

Создание ионселективных электродов для эффективного контроля загрязнения окружающей среды антибиотиками

Т.В. Крюков, М.А. Феофанова, А.Ю. Чесноков, Л.Н. Толкачева,
В.М. Никольский

ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», г. Тверь

Опасность загрязнения окружающей среды классическими комплексонами можно преодолеть их заменой на экологически безопасные комплексоны, а опасность загрязнения природы антибиотиками устраняется только разрушением последних. Поэтому необходим тщательный контроль их в окружающей среде. Исследования показали, что созданные ИСЭ, в которых электродактивным веществом служат комплексы РЗЭ с цефазолином, перспективны в плане использования для определения антибиотиков в микрообъемных пробах. Работоспособность электродов проверена на модельных объектах.

Ключевые слова: *загрязнение окружающей среды, комплексоны, антибиотики, цефазолин, ионселективные электроды.*

Загрязнение окружающей среды является одной из главных проблем современности, так как она может повлечь за собой глобальные экологические катастрофы. Для решения проблемы следует уделять больше внимания экологическим мерам, которые включают контроль, предупреждение, ограничение или ликвидацию множественных загрязнений, источником которых являются коммунальные системы, производственные предприятия, медицинские учреждения и агропродовольственные системы.

Из существующего множества загрязнений мировую общественность в первую очередь тревожит накопление комплексоновых препаратов, производных этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА), которые нарастающим темпом накапливаются в мировом океане, так как их производство постоянно возрастает, но они практически не поддаются разложению [1-7]. С целью снижения негативного влияния ЭДТА на окружающую среду в отчете European Chemical Bureau содержится рекомендация заменить ЭДТА более мягкими для экологии хелантами. Такая замена оказалась эффективной с помощью экологически безопасных комплексонов на основе природных аминокислот [8-13]. Эти комплексоны успешно выполняют все те же востребованные функции, что и классические комплексоны, однако обладают неоспоримым преимуществом, а именно, экологической безопасностью. Они, исполнив

свое предназначение, в живой природе (в животном или растительном организме, в условиях сбросов) под действием солнечного света разлагаются на аминокислотные составляющие без каких-либо последствий для окружающей среды [14-16].

Серьезную экологическую проблему создает также интенсивное производство и применение антибиотиков в медицине, ветеринарии и сельском хозяйстве, т.к. это привело к значительному загрязнению окружающей среды: поверхностных и грунтовых вод, питьевой воды, городских сточных вод, почвы, овощей, ила [17]. Около 70% антибиотиков применяется в ветеринарии. Из организма животных они частично выводятся в неизменном виде, что приводит к попаданию антибиотиков в окружающую среду. Для обеспечения “здоровья человека через здоровье животных” необходим тщательный контроль остаточных содержаний антибиотиков в объектах окружающей среды и пищевой продукции [18]. На сегодняшний день высокие уровни загрязнения окружающей среды антибиотиками зафиксированы во многих странах мира, в том числе и в России [19]. Потребление человеком продуктов, содержащих антибиотики, представляет угрозу для здоровья. Эта серьезная, но часто игнорируемая проблема освещается в новом руководстве по обращению с жидкими и твердыми отходами, образующимися при производстве антибиотиков, которое было выпущено в преддверии намеченного на 26 сентября 2024 г. заседания высокого уровня Генеральной Ассамблеи Организации Объединенных Наций по проблеме устойчивости к противомикробным препаратам [20].

Если опасность загрязнения окружающей среды классическими комплексами можно преодолеть их заменой на экологически безопасные комплексы, то опасность загрязнения природы антибиотиками устраняется только разрушением последних, например, фотокаталитической деградацией [21].

Снижение или устранение экологической нагрузки от загрязнения природы антибиотиками возможно лишь при тщательном контроле их в окружающей среде. Для этого создаются различные методики обнаружения антибиотиков. Среди многокомпонентных методик описана, например, процедура, включающая растворение испытуемых образцов в смеси ацетонитрил – ЭДТА [22]. Этот способ трудоемок, а анализ занимает много времени.

Определение пенициллинов и цефалоспоринов в пищевой продукции обычно осуществляется методом ВЭЖХ-УФ [23]. Этот классический метод тоже требует дорогостоящего оборудования, реактивов, квалифицированных операторов, занимает длительное время и не позволяет осуществлять в больших масштабах экспрессное

определение содержания антибиотиков в клинических и биохимических лабораториях.

Экспериментальная часть

Для обеспечения экспрессности анализа нами созданы ионселективные электроды (ИСЭ) с откликом на цефазолин.

В работе использовалась натриевая соль цефазолина (NaCzl) московской компании "Деко". Растворы хлоридов редкоземельных элементов готовили из реактивов квалификации "х.ч.", их точные концентрации устанавливали комплексонометрическим титрованием.

Электродактивные вещества получали, смешивая водные растворы хлорида церия или лутеция и натриевой соли цефазолина в мольном соотношении 1:4. Затем, эти вещества отделяли центрифугированием и высушивали при комнатной температуре в эксикаторе над слоем силикагеля. Полученные образцы хранили без доступа кислорода над слоем силикагеля в закрытом шкафу во избежание воздействия света. Раствор цефазолина готовился в виде натриевой соли (щелочная среда), что позволило получить растворы с концентрацией 10^{-3} моль/л. Это стандартный подход в аналитической химии. Так растворимость динатриевой соли классического комплексона этилендиаминтетрауксусной кислоты (Трилон Б) на два порядка выше растворимости этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) в кислой форме. Для получения мембран использовали поливинилхлорид (ПВХ) марки С-70, диоктилфталат (ДОФ) и циклогексанон. В состав созданных ионселективных мембран входили (% по массе): 1% ЭАВ, 1% ДОФ и 98% ПВХ. Специалисты в области полимерных материалов вводят пластификатор для снижения хрупкости ПВХ и предохранения его от растрескивания. Они предупреждают, что избыток пластификатора сильно снижает показатели прочности полимера. Обычно рекомендуется вводить пластификатор в количестве от 1 до 10 %. Более того, установлено, что ДОФ по сравнению с дибутилфталатом лучший растворитель и обладает более высокой способностью впитываться в ПВХ (жидкостемкостью) [24]. Нами опытным путем было установлено, что для обеспечения оптимального баланса устойчивости ПВХ к механическим нагрузкам и пластичности полимера достаточно введения в циклогексанонный раствор ПВХ 1% ДОФ с последующим изготовлением мембран толщиной 0,5 мм.

Конструкция ИСЭ представлена на рис. 1.



Рис. 1. Конструкция ИСЭ.

1 – ионоселективная мембрана; 2 – корпус из ПВХ; 3 – токоотвод; 4 – полость с внутренним раствором

Перед началом эксперимента ИСЭ вымачивали 1 час в растворе цефазолина с концентрацией 0,01М. Для регистрации электродных потенциалов использовали электрохимическую ячейку:

Ag	AgCl	раствор цефазолина (0,01M) + раствор KCl (0,1M)	Ионселек- тивная мембрана	Исследуемый раствор	Насыщенный раствор KCl	AgCl	Ag
		Cefazolin solution (0.01M) + KCl solution (0.1M)	Ion- selective membrane	Test solution	Saturated KCl solution		

Результаты и их обсуждение

Исследование стабильности ИСЭ показало, что дрейф потенциала, в среднем, одинаков и составляет 2-5 мВ/сут. По секундомеру определено, что время отклика составляет около 45 секунд для растворов с концентрациями 10^{-1} – 10^{-3} М и около 30 секунд для растворов с меньшей концентрацией. Ниже представлены графики зависимости потенциалов ИСЭ от концентрации цефазолина как для мембран с металлокомплексом церия, так и для мембран с металлокомплексом лютеция.

Зависимость потенциалов ИСЭ от концентрации цефазолина представлена на рис. 2. В интервале $pC = 1-3$ экспериментальные точки описываются уравнением прямой. Линейный участок электродной функции свидетельствует о возможности практического использования ИСЭ для определения цефазолина, интервал концентраций для более низких значений неинформативен в силу нелинейности функции электродного потенциала. Так же, нами было учтено, что на работу

электрода может повлиять величина рН среды и неорганические катионы. Поэтому была определена величина коэффициентов селективности для Na^+ и K^+ методом смешанных растворов, значения этих коэффициентов составили $1,5 \cdot 10^{-3}$ и $1,4 \cdot 10^{-3}$ соответственно. Установлено, что потенциал электрода не зависит от кислотности среды в диапазоне рН 4 – 8. Для контроля времени отклика использовался секундомер, а для контроля рН среды использовался рН-метр марки И-160МП предварительно откалиброванный по стандартным буферным растворам.

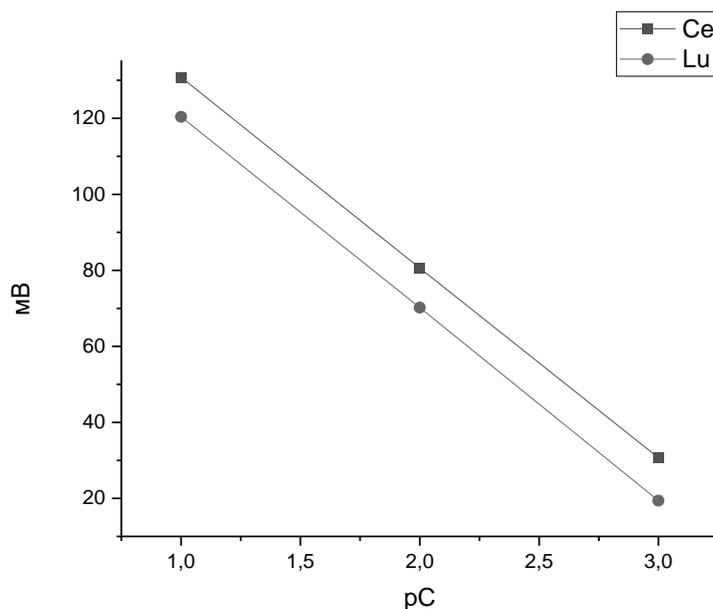


Рис. 2. Зависимость потенциалов ИСЭ от концентрации цефазолина.
1 – металлокомплекс церия, 2 – металлокомплекс лютеция

Зависимость ЭДС созданных ИСЭ от рН раствора цефазолина представлена на рис 3. Как видно из рисунка, потенциал ИСЭ не зависит от рН растворов в диапазоне 4-8.

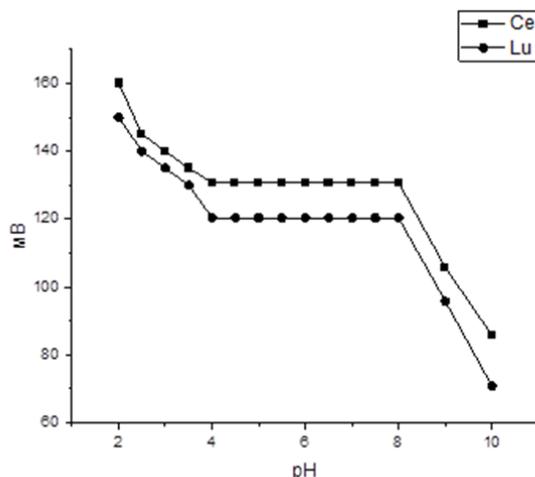


Рис. 3. Зависимость ЭДС ячейки с ИСЭ от pH раствора цефазолина

Проведенные исследования показали, что ИСЭ, в которых электроактивным веществом служат комплексы РЗЭ с цефазолином, перспективны в плане использования для определения антибиотиков в микрообъемных пробах. Созданные мембранные электроды стабильны, имеют концентрационный диапазон эксплуатации $pC = 1-3$ и могут быть использованы в диапазоне $pH = 4-8$. Проверка селективности ИСЭ по отношению к ионам Na^+ и K^+ показала, что электроды эффективны даже при их тысячекратном присутствии. Работоспособность электродов проверена на модельных объектах.

Список литературы

1. Дедюхина Э.Г., Чистякова Т.И., Минкевич И.Г. Биодegradация ЭДТА // Вестн. биотехн. физ. хим. биол., 2007, 3, № 2, 40-49.
2. Nyvonen H., Orama M., Saarinen H., Aksela R. Studies on biodegradable chelating ligands: complexation of iminodisuccinic acid (ISA) with Cu(II), Zn(II), Mn(II) and Fe(III) ions in aqueous solution // Green Chem., 2003, V. 5, P. 410-414; <https://doi.org/10.1039/B303372B>.
3. Дедюхина Э.Г., Салмов Н.Н., Чистякова Т.И., Минкевич И.Г., Вайнштейн М.Б. Бактериальный штамм-облигатный деструктор ЭДТА и перспективы его использования для очистки воды // Вода: химия и экология, 2008, № 2, С. 31-34.
4. Капаруллина Е.Н., Доронина Н.В., Ежов В.А., Троценко Ю.А. Дegradация ЭДТА иммобилизованными на биофилтре клетками *Chelativorans oligotrophicus* // Прикл. биохим. микробиол., 2012, Т. 48, №4, С. 437-441.
5. Кувичкина Т.Н., Капаруллина Е.Н., Доронина Н.В., Троценко Ю.А., Решетиллов А.Н. Дegradация ЭДТА и его комплексов с металлами

- иммобилизованными клетками бактерий *Chelativorans oligotrophicus* LPM"4 // Прикл. биохим. микробиол., 2012, Т. 48, №6, С. 626-630
6. Капаруллина Е.Н., Доронина Н.В., Троценко Ю.А. Аэробная деградация этилендиаминтетраацетата // Прикл. биохим. микробиол., 2011, Т. 47, №5, С. 508–522.
 7. Kemmei T., Kodama S., Fujishima H., Yamamoto A., Inoue Y., Hayakawa K. Determination of ethylenediaminetetraacetic acid in sea water by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography // *Anal. Chim. Acta*, 2012, V. 709, P. 54-58; doi.org/10.1016/j.aca.2011.10.011.
 8. Климаева Л.А., Танкова А.В., Долганов А.В., Никольский Н.А., Бочкарев Д.В. Разработка подходов и синтез иминодиянтарной кислоты – прекурсора хелатных удобрений для применения в АПК // Вестник Пермского университета. Серия «Химия», 2024, Т. 14, №1, С. 15-20; doi.org/10.17072/2223-1838-2024-1-15-20.
 9. Гридчин С.Н., Никольский В.М., Толкачева Л.Н. Потенциометрическое определение констант диссоциации этилендиамин-N,N'-диглутаровой кислоты при 298.15 К // *Журнал физической химии*, 2014, Т. 88, № 10, С. 1628-1631; DOI: 10.7868/S0044453714100161.
 10. Горелов И.П., Никольский В.М. Комплексообразование между щелочноземельными металлами и N-(карбоксиметил)аспарагиновой кислотой // *Журнал неорганической химии*, 1975, Т. 20, № 6, С. 1722-1724.
 11. Горелов И.П., Никольский В.М. Синтез и комплексообразующие свойства комплексонов, производных дикарбоновых кислот // *Журнал общей химии*, 1977, Т. 47, № 7, С. 1606-1611.
 12. Никольский В.М., Горелов И.П. Комплексообразование между щелочноземельными металлами и некоторыми новыми комплексонами – производными дикарбоновых кислот // *Журнал неорганической химии*, 1976, Т. 21, № 3, С. 846-848.
 13. Толкачева Л.Н., Никольский В.М. Константы образования и состав комплексов Ga³⁺ и In³⁺ с иминодиянтарной кислотой в водных растворах по данным потенциометрии // *Журнал физической химии*, 2013, Т. 87, № 9, С. 1513-1517; DOI: 10.7868/S0044453713080293.
 14. Биберина Е.С., Никольский В.М., Феофанова М.А. Специфические свойства комплексонов 3d-металлов с оптическими изомерами комплексонов, производных дикарбоновых аминокислот // *Известия Академии наук. Серия химическая*, 2020, Т. 69, №10, С. 1916-1922; DOI: 10.1007/s11172-020-2978-1.
 15. Логинова Е.С., Никольский В.М., Толкачева Л.Н., Лукьянова Н.И. Синтез и некоторые свойства комплексонов, производных янтарной кислоты // *Известия Академии наук. Серия химическая*, 2016, Т. 65, №9, С. 2206-2210; DOI: 10.1007/s11172-020-2978-1.
 16. Loginova, E.S., Nikol'skii V.M. Biodegradable Chelating Agents. Effect of Optical Isomerism on the Physicochemical Characteristics // *Russian Journal of Physical Chemistry B*, 2017, V. 11, No 4, P. 708–713; DOI: 10.1134/S1990793117040200.

17. Тимофеева С.С., Гудилова О.С. Антибиотики в окружающей среде: состояние и проблемы // XXI век. Техносферная безопасность, 2021, Т.6, № 3, С. 251–265; <https://doi.org/10.21285/2500-1582-2021-3-251-265>.
18. Лаврухина О.И., Амелин В.Г., Киш Л.К., Третьяков А.В., Пеньков Т.Д., Определение остаточных количеств антибиотиков в объектах окружающей среды и пищевых продуктах // Журнал аналитической химии, 2022, Т. 77, №11, С. 969–1015; DOI: 10.31857/S004445022211007X.
19. Алексеева Е.А., Полосенко О.В., Фурсова Н.К., Асташкин Е.И., Борзенков В.Н., Кисличкина А.А., Коломбет Л.В., Шепелин А.П., Миронов А.Ю. Первый случай выявления *Listeria monocytogenes* сиквенс-типов ST7, ST20, ST425 в сточных водах при обследовании водных объектов Вологодской области // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2022, Т. 99, №4, С. 453–464; doi.org/10.36233/0372-9311-266.
20. Новое глобальное руководство призвано ограничить загрязнение окружающей среды при производстве антибиотиков. Пресс-релиз от 3 сентября 2024 г.; <https://www.who.int/ru/news>.
21. Marvelraj L.A.S. Adolf, Priya V.S. Photocatalytic degradation of antibiotics using Cu doped-SnO₂/CQDs nanocomposites // Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management, V. 23, February 2025, 101052; <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2025.101052>.
22. Freitas A., Barbosa J., Ramos F. Multidetecction of antibiotics in liver tissue by ultra-high-pressure-liquid chromatography–tandem mass spectrometry // J. Chromatogr. B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2015, Jan 22:976-977:49-54; DOI: 10.1016/j.jchromb.2014.11.008.
23. Cheng G., Zhao J., Wang X., Yang C., Li S., Lu T., Li X., Wang X., Zhu G. A highly sensitive and selective method for the determination of ceftiofur sodium in milk and animal-origin food based on molecularly imprinted solid-phase extraction coupled with HPLC-UV // Food Chem., 2021, V. 347, Article 129013.
24. Аскадский А.А., Мацеевич Т.А., Кондращенко В.И. Модификация материалов ДПК путем введения пластификатора диоктилфталата // Строительные материалы, 2019, №8, С. 54-59.

Об авторах:

КРЮКОВ Тимофей Владимирович – ведущий инженер кафедры неорганической и аналитической химии химико-технологического факультета ТвГУ (170002, г. Тверь, Садовый пер., 35), e-mail: p528491@yandex.ru

ФЕОФАНОВА Мариана Александровна – кандидат химических наук, декан химико-технологического факультета ТвГУ (170002, г. Тверь, Садовый пер., 35), e-mail: Feofanova.MA@tversu.ru

ЧЕСНОКОВ Андрей Юрьевич – аспирант кафедры неорганической и аналитической химии химико-технологического факультета ТвГУ (170002, г. Тверь, Садовый пер., 35), e-mail: tehnolog@ecoingredients.ru
ТОЛКАЧЕВА Людмила Николаевна – кандидат химических наук, доцент кафедры неорганической и аналитической химии химико-технологического факультета ТвГУ (170002, г. Тверь, Садовый пер., 35), e-mail: Tolkacheva.LN@tversu.ru
НИКОЛЬСКИЙ Виктор Михайлович – доктор химических наук, профессор, профессор кафедры неорганической и аналитической химии ТвГУ (170002, г. Тверь, Садовый пер., 35), e-mail: p000797@tversu.ru

Creation of ion selective electrodes for effective control of environmental contamination with antibiotics

T.V. Kryukov, M.A. Feofanova, A.Yu. Chesnokov, L.N. Tolkacheva, V.M. Nikolskii

Tver State University, Tver

The danger of environmental pollution with classical complexons can be overcome by replacing them with environmentally friendly complexons, and the danger of nature pollution with antibiotics is eliminated only by the destruction of the latter. Therefore, careful control of them in the environment is necessary. Studies have shown that created ISEs, in which REE complexes with cefazolin serve as an electroactive substance, are promising in terms of use for determining antibiotics in microvolume samples. The operability of the electrodes was tested at model facilities.

Keywords: *environmental contamination, complexons, antibiotics, cefazolin, ionselective electrodes.*

Дата поступления в редакцию: 21.01.2025.
Дата принятия в печать: 28.01.2025.