018. Vol. 1004. P. 22 – 31. DOI: 10.1016/j.aca.2017.12.026.
8. **Khater M., Escosura-Muniz A., Quesada-Gonzalez D., Merkoci A.** Electrochemical detection of plant virus using gold nanoparticle-modified electrodes / *Anal. Chim. Acta*. 2019. Vol. 1046. P. 123 – 131. DOI: 10.1016/j.aca.2018.09.31.
9. **Ji D., Xu N., Liu Z., et al.** Smartphone-based differential pulse amperometry system for real-time monitoring of levodopa with carbon nanotubes and gold nanoparticles modified screen-printing electrodes / *Biosens. Bioelectron.* 2019. Vol. 129. P. 216 – 223. DOI: 10.1016/j.bios.2018.09.082.
10. **Khaled E., Khalil M. M., Abed el Aziz G. M.** Calixarene/carbon nanotubes based screen printed sensors for potentiometric determination of gentamicin sulphate in pharmaceutical preparations and spiked surface water samples / *Sens. Actuators, B*. 2017. Vol. 244. P. 876 – 884. DOI: 10.1016/j.snb.2017. 01.033.
11. **Saber A. L., Elmosallamy M. A., Killa H. M., Ghoneim M. M.** Selective potentiometric method for determination of flucloxacillin antibiotic / *J. of Taibah University for Science*. 2013. Vol. 7. P. 195 – 201.
12. **Кулапина Е. Г., Дубасова А. Е., Кулапина О. И.** Модифицированные твердоточные сенсоры для определения цефуроксима и цефалексина в лекарственных средствах и ротовой жидкости / *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. 2019. Т. 85. № 9. С. 5 – 14. DOI: 10.26896/1028-6861-2019-85-9-5-14.
13. **Кулапина Е. Г., Кулапина О. И., Анкина В. Д.** Планарные потенциометрические сенсоры на основе углеродных материалов для определения цефотаксима и цефуроксима / *Журн. аналит. химии*. 2020. Т. 75. № 2. С. 231 – 237.
14. **Машковский М. Д.** Лекарственные средства. — М.: Новая Волна, 2006. — 1216 с.
15. **Яковлев В. П., Яковлев С. В.** Рациональная антимикробная фармакотерапия. — М.: Литтерра, 2007. — 784 с.
16. **Кулапина Е. Г., Снесарев С. В., Кулапина О. И., Баранова О. В.** Некоторые проблемы обеспечения избирательности и чувствительности определения антибиотиков в лекарственных и биологических средах: в кн. «Проблемы аналитической химии». Т. 16. «Фармацевтический анализ». Гл. 9. — М.: Аргамак-Медиа, 2013. С. 326 – 361.
17. **Савинов С. С., Анисимов А. А., Дробышев А. И.** Проблемы и оптимизация отбора образцов, их хранения и пробоподготовки при определении микроэлементного состава слюны человека / *Журн. аналит. химии*. 2016. Т. 71. № 10. С. 1063 – 1068.
18. **Кондратенко С. Н., Стародубцев А. К., Золкина И. В. и др.** Методики моделирования фармакокинетики некоторых лекарственных средств по динамике их распределения в слюне / *Биомедицинская химия*. 2014. Т. 60. № 2. С. 221 – 222.
19. **Алексеев В. Г.** Бионеорганическая химия пенициллинов и цефалоспоринов. — Тверь: Твер. гос. ун-т, 2009. — 104 с.
20. **Алексеев В. Г.** Металлокомплексы пенициллинов и цефалоспоринов (обзор) / *Хим.-фарм. журн.* 2011. Т. 45. № 11. С. 31 – 48. DOI: 10.30906/0023-1134-2011-45-11-31-48.
21. **Tombeux J. J., Schachtbroeck J., Brabander F. D., Goemtnne A. M.** A Potentiometric Study of the Ag (I) Complexes of Some Sulphur Containing AminoAcids / *Z. anorg. allg. Chem.* 1984. Vol. 517. P. 235 – 240.
22. **Кулапина Е. Г., Снесарев С. В.** Потенциометрические сенсоры на основе органических ионообменников тетраалкиламмония и комплексов серебра (I) с ампициллином, оксациллином, цефазолином / *Журн. аналит. химии*. 2012. Т. 67. № 2. С. 198 – 202.
23. **Будников Г. К., Евтюгин Г. А., Майстренко В. Н.** Модифицированные электроды для вольтамперометрии в химии, биологии и медицине. — М.: Бином, 2009. — 331 с.

REFERENCES

1. **Makarova N. M., Kulapina E. G.** New potentiometric screen-printed sensors for determination of homologous sodium alkylsulfates / *Sens. Actuators, B*. 2015. Vol. 210. P. 817 – 824. DOI: 10.1016/j.snb.2014.12.128.
2. **Makarova N. M., Kulapina E. G.** Planar sensors for determination of polyoxyethylated compounds / *Russ. J. Electrochem.* 2017. Vol. 53. N 11. P. 1266 – 1273. DOI: 10.1134/S1023193517110088.
3. **Gornall D. D., Collyer S. D., Higson S. P. J.** Investigations into the use of screenprinted carbon electrodes as templates for electrochemical sensors and sonochemically fabricated microelectrode arrays / *Sens. Actuators, B*. 2009. Vol. 141. N 2. P. 581 – 591. DOI: 10.1016/j.snb.2009.06.051.
4. **Alemayehu P. Washe, Pablo Lozano-Sánchez, Diego Benjarano-Nosas, Ioanis Katakis.** Facile and versatile approaches to enhancing electrochemical performance of screen printed electrodes / *Electrochim. Acta*. 2013. Vol. 91. P. 166 – 172. DOI: 10.1016/j.electacta.2012.12.110.
5. **Wang J., Tian B., Nascimento V. B., Agnes L.** Performance of screen-printed carbon electrodes fabricated from different carbon inks / *Electrochim. Acta*. 1998. Vol. 43. N 23. P. 3459 – 3465. DOI: 10.1016/S0013-4686(98)00092-9.
6. **Ji D., Liu Z., Liu L., et al.** Smartphone-based integrated voltammetry system for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine, and uric acid with graphene and gold nanoparticles modified screen-printed electrodes / *Biosens. Bioelectron.* 2018. Vol. 119. P. 55 – 62. DOI: 10.1016/j.bios.2018.07.074.
7. **Charoenkitamorn K., Chaiyo S., Chailapakul O., Siangproh W.** Low-cost and disposable sensors for the simultaneous determination of coenzyme Q10 and β -lipoic acid using manganese (IV) oxide-modified screen-printed graphene electrodes / *Anal. Chim. Acta*. 2018. Vol. 1004. P. 22 – 31. DOI: 10.1016/j.aca.2017.12.026.
8. **Khater M., Escosura-Muniz A., Quesada-Gonzalez D., Merkoci A.** Electrochemical detection of plant virus using gold nanoparticle-modified electrodes / *Anal. Chim. Acta*. 2019. Vol. 1046. P. 123 – 131. DOI: 10.1016/j.aca.2018.09.31.
9. **Ji D., Xu N., Liu Z., et al.** Smartphone-based differential pulse amperometry system for real-time monitoring of levodopa with carbon nanotubes and gold nanoparticles modified screen-printing electrodes / *Biosens. Bioelectron.* 2019. Vol. 129. P. 216 – 223. DOI: 10.1016/j.bios.2018.09.082.
10. **Khaled E., Khalil M. M., Abed el Aziz G. M.** Calixarene/carbon nanotubes based screen printed sensors for potentiometric determination of gentamicin sulphate in pharmaceutical preparations and spiked surface water samples / *Sens. Actuators, B*. 2017. Vol. 244. P. 876 – 884. DOI: 10.1016/j.snb.2017.01.033.
11. **Saber A. L., Elmosallamy M. A., Killa H. M., Ghoheim M. M.** Selective potentiometric method for determination of flucloxacillin antibiotic / *J. of Taibah University for Science*. 2013. Vol. 7. P. 195 – 201.
12. **Kulapina E. G., Dubasova A. E., Kulapina O. I.** Modified solid-contact sensors for determination of cefuroxime and cefalexin in medicines and oral fluid / *Zavod. Lab. Diagn. Mater.* 2019. Vol. 85. N. 9. P. 5 – 14 [in Russian]. DOI: 10.26896/1028-6861-2019-85-9-5-14.
13. **Kulapina E. G., Kulapina O. I., Ankina V. D.** Screen-Printed Potentiometric Sensors Based on Carbon Materials for Determining Cefotaxime and Cefuroxime / *J. Anal. Chem.* 2020. Vol. 75. N 2. P. 231 – 237. DOI: 10.1134/S1061934820020100.
14. **Mashkovskiy M. D.** Medicinal agents. — Moscow: Novaya Volna, 2006. — 1216 p. [in Russian].
15. **Yakovlev V. P., Yakovlev S. V.** Rational antimicrobial pharmacotherapy. — Moscow: Litterra, 2007. — 784 p. [in Russian].
16. **Kulapina E. G., Snesarev S. V., Kulapina O. I., Barinova O. V.** Some problems of ensuring the selectivity and sensitivity of the determination of antibiotics in medicinal and biological environments / in the book “Problems of analytical chemistry”. Vol. 16. “Pharmaceutical Analysis”. Ch. 9. — Moscow: Argamak-Media, 2013. P. 326 – 361 [in Russian].
17. **Savinov S. S., Anisimov A. A., Drobyshhev A. I.** Problems and optimization of sampling, storage, and sample preparation in the determination of the trace element composition of human saliva / *J. Anal. Chem.* 2016. Vol. 71. N 10. P. 1016 – 1021. DOI: 10.1134/S1061934816080128.
18. **Kondratenko S. N., Starodubtsev A. K., Zolkina I. V., et al.** Techniques of modeling of pharmacokinetics of some medicines on dynamics of their distribution in saliva / *Biomed. Khim.* 2014. Vol. 60. N 2. P. 221 – 222 [in Russian].
19. **Alekseev V. G.** Bioinorganic chemistry of penicillin and cephalosporin. — Tver: Tver. gos. univ., 2009. — 104 p. [in Russian].
20. **Alekseev V. G.** Metal complexes of penicillins and cephalosporins (Review) / *Pharm. Chem. J.* 2012. Vol. 45. N 11. P. 679 – 697. DOI: 10.1007/s11094-012-0703-6.
21. **Tombeux J. J., Schachtbroeck J., Brabanderh F. D., Goemtnne A. M.** A Potentiometric Study of the Ag (I) Complexes of Some Sulphur Containing AminoAcids / *Z. anorg. allg. Chem.* 1984. Vol. 517. P. 235 – 240.
22. **Kulapina E. G., Snesarev S. V.** Potentiometric sensors based on organic ion exchangers of tetraalkylammonium and silver complexes with ampicillin, oxacillin, and cefazolin / *J. Anal. Chem.* 2012. Vol. 67. N 2. P. 163 – 167. DOI: 10.1134/S1061934811120069.
23. **Budnikov G. K., Evtuyugin G. A., Maistrenko V. N.** Modified electrodes for voltammetry in chemistry, biology and medicine. — Moscow: Binom, 2009. — 331 p. [in Russian].