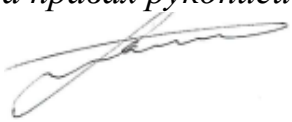
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

На правах рукописи



Соломоненко Анна Николаевна

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАРБОФУРАНА В ОВОЩАХ НА МОДИФИЦИРОВАННЫХ ХЕЛАТСОДЕРЖАЩИМИ СОРБЕНТАМИ ЭЛЕКТРОДАХ

1.4.2 Аналитическая химия

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научный руководитель:

Кандидат химических наук

Дорожко Елена Владимировна

Томск, 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 5
ГЛАВА 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР 11
1.1 Карбаматные пестициды. Классификация и применение 11
1.2 Физико-химические свойства карбофурана 14
1.3 Токсичность и механизм действия карбофурана 16
1.4 Методы извлечения карбофурана 20
1.5 Методы качественного и количественного определения карбофурана 22
1.5.1 Хроматографические методы 23
1.5.2 Спектроскопические методы 25
1.5.3 Электрохимические методы 27
1.5.3.1 Углеродсодержащие модификаторы для электрохимического определения карбофурана 27
1.5.3.2 Биосенсоры для электрохимического определения карбофурана 35
ГЛАВА 2 Экспериментальная часть 42
2.1 Оборудование, электроды 42
2.2 Реактивы, химическая посуда, приготовление растворов 44
2.3 Изготовление модифицированных углеродсодержащих электродов 47
2.4 Вольтамперометрическое определение карбофурана с использованием УЧ/FeXC/УСЭ 48
2.5 Вольтамперометрическое определение карбофурана с использованием УЧ/NiXC/УСЭ 49
2.6 Пробоподготовка овощей 50
2.7 Статистическая обработка данных 50
ГЛАВА 3 Разработка модифицированных электродов с включением хелатсодержащих сорбентов для определения карбофурана 52
3.1 Характеристика модифицированных углеродсодержащих электродов различными физико-химическими методами 52
3.1.1 Морфология поверхности 52

3.1.2 Электрохимическая характеристика УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ.... 55
3.2 Исследование электрохимических свойств карбофурана на УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ 58
3.2.1 Получение электроактивной формы карбофурана для вольтамперометрического определения 58
3.2.2 Электрохимическое поведение карбофурана на УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ 59
3.2.3 Подбор рабочих условий вольтамперометрического определения карбофурана на УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ..... 63
3.2.4 Аналитические характеристики УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ 66
Глава 4. Расчет некоторых электрохимических параметров окисления карбофурана на УЧ/NiXC/УСЭ..... 68
Глава 5. Разработка методики количественного определения карбофурана в овощах на УЧ/NiXC/УСЭ..... 75
5.1 Влияние компонентов матрицы на аналитический сигнал 75
5.2 Оценка адекватности модели процесса 78
5.3 Исследование мешающего влияния компонентов реальных объектов..... 81
5.4 Вольтамперометрическая методика определения карбофурана на УЧ/NiXC/УСЭ в семенах горчицы и свекле сахарной 82
5.5 Сравнительный анализ разработанной вольтамперометрической методики определения карбофурана в семенах горчицы и свекле сахарной с методом ВЭЖХ-УФ..... 83
5.6 Метрологические характеристики вольтамперометрической методики определения карбофурана на УЧ/NiXC/УСЭ в семенах горчицы и свекле сахарной 86
5.6.1 Показатели качества вольтамперометрической методики определения карбофурана в овощах 87
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 89
УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ..... 91

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ..... 94
Приложение 1. Расчет метрологических характеристик для методики по определению карбофурана в овощах 110

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Отравление людей пестицидами уже долгое время рассматривается как масштабная проблема общественного здравоохранения. Ежегодно около 11000 случаев отравлений пестицидами из 385 миллионов являются смертельными. По последней оценке непреднамеренных острых отравлений пестицидами, наибольшее число случаев приходится на Южную Азию, за которой следуют Юго-Восточная Азия и Восточная Африка. Тем не менее, применение пестицидов позволяет предотвратить масштабные потери урожая, и поэтому пестициды будут продолжать играть свою роль в сельском хозяйстве, особенно при демографическом росте. На данный момент одной из главных задач, которую ставит перед собой Всемирная Организация Здравоохранения, при невозможности отказа от пестицидов, является оценка риска для здоровья человека, как в результате непосредственного воздействия пестицидов, так и в результате наличия пестицидов в остаточных концентрациях в сельскохозяйственных продуктах.

Карбофуран (КБФ) является инсектицидом и считается одним из самых опасных пестицидов (I класс опасности). КБФ применяется, в основном, для обработки семян сахарной и кормовой свеклы, рапса, горчицы и риса в целях защиты от насекомых. При попадании КБФ в организм человека повышается уровень ацетилхолина за счет обратного карбамилирования ацетилхолинэстеразы и как следствие могут развиться нарушения нервной и эндокринной систем, а также увеличение ацетилхолина может привести к образованию окислительного стресса в эритроцитах. КБФ может быть обнаружен с помощью иммунохроматографического анализа, высокоэффективной жидкостной хроматографии и газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Такие инструментальные методы имеют свои недостатки: они требуют больших затрат времени, дорогого оборудования и большого количества реактивов, а также сложной подготовки образца. В то же время электрохимические методы анализа, напротив, являются экспрессными, весьма

чувствительными и портативными с концепцией как «белой» [1], так и «зеленой» [2] аналитической химии.

В последнее время внимание исследователей уделяется двум направлениям по определению КБФ электрохимическими методами анализа – создание биосенсоров с включением ферментов, антител, аптамеров в качестве элементов распознавания и разработка электрохимических сенсоров, основанных на модификации поверхности углеродсодержащих электродов углеродными наноматериалами (графен и его производные, углеродные нанотрубки, фуллерен), наночастицами металлов и т.д. Тем не менее, низкая термическая и химическая стабильность биологических компонентов, сложная иммобилизация на поверхности твердого сенсора, и высокая стоимость являются основными недостатками биосенсоров. В связи с развитием нанотехнологии все больше работ исследователей основаны на модификации углеродсодержащих электродов различными материалами, такими как оксиды, сульфиды и наночастицы металлов и углеродными материалами. Более интересным представляется их синергетический эффект при совместном использовании, при котором повышается воспроизводимость, стабильность и селективность сенсоров. Но, к сожалению, при всех положительных результатах, такие сенсоры, в основном, получают трудоемкими методами, что занимает много времени и ресурсов.

Следовательно, данное исследование направлено на создание новых модифицированных углеродными чернилами и хелатсодержащими сорбентами электродов для количественного определения КБФ в овощах методом вольтамперометрии с линейной разверткой потенциала. Разработанные модификаторы углеродсодержащих электродов открывают возможности безотходного использования сорбента колонки в рамках утилизации материалов и удешевляют электродный модификатор по сравнению с использованием наночастиц металлов и их оксидов.

Цель и задачи исследования. Целью исследования является создание новых модифицированных углеродными чернилами и хелатсодержащими

сорбентами углеродсодержащих электродов с последующей разработкой вольтамперометрической методики для определения КБФ в овощах.

Для достижения данной цели необходимо решить следующие задачи:

– Исследовать влияние природы и состава модификаторов углеродсодержащих электродов на основе углеродных чернил и хелатсодержащих сорбентов на токи электроокисления-восстановления КБФ и провести характеристику морфологии поверхностей модифицированных электродов;

– Осуществить подбор рабочих условий получения электроактивной формы КБФ и его вольтамперометрического определения на модифицированных углеродными чернилами и хелатсодержащими сорбентами углеродсодержащих электродах и оценить характеристики двух разработанных модифицированных электродов для дальнейшей разработки вольтамперометрической методики определения КБФ в овощах;

– Исследовать некоторые физико-химические параметры электроокисления/восстановления КБФ-фенола на модифицированном углеродными чернилами и хелатсодержащим сорбентом углеродсодержащем электроде;

– Разработать методику количественного определения КБФ на модифицированном углеродными чернилами и хелатсодержащим сорбентом углеродсодержащем электроде в овощах и провести оценку основных метрологических характеристик разработанной методики.

Научная новизна работы.

1. Впервые разработаны и охарактеризованы новые модифицированные углеродными чернилами и хелатсодержащими сорбентами углеродсодержащие электроды для чувствительного вольтамперометрического определения КБФ в овощах.

2. Впервые подобраны рабочие условия щелочного гидролиза с целью получения электроактивной формы КБФ и изучены его окислительно-

восстановительные свойства на модифицированном углеродными чернилами и хелатсодержащим сорбентом (NiXC) углеродсодержащем электроде.

3. Впервые разработана вольтамперометрическая методика определения КБФ в овощах с использованием модифицированного углеродными чернилами и хелатсодержащим сорбентом (NiXC) углеродсодержащего электрода, отличающаяся простотой изготовления модификатора и широтой диапазона определяемых содержаний КБФ.

Теоретическая и практическая значимость. Разработаны новые модифицированные углеродными чернилами и хелатсодержащими сорбентами углеродсодержащие электроды и вольтамперометрическая методика определения КБФ в овощах. Практическая значимость работы заключается в применении разработанной методики для определения КБФ в сельскохозяйственной продукции и возможной интеграции данного подхода в аналитические лаборатории контроля качества сельскохозяйственной продукции и продуктов питания. Разработанная методика является более дешевой перед существующими аналогами, не требует наличия сложного и дорогостоящего оборудования.

Личный вклад автора. Заключается в сборе, анализе и переработке литературных данных по разработанным электрохимическим методикам определения КБФ в природных объектах, непосредственное выполнение экспериментальной части исследовательской работы, а также в публикации полученных результатов в виде тезисов и статей.

Положения, выносимые на защиту.

1. Результаты разработки и исследования физико-химических свойств новых модифицированных углеродными чернилами и хелатсодержащими сорбентами (FeXC, NiXC) углеродсодержащих электродов для вольтамперометрического определения КБФ.

2. Физико-химические параметры реакции электроокисления-восстановления КБФ на модифицированном углеродными чернилами и хелатсодержащим сорбентом (NiXC) углеродсодержащем электроде.

3. Вольтамперометрическая методика определения КБФ на модифицированном углеродными чернилами и хелатсодержащим сорбентом (NiXC) углеродсодержащем электроде в овощах, отличающаяся простотой изготовления модификатора углеродсодержащего электрода и широтой диапазона определяемых содержаний КБФ.

Степень достоверности и апробация результатов. Основные результаты исследовательской работы докладывались и обсуждались на XI Всероссийской научной конференции и школы «Аналитика Сибири и Дальнего Востока» (Новосибирск, 2021), 12th International Conference on Instrumental Methods of Analysis, IMA-2021 (Thessaloniki, Greece, 2021), Всероссийском симпозиуме и школе-конференции молодых ученых «Физико-химические методы в междисциплинарных экологических исследованиях» (Севастополь, 2021), XXII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л.П. Кулёва и Н.М. Кижнера «Химия и химическая технология в XXI» (Томск, 2021), XXV Всероссийской конференции молодых учёных-химиков (Нижний Новгород, 2022), XXIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л.П. Кулёва и Н.М. Кижнера «Химия и химическая технология в XXI» (Томск, 2022), IV Съезде аналитиков России (Москва, 2022), VI Международной научно-практической конференции «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов», MOSM2021 (Екатеринбург, 2022), XXIV Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л.П. Кулёва и Н.М. Кижнера «Химия и химическая технология в XXI» (Томск, 2023).

Публикации. Результаты проведенных исследований отражены в 13 печатных работах, из которых 3 статьи в научных журналах, которые индексируются базами Web of Science и Scopus, 9 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях и 1 патент на изобретение.

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 118 страницах машинописного текста и включает 30 рисунков, 16 таблиц и список литературы, состоящий из 120 источников.

Благодарности. Автор выражает искреннюю признательность научному руководителю к.х.н., доценту ОХИ ИШПР ТПУ Дорожко Е.В. за всестороннюю поддержку, помощь, полученные знания, ценные советы и наставления в подготовке диссертации. Автор выражает особую благодарность д.х.н., профессору ОХИ ИШПР ТПУ Коротковой Е.И. за всестороннюю помощь и поддержку в выполнении работ. Автор также признателен д.х.н., профессору ОХИ ИШПР Гавриленко М.А. за предоставленные хелатсодержащие сорбенты и к.ф.-м.н., научному сотруднику ИФПМ СО РАН Семину В.О. за помощь в выполнении работ по исследованию морфологии поверхностей. Автор сердечно благодарит всех соавторов работ, вошедших в диссертацию, а также своих коллег за поддержку и мотивацию.

ГЛАВА 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Карбаматные пестициды. Классификация и применение

Согласно ФЗ «О безопасном обращении с пестицидами и агрохимикатами», пестициды – это вещества или смесь веществ, в том числе используемые в качестве регуляторов роста растений, феромонов, дефолиантов, десикантов и фумигантов, и препараты химического или биологического происхождения, предназначенные для борьбы с вредными организмами [3]. Пестициды используются, как в здравоохранении и ветеринарии в качестве дезинфицирующих средств для борьбы с переносчиками заболеваний человека и домашних животных [4], так и человеком в сельском хозяйстве для защиты растений, сельскохозяйственных продуктов, шерсти, хлопка и т.д.

Среднее общее использование пестицидов в мире увеличилось за последнее десятилетие почти на 50 процентов по сравнению с 1990-ми годами, при этом использование пестицидов на единицу площади пахотных земель увеличилось с 1,2 до 1,8 кг/га [5]. В Российской Федерации использование пестицидов на единицу площади пахотных земель относительно других стран остается низким (рисунок 1А), но в то же время с 1992 г. их использование увеличилось в РФ в 4 раза (рисунок 1Б).

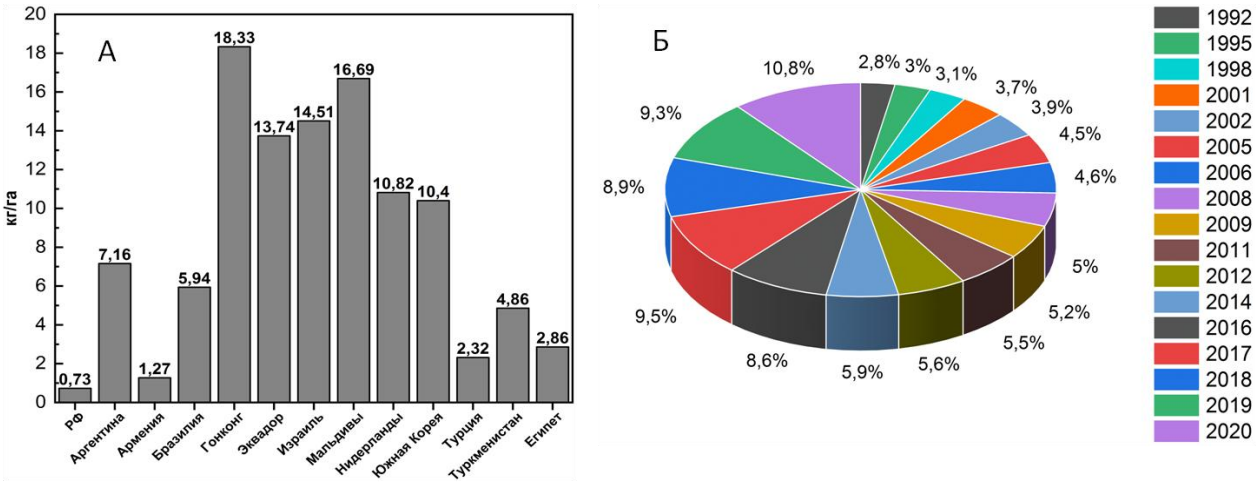


Рисунок 1 – А) Использование пестицидов на единицу площади пахотных земель; Б) Диаграмма роста использования пестицидов в Российской Федерации на единицу площади пахотных земель

Наиболее масштабное применение пестицидов приходится на сельское хозяйство и в зависимости от цели и области использования различают: для борьбы с сорняками (гербициды), членистоногими (инсектициды и акарициды), нематодами (нематоциды), грибными (фунгициды) и бактериальными (бактерициды) заболеваниями растений и животных, а также репелленты, антифиданты, аттрактанты, гормональные инсектициды и хемостерилизаторы.

В настоящее время насчитывается более 1000 наименований пестицидов [5], основная доля которых приходится на органическую группу пестицидов:

- хлорорганические соединения;
- фосфорорганические соединения;
- карбаматные пестициды (карбаматы);
- фенилпиразолы;
- синтетические пиретроидны;
- минеральные масла;
- неоникотиноиды и другие.

Карбаматы получают из карбаминовой кислоты и они широко используются в сельском хозяйстве в качестве инсектицидов, гербицидов и фунгицидов для сельскохозяйственных культур. Карбаматные инсектициды классифицируются как опасные вещества, которые действуют по механизму, аналогичному фосфорорганическим пестицидам, но имеют меньшую продолжительность действия. Они относятся к пестицидам второго поколения, первый инсектицид которых, известный сейчас как карбарил, был синтезирован в 1947 г. в Швейцарии [6–8]. После этого в 1960-х и 1970-х годах были синтезированы десятки карбаматов для использования в качестве пестицидов. В настоящее время карбаматные инсектициды пользуются большей популярностью во всем мире, поскольку они безопасны по сравнению с хлорорганическими и фосфорорганическими соединениями и в окружающей среде, и в организме млекопитающих сохраняется очень мало остатков [8].

Карбаматные соединения подразделяются на три основные группы: карбаматы, тиокарбаматы и дитиокарбаматы (рисунок 2).

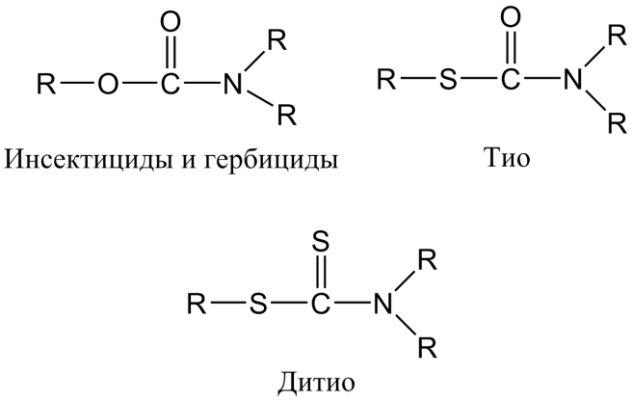


Рисунок 2 – Общие структурные формулы для карбаматов

N-метилкарбаматы обычно используются в качестве инсектицидов, таких как бендиокарб, карбарил, карбофуран, метомил, оксамил, пропоксур и др. В настоящее время карбарил и пропоксур являются единственными двумя карбаматами, которые также рекомендуются для борьбы с эктопаразитами на животных. Некоторые из карбаматов, такие как альдикарб, карбофуран и пропоксур, обычно встречаются при злонамеренных отравлениях млекопитающих и птиц дикой природы [8]. Производные карбаминовой кислоты (хлорпрофам, хлорбуфам, карбутилат и фенмедифам), тиокарбаминовой кислоты (бутилат, циклоат, диаллат, молинат и триаллат) и дитиокарбаминовой кислоты (метам натрия) используются в качестве гербицидов. Фунгициды этой группы включают пропамокарб гидрохлорид, беномил, карбендазим.

При действии на насекомых карбаматные инсектициды и акарициды проявляют контактное, кишечное, фумигационное и реже системное действие. Области их применения: сельское хозяйство, ветеринария и санитарная медицина.

Особенно эффективны карбаматы при уничтожении резистентных к пиретроидам и неоникотиноидам популяций; сами они практически не вызывают резистентности, чему способствует быстрое и длительное действие (1–3 месяца).

При правильном использовании карбаматные пестициды приносят огромную пользу обществу, поскольку они сохраняют и увеличивают сельскохозяйственное производство, а также защищают здоровье людей и

животных от болезней, передаваемых насекомыми-переносчиками. Однако чрезмерное воздействие этих пестицидов на людей и животных может привести ко всему – от незначительных последствий для здоровья до даже смерти [8, 9].

В частности, карбофуран (КБФ) является одним из самых токсичных карбаматов и относится к I классу опасности для человека [10, 11]. КБФ запрещен в Европейском союзе и Канаде, в США отменены допуски на его наличие в продуктах питания, что означает запрет на его применение на культурах для потребления человеком. В России действующее вещество разрешено только для обработки семян на специализированных предприятиях. Однако, в развивающихся странах, откуда идет экспорт сельскохозяйственной продукции в РФ, КБФ продолжает использоваться. Таким образом, при невозможности отказа от него, является оценка риска для здоровья человека, как в результате непосредственного воздействия пестицидов, так и в результате наличия пестицидов в остаточных концентрациях в продуктах питания.

1.2 Физико-химические свойства карбофурана

Карбофуран (N-метилкарбамат, (О-2,3-дигидро-2,3-диметилбензофуранил-7) метилкарбамат, $C_{12}H_{15}NO_3$) – является инсектицидом системного действия из группы карбаматных пестицидов (рисунок 3). КБФ применяется, в основном, для обработки семян сахарной и кормовой свеклы, рапса, горчицы и риса в целях защиты от насекомых [12–14].

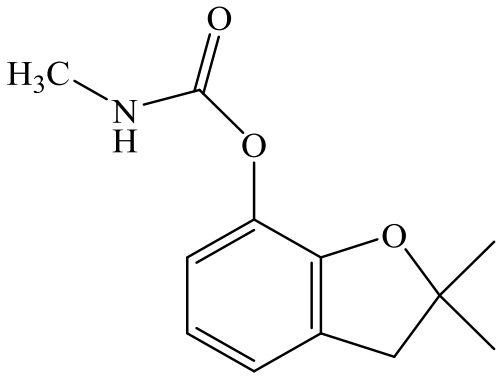


Рисунок 3 – Структурная формула карбофурана

Химически чистый КБФ представляет собой белое кристаллическое твердое химическое вещество со слабым фенольным запахом, высокой растворимостью и низкой адсорбцией в почве. КБФ получают из карбаминовой кислоты, которая состоит из бензофуранильного компонента, связанного с карбаматной группой, реакцией метилизоцианата с 2,3-дигидро-2,2-диметил-7-гидроксибензофураном (рисунок 4) [12].

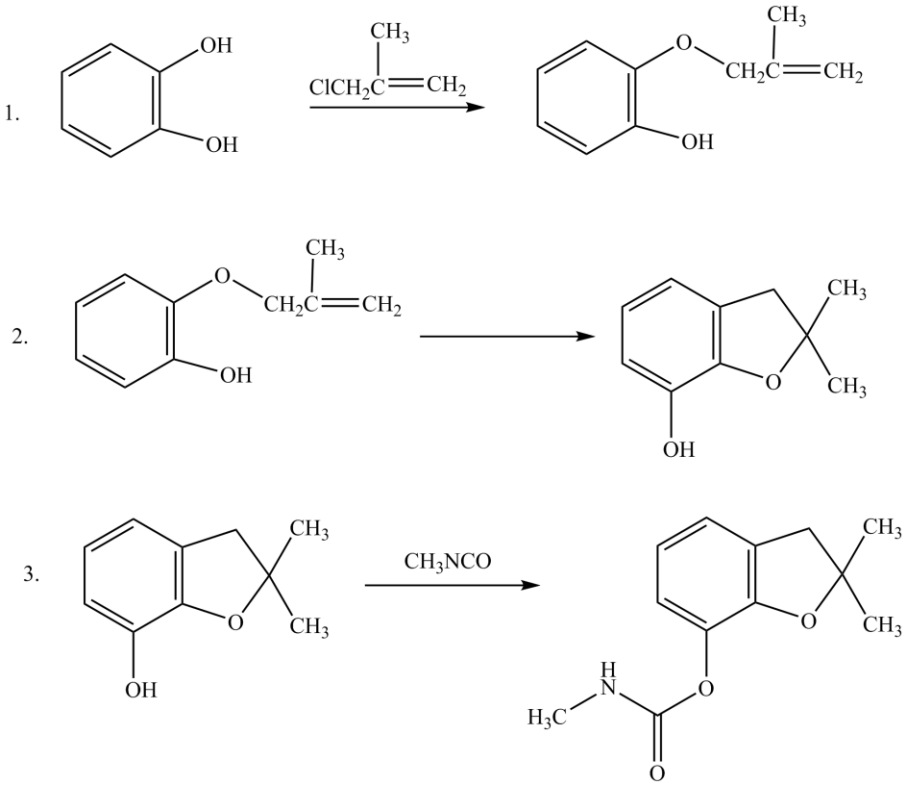


Рисунок 4 – Реакции получения карбофурана

КБФ является активным действующим веществом таких торговых марок в России, как Фурадан, Хинуфур и Адифур. Крестоцветные блошки, долгоносики, свекловичные блошки и проволочники подвержены действию КБФ с целью защиты культур. Согласно нормативным документам такие инсектициды не оказывают влияния на других насекомых, не питающихся перечисленными культурами, не наносят вред окружающей среде, поскольку действуют локально в зоне около корней и внутри растений культур и достаточно одной обработки семян для защиты культур на стадии активного роста [12]. Тем не менее, препараты на основе КБФ относятся к первому классу опасности по российской классификации ГОСТ 12.1.007–76 [15], вызывая различные расстройства и

нарушения в организме человека. Но из-за его низкой стоимости и высокой эффективности, КБФ широко применяется для полевых культур, следовательно, обнаружение КБФ имеет решающее значение в отношении вопросов здоровья потребителей и качества окружающей среды.

1.3 Токсичность и механизм действия карбофурана

Основным источником попадания КБФ в окружающую среду является либо прямое применение на сельскохозяйственных полях и в промышленности, либо косвенное – занос и улетучивание с обработанных полей, загрязняющих воздух, почву, водоемы, нецелевые растения и животных [16]. Точное количество пестицида, которое наносится на сельскохозяйственные культуры, никогда полностью не достигает организма-мишени, и большая часть его количества рассеивается в окружающей среде, загрязняя, таким образом, воздух, почву и водные экосистемы.

Полевые исследования показали, что КБФ имеет умеренно длительный период полураспада в почве (55–115,5 суток), а его подвижность в почве загрязняет грунтовые воды [13]. pH почвы является одним из основных факторов, определяющих стойкость пестицидов, и КБФ, как правило, более стабилен в кислых почвах, чем в нейтральных или щелочных почвах [17]. В зависимости от различных типов почв подвижность КБФ может загрязнять водные ресурсы, такие как пруды, озера, бассейны, реки, ручьи и питьевые грунтовые воды [18]. Следовательно, поступление КБФ в организм человека может быть не только при наличии КБФ в сельскохозяйственных продуктах, но также и в почвах и водах.

КБФ токсичен не только для человека, а также для нецелевых организмов, таких как птицы, грызуны, медоносные пчелы, рыбы и другие водные организмы, при непосредственном вдыхании, проглатывании или всасывании через кожу. Токсикологические данные КБФ представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Токсикологические данные КБФ [19]

Допустимая суточная доза		0,002 мг/кг массы тела человека
Предельно допустимая концентрация (ПДК)	почва	0,01 мг/кг
	вода водоемов	0,02 мг/дм^3
	воздух рабочей зоны	0,05 мг/м^3
Максимально допустимый уровень в продукции	горчица (семена, масло)	0,05 мг/кг
	рапс (зерно, масло)	0,1 мг/кг
	свекла сахарная	0,2 мг/кг
	кукуруза	0,05 мг/кг
	хмель сухой	5,0 мг/кг
Временный максимально допустимый уровень в продукции	кофе (бобы)	1,0 мг/кг
	подсолнечник (семена), рис, сахарный тростник, сорго, хлопчатник (семена)	0,1 мг/кг
	мясо, жир и субпродукты крупного рогатого скота, коз, свиней, овец,	0,05 мг/кг
	цитрусовые	0,5 мг/кг
	цитрусовые (сухая мякоть)	2,0 мг/кг

Механизм действия КБФ основан на обратимом конкурентном ингибировании фермента ацетилхолинэстеразы (АХЭ) в центральной и периферической нервной системах (рисунок 5). КБФ вызывает карбамилирование или модификацию активного центра остатка серина в ферментах карбоксилэстеразы и бутирилхолинэстеразы [20]. Ингибирование ферментов АХЭ вызывает последовательное накопление ацетилхолина (АХ) в нервных синапсах, который разделяется на остатки холина и ацетата, что приводит к клиническим последствиям [21, 22].

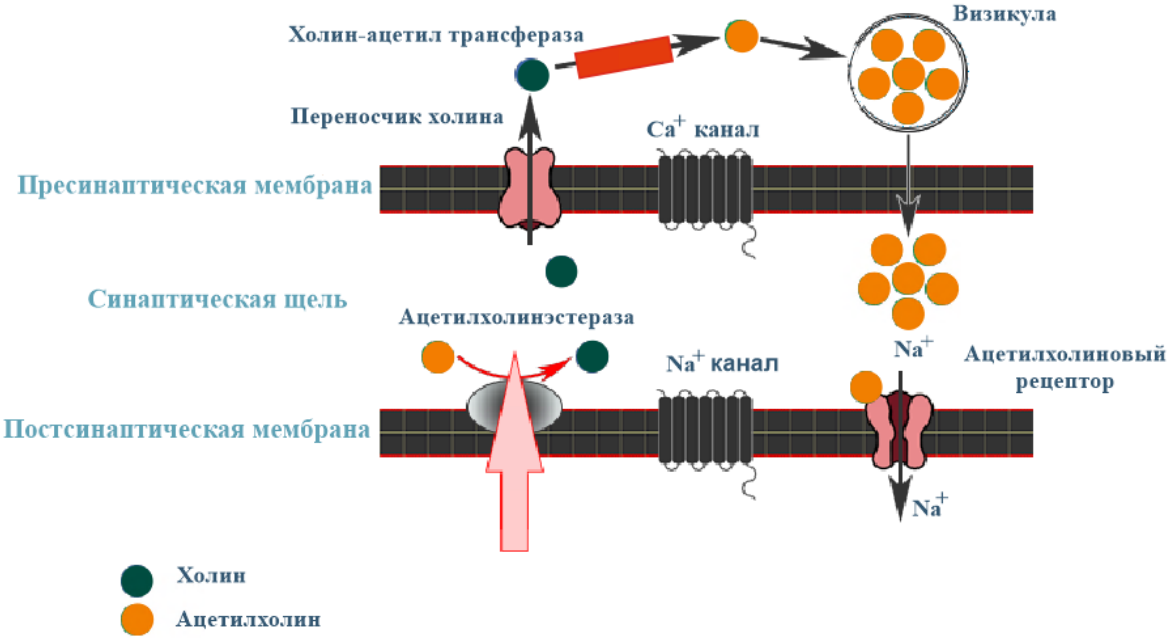


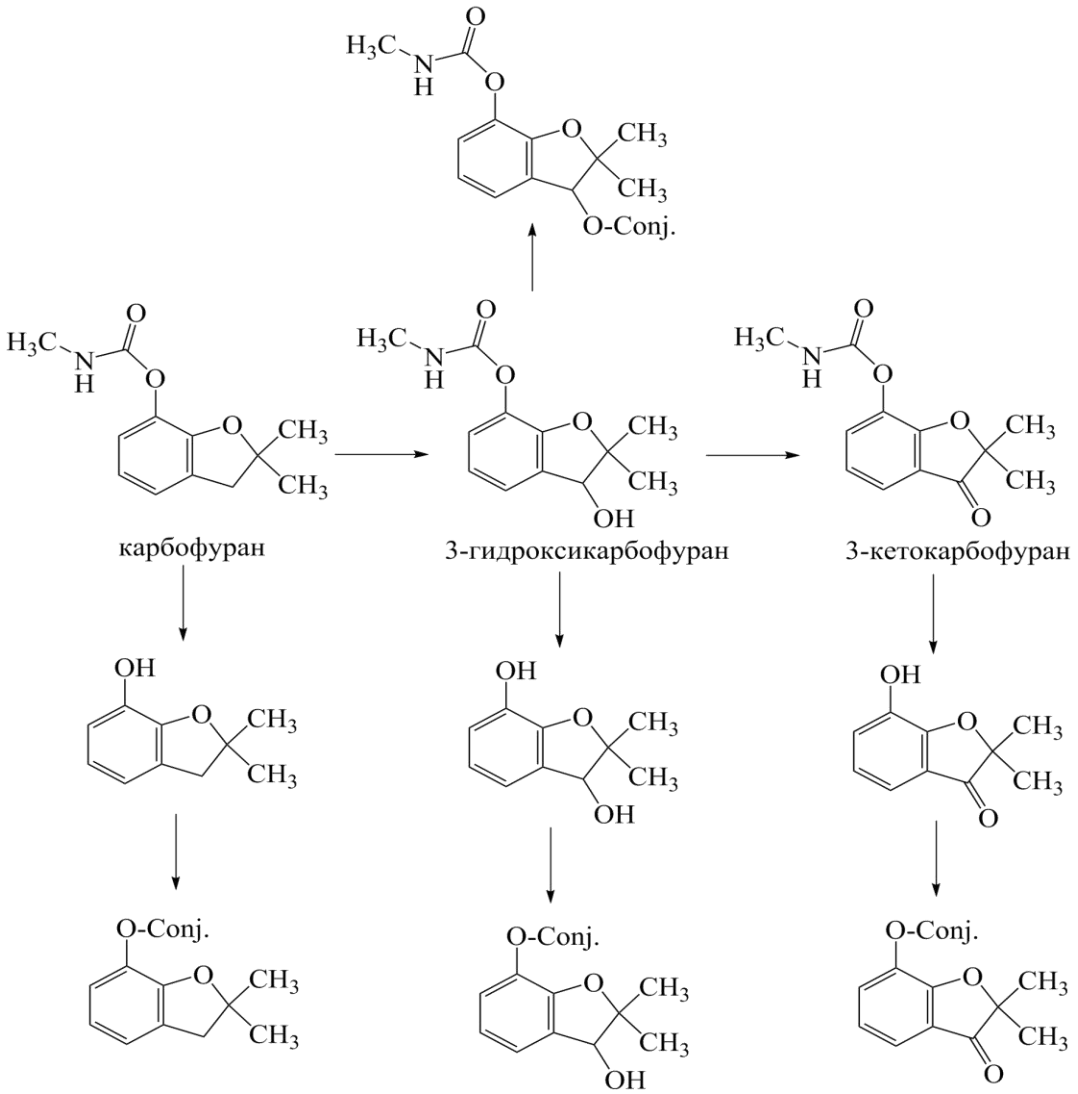
Рисунок 5 – Механизм действия карбофурана

Длительное воздействие КБФ на человека может приводить к хроническим кожным, нейротоксическим, генотоксическим, цитотоксическим, мутагенным, репродуктивным, эндокринным нарушениям, эмбриотоксичности и кожным заболеваниям (рисунок 6) [20, 23, 24].

Рисунок 6 – Пути прямого иммунотоксического действия карбофурана [9]

Хоть КБФ не считается канцерогеном, в работе [25] показали, что воздействие КБФ положительно связано с повышенным риском развития рака

легких. КБФ проникает в организм человека и животных при вдыхании, приеме внутрь и абсорбции через кожу [26]. Однако воздействие на кожу менее токсично, чем прямое вдыхание или прием внутрь КБФ. Примерно 75 % абсорбированного КБФ связывается с белками. КБФ метаболизируется с образованием 3-гидроксикарбофурана и 3-кетокарбофурана путем окисления (рисунок 7), а также с образованием 3-гидрокси-7-фенола, 3-кето-7-фенола и 7-фенола путем гидролиза.



“Conj.” обозначает конъюгаты глюкуронида и сульфата

Рисунок 7 – Метаболическая трансформация карбофурана [27]

Основные его метаболиты 3-кетокарбофуран и 3-гидроксикарбофуран также токсичны. Большинство метаболитов образуют глюкуронидные или сульфатные конъюгаты (рисунок 7), которые выводятся с мочой. Период

полувыведения исходного соединения у крыс составляет 20 мин, а метаболита 3-гидроксикарбофурана – 64 мин [27, 28].

Обычно КБФ накапливается в жировых отложениях и отрицательно воздействует на печень, мозг, сердце, скелетные мышцы и нервную систему [29, 30]. Более высокий уровень воздействия КБФ на человека в первую очередь вызывает мышечную слабость, головокружение, потливость и дискомфорт в теле, за которыми следует головная боль, слюноотделение, тошнота, рвота, боли в животе и диарея.

Пероральный прием КБФ приводит к повреждению нейронов путем образования окислительных свободных радикалов, которые нарушают целостность клеточных мембран, вызывая перекисное окисление липидов и подавляя активность ферментов в эритроцитах [30, 31]. Интоксикация КБФ вызывает значительное снижение содержания гемоглобина, общего количества эритроцитов, тромбоцитов, скорости оседания эритроцитов и гематокрита. Кроме того, ¼ части чайной ложки КБФ при попадании в организм человека может вызвать смерть [32]. Следовательно, крайне необходимо разработать метод обнаружения и количественного определения КБФ как для контроля безопасности окружающей среды, пищевых продуктов, так и здоровья населения.

1.4 Методы извлечения карбофурана

КБФ определяется как в образцах биологического материала (печень, кровь), так и в растительном материале (почва, овощи, фрукты, травы и т.д.). Для изолирования КБФ применяется жидко-жидкостная экстракция, реже твердофазная экстракция и проходит в несколько этапов.

Шорманов В.К. и др. исследовал извлечение КБФ из различных объектов анализа с последующим хроматографическим или оптическим его определением в серии работ [33–36]. Так, в работе [34] установлены оптимальные условия изолирования КБФ из высушенных лекарственных растений системой растворителей этилацетат–ацетон в отношении 1:1 по объему. Такую же систему

растворителей предлагается использовать и для образцов биологического материала совместно с очисткой от эндогенных веществ биоматериала в колонке силикагеля марки КСС-3 80/120 мкм [35]. В работе [35] Шорманов В.К. и др. использовали ту же систему растворителей – этилацетат:ацетон (1:1) – для извлечения КБФ из ткани «свежей печени». Для этого образцы настаивали дважды по 30 мин в этой системе при перемешивании, после чего пропускали объединенное извлечение через стеклянный фильтр со слоем безводного Na_2SO_4. Далее проводили процедуру отгонки растворителя. Остаток, получившийся в результате отгонки, смешивали с силикагелем марки КСС-3 80/120 мкм и после испарения растворителя (ацетона) данную смесь вносили в хроматографическую колонку размером 490×10 мм, заполненную 8,5 г силикагеля марки КСС-3 80/120 мкм [35]. Завершающим этапом для определения КБФ было хроматографирование в системе растворителей гексан:ацетон (8:2) [35].

Кроме того, разработаны Методические указания 4.1.1240–03 по определению остаточных количеств карбосульфана и его основного метаболита карбофурана в клубнях картофеля и почве [37], согласно которым для извлечения КБФ необходимо провести те же стадии, описанные выше, но с изменением растворителей. А именно, для образцов 20 г измельченных клубней картофеля используется буферный раствор с pH 8,0 и смесь н-гексана с ацетоном (4:1, по объему), а для образца 10 г почвы используется ацетон. Далее экстракция проводится одинаково: раствор встряхивают на механическом встряхивателе в течение 10 мин, фильтруют через слой безводного сульфата натрия, проводят дополнительную экстракцию хлористым метиленом 5 мин, фильтруют в колбу с ранее полученным экстрактом и объединенный экстракт упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре не выше 35 °С [37].

В образцах овощей и фруктах для экстракции КБФ используются различные растворители: метанол [38], этанол [39], ацетонитрил [40–43], гексан [44]. Также зачастую экстракция КБФ проходит в два этапа из объектов анализа. Например, в работе [45] КБФ экстрагировали из образцов сельскохозяйственных продуктов,

оставляя сначала в хлороформе на сутки, после чего удаляли хлороформ роторным испарителем и добавляли этанол для повторной экстракции. Во многих работах пробоподготовка овощей и фруктов перед исследованиями для определения КБФ различными методами выглядит так: Измельчение образцов (разрезание, блендирование) → Экстракция → Центрифугирование → Фильтрование супернатанта → Выпаривание экстракта. Для электрохимических методов анализа зачастую требуется щелочной гидролиз КБФ.

1.5 Методы качественного и количественного определения карбофурана

Пестициды, разрешенные в международной торговле и используемые в целях защиты сельскохозяйственных продуктов или продуктов питания не должны быть генотоксичными, т.е. способными вызвать мутацию или раз в результате повреждения ДНК человека. Однако КБФ может приводить к таким расстройствам и болезням в случае превышения максимально допустимого уровня в продукции (рисунок 6). Следовательно, высокая токсичность КБФ обусловила необходимость наличия точных и надежных методов контроля его уровня в целях безопасности.

Ранее для обнаружения КБФ использовались хроматографические методы, такие как газовая хроматография (ГХ) с масс-спектрометрическим детектором, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с диодноматричным детектором, ВЭЖХ с ультрафиолетовым детектором или тандемным масс-спектрометрическим детектором, и спектроскопические методы. Они были чувствительными и надежными, но с открытием новых материалов стали разрабатываться электроаналитические методы: электрохимические и биосенсорные системы.

1.5.1 Хроматографические методы

Хроматографические методы являются одними из первых, которые были применены для обнаружения КБФ [46, 47] и на данный момент широко используются для его обнаружения. Для определения КБФ используется ГХ [48, 49], жидкостная хроматография [43, 50] и ВЭЖХ с различными детекторами [51–54]. Используемые детекторы: масс-спектрометр, детектор с диодной матрицей, ультрафиолетовый детектор и т.д.

Хроматографические методы обладают рядом преимуществ, одни из которых: высокая чувствительность, специфичность и возможность разделения сложных смесей органических и неорганических веществ на отдельные компоненты. Так в работе [51] для идентификации КБФ в содержимом желудка, печени, стекловидном теле и крови у животных с подозрением на экзогенную интоксикацию был разработан и апробирован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодноматричным детектором в линейном диапазоне 6,25–100 мкг/см^3. Точность метода определялась коэффициентом вариации и относительной ошибкой стандартного отклонения, и оба показателя составляли менее 15 %. Извлечение варьировалось от 74,29 до 100,1 % для КБФ. Большинство хроматографических методик на определение КБФ базируется на определении его в сельскохозяйственной продукции, поскольку они являются одним из главных источников поступления его в организм человека. Авторы [53] создали методику для определения остатков пестицидов и фунгицидов разных классов, в том числе КБФ, в пшеничной муке методом ВЭЖХ в сочетании с тандем-масс-спектрометрией. Тандем-масс детектор позволяет разделять и однозначно идентифицировать пестициды, присутствующие в следовых количествах (мг/кг) в матрицах, сводя к минимуму процедуры пробоподготовки и очистки. Таким образом, предел обнаружения КБФ составил $3 \cdot 10^{-4}$ мг/кг, была достигнута точность с относительным стандартным отклонением ≤ 15 и повторяемостью ≥ 87 %.

Хоть и ВЭЖХ является наиболее используемым методом для определения КБФ (рисунок 8), встречаются работы и по определению КБФ газовой хроматографией с масс-спектрометром в качестве детектора.

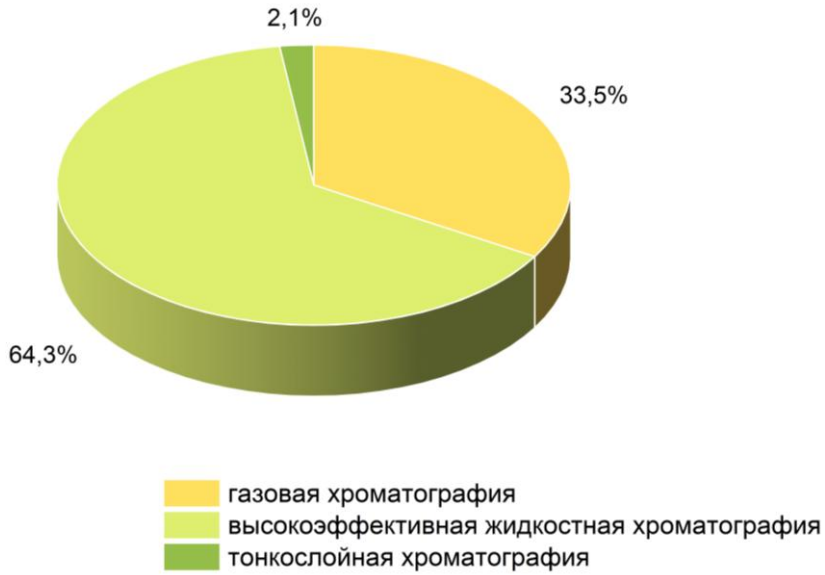


Рисунок 8 – Количество публикаций по определению карбофурана разными хроматографическими методами в период 2013–2023 гг.

Например, в работе [49] был разработан простой и быстрый метод определения 38 пестицидов, среди которых был КБФ, в дренажных водах сельского хозяйства и почве/донных отложениях. Этот метод включает твердофазную экстракцию и прямой ГХ-анализ без дополнительной стадии очистки для проб воды. Анализ ГХ с масс-спектрометрическим детектором показал высокую чувствительность (предел обнаружения 34 нг/дм^3 и 2,9 нг/г для воды и почвы, соответственно) и подтверждающую способность, необходимые для определения остатков пестицидов на следовых уровнях.

Хроматографические методы анализа широко используются для определения КБФ, но имеют свои существенные недостатки: 1) дорогостоящее оборудование и большое количество реагентов, 2) большие временные затраты на проведение анализа, 3) необходимость в высококвалифицированных технических специалистах, 4) невозможность проведения обнаружения на месте.

1.5.2 Спектроскопические методы

Спектроскопические методы реже применяются для определения КБФ в различных объектах и включают в себя спектрофотометрию [55, 56], колориметрию [57], флуориметрию [58–60] и рамановскую спектроскопию [61, 62]. Аналитические характеристики спектроскопических методов определения КБФ представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Спектроскопические методы определения карбофурана

Метод определения	Предел обнаружения	Линейный диапазон	Объекты исследования	Ссылки
Спектрофотомерия	0,2813 мкг/см^3	1–20 мкг/см^3	водопроводная, подземная, речная и дождевая вода	[55]
Спектрофотомерия	0,0621 мкг/см^3	0,1–16 мкг/см^3	рис, пшеница, водопроводная вода	[56]
Колориметрия	1,4 мкг/дм^3	–	груша, водопроводная вода	[57]
Флуориметрия	23 нг/дм^3	0.2–2.2 мг/дм^3	груша, яблоко, капуста	[58]
Флуориметрия	5 нмоль/дм^3	2–500 нмоль/дм^3	китайский батат, астрагал перепончатый	[59]
Флуориметрия	0,04 мкг/см^3	0,1–100 мкг/см^3	ревень, волчья ягода	[60]
Поверхностно-усиленная рамановская спектроскопия	0,053 мг/кг	0,01–10 мг/дм^3	почва	[61]
Поверхностно-усиленная рамановская спектроскопия	0,452 ppm	0,1–5 ppm	рис, соя	[62]

Определение КБФ спектрофотометрическим методом зачастую проводят, связывая КБФ в окрашенный комплекс. Например, в работе [55] использовали п-аминофенол в качестве реагента, который соединяется с КБФ в щелочной среде карбоната натрия для получения окрашенных в синий цвет комплексов с максимумом поглощения при 637 нм. Авторам [55] удалось разработать простую аналитическую процедуру для определения КБФ в пробах воды (водопроводной, речной, подземной, дождевой) с пределом обнаружения 0,2813 мкг/см^3. Однако такие методики не отличаются высокой чувствительностью определения КБФ, соотнося с максимально допустимым уровнем (таблица 1).

В то же время флуоресцентная спектроскопия – это универсальный аналитический метод, который обеспечивает высокую чувствительность обнаружения. Селективность обычно улучшается с помощью спектрофлуориметрических методов, таких как синхронная флуоресценция или флуоресценция при сканировании под переменным углом. Так, в работе [59] был разработан простой и чувствительный флуоресцентный метод, основанный на измерении аналитического сигнала квантовых точек "ядро-оболочка". Ацетилхолин гидролизуется и окисляется ацетилхолинэстеразой (АХЭ) и холиноксидазой наряду с образованием пероксидазы водорода, который вызывает тушение флуоресценции квантовых точек. В присутствии КБФ реакция ацетилхолина с АХЭ может быть ингибирована, и эффективность ингибирования оцененивается путем измерения изменений флуоресценции квантовых точек. Благодаря этому авторы получили низкий предел обнаружения (5 нмоль/дм^3) КБФ при линейном диапазоне 2–500 нмоль/дм^3 и при оптимальных условиях он был определен в китайском батате и астрагале перепончатом.

Помимо флуориметрии, также встречаются работы по определению КБФ поверхностно-усиленной рамановской спектроскопией. Это эффективный метод колебательной спектроскопии, который позволяет проводить высокочувствительное обнаружение аналитов с низкой концентрацией за счет усиления электромагнитных полей, генерируемых возбуждением локализованных поверхностных плазмонов. В настоящее время металлические наноматериалы, такие как наночастицы серебра, золота и меди, широко используются в качестве активных коллоидов [61], на характеристики которых влияют материал, размер, расположение, форма наноструктур и длина волны возбуждения. К примеру, в работе [61] приготовили подходящие коллоиды наночастиц золота традиционным методом восстановления золотохлористоводородной кислоты тринатрийцитратом и применили поверхностно-усиленную рамановскую спектроскопию для количественного определения КБФ в почве с пределом обнаружения 0,053 мг/кг.

Даже при ограниченном успехе этих методов очевидны некоторые недостатки. Они являются 1) трудозатратными, поскольку зачастую невозможно получить прямой аналитический сигнал, 2) дорогостоящими и 3) не могут использоваться в рутинных полевых анализах. Поэтому в настоящее время спектроскопические методы используются в большинстве случаев для качественного обнаружения КБФ. Иногда их объединяют с другими системами в качестве терминальных устройств обнаружения пестицидов, например, в качестве детектора в хроматографии или разрабатываются флуоресцентные сенсоры.

1.5.3 Электрохимические методы

Электрохимические методы обладают рядом преимуществ в определении пестицидов, а именно экспрессностью, дешевизной и портативностью. Наиболее распространенным методом электрохимического определения КБФ является импульсная вольтамперометрия; однако также используются амперометрия, циклическая вольтамперометрия и вольтамперометрия с линейной разверткой потенциала.

В обзоре представлены две группы электродов, классифицированные по типу используемых модификаторов сенсоров, которым исследователи уделяют особое внимание в последние годы. Первая группа включает в себя углеродсодержащие модификаторы, а вторая – биомолекулы и компоненты для создания биосенсоров.

1.5.3.1 Углеродсодержащие модификаторы для электрохимического определения карбофурана

Разработка электрохимических электродов, основанных на модификации углеродсодержащими материалами для определения КБФ, в последние годы вызывает активный интерес ученых. Одними из наиболее перспективных модификаторов электродов для преобразования электрохимических свойств в измеримый аналитический сигнал являются углеродные (нано)материалы и их нанокомпозиты, поскольку они сочетают в себе структурный полиморфизм,

высокую площадь поверхности, термическую и химическую стабильность, биосовместимость, оригинальные каталитические свойства [63–65].

За последние десять лет был предложен широкий спектр электродов на основе углерода, но с включением биомолекул для определения КБФ [66, 67]. Однако появление нанотехнологий привело к созданию нового поколения электродов, изготовленных из углеродной сажи, графена, углеродных нанотрубок (УНТ) и фуллерена [63, 65, 68] без включения биологических компонентов. Универсальность, достигнутая с помощью углеродных аллотропов 0D-3D (рисунок 9), открывает множество новых исследовательских возможностей и достижений в области электроанализа.

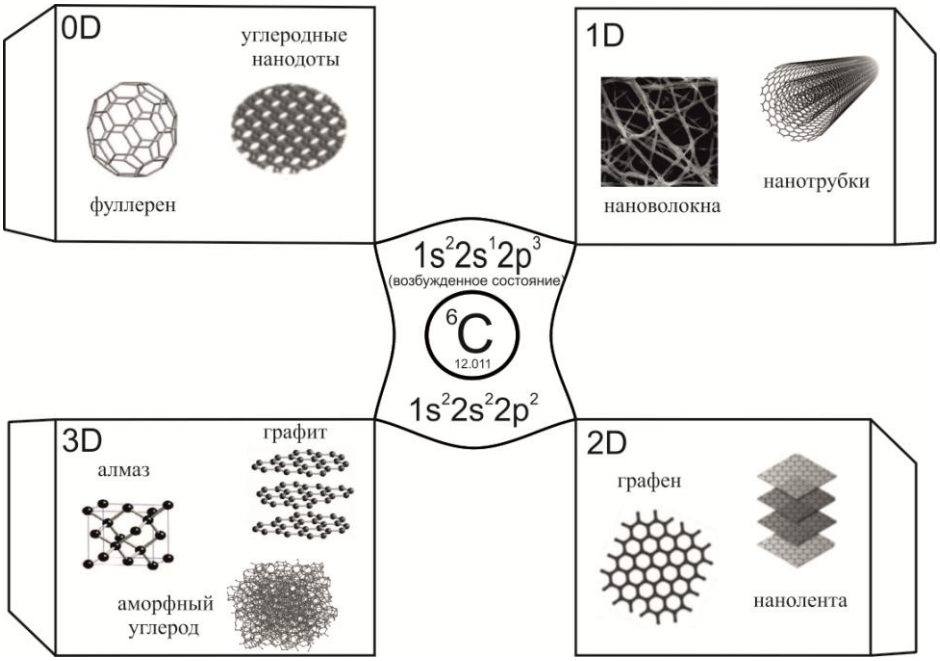


Рисунок 9 – 0-3D углеродные аллотропы, используемые в электрохимических сенсорах

Как видно из таблицы 3, литературный обзор показал впечатляющие исследования по определению КБФ с использованием электродов на основе углерода за последние десять лет. Основные результаты и достижения были получены с использованием электрохимических электродов, модифицированных сажей, оксидом графена и многостенными УНТ, используемыми отдельно или в сочетании с другими (нано)материалами, такими как наночастицы металлов, полимеры и (нано)композиты. Углеродные (нано)материалы играют важную роль

в разработке всех типов электродов для обнаружения КБФ благодаря своим физическим, механическим и электрическим функциям. Их включение значительно улучшает чувствительность, специфичность и общую производительность сенсоров. Во многих электродах регистрируется прямой сигнал от фенольной формы КБФ – карбофуран-фенола, полученной после щелочного гидролиза.

Сажа. Более дешевым и менее трудоемким в изготовлении углеродным материалом является сажа. Интересен подход авторов в работе [69] по предварительному хроматографическому разделению карбаматных пестицидов с использованием С18 с последующим амперометрическим определением КБФ. Анализ состоял из следующих этапов: обогащение и концентрирование смеси карбаматных пестицидов (карбофуран, карбарил, изопрокарб) с использованием процедуры на основе микротипа С18; щелочной гидролиз карбаматных пестицидов с образованием производных фенола; быстрое разделение и амперометрическое обнаружение в микрофлюидном чипе. Микрочип был изготовлен на основе электрохимического чувствительного наноматериала – наночастиц сажи. Благодаря такой системе авторы показали возможность быстрого разделения и обнаружения ряда карбаматных пестицидов менее чем за 6 минут в образцах речной, озерной и оросительных вод с пределом обнаружения 9 мкмоль/дм^3 при диапазоне концентраций 25–125 мкмоль/дм^3. Этот аналитический подход представляется весьма перспективным для будущего мониторинга окружающей среды на месте и для анализа твердых образцов. Однако чувствительность определения требует дальнейших улучшений.

Также известна работа по определению карбаматных пестицидов, в том числе КБФ после гидролиза, в образцах пшеницы [38], в которой в качестве рабочего электрода выступал коммерческий углеродный электрод с трафаретной печатью (ЭТП), модифицированный сажей. Благодаря таким свойствам сажи, как высокая площадь поверхности и хорошая электропроводимость, авторы [38] получили предел обнаружения КБФ 0,049 мкмоль/дм^3 в диапазоне концентраций

0,1–100 мкмоль/дм^3 методом дифференциально-импульсной вольтамперометрии (ДИВ). Такой вариант модификации рабочего электрода не является трудозатратным и долгим, в то же время показывая отличную чувствительность в сравнении с работой [69].

Графен/оксид графена/восстановленный оксид графена. Другим широко используемым гидрофобным материалом является графен (sp2-гибридизированные атомы углерода) из-за своей хорошей электропроводимости и биосовместимости. Но, поскольку графен не устойчив, и его гидрофобность делает его несовместимым с водными растворами электролита, это приводит к значительному препятствию в процессе переноса электронов. В связи с этим в электрохимическом анализе в основном используется оксид графена (ОГ) или восстановленный ОГ [39, 45, 70–74]. Восстановление ОГ может осуществляться тремя принципиально различными методами: термическое, химическое [75] и электрохимическое восстановление [76]. Для определения КБФ наиболее часто применяется электрохимическое восстановление из-за менее трудоемкой и длительной процедуры [45, 71].

Авторами [71] был показан двухступенчатый послойный способ модификации коммерческих электродов из оксида индия и олова (ОИО) для определения КБФ после гидролиза. Первым этапом формируется пленка поли(диаллилдиметил аммония) (ПДДА) и ОГ на ОИО электроде с последующим электрохимическим восстановлением для получения $(ПДДА/ЭВОГ)_5$/ОИО пленки, дальнейшим этапом наносится пленка наночастиц магнетита (НЧМ) и поли(сульфоната стирола) (ПСС) на готовый $(ПДДА/ЭВОГ)_5$/ОИО с образованием $(ПДДА/ЭВОГ)_5/(НЧМ/ПСС)_5$/ОИО. Каждый этап повторялся пять раз, как итог было получено пять бислоев. Такое послойное модифицирование ОИО привело к снижению предела обнаружения КБФ после гидролиза до 0,407 мкмоль/дм^3 при линейном диапазоне концентраций 0,83–11,4 мкмоль/дм^3. Методика была отработана на водопроводной воде и почве, но отсутствует

информация о селективности, стабильности и воспроизводимости разработанного сенсора.

Также восстановленный ОГ включают в материал совместно с металлоорганическими структурами (МОС) типа MIL (Fe)-101 и MIL (Fe)-53, которые были образованы с помощью сольвотермической процедуры [39]. Определение КБФ без гидролиза на 35MIL(Fe)-101@ОГ/СУЭ сенсоре проводили с одновременным определением карбарила в образцах овощей и фруктов в диапазонах концентраций 0,005–0,2 мкмоль/дм^3 и 0,001–0,3 мкмоль/дм^3 соответственно. Благодаря уникальным характеристикам таких композитов в качестве модификаторов СУЭ авторы достигли предела обнаружения 0,0012 мкмоль/дм^3, который ниже предельно допустимого, который требуется для контроля содержания КБФ в пищевых продуктах.

Другим примером включения восстановленного ОГ в состав модификатора электрода является работа [45], в которой модифицированные ЭТП были изготовлены с использованием электрохимически восстановленного мицеллярного ОГ и цетилтриметиламмоний бромида, что увеличило электроактивную площадь поверхности электрода и, как следствие, повысило чувствительность определения не только КБФ после гидролиза, но и карбендазима с пределом обнаружения 0,02 мкмоль/дм^3.

Таким образом, электроды на основе графена или его оксида позволили добиться больших успехов в электрохимическом определение КБФ, но стабильность электродных материалов остается проблемой при разработке коммерческих сенсоров.

Углеродные нанотрубки. УНТ представляют собой углеродные аллотропы из листов графена, расположенных в виде молекулярных цилиндров с такими интересными свойствами, как высокая химическая и термическая стабильность, высокая эластичность и проводимость металла [63, 65]. Данные наноструктурированные материалы подразделяются на одностенные углеродные нанотрубки (ОУНТ), двустенные углеродные нанотрубки (ДУНТ) и многостенные

углеродные нанотрубки (МУНТ). Их использование для определения КБФ без включения ферментов встречается довольно редко [77, 78].

В работе [77] сенсор был сконструирован путем электрохимической полимеризации молекулярного импринтированного полимера (МИП) в присутствии о-фенилендиамина, 4-трет-бутилкаликс[26]арена в комплексе с КБФ и ацетатного буфера на поверхности УНТ-Fe_3O_4@Au/УСЭ. Согласно авторам, включение наноматериалов УНТ-Fe_3O_4@Au в состав электрода значительно увеличивает электроактивную площадь поверхности электрода и увеличивает количество доступных отпечатанных участков, что приводит к улучшению чувствительности и скорости переноса электронов. Однако стоимость производства УНТ и нежелательные реакции хемосорбции на них в некоторых случаях препятствуют их практическому применению для серийного производства электрохимических сенсоров.

Наночастицы металлов и их оксидов. Существует много работ по декорированию электрохимических сенсоров наночастицами металлов или их оксидов [70, 73, 77, 79–81]. Так, в работе [80] авторами предложен сенсор на основе СУЭ, модифицированного CuO и нафионом для синергии более высокой электропроводимости и площади поверхности. Благодаря этому авторы смогли получить чувствительный сигнал для количественной оценки содержания КБФ в линейном диапазоне концентраций от 0,01 до 0,16 мкмоль/дм^3 с низким пределом определения – 0,001 мкмоль/дм^3. Помимо этого, разработанный сенсор показал хорошую селективность и стабильность (относительное стандартное отклонение – менее 1,2 %).

Однако одновременное определение КБФ вместе с другими карбаматными пестицидами по-прежнему редко и требует дополнительных улучшений. Кроме того, требует прогресса обеспечение стабильности работы, воспроизводимости и простоты изготовления сенсоров на основе углерода для их применения в определении карбаматных пестицидов.

Таблица 3 – Углеродсодержащие электроды для электрохимического определения КБФ

Электрод	Модификатор	Метод	Диапазон линейности, мкмоль/дм^3	Предел обнаружения, мкмоль/дм^3	Объект	Преимущества	Недостатки	Литература
УЭТП	Сажа НЧ	Амп	25–125	9	Речные, озерные и оросительные воды	а, б, г	в, г, е	[69]
	Сажа	ДИВ	0,1–100	0,049	Твердая и мягкая пшеница, кукуруза	а, б, в, г	в, г, е	[38]
	Au НЧ/ОГ	ДИВ	1–250	0,22	Огурцы, рис	б, е	а, в, г, д	[70]
	Мицеллярный ЦТАБ/ ВОГ	КВВ	0,09–0,18	0,02	Соевые бобы, рис и помидоры	а, б	в, г, д	[45]
ОИО	$(ПДДА/ЭВОГ)_5$ / $(НЧМ/ПСС)_5$	ДИВ	0,83–11,4	0,407	Водопроводная вода и почва	д	а, б, г, д, е	[71]
ПЭП	ПЭДОТ/ПСС/ОГ	ВЛРП	1–90	0,1	Томаты и вино	а, б, г, д, е	г	[72]
УП	4-ТВ[8]А/КБФ/МИП/ УНТ/Fe_3O_4@Au	Амп, ПИА	0,1–100	0,0038	Капуста, сельдерей, перец чили, лук и мята	в, г, д, е	а, б	[77]
	МИП/МУНТ	КВВ	0,001–1	0,0003	Водопроводная и речная вода, моча	а, в, г, е	в, г	[78]
СУЭ	МИП/ВОГ@Au	ДИВ	0,05–20	0,02	Капуста, огурцы	г, д, е	а	[73]
	CoO/ВОГ	ДИВ	0,2–70	19	Виноград, апельсины, томаты, капуста	а, г, д, е	б	[74]
	NiO	ЦВ	0,5–30	0,5	Шпинат и виноград	а, г, д, е	–	[79]
	35MIL(Fe)-101/ОГ	ДИВ	0,005–0,2	0,0012	Огурцы, томаты, апельсины, капуста	в, г, д, е	а, г	[39]
	Наф/CuO	ДИВ	0,01–0,16	0,001	Капуста, томаты, тыква	а, в, г, д, е	–	[80]
	Fe_3O_4@Au/МИП/NH_2	Амп, ПИА	0,01–100	0,0017	Китайская капуста, кантонский овощ, салат, виноград и питайя	в, г, д, е	а, б	[81]

	МИП/Au НЧ	ДИВ	0,05–400	0,024	Коровий горох, пак-чой	г, д, е	а	[42]
	Gd_2S_3/ВОГ	ДИВ	0,001–1381	0,012	Картофель, речная вода	г, д, е	б	[75]
	CoO НЧ/ карбоксилированные УНТ	ДИВ	0–260	0,004	Капуста, апельсины	а, е	в, г, д	[82]
УСЭ	Хр/ПЭГ/$Fe(AA)_3$/УЧ	ВЛРП	0,25–10	0,08	Ромашка аптечная, зверобой	а, е	в, г, д	[83]

Преимущества: **а** более низкая стоимость анализа; **б** портативность; **в** высокая чувствительность; **г** представление информации о воспроизводимости; **д** представление информации о стабильности; **е** селективность сенсора.

Недостатки: **а** более высокая стоимость анализа; **б** сложное изготовление сенсора; **в** ограниченная или неизвестная стабильность сенсора; **г** ограниченный или неизвестный срок годности сенсора; **д** ограниченная или неизвестная воспроизводимость сенсора; **е** ограниченная или неизвестная селективность сенсора.

1.5.3.2 Биосенсоры для электрохимического определения карбофурана

При разработке электрохимических электродов для определения карбаматных пестицидов часто используются биосенсоры из-за ингибирующего воздействия пестицидов на различные ферменты. Биосенсор – это современное аналитическое устройство, в котором биохимический сигнал, генерируемый в результате взаимодействия мишеней (ферментного субстрата и антигена) с элементами биореагирования (ферментом, антителом и ДНК), может быть преобразован в электронные или оптические сигналы [66]. Благодаря быстрому мониторингу на месте и миниатюризации биосенсоры считаются многообещающими аналитическими системами, дополняющими традиционные аналитические методы.

В настоящее время, основываясь на типах элементов биораспознавания, биосенсоры КБФ в основном делятся на ферментные биосенсоры (АХЭ и другие ферменты), сенсоры на основе аптамеров, и иммуносенсоры (антитела и антигены). В таблице 4 обобщены представленные элементы биораспознавания для биосенсоров КБФ. Регистрация аналитического сигнала в иммуносенсорах осуществляется путем регистрации ЦВА электрохимически активных соединений: $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$, либо берлинской лазури [84–86]. В то же время, аналитические сигналы от ферментных сенсоров регистрируются за счет окисления/восстановления тиохолина [41, 87, 88] или ацетилтиохолин хлорида [40, 89–93].

Использование прямых иммунореакций для обнаружения КБФ является сложной задачей, поскольку иммуносенсоры для определения низкомолекулярных аналитов работают по конкурентному типу, а изменение электрического сигнала после иммунореакции незначительное. Обычно конкурентный иммуноанализ протекает на твердой электродной поверхности. В основе лежит принцип конкуренции между исследуемым КБФ и постоянным количеством аналогичного, но меченного высокомолекулярного гаптена КБФ за ограниченное количество сайтов связывания специфических антител. Научная

группа под руководством Xia Sun [84–86, 94] опубликовала серию работ по разработке иммуносенсоров для определения КБФ с включением различных материалов в состав электрода. Так, в работе [86] был предложен электрохимический иммуносенсор, основанный на наночастицах золота (повышение проводимости и биосовместимости), берлинской лазури/МУНТ/ нанокомпозитной пленки хитозана в качестве носителя биомолекул (большое количество карбоновых и аминогрупп для иммобилизации белка А). Кроме того, технология послойной сборки белка А усилила иммобилизацию специфичных антител против КБФ на электродной поверхности и чувствительность сенсора для определения КБФ. Предел обнаружения КБФ биосенсора составил 0,021 нг/см^3 с диапазоном линейности 0,1–1 нг/см^3. В то же время, в работе [85] предложен другой дизайн иммуносенсора на основе силикагель/антитело для определения КБФ в капусте и листьях салата. Аналитический сигнал в данной работе регистрировался от берлинской лазури, и предел обнаружения составил 0,33 нг/см^3, что меньше, чем в работе [86], в которой предложенный амперометрический иммуносенсор показал высокую чувствительность, стабильность и хорошую воспроизводимость.

В работе [95] авторы показали возможность использования не только антител, но и перспективы использования ДНК аптамеров для определения КБФ в овощах и фруктах. Однако ДНК аптамер был совместно использован с МИП в качестве двойной системы распознавания КБФ. Такая система приводит к высокой селективности обнаружения КБФ с использованием электрохимического микрожидкостного чипа. Кроме того, для увеличения чувствительности такого сенсора были использованы наночастицы золота с оксидом графена. Предел обнаружения составил 0,0687 нмоль/дм^3. Несмотря на такой низкий предел обнаружения, процесс подготовки чипа очень трудоемок, а стабильность МИП нуждается в дальнейшем улучшении.

Таким образом, иммуносенсоры для определения КБФ зарекомендовали себя как высокоселективные и высокочувствительные системы. Однако

иммуносенсоры для определения КБФ нестабильны, а биосенсорный слой требует постоянной регенерации по сравнению с ферментными сенсорами. Кроме того биосенсоры на основе иммуноглобулинов является дорогостоящими, а этапы их иммобилизации на твердой поверхности должны быть щадящими без использования реактивов приводящей к денатурации специфических белков. В связи с этим более перспективными являются ферментные биосенсоры.

Другим типом биосенсоров для определения КБФ является ферментные биосенсоры (таблица 4). Фермент может эффективно влиять (ускорять или замедлять) на скорость реакции в качестве биокатализаторов. Однако использование сильной кислоты, основания или любых ферментных ингибиторов может инактивировать ферментный слой биосенсоров. Карбаматные пестициды, к которым относится КБФ, являются типичными ингибиторами АХЭ, поэтому опубликовано много работ с использованием этого фермента [40, 41, 87–93]. Так, в работе [89] авторы успешно разработали ферментный сенсор на основе АХЭ, иммобилизованный на электродной поверхности из сажи и пиллар[5]арена, который хорошо растворим в полярных органических растворителях. Предел обнаружения составил 0,02 нмоль/дм^3 для определения КБФ в арахисе и свекле, что, согласно авторам, может быть связано с сорбционным накоплением КБФ в непосредственной близости от активных центров фермента. Также было исследовано защитное действие производного аммиака пиллар[5]арена на необратимое ингибирование АХЭ биосенсора.

В свою очередь, в работе [92] также описан простой и недорогой метод изготовления высокочувствительного АХЭ биосенсора, основанный на электроудержании АХЭ в полипирроле в присутствии низкого количества электролита (KCl) с последующим сшиванием с глутаральдегидом и желатином. Авторы показали, что смесь глутаральдегида и желатина может повысить стабильность биосенсора, обеспечивая лучшее сшивание, чем при помощи использования только глутаральдегида.

Кроме того, щелочная фосфатаза [44] и внеклеточные ферменты эстеразы из *Eupenicillium shearii* [96] также были использованы в качестве элементов биологического распознавания для определения КБФ в воде. Аналитические сигналы регистрировались от гидрофосфата натрия и р-нитрофенилацетата соответственно.

Ферментные биосенсоры обладают рядом преимуществ, а именно: простота подготовки, быстрая реакция и высокая чувствительность. Как правило, ферментные биосенсоры не обладают селективностью по определению КБФ по сравнению с иммуносенсорами. Использование ферментных биосенсоров возможно только для определения общей карбаматной загрязненности. В настоящее время, как было показано выше, различные углеродные наноматериалы используются в электрохимических биосенсорах для обнаружения КБФ. Тем не менее, низкая стабильность биологических объектов, сложная иммобилизация на поверхности твердого сенсора, низкая термическая и химическая стабильность, и высокая стоимость являются основными недостатками ферментных биосенсоров.

Таким образом, кратко описаны современные разработки по применению как углеродсодержащих модификаторов электродов, так и биосенсоров (ферментных и иммуносенсоров) для определения КБФ. Углеродные наноматериалы имеют ключевое значение при разработке электродов всех типов, поскольку независимо от механизма и характера определения включение этих материалов в состав поверхности электрода оказывает положительное влияние на чувствительность, специфичность и общую производительность электродов. В целом электрохимические электроды являются экспрессными и высокочувствительными аналитическими системами для определения КБФ и других карбаматов, однако необходимы дальнейшие исследования для улучшения стабильности их работы, селективности, воспроизводимости, простоты и дешевизны изготовления готовой сенсорной системы.

В связи с этим, в данной работе мы предлагаем в качестве модификаторов углеродсодержащих электродов использовать более дешевые, доступные и простые в изготовлении материалы: хелатсодержащие сорбенты (ХС) совместно с углеродными чернилами (УЧ). ХС были получены на основе универсального твердого носителя Хроматона N, 5 % неподвижной полиэтиленгликолевой жидкой фазы 20 М и 2,5 масс. % ацетилацетоната железа III, названный далее как FeXC, и 10 масс. % ацетилацетоната никеля II, обозначающийся далее как NiXC. Данные ХС легко получаемы, используются в газовой хроматографии и были предоставлены д.х.н., профессором Инженерной школы природных ресурсов Томского политехнического университета М.А. Гавриленко. Именно FeXC и NiXC были выбраны, поскольку известно, что Fe и Ni являются электрокатализаторами и более дешевыми в сравнении с благородными металлами.

При использовании в качестве модификаторов электродов новой синергии ХС и УЧ должна увеличиться чувствительность определения КБФ, сократиться время изготовления готового электрода и снизиться стоимость модификации электродов по сравнению с использованием наночастиц металлов и(или) их оксидов. Более того, использование ХС в качестве модификаторов электродов открывает возможности безотходного использования сорбентов колонки в рамках вторичной переработки материалов.

Таблица 4 – Биосенсоры для электрохимического определения КБФ

Электрод	Материал электрода	Метод	Диапазон линейности, мкмоль/дм^3	Предел обнаружения, мкмоль/дм^3	Объект	Преимущества	Недостатки	Литература
УСЭ	Au НЧ/Х/Fe_3O_4/ ФМУНТ/Ат/БСА	Амп	0,0045–0,045 и 0,045–0,9	0,00015	Капуста	в, г, д, е	а	[84]
	Ат/силикагель-гель	ЦВА	0,0045–450 и 260–900	0,0015	Капуста, листья салата	в, д, е	а	[85]
	БСА/Ат/протеин А/БЛ /МУНТ/Х/Au НК	ЦВА	0,00045–0,0045	0,000095	Капуста, листья салата	в, г, д, е	а, б	[86]
	УС/Р[5]А/АХЭ	Амп	0,0001–1	0,00002	Арахис, свекла	а, в, г	в, д, е	[89]
	Кон А/ПДА/ВОГ/ Au НЧ/АХЭ	ЦВА	5–40	0,012	Томаты	в, д	а, б, д, е	[90]
	АХЭ/Fe_3O_4/Х	КВВ	0,005–0,09	0,0036	Капуста	а, в, г, д	г, е	[87]
	АХЭ/э-ОГ/МУНТ	Амп	0,00016–0,0036	0,000068	Шпинат, капуста, вода	в, г, д, е	а	[88]
	Нф/АХЭ/Х/NiO/КГ/Нф	ЦВА	10^{-6}–10^{-4} и 10^{-4}–10^{-2}	$5\cdot10^{-7}$	Яблоко, капуста	в, г, д, е	а, б	[40]
	АХЭ/УС/ТС-0/Ag	Амп	0,0002–0,2	0,0001	Персиковый, виноградный соки	в, г, д	а, е	[93]
Микрочип	МИП/ОГ/Au НЧ/ДНК аптамер	ДИВ	0,002–0,05	0,000067	Китайская капуста, чили, салат, помидор, яблоко, банан, мандари, арбуз	б, в, г, д, е	а, г	[95]
УЭТП	УС/Х/АХЭ	Амп	0,0011–0,023	0,0006	Оливковое масло	б, в, г, д	а, б, е	[41]
Au	Наф/АХЭ/Х/БЛ/МУНТ/ ПЗН	ДИВ	0,005–0,08	0,0025	Капуста, салат, лук-порей, бок-чой (сорт китайской капусты)	в, д	а, б, д, е	[91]
	БСА/Ат/{Au НК/ТББТ}$_2$/ Au/ТББТ	КВВ	0,00045–4500	0,00027	Салат, капуста, зеленый перец, помидоры, китайский зеленый лук, клубника	в, г, д, е	а, б	[94]

Продолжение таблицы 4

Pt	ПП/АХЭ/желатин/ глутаральдегид	Амп	0,0005–0,25	0,0005	-	а, в, д	б, е	[92]
Пластиковый шприц-тюбик	ЩФ/УПЭ	Амп	0,045–0,44	0,045	Вода, чили перец	а, в, д, е	–	[44]
Пластиковый шприц с медной проволокой	*Eupenicillium shearii* FREI-39 эстераза/ГНТ/ ГП/МУНТ	КВВ	0,023–0,452	0,008	Вода	в, д	а, б, е	[96]

Преимущества: **а** меньший расход химических реагентов; **б** портативность; **в** возможность количественного определения биомолекул; **г** высокая чувствительность; **д** представление информации о воспроизводимости и стабильности; **е** селективность сенсора

Недостатки: **а** более высокий расход химических реагентов; **б** сложное изготовление электрода; **в** ограниченная или неизвестная стабильность датчика; **г** ограниченный или неизвестный срок годности датчика; **д** ограниченная воспроизводимость датчика; **е** ограниченная селективность сенсора

ГЛАВА 2 Экспериментальная часть

2.1 Оборудование, электроды

Оборудование для электрохимического определения КБФ. Вольтамперометрический анализатор ТА-Lab с оснащенным программным обеспечением компании «НПП «Томьаналит» использовался в данной диссертационной работе для электрохимических исследований. Одним из достоинств данного анализатора является возможность реализации различных режимов регистрации вольтамперограмм: постоянно-токовая, ступенчатая, дифференциально-импульсная, позволяющие выбрать оптимальные рабочие условия получения аналитических сигналов определяемого компонента КБФ. ТА-Lab снабжен тремя трехэлектродными электрохимическими ячейками для проведения параллельных измерений с возможностью использования «выносной» ячейки. Для электрохимического определения КБФ была использована трехэлектродная ячейка, представляющая собой: три электрода – рабочий, вспомогательный электроды и электрод сравнения и кварцевый стаканчик объемом 20 $см^3$, в который налит раствор электролита и опущены электроды. Перемешивании растворов в электрохимической ячейке при необходимости осуществлялось путем стабилизированной вибрации рабочих электродов.

Оборудование для исследования морфологии поверхности модифицированных электродов. Для характеристики поверхности электродов применялся сканирующий электронный микроскоп (СЭМ) высокого разрешения с полевой эмиссией Apreo 2 S (Thermo Fisher Scientific, USA) с применением детектора вторичных электронов. Элементный состав модификаторов электродов анализировали с помощью энергодисперсионного спектрометра (ЭДС) INCA Energy (Oxford instruments, Великобритания), установленного на СЭМ EVO 50 (Zeiss, Германия). Обработка интегральных ЭДС спектров проводилась в INCA ENERGY 350 software (Oxford Instruments INCA, версия 4.15). Потенциостат/гальваностат/импедиметрический анализатор PalmSens 4

(PalmSens, Houten, Нидерланды) использовалась для электрохимической характеристики модифицированных электродов, в частности для получения информации о двойном электрическом слое, сопротивлении переноса электронов и расчета электроактивной площади.

Другое дополнительное оборудование. Взвешивание навесок проводили с использованием аналитических весов с дискретностью 0,0001 г ВЛ-124 I специального класса точности (ООО «НПП Госметр», Россия). Термостат Bio TDB-100 (BioSan, Латвия) с гнездами для типов пробирок эппендорф и диапазоном температур от +25 °С до +100 °С использовали для гидролиза КБФ до КБФ-фенола. Для приготовления модификаторов использовался встряхиватель типа “Vortex” на одну пробирку со скоростью вращения гнезда от 50 до 4500 об/мин (ELMI Ltd., Латвия). Лабораторная микроцентрифуга MPW-55 со скоростью вращения 300–14000 об/мин (MPW Med. instruments, Польша) и шейкер-термостат BioShake IQ для всех типов микропланшетов, микропробирок и стеклянных виал (Q.Instruments, Германия) применялись при пробоподготовке реальных объектов перед исследованиями. Бидистиллированную воду получали с использованием бидистиллятора электрического типа БЭ-4 (ООО ПФ «Ливам», Россия).

Хроматографические исследования проводили при помощи высокоэффективного жидкостного хроматографа Милихром А-02 с УФ-спектрофотометрическим детектором (ООО Институт хроматографии «ЭкоНова», Россия). Основные технические характеристики: микроколонка Ø2х75 мм из нержавеющей стали с эффективностью до 6000 теорет. тарелок; двухлучевой спектрофотометр с диапазоном 190–360 нм; двухшприцевой, градиентный насос, скорость подачи 50–1000 мкл/мин. Хроматограф оснащен программным обеспечением МилиХром А-02, АльфаХром и АльфаСпектр.

Электроды. Углеродсодержащий электрод (УСЭ) с обновляемой поверхностью (ООО «НПП «Томьаналит», Россия), состоящий из полиэтиленового корпуса, который заполнен электропроводящей смесью

полиэтилена и технического углерода (30 %), использовался как рабочий электрод в качестве аналога графитовых электродов. УСЭ в качестве рабочего электрода был выбран за счет простого обновления рабочей поверхности электрода, которое осуществляется путем срезания тонкого слоя (0,1–0,3 мм) специальным резаком (ООО «НПП «Томьаналит», Россия). Площадь рабочей поверхности составляет не менее 11 мм^2. Далее поверхность рабочего электрода подвергалась модификации согласно п. 2.3.

Хлорсеребряные электроды (ХСЭ) применялись как электрод сравнения и вспомогательный электрод. ХСЭ представляет собой спираль из серебряной проволоки, покрытой хлоридом серебра и помещенной в полипропиленовый корпус с полупроницаемой пробкой из оксида алюминия. Перед применением корпус электрода заполняли раствором KCl концентрации 1 моль/дм^3 и оставляли на сутки при комнатной температуре с целью установления равновесного значения потенциала. Перед использованием электроды ополаскивали бидистиллированной водой. Далее готовые ХСЭ хранили при комнатной температуре в стакане с раствором 1 моль/дм^3 KCl.

2.2 Реактивы, химическая посуда, приготовление растворов

Реактивы. В работе использовались следующие реактивы и стандартные вещества:

- карбофуран (Sigma-Aldrich, США);
- метанол, х.ч. (ГОСТ 2222–95, Химмед, Россия);
- ацетонитрил, х.ч. (ТУ 2636-092-44493179-04, ЭКОС-1, Россия);
- 1,2-дихлорэтан (Acros Organics BVBA, Бельгия);
- микрокристаллический графит, <20 мкм (Fisher Scientific, Великобритания);
- полистирол (Sigma-Aldrich, США);
- калий хлористый, х.ч. (ГОСТ 4568–95, Уралкалий, Россия);
- натрий гидроокись, х.ч. (ГОСТ 4328–77, Лабтех, Россия);
- натрий хлористый, х.ч. (ГОСТ 4233–77, ЛенРеактив, Россия);

– кальций хлористый, х.ч. (ГОСТ 450–77, ЛенРеактив, Россия);
– стандарт-титр тип 4 pH 6,86 (ГОСТ 8.135–2004, Уралхиминвест, Россия);
– гексаамминерутений (III) хлорид $[Ru(NH_3)_6]Cl_3$ (Senzhuo Industry Co., Китай);
– аскорбиновая кислота, ч.д.а. (ЛенРеактив, Россия);
– никотиновая кислота, х.ч. (Кемикал Лайн, Россия);
– глюкоза кристаллическая, ч.д.а. (ГОСТ Р 70295–2022, Вектон, Россия);
– рибофлавин, х.ч. (Вектон, Россия);
– дистиллированная и бидистиллированная вода (ГОСТ Р 52501–2005).

Хелатсодержащие сорбенты были предоставлены д.х.н., профессором Инженерной школы природных ресурсов Томского политехнического университета М.А. Гавриленко. Хелатсодержащие сорбенты были получены на основе универсального твердого носителя Хроматона N, 5 % неподвижной полиэтиленгликолевой жидкой фазы 20 М и 2,5 масс. % ацетилацетоната железа III, названный далее как FeXC и 10 масс. % ацетилацетоната никеля II, обозначающийся далее как NiXC [97–99].

Химическая посуда. В данной работе использовалась следующая химическая посуда: колбы мерные вместимостью 25, 50, 100 и 1000 $см^3$ (ГОСТ 1770–74); кварцевые стаканы вместимостью 20 $см^3$; стакан химический вместимостью 50, 100 $см^3$; микропробирки типа эппендорф вместимостью 1,5, 2 $см^3$; дозаторы одноканальные переменного объема 1–5 $см^3$, 0,1–1 $см^3$ («Экросхим», Россия) и 0,001–0,01 $см^3$ (АО «Термо Фишер Сайентифик», Россия). Наконечники универсальные для дозаторов использовались отдельно для каждого раствора. Химическая посуда, используемая для исследований, была предварительно очищена содовым раствором с последующим ополаскиванием бидистиллированной водой. Чистоту химической посуды, необходимой для вольтамперометрических исследований, проверяли путем регистрации циклических вольтамперограмм «холостого» фосфатного буферного раствора и считали чистой при отсутствии пиков.

Приготовление фонового электролита. В качестве фонового электролита был использован фосфатный буферный раствор pH 6,86, приготовленный растворением содержимого стандарт-титра в бидистиллированной воде. Фоновый электролит хранили в плотно закрытой стеклянной посуде при комнатной температуре.

Приготовление раствора хлорида калия (KCl). Для приготовления раствора хлорида калия с молярной концентрацией 1 моль/дм^3 навеску калия хлорида 7,46 г переносили в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводили объем до метки дистиллированной водой. Раствор хлорида калия хранили в темной стеклянной посуде при комнатной температуре.

Приготовление раствора гидрооксида натрия (NaOH). Для приготовления раствора гидрооксида натрия с молярной концентрацией 0,1 моль/дм^3 навеску натрия гидроокиси (0,40 ± 0,01) г переносили в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводили объем до метки дистиллированной водой. Приготовленный раствор хранили в стеклянной посуде при комнатной температуре.

Приготовление стандартного раствора КБФ. Стандартные растворы карбофурана готовили концентрацией 9 ммоль/дм^3. Для этого навеску КБФ 0,002 г переносили в эппендорф вместимостью 1,5 см^3, добавляли 0,2 см^3 метанола и перемешивали в течение 5 мин. Поскольку КБФ неактивен на безферментных электродных системах, далее проводили щелочной гидролиз с целью получения КБФ-фенола. Для этого к полученному раствору добавляли 0,8 см^3 0,1 моль/дм^3 NaOH и нагревали при 45 °С в течении 30 мин. Полученный стандартный раствор хранили при температуре –4 °С в темноте.

Приготовление 0,1 М раствора гексаамминерутения хлорида ($[Ru(NH_3)_6]Cl_3$). 0,1 моль/дм^3 раствор гексааммирутения хлорида (III) готовили путем взвешивания 0,77 г $[Ru(NH_3)_6]Cl_3$, переноса данной массы в мерную колбу вместимостью 25 см^3 и доведения раствора до метки бидистиллированной водой. Раствор хранили не более пяти суток при –4 °С.

2.3 Изготовление модифицированных углеродсодержащих электродов

Приготовление модифицированного суспензией углеродных чернил УСЭ. Модификатор – углеродные чернила (УЧ) – был получен путем смешивания в эппендорфе 0,09 г микрокристаллического графита и 0,01 г полистирола, диспергированных в 0,5 $см^3$ 1,2-дихлорэтана. Полученную суспензию интенсивно перемешивали с помощью встряхивателя типа «Vortex» в течение 10 минут до получения однородной суспензии. После этого 0,004 $см^3$ полученной суспензии УЧ наносили на поверхность УСЭ капельным путем и высушивали на воздухе. Полученный модифицированный электрод будет обозначаться далее как УЧ/УСЭ.

Приготовление модифицированного хелатсодержащим сорбентом FeXC УСЭ. Были исследованы разные соотношения хроматографического сорбента FeXC к микрокристаллическому графиту. Наконец, было установлено, что наилучшей композицией для модификации УСЭ является 0,06 г микрокристаллического графита, 0,01 г полистирола, 0,03 г FeXC, диспергированных в 0,5 $см^3$ 1,2-дихлорэтана. Полученную смесь интенсивно перемешивали с помощью встряхивателя типа «Vortex» 10 минут до получения однородной суспензии. Полученный модификатор хранили при комнатной температуре в течение 1 недели. На поверхность УСЭ капельным путем наносили 0,004 $см^3$ полученной суспензии и сушили на воздухе. Полученный модифицированный электрод будет обозначаться как УЧ/FeXC/УСЭ.

Приготовление модифицированного хелатсодержащим сорбентом NiXC УСЭ. Приготовление модифицированного УСЭ хелатсодержащим сорбентом с включением соли никеля (II) осуществлялось тем же способом, как и для FeXC. Далее в работе полученный модифицированный электрод будет обозначаться как УЧ/NiXC/УСЭ. Общая схема приготовления модифицированных хелатсодержащими сорбентами УСЭ представлена на рисунке 10.

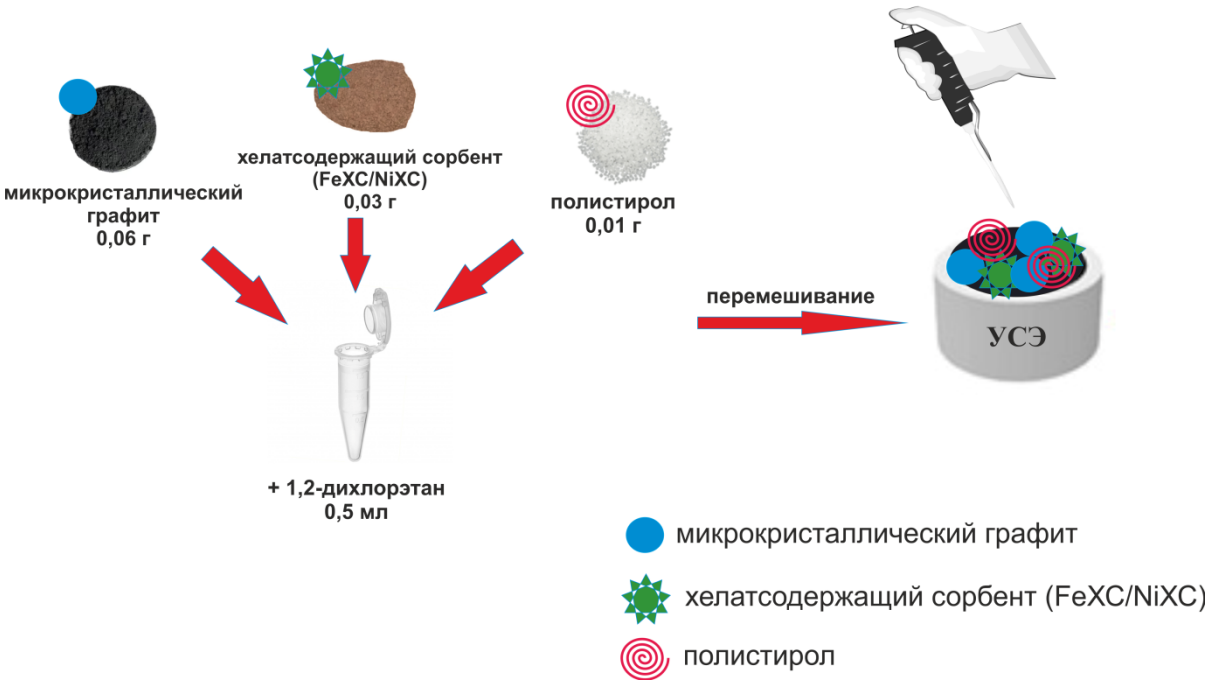


Рисунок 10 – Схематическая иллюстрация приготовления модифицированных хелатсодержащими сорбентами УСЭ

2.4 Вольтамперометрическое определение карбофурана с использованием УЧ/FeXC/УСЭ

Вольтамперометрическое определение КБФ после его превращения путем щелочного гидролиза в КБФ-фенол проводили с использованием анализатора TA-Lab и трехэлектродной электрохимической системы: рабочий электрод – УЧ/FeXC/УСЭ, вспомогательный и электрод сравнения – два ХСЭ, заполненные 1 моль/дм^3 KCl. В электрохимическую ячейку в качестве фонового электролита вносили 10 см^3 фосфатного буферного раствора (ФБР) pH 6,86 и осуществляли проверку на чистоту фона путем регистрации вольтамперных кривых с линейной разверткой потенциала в области потенциалов от –0,4 до +1,2 В в режиме первой производной и со скоростью развертки потенциала 100 мВ/с. Запись вольтамперограмм фонового электролита повторяли не менее пяти раз. Отсутствие посторонних пиков на вольтамперных кривых свидетельствовало о чистоте электрохимической системы и всех ее составляющих. Далее в электрохимическую ячейку дозатором вносили необходимый объем исследуемого

раствора КБФ-фенола и регистрировали вольтамперограммы методом ВА с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной. Накопление КБФ-фенола проводили при времени накопления 110 с и потенциале накопления +0,3 В в перемешиваемом растворе. Перемешивание растворов в электрохимических ячейках осуществлялось стабилизированной вибрацией рабочих электродов на уровне 5. По появлению пика при потенциале (0,60±0,05) В судили о присутствии КБФ-фенола.

2.5 Вольтамперометрическое определение карбофурана с использованием УЧ/NiXC/УСЭ

Вольтамперометрическое определение КБФ после его гидролитического превращения в КБФ-фенол заключается в использовании трехэлектродной ячейки, где в качестве фонового электролита выступает ФБР pH 6,86. Трехэлектродная ячейка включает в себя рабочий электрод – УЧ/NiXC/УСЭ, электрод сравнения – ХСЭ (1 моль/дм^3) и вспомогательный электрод – ХСЭ (1 моль/дм^3). Электроды подключаются к вольтамперометрическому анализатору ТА-Lab и помещаются в 10 см^3 раствора фонового электролита. После чего проверяется чистота фона перед измерениями, для этого регистрируют вольтамперограммы с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной «холостого» фосфатного буферного раствора как минимум пять раз. При отсутствии посторонних пиков на вольтамперограммах делают вывод о чистоте фона и вносят в ячейку дозатором необходимый объем образца. При определении КБФ используют ВА с линейной разверткой потенциала в диапазоне потенциалов от –0,8 до +1 В при скорости развертки потенциала 100 мВ/с, потенциале накопления +0,4 В и времени накопления 100 с в перемешиваемом растворе. Перемешивание растворов в электрохимических ячейках осуществляется стабилизированной вибрацией рабочих электродов на уровне 5. Все эксперименты проводятся при комнатной температуре. О присутствии КБФ-фенола судили по наличию пика при (0,65±0,05) В.

2.6 Пробоподготовка овощей

Препараты на основе КБФ зарегистрированы против вредителей сахарной и кормовой свеклы (комплекс почвообитающих и наземных вредителей), горчицы и рапса (крестоцветные блошки). Поэтому объектами исследований являлись:

- свекла сахарная (Россия);
- семена горчицы (ЗАО «Бриджтаун Фудс», г. Владимир, Россия).

Перед анализом продукты измельчали с помощью блендера. Для приготовления модельных тестовых образцов 0,200 г сельскохозяйственных продуктов смешивали с КБФ в соотношении 100:1 масс. %, а затем к 0,202 г этой смеси добавляли 0,6 мл метанола и перемешивали в течение 15 мин при 300 об/мин при комнатной температуре. Затем добавляли 1,4 мл 0,1 моль/дм^3 раствора NaOH и смесь нагревали при 45 °С в течение 30 мин для гидролиза КБФ в КБФ-фенол. После этого образцы центрифугировали при 3000 об/мин в течение 3 мин и собирали 1,5 мл супернатанта. Переносили в электрохимическую ячейку необходимый объем и разбавляли ФБР pH 6,86 до конечного объема 10 мл.

Определение КБФ в образцах свеклы сахарной и семян горчицы предварительно проводили методом ВЭЖХ-УФ [100] для установления точной концентрации. Экстрагирование КБФ из объектов анализа проводили ацетонитрилом в течение 15 минут. Для оценки правильности методики определения КБФ образцы овощей искусственно контаминировали КБФ на 3-х уровнях концентрации.

2.7 Статистическая обработка данных

Завершающей стадией количественного определения КБФ в овощах методом ВА с линейной разверткой потенциала являлась статистическая обработка результатов измерений. Она позволяет оценить систематические и случайные погрешности измерений. Кроме того статистическая обработка результатов анализа с установлением приписанных характеристик количественного определения КБФ в овощах методом ВА с линейной разверткой

потенциала дала возможность объективно сравнить ее с другими методами. Оценка качества разработанной методики определения позволяла оценить ее адекватность.

Используя государственные стандарты, рекомендации по межгосударственной стандартизации [101–104] и программу MS Office Excel в диссертации были рассчитаны следующие показатели качества методики анализа: 1) пределы обнаружения и определения; 2) среднеквадратичное отклонение; 3) правильность; 4) внутрилабораторная прецизионность; 5) систематическая и случайная погрешности.

ГЛАВА 3 Разработка модифицированных электродов с включением хелатсодержащих сорбентов для определения карбофурана

3.1 Характеристика модифицированных углеродсодержащих электродов различными физико-химическими методами

3.1.1 Морфология поверхности

Поскольку при модифицировании поверхности немаловажным является успешность приготовления модификатора, ее состав и однородность, на первом этапе была изучена морфология поверхности модифицированных электродов.

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) была использована для изучения морфологии поверхности УЧ/УСЭ (рисунок 11А), УЧ/FeXC/УСЭ (рисунок 11Б) и УЧ/NiXC/УСЭ (рисунок 11В). Был применен режим обратного рассеяния электронов, поэтому элементы с более высоким атомным весом видны как более яркие пятна, и наоборот.

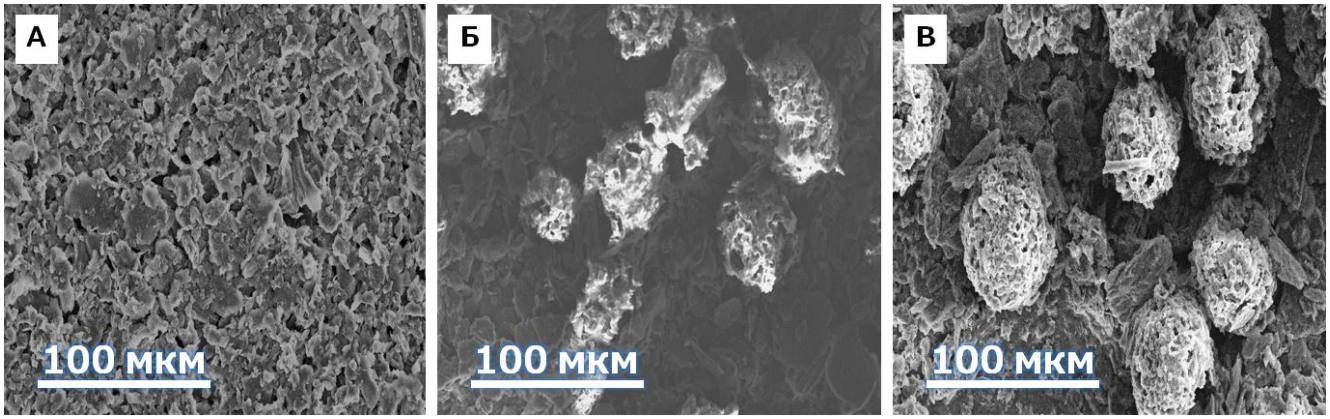


Рисунок 11 – СЭМ-изображения в режиме обратного рассеяния электронов поверхности (А) УЧ/УСЭ, (Б) УЧ/FeXC/УСЭ и (В) УЧ/NiXC/УСЭ

Из рисунка 11А видно, что поверхность УСЭ, модифицированная углеродными чернилами, представлена наслоенными друга на друга микрочастицами графита, квазиоднородно распределенными по поверхности. В наружном слое между крупными (~25 мкм) и более мелкими (~5 мкм) фрагментами углеродных чернил присутствуют несплошности, образующиеся вследствие диспергирования частиц в смеси и растекания полученной суспензии

под действием сил поверхностного натяжения. При этом характерных дефектов в виде пор в наружном слое или трещин не наблюдается. Однородный топографический контраст, наблюдающийся как вблизи краев, так и в матрице из УЧ, косвенно свидетельствует о хорошей электрической проводимости сформированного углеродного слоя.

После добавления к углеродным чернилам хелатсодержащих сорбентов FeXC (рисунок 11Б) и NiXC (рисунок 11В) на поверхности электрода наблюдаются сферические частицы сорбента пористой структуры с диаметром ~ 100 мкм, при чем сорбенты FeXC и NiXC выглядят одинаково. Поверхность сорбентов является более шероховатой, чем наружный слой из УЧ, и содержит микропоры размерами до 10 мкм. Также морфологической особенностью сферических частиц сорбентов является наличие микрошероховатостей (≤ 2 мкм), обусловленных образованием кристаллов игольчатой формы.

Эти данные согласуются с количественной энергодисперсионной рентгеновской спектроскопией (ЭДС), которые представлены на рисунках 12 и 13. Согласно карте распределения элементов (рисунок 12Б и 12В) поверхность УЧ/FeXC/УСЭ обогащена по кремнию и железу, при чем окружающая углеродная матрица также содержит железо. В то время как поверхность УЧ/NiXC/УСЭ (рисунок 13Б и 13В) также обогащена по кремнию и никелю, но окружающая углеродная матрица обеднена ими.

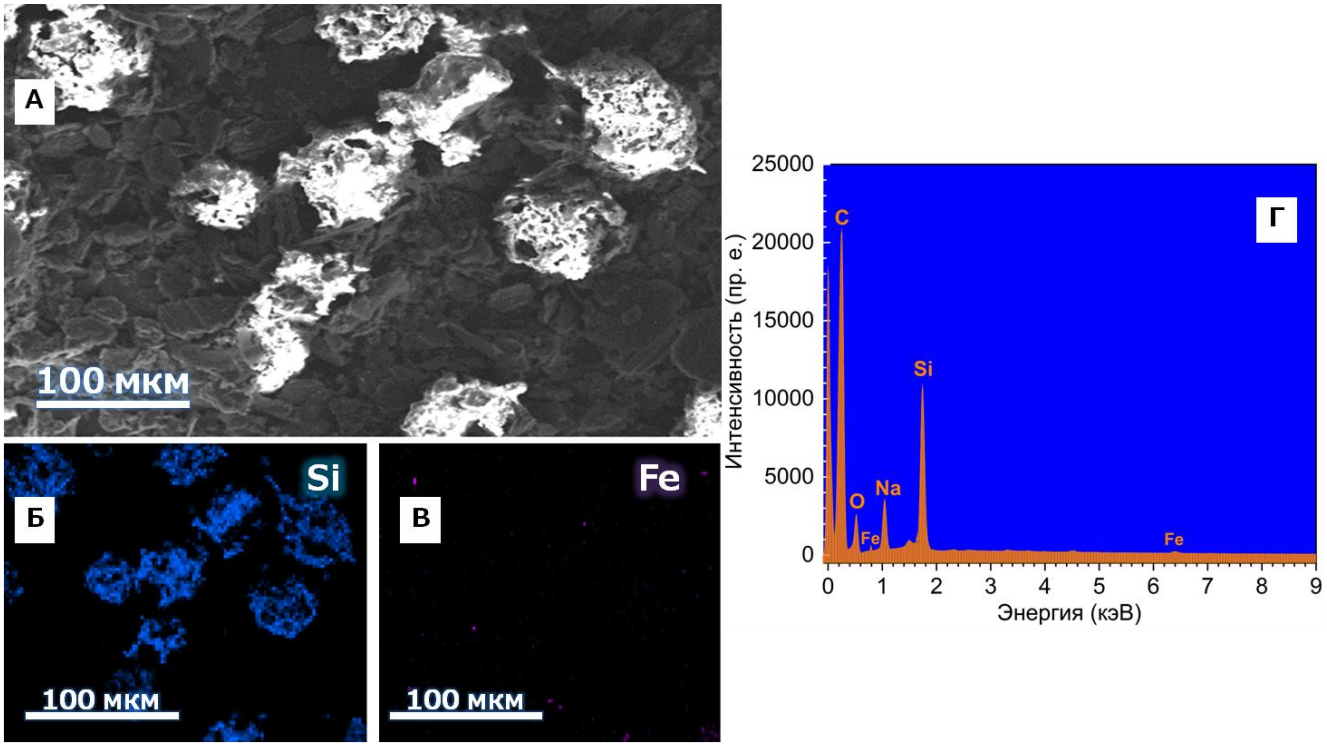


Рисунок 12 – (А) СЭМ-изображение УЧ/FeXC/УСЭ и карты элементов, показывающие распределение Si (Б) и Fe (В) по сферическим частицам сорбента; (Г) Спектр ЭДС с характерными рентгеновскими линиями C, O, Na, Si и Fe

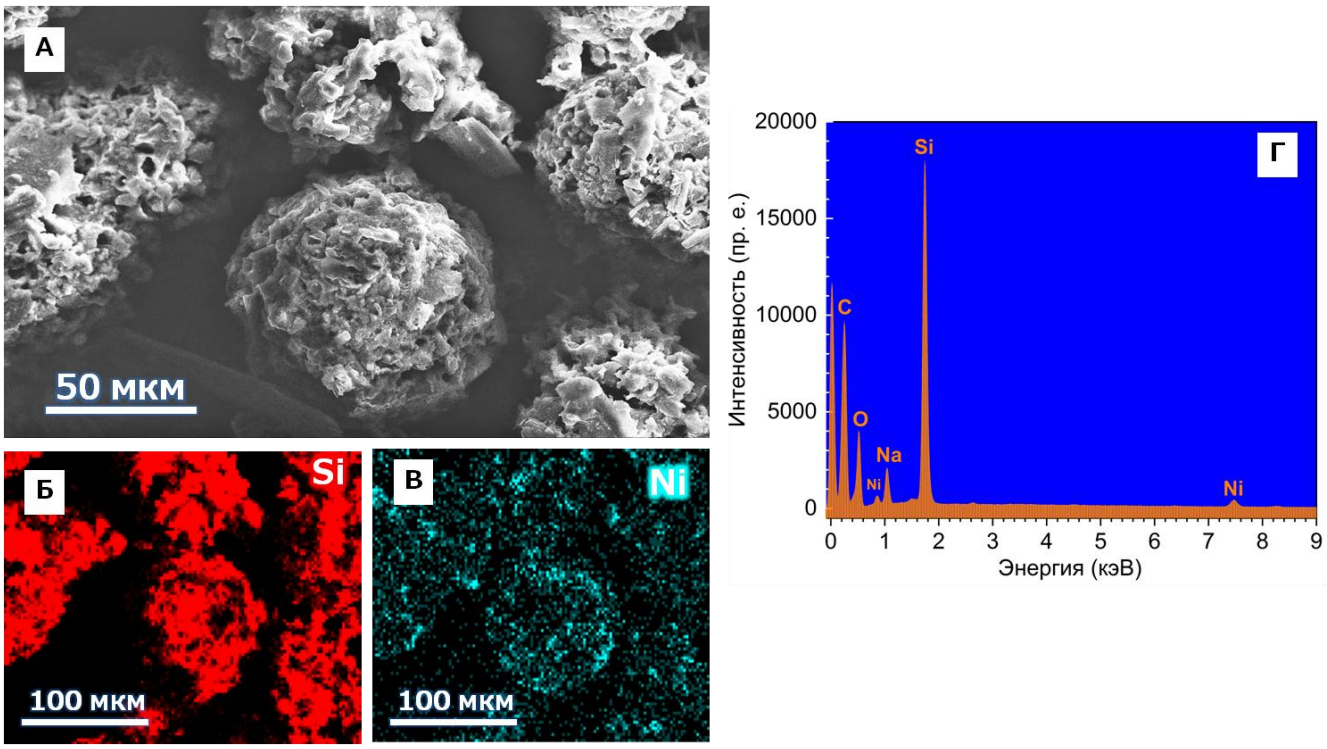


Рисунок 13 – (А) СЭМ-изображение УЧ/NiXC/УСЭ и карты элементов, показывающие распределение Si (Б) и Ni (В) по сферическим частицам сорбента; (Г) Спектр ЭДС с характерными рентгеновскими линиями C, O, Na, Si и Ni

На ЭДС спектре УЧ/FeXC/УСЭ (рисунок 12Г) присутствуют характеристические рентгеновские К-линии углерода (0,251 кэВ), кислорода (0,517 кэВ), натрия (1,041 кэВ), кремния (1,740 кэВ) и К- и L-линии железа (0,801 кэВ, 6,425 кэВ). Отличием УЧ/NiXC/УСЭ на ЭДС спектре (рисунок 13Г) является наличие К- и L-линии никеля (0,851 кэВ, 8,265 кэВ). Интегральный химический состав модифицированных электродов, усреднённый по области анализа, представлен в таблице 5.

Таблица 5 – Интегральный химический состав УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ

Элемент	**УЧ/FeXC/УСЭ**	**УЧ/NiXC/УСЭ**
C	79 ат. %	61 ат. %
Si	4 ат. %	20 ат. %
O	16 ат. %	15 ат. %
Na	0,7 ат. %	3 ат. %
Fe/Ni	0,3 ат. %	1 ат. %

Наличие Na в каждом из модифицированных ХС электродах объясняется способом получения сорбентов FeXC и NiXC, в котором используется ацетат натрия [99].

3.1.2 Электрохимическая характеристика УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ

Для характеристики модифицированных ХС электродов в сравнении с УЧ/УСЭ регистрировали циклические вольтамперограммы окислительно-восстановительной пары $[Ru(NH_3)_6]^{3+/2+}$ (1 ммоль/дм^3) (рисунок 14А). Как видно на рисунке 14А циклические вольтамперограммы не дают возможности наглядно оценить вклад ХС в состав модификатора за исключением увеличения электроактивной площади. В связи с этим также были зарегистрированы циклические вольтамперограммы в режиме первой производной, на которых четко видны сигналы окисления-восстановления пары $[Ru(NH_3)_6]^{3+/2+}$ (рисунок 14Б).

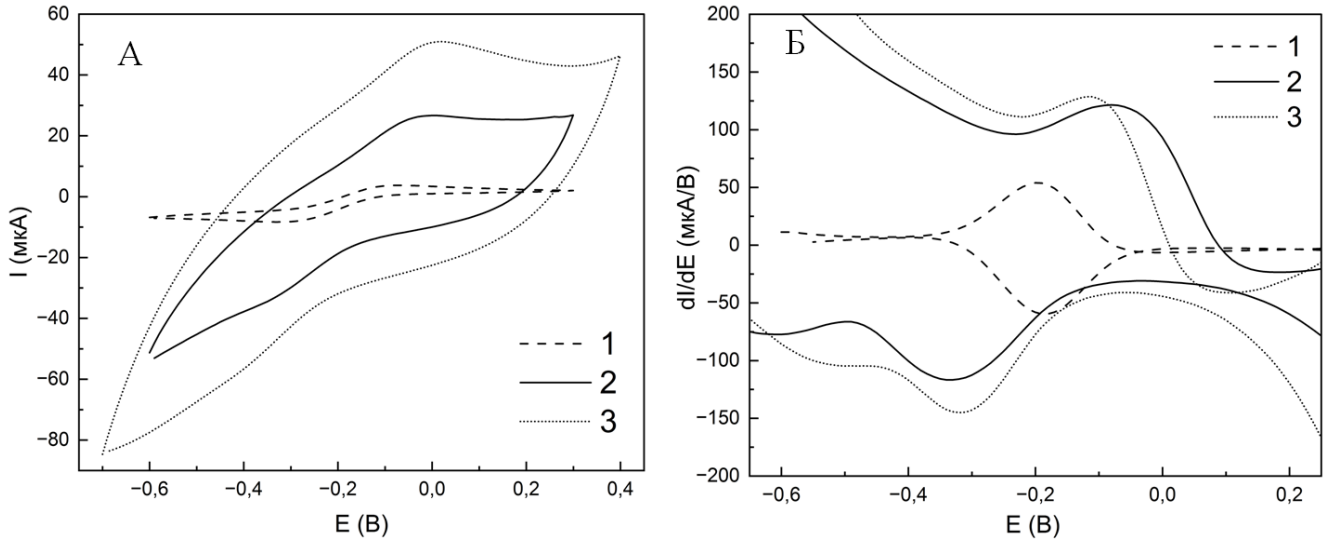


Рисунок 14 – (А) Циклические вольтамперограммы и (Б) циклические вольтамперограммы в режиме первой производной $[Ru(NH_3)_6]^{3+/2+}$ (1 ммоль/дм^3) в 0,1 моль/дм^3 растворе KCl на УЧ/УСЭ (1), УЧ/FeXC/УСЭ (2) и УЧ/NiXC/УСЭ (3)

Включение сорбентов FeXC и NiXC позволяет регистрировать более интенсивные окислительно-восстановительные токи $[Ru(NH_3)_6]^{3+/2+}$ (1 ммоль/дм^3) за счет увеличения электроактивной площади. Электроактивную площадь находили по уравнению Рэндлса-Шевчика (уравнение 1) [105]:

$$I_p = 2{,}69 * 10^5 n^{3/2} A D^{1/2} v^{1/2} C \quad (1)$$

где I_p – это анодный пиковый ток (А), n – количество переносимых электронов в окислительно-восстановительном процессе (n=1 для $[Ru(NH_3)_6]^{3+}$), A – электроактивная площадь поверхности (см^2), D – коэффициент диффузии (D=8,43·10^{-6} см^2/с для $[Ru(NH_3)_6]^{3+}$ [106]), C – концентрация электрохимически активного вещества в объемном растворе (C=1 ммоль/дм^3 $[Ru(NH_3)_6]^{3+}$), и ν – скорость развертки потенциала (В/с).

Электроактивная площадь поверхности для УЧ/УСЭ составила 0,015 см^2, для УЧ/FeXC/УСЭ – 0,204 см^2 и для УЧ/NiXC/УСЭ – 0,163 см^2.

Помимо циклической вольтамперометрии (ЦВА), модифицированные электроды были также охарактеризованы при помощи электрохимической импедансной спектроскопии (ЭИС), а именно исследовались комплексное

сопротивление окислительно-восстановительной пары $[Ru(NH_3)_6]^{3+/2+}$ и емкость двойного электрического слоя.

Для изучения импедансных свойств модифицированных электродов строили графики Боде, поскольку они являются удобным инструментом для сравнения модификаций поверхности электрода [107]. На графике Боде показано уменьшение величины импеданса (|Z|) в низкочастотной области для УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ (рисунок 15А), что свидетельствует об уменьшении сопротивления переноса заряда на модифицированных электродах и улучшении потока электронов через электроды. В то время как для УЧ/УСЭ из рисунка 15А можно сказать о хороших изоляционных свойствах [107].

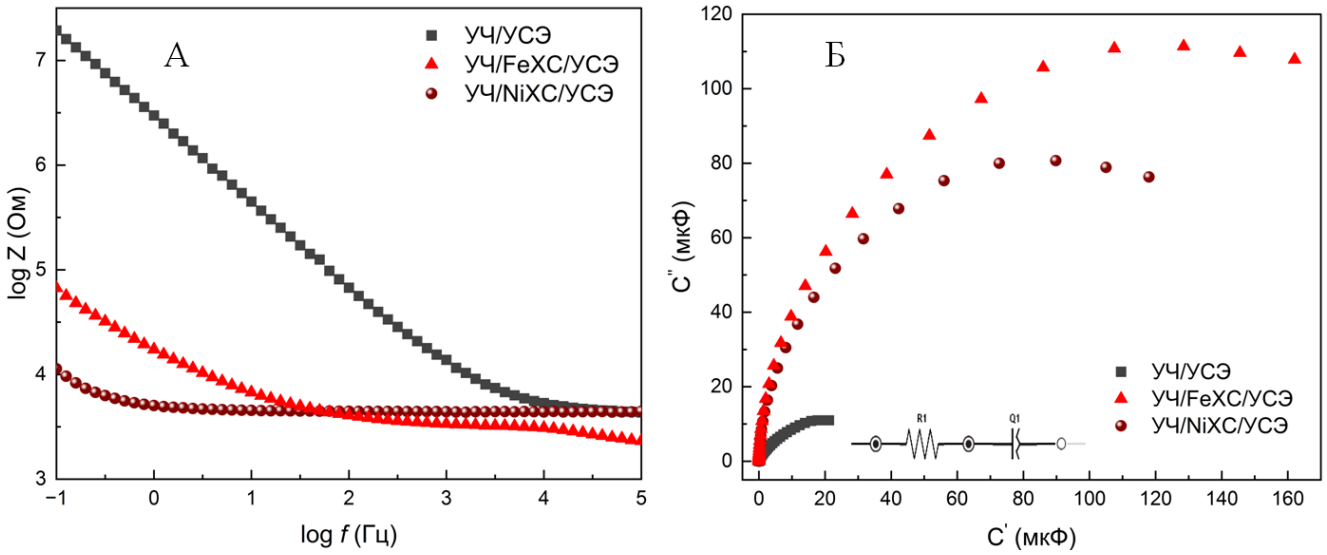


Рисунок 15 – (А) График Боде УЧ/УСЭ, УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ в $[Ru(NH_3)_6]^{3+/2+}$ (1 ммоль/дм^3) в 0,1 моль/дм^3 растворе KCl; (Б) Емкость двойного электрического слоя УЧ/УСЭ, УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ в ФБР pH 6,86; (Б, вставка): R1 – сопротивление раствора, Q1 – элемент постоянной фазы

Помимо комплексного сопротивления была исследована емкость двойного электрического слоя модифицированных электродов. Модификация УЧ совместно с XC заметно увеличивает емкость. На рисунке 15Б показано, что емкость двойного электрического слоя (ДЭС) для УЧ/УСЭ значительно меньше, чем для модифицированных электродов, а именно для УЧ/УСЭ емкость ДЭС составила 24 мкФ, для УЧ/FeXC/УСЭ – 209 мкФ и для УЧ/NiXC/УСЭ – 158 мкФ.

Из-за высокой неоднородности поверхности емкость моделировалась с помощью элемента постоянной фазы (рисунок 15Б вставка). Увеличение емкости ДЭС наблюдается из-за увеличения электроактивной площади модифицированных электродов, что подтверждает успешную модификацию электродов относительно УЧ/УСЭ.

3.2 Исследование электрохимических свойств карбофурана на УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ

3.2.1 Получение электроактивной формы карбофурана для вольтамперометрического определения

Согласно литературным данным КБФ не активен на бесферментных электродных системах [38, 70–72, 74, 75], поэтому вольтамперометрические свойства изучались для его фенольного аналога – КБФ-фенола – образующегося в результате щелочного гидролиза в соответствии со схемой 1. Молярные соотношения исходного КБФ и полученного КБФ-фенола равны 1:1 в соответствии со схемой 1. Следовательно, концентрация полученного КБФ-фенола равна концентрации исходного КБФ, так что далее мы будем писать об определении КБФ, даже если на самом деле обнаруживался КБФ-фенол.

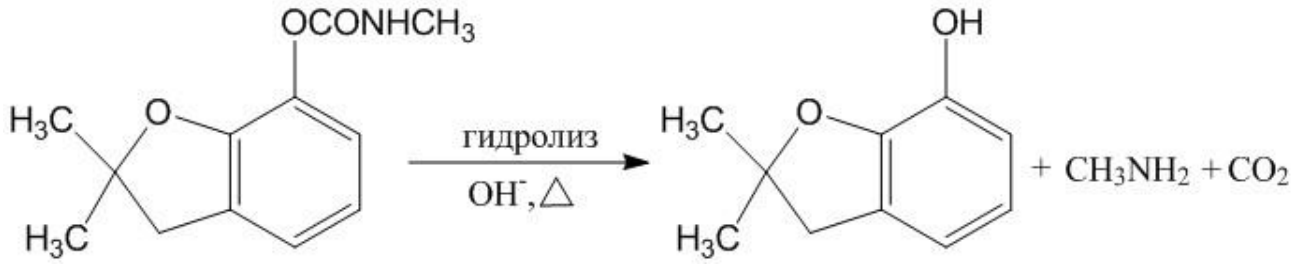


Схема 1 – Гидролиз КБФ с целью получения КБФ-фенола

Также были подобраны рабочие условия проведения гидролиза КБФ (рисунок 16).

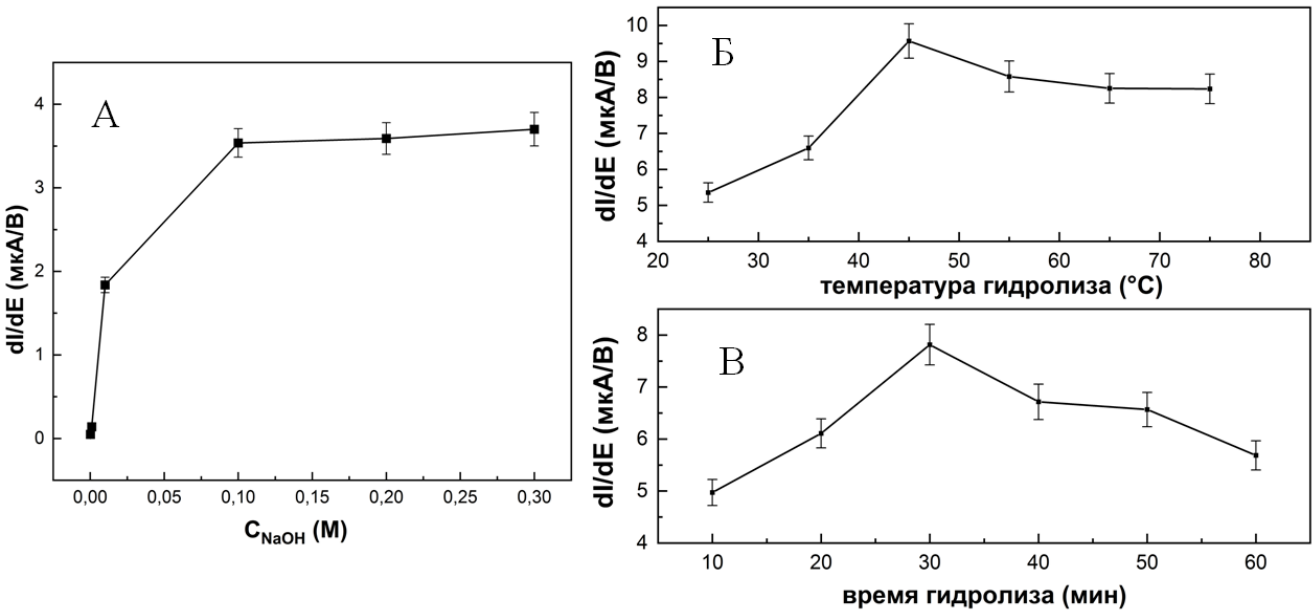


Рисунок 16 – Рабочие условия гидролиза КБФ: (А) Зависимость аналитического сигнала КБФ от концентрации NaOH; (Б) Зависимость аналитического сигнала КБФ от температуры гидролиза; (В) Зависимость аналитического сигнала КБФ от времени гидролиза

При выборе концентрации щелочи NaOH рабочей является 0,1 моль/дм^3 концентрация NaOH, поскольку при дальнейшем увеличении концентрации КБФ выпадал в осадок и из рисунка 16А видно, что ток увеличивался незначительно. Также из рисунков 16Б и 16В температура и время гидролиза составили 30 мин и 45 °С, соответственно.

3.2.2 Электрохимическое поведение карбофурана на УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ

Сначала электрохимические свойства КБФ-фенола были изучены методом ЦВА на модифицированных хелатсодержащими сорбентами углеродсодержащих электродах: УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ в фосфатном буферном растворе pH 6,86, содержащем 90 мкмоль/дм^3 КБФ-фенола в диапазоне потенциалов от –0,4 до 1,2 В и от −0,8 до 1,2 В соответственно (рисунок 17). Поведение КБФ-фенола на УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ исследовалось в сравнении с

модифицированным только углеродными чернилами углеродсодержащим электродом – УЧ/УСЭ.

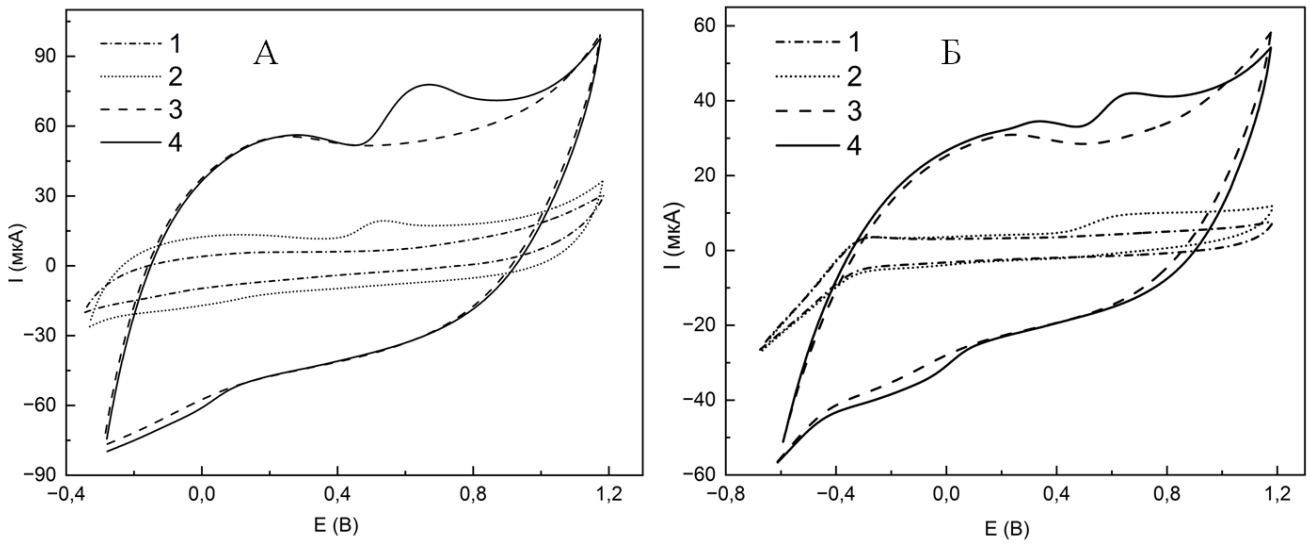


Рисунок 17 – (А) Циклические вольтамперограммы ФБР pH 6,86 (1, 3) и 90 мкмоль/дм^3 КБФ-фенола (2, 4) на УЧ/УСЭ и УЧ/FeXC/УСЭ соответственно; (Б) Циклические вольтамперограммы ФБР pH 6,86 (1, 3) и 90 мкмоль/дм^3 КБФ-фенола (2, 4) на УЧ/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ соответственно

На рисунке 17А показано, что КБФ-фенол дает менее интенсивный пик на УЧ/УСЭ (кривая 2), чем на УЧ/FeXC/УСЭ. Пик окисления КБФ-фенола на УЧ/FeXC/УСЭ наблюдался при (0,60±0,05) В, а сигнал восстановления едва заметен при (–0,10±0,05) В (кривая 4). В то время как на УЧ/NiXC/УСЭ (рисунок 17Б) наблюдаются два пика окисления при (0,30±0,05) В и (0,60±0,05) В и восстановления (–0,10±0,05) В КБФ-фенола (рисунок 17Б, кривая 4).

Тем не менее, для лучшего разделения анодных пиков и повышения чувствительности вольтамперометрического определения КБФ-фенола использовали вольтамперометрию (ВА) с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной. На рисунке 18 показаны вольтамперограммы с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной на УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ в ФБР pH 6,86, содержащем 90 мкмоль/дм^3 КБФ-фенола в диапазоне потенциалов от –0,4 до 1,2 В и от −0,8 до 1,2 В соответственно.

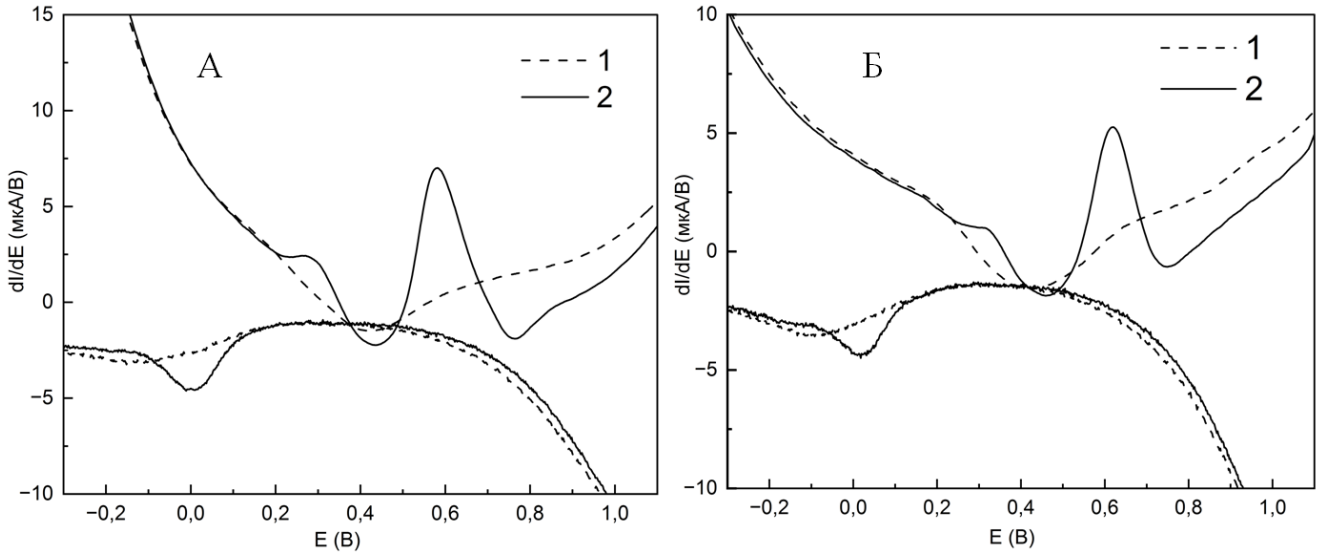


Рисунок 18 – Вольтамперограммы с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной ФБР pH 6,86 (1) и 90 мкмоль/дм^3 КБФ-фенола (2) на (А) УЧ/FeXC/УСЭ и (Б) УЧ/NiXC/УСЭ

Полученные вольтамперограммы показывают два четко разделенных анодных пика и один катодный пик КБФ-фенола (кривая 2) на двух модифицированных ХС электродах и более высокий ток пика по сравнению с ЦВА.

Второй анодный пик КБФ-фенола при (0,60±0,05) В имел более высокую интенсивность и был выбран для дальнейшего вольтамперометрического определения КБФ-фенола методом ВА с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной.

Кроме того было исследовано влияние природы модификатора на второй анодный пик КБФ-фенола. Как видно на рисунке 19А аналитический сигнал КБФ-фенола на УСЭ, модифицированном только углеродными чернилами наблюдается при (0,50±0,05) В, но с меньшей интенсивностью в сравнении с УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ. При добавлении Хроматона N к углеродным чернилам, который выступает в качестве твердого носителя сорбентов, увеличивается интенсивность определения КБФ-фенола и наблюдается анодный пик при (0,65±0,05) В (рисунок 19Б). Такое поведение при добавлении Хроматона N может объясняться

увеличением адсорбционной составляющей модификатора. При рассмотрении только Хроматона N в качестве модификатора сигнала не наблюдалось.

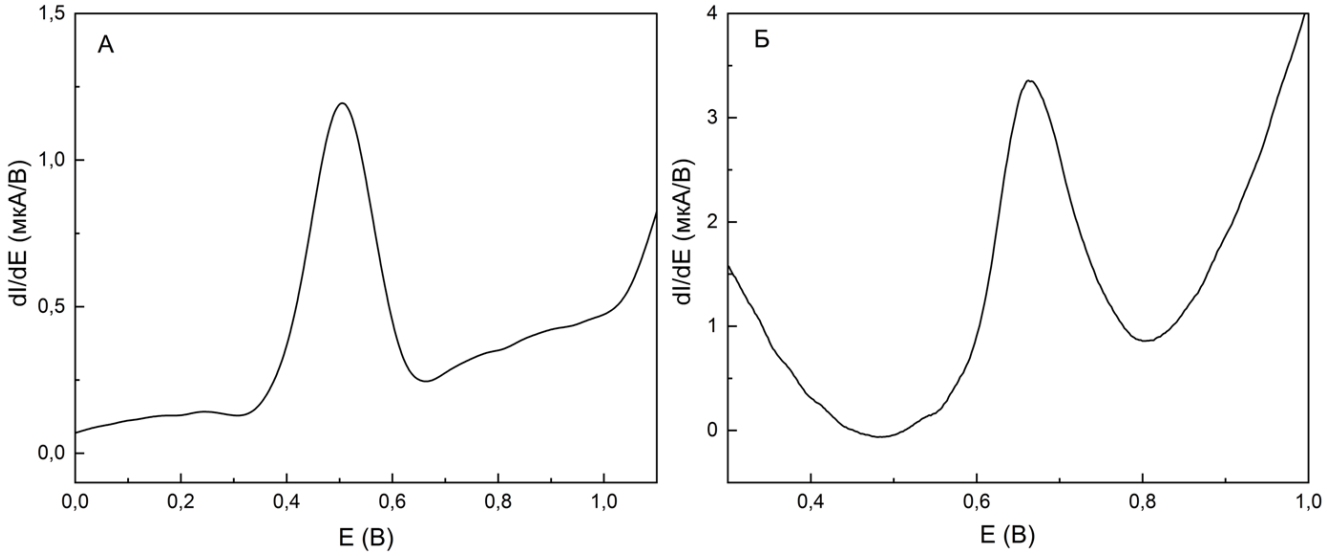


Рисунок 19 – Вольтамперограммы с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной 90 мкмоль/дм^3 КБФ-фенола на (А) УЧ/УСЭ и (Б) УЧ/Хроматон/УСЭ

Также были отдельно рассмотрены модификаторы FeXC и NiXC без добавления углеродных чернил для вольтамперометрического определения КБФ-фенола (рисунок 20).

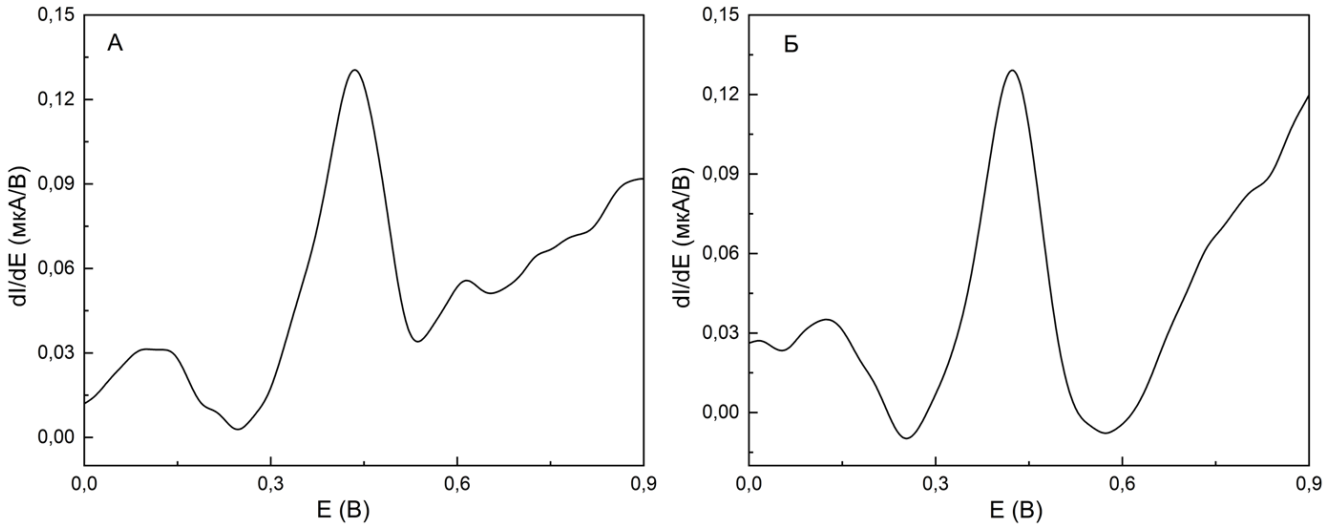


Рисунок 20 – Вольтамперограммы с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной 90 мкмоль/дм^3 КБФ-фенола на (А) FeXC/УСЭ и (Б) NiXC/УСЭ

Как можно видеть по рисунку 20А и Б аналитический сигнал КБФ-фенола наблюдается при (0,40±0,05) В, что говорит о каталитической способности металлов, поскольку при определении КБФ-фенола на УЧ/УСЭ потенциал пика составлял (0,50±0,05) В. Тем не менее данные модификаторы обладают худшей электропроводностью в сравнении с УЧ/УСЭ. Таким образом, результаты показали, что при объединении углеродных чернил и хелатсодержащих сорбентов в качестве модификаторов электродов для вольтамперометрического определения КБФ-фенола преобладает их синергетический эффект на основе адсорбционного и каталитического эффектов.

3.2.3 Подбор рабочих условий вольтамперометрического определения карбофурана на УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ

В методе ВА с линейной разверткой потенциала важную роль играет предварительное концентрирование определяемого компонента. В связи с этим при подборе рабочих условий вольтамперометрического определения КБФ-фенола исследовали потенциал и время накопления для наиболее полного выделения аналита без влияния посторонних веществ.

На рисунке 21 показаны зависимости аналитического сигнала от времени и потенциала накопления 90 мкмоль/дм^3 КБФ-фенола на УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ в ФБР pH 6,86.

Потенциалы накопления от 0 до +0,7 В были исследованы, максимальный анодный отклик КБФ-фенола наблюдался при +0,3 В на УЧ/FeXC/УСЭ и при +0,4 В на УЧ/NiXC/УСЭ. При подобранном потенциале накопления изучались также время накопления в диапазоне 0–150 с и 0–120 с для двух модифицированных ХС электродов. Как видно из рисунка 21 максимальный токовый отклик КБФ-фенола наблюдался при 110 с для УЧ/FeXC/УСЭ и при 100 с для УЧ/NiXC/УСЭ.

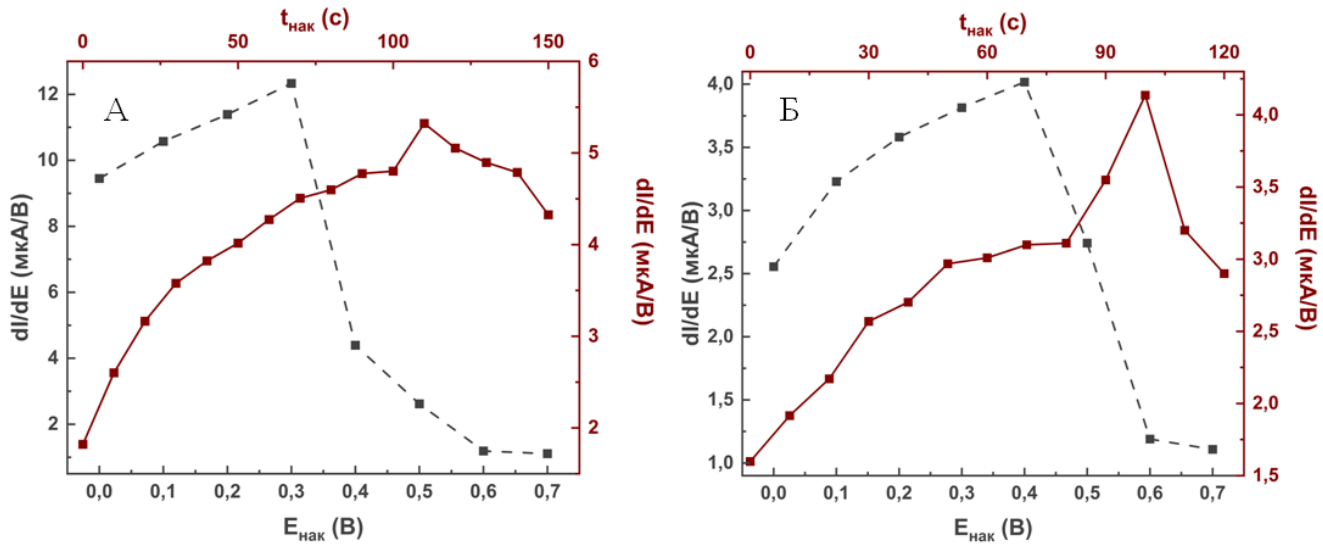


Рисунок 21 – Зависимость аналитического сигнала 90 мкмоль/дм^3 КБФ-фенола в ФБР pH 6,86 от потенциала накопления и времени накопления на (А) УЧ/FeXC/УСЭ и (Б) УЧ/NiXC/УСЭ

В качестве фонового электролита был выбран ФБР с pH 6,86, поскольку исследования показали, что при увеличении pH с 2,0 до 12 кислотность среды не оказывала влияния на электрохимический сигнал КБФ-фенола на модифицированных электродах. Возможно, это связано с тем, что стандартный раствор КБФ-фенола подвергался щелочному гидролизу.

Влияние скорости развертки потенциала на пиковые токи окисления КБФ-фенола было исследовано в диапазоне 5–300 мВ/с (рисунок 22). Анодный пиковый ток КБФ-фенола увеличивался, а пиковый потенциал смещался к более положительным значениям с увеличением скорости развертки. Однако фоновые токи также увеличивались. Самый низкий фоновый ток и наилучшее отношение сигнал/шум наблюдались при скорости развертки потенциала 100 мВ/с, в связи с этим скорость развертки потенциала 100 мВ/с была выбрана для дальнейшей разработки методики количественного определения КБФ в овощах.

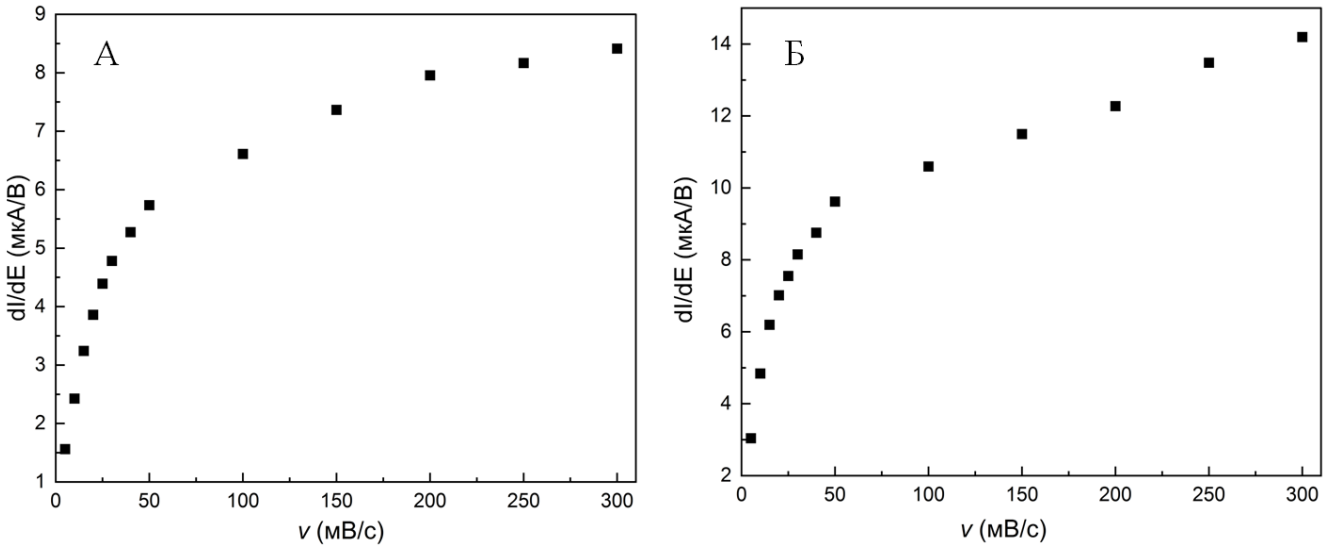


Рисунок 22 – Зависимость аналитического сигнала 90 мкмоль/дм^3 КБФ-фенола в ФБР pH 6,86 от скорости развертки потенциала на (А) УЧ/FeXC/УСЭ и (Б) УЧ/NiXC/УСЭ

В результате для достижения более чувствительного и приемлемого для обработки формы аналитического сигнала КБФ-фенола на двух модифицированных электродах итоговые рабочие условия представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Рабочие условия для вольтамперометрического определения КБФ-фенола методом ВА с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной на модифицированных УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ

Параметр	**УЧ/FeXC/УСЭ**	**УЧ/NiXC/УСЭ**
Фоновый электролит	фосфатный буферный раствор, pH 6,86	фосфатный буферный раствор, pH 6,86
Вспомогательный/электрод сравнения	Ag/AgCl (1 M KCl)	Ag/AgCl (1 M KCl)
Диапазон потенциалов	–0,4 до +1,2 В	–0,3 до 1,0 В
Скорость развертки потенциала	100 мВ/с	100 мВ/с
Время накопления	110 с	100 с
Потенциал накопления	+0,3 В	+0,4 В
Метод	ВА с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной	ВА с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной

3.2.4 Аналитические характеристики УЧ/FeXC/УСЭ и УЧ/NiXC/УСЭ

Для разработки количественной методики определения КБФ-фенола в овощах в качестве аналитического сигнала был взят второй анодный сигнал КБФ-фенола при потенциале (0,60±0,05) В, поскольку была линейная зависимость прироста предельного тока окисления от увеличения его концентрации. Эта область находилась в диапазоне концентраций 0,25–10 мкмоль/дм^3 для УЧ/FeXC/УСЭ и 0,1–100 мкмоль/дм^3 для УЧ/NiXC/УСЭ (рисунок 23). Данный диапазон концентраций достаточен для определения КБФ в объектах анализа, в которых он применяется как инсектицид.

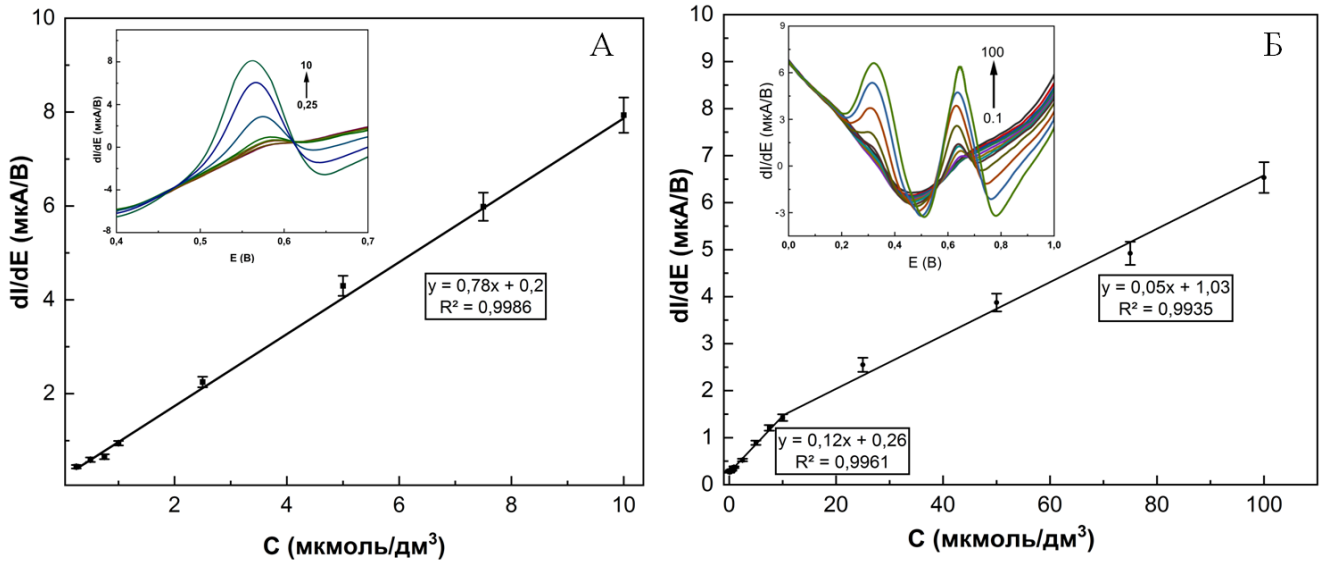


Рисунок 23 – Зависимость тока электроокисления от концентрации КБФ-фенола в ФБР (pH 6,86) в линейном диапазоне концентраций (А) 0,25–10 мкмоль/дм^3 на УЧ/FeXC/УСЭ и (Б) 0,1–10 и 10–100 мкмоль/дм^3 на УЧ/NiXC/УСЭ

По рисунку 23Б видно, что для УЧ/NiXC/УСЭ наблюдается 2 линейных диапазона концентраций от 0,1 до 10 мкмоль/дм^3 и от 10 до 100 мкмоль/дм^3. Такая зависимость, можно предположить, связана с адсорбционным окислением КБФ-фенола на сложной электродной поверхности, состоящей из УЧ и NiXC.

Итоговые аналитические характеристики модифицированных ХС электродов представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Сравнение аналитических характеристик модифицированных электродов для определения КБФ

	Линейный диапазон, (мкмоль/дм^3)	R^2	Уравнение регрессии	Предел обнаружения, (мкмоль/дм^3)	Предел определения, (мкмоль/дм^3)
УЧ/FeXC/УСЭ	0,25–10	0,9986	y = 0,78x+0,2	0,08	0,26
УЧ/NiXC/УСЭ	0,1–10 10–100	0,9961 0,9935	y = 0,12x+0,26 y = 0,05x+1,03	0,06	0,19

По таблице 2 можно сделать вывод о том, что для УЧ/NiXC/УСЭ шире линейный диапазон концентраций, меньше предел обнаружения и определения в сравнении с УЧ/FeXC/УСЭ.

Таким образом, исходя из приведенных выше исследований при сравнении двух модифицированных хелатсодержащими сорбентами электродов УЧ/NiXC/УСЭ обладает сравнительно лучшими аналитическими характеристиками и требуется меньше времени накопления КБФ-фенола (100 с). К тому же по данным ЭИС УЧ/NiXC/УСЭ незначительно отличается по результатам общего импеданса и емкости ДЭС от УЧ/FeXC/УСЭ.

Благодаря вышеперечисленному УЧ/NiXC/УСЭ является более перспективным и был выбран для построения дальнейшей вольтамперометрической методики определения КБФ в овощах.

Глава 4. Расчет некоторых электрохимических параметров окисления карбофурана на УЧ/NiXC/УСЭ

Электрохимические методы анализа основаны на измерении электрохимических свойств системы (потенциал, ток, количество электричества, электропроводность и др.), значения которых пропорциональны количеству определяемого вещества и зависят от его природы, т.е. связаны с его специфическими свойствами. В электрохимических методах используют процессы, протекающие на электродах и немаловажной задачей в понимании электродного процесса является исследование механизма и кинетики процессов, протекающих на электродах.

Оценка обратимости процесса

Для оценки лимитирующей стадии (обратимости) использовали метод ЦВА, а также вспомогательные графики, построенные с использованием зависимостей ряда параметров этих кривых от различных факторов.

Одним из первых критериев, который был рассмотрен для оценки обратимости процесса было отношение величины анодного и катодного сигналов $I_{па}/I_{пк}$, если $I_{па}/I_{пк} = 1$, то это говорит об обратимости процесса. В нашем случае из рисунка 17Б, представленном в 3 главе, это отношение составило 4,5 ~ 5, что говорит, что электродный процесс необратим. Поскольку мы рассматриваем для процесса окисления КБФ-фенола, то для необратимого процесса соотношение $I_{пк}/I_{па}$ должно быть меньше 1 и у нас получилось 0,22, что подтверждает, что процесс необратим.

Было исследовано влияние скорости развертки потенциала на ток и потенциал анодного сигнала КБФ-фенола в интервале от 15 до 300 мВ/с. Как видно из рисунка 24 увеличение скорости развертки потенциала приводит к увеличению тока волны КБФ-фенола и смещению потенциала волны в область положительных значений.

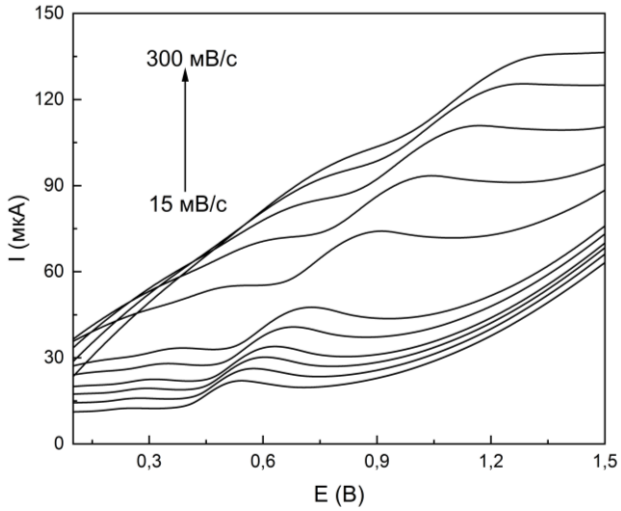


Рисунок 24 – Циклические вольтамперограммы 90 мкмоль/дм^3 КБФ-фенола при различной скорости развертки потенциала в ФБР (pH 6,86) с использованием УЧ/NiXC/УСЭ

Такой сдвиг вольтамперных кривых является одним из диагностических критериев необратимых процессов [108]. К тому же на рисунке 25А представлены линейные зависимости тока волны КБФ-фенола от $v^{1/2}$ (указывает на отсутствие квазиобратимого процесса) и на рисунке 25Б потенциала волны КБФ-фенола от ln $v^{1/2}$ (указывает на необратимый характер процесса) [109].

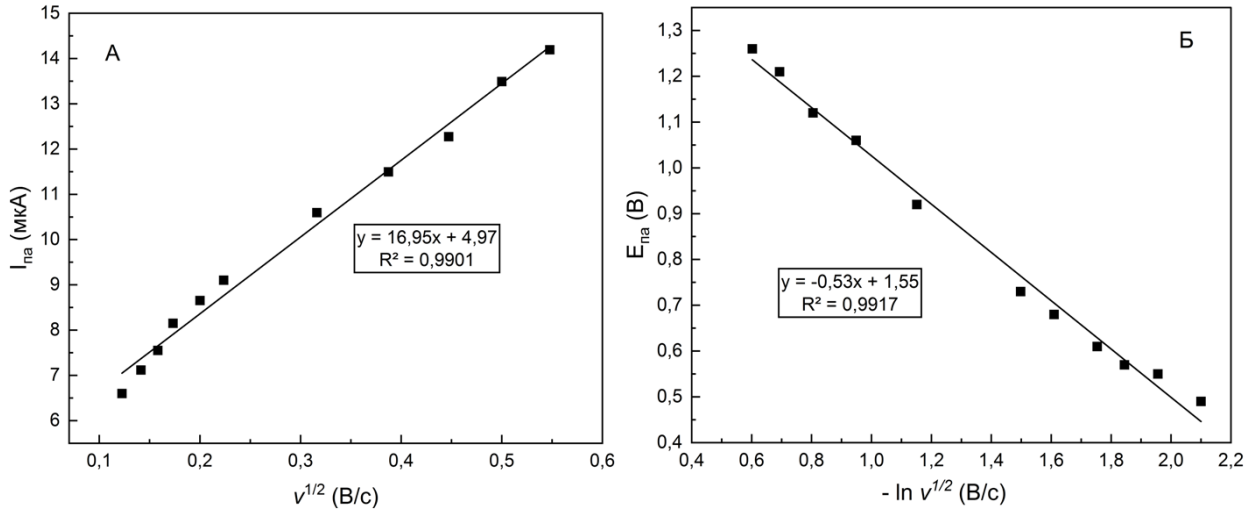


Рисунок 25 – Зависимости: (А) анодного тока волны ($I_{па}$) от квадратного корня из скорости развертки потенциала ($v^{1/2}$) и (Б) анодного потенциала волны ($E_п$) от натурального логарифма квадратного корня из скорости развертки потенциала (ln $v^{1/2}$) для 90 мкмоль/дм^3 КБФ-фенола на УЧ/NiXC/УСЭ в ФБР (pH 6,86)

Таким образом, исходя из 4 диагностических критериев электродный процесс окисления КБФ-фенола на УЧ/NiXC/УСЭ является необратимым.

Предполагаемый механизм окисления КБФ-фенола

Поскольку КБФ-фенол является производным фенольной формы, его механизм окисления известен и согласуется с общепринятым механизмом электрохимического окисления фенольных соединений [77, 110–112]. Следовательно, можно предположить, что одноэлектронное окисление фенольной группы КБФ-фенола приводит к образованию катиона-радикала с последующей димеризацией/полимеризацией (схема 2).

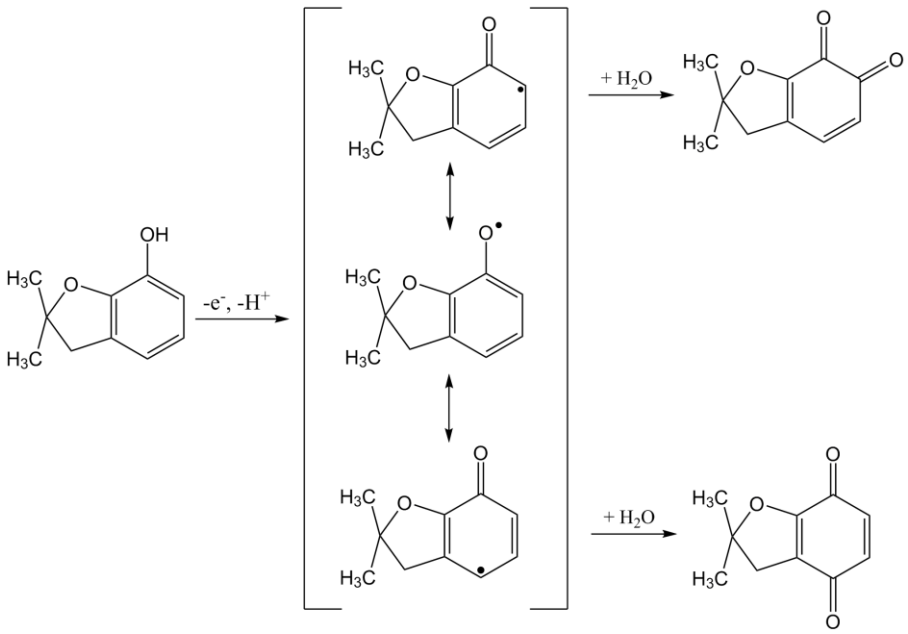


Схема 2 – Предполагаемый механизм электрохимического окисления КБФ-фенола

Зная количество электронов (n=1), можно рассчитать коэффициент переноса заряда (α) по форме пика, характеризующейся разностью потенциалов между потенциалом пика и потенциалом, соответствующим половине высоты пика $E_{1/2}$. Для необратимого процесса эти две величины связаны выражением [108]:

$$|E_п - E_{1/2}| = \frac{47,7}{\alpha n} \quad (2)$$

где α – коэффициент переноса электронов, n – число электронов.

В соответствии с разностью $E_п$ и $E_{п/2}$, равных 0,64 В и 0,55 В, и количеству электронов равных 1, коэффициент переноса электронов α составил 0,53. Такое

значение α = 0,53 ~ 0,5 говорит о том, что скоростьопределяющей стадией является перенос первого электрона [108].

Исследование адсорбционного характера процесса

Как известно, нередко в процессах электровосстановления или электроокисления веществ осложняющей стадией является адсорбционное накопление исходных веществ, продуктов реакции или интермедиатов [113]. Адсорбционные пики отличаются тем, что их высота, увеличиваясь с повышением концентрации электроактивного вещества, вскоре достигает предела [114]. Поскольку раннее в разделе 3.2.3 было показано, что изменение аналитического сигнала КБФ-фенола наблюдается при увеличении времени накопления до 100 с, то начали рассматривать возможное наличие адсорбционной составляющей при определении КБФ-фенола на УЧ/NiXC/УСЭ.

О наличии или отсутствии адсорбционной составляющей указывают следующие критерии:

1) Ток адсорбционного процесса прямо пропорционален скорости развертки потенциала;

2) Согласно критерию Семерано, предельные токи адсорбционных процессов изменяются при изменении скорости развертки потенциала по уравнению:

$$\lg I_n = x lg v + const \qquad (3)$$

где x – коэффициент скорости электродного процесса, осложненного адсорбцией, $I_п$ – предельный ток электродного процесса, v – скорость развертки потенциала.

Для процессов, лимитирующихся диффузией, x = 0,5, а для процессов, лимитирующихся скоростью переноса электрона x > 0,5.

Для исследуемого КБФ-фенола характерна линейная зависимость тока пика от скорости развертки потенциала (рисунок 26А). Кроме того, по критерию Семерано коэффициент скорости электродного процесса составляет 0,62 (рисунок 26Б).

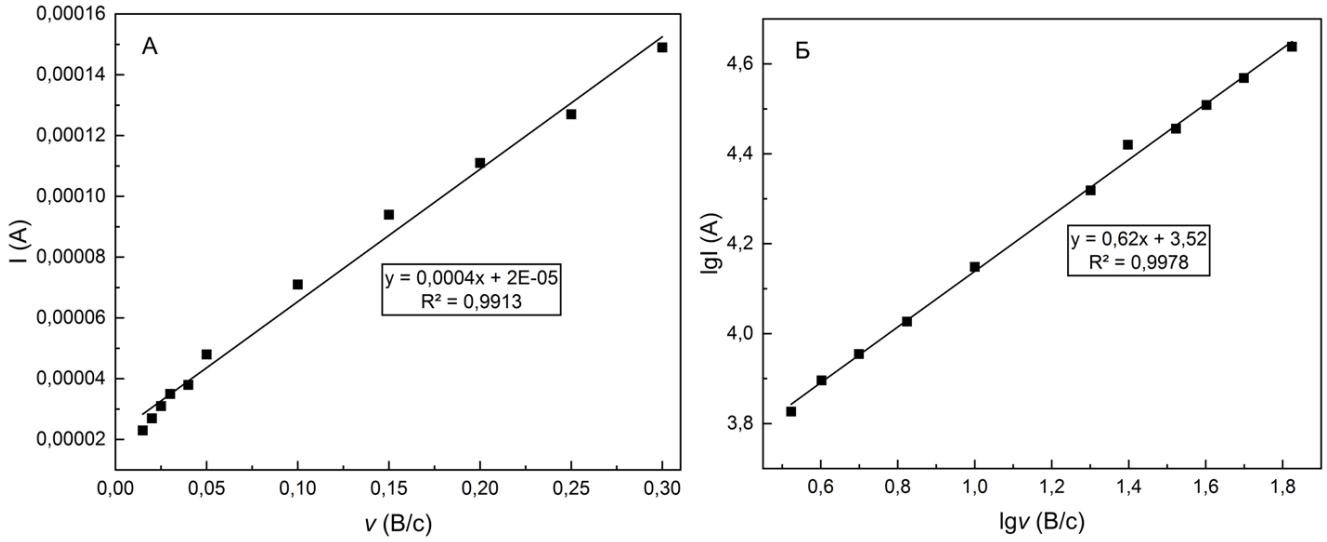


Рисунок 26 – (А) Зависимость тока окисления КБФ-фенола ($I_п$) от скорости развертки потенциала (v), (Б) логарифмическая зависимость тока пика ($\lg I_п$) от скорости развертки потенциала ($\lg v$)

Следовательно, соблюдение обоих критериев свидетельствует о наличии адсорбции на поверхности электрода.

Исследование каталитических характеристик процесса

Поскольку в главе 3 мы говорили о том, что ХС могут обладать каталитической способностью из-за включения в их состав солей металлов, для дальнейшего понимания электрокаталитических свойств УЧ/NiХС/УСЭ при окислении КБФ-фенола был проведен хроноамперометрический анализ КБФ-фенола на трех уровнях концентрации (0,9; 9 и 90 мкмоль/дм^3) в ФБР (pH = 6,86). На рисунке 27 показаны хроноамперограммы КБФ-фенола на УЧ/NiХС/УСЭ и зависимости $I_п/I_o$ от $t^{1/2}$ на трех уровнях концентрации.

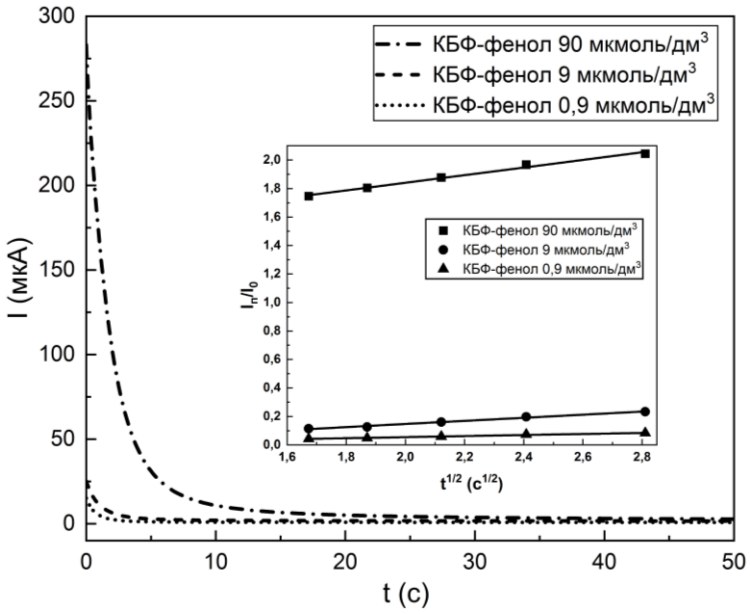


Рисунок 27 – Хроноамперограммы, полученные на УЧ/NiXC/УСЭ в ФБР (pH 6,86) для концентраций КБФ-фенола 0,9; 9 и 90 мкмоль/дм^3. Вставка: зависимости $I_п/I_o$ от $t^{1/2}$, полученные с помощью хроноамперометрии

Каталитическая константа электродного процесса (k_{cat}) для электроокисления КБФ-фенола на УЧ/NiXC/УСЭ рассчитывалась на основе кривой зависимости времени от тока хроноамперометрии и уравнения Галюса [105, 115]:

$$\frac{I_п}{I_o} = \pi^{1/2}\gamma^{1/2} = \pi^{1/2}(k_{cat}Ct)^{1/2} \quad (4)$$

где $I_п$ – каталитический ток в присутствии КБФ-фенола, I_o – каталитический ток в отсутствии КБФ-фенола, k_{cat} – каталитическая константа электродного процесса, С – концентрация КБФ-фенола.

По наклону хроноамперометрии $I_п/I_o$ от $t^{1/2}$ (рисунок 27, вставка) было установлено, что среднее значение k_{cat} для окисления КБФ-фенола на УЧ/NiXC/УСЭ составляет 4437,83 моль$^{-1}$·с$^{-1}$. Большое значение каталитической константы электродного процесса отражает очевидный каталитический пик во время каталитического окисления КБФ-фенола на поверхности УЧ/NiXC/УСЭ. Для сравнения также каталитическая константа электродного процесса окисления КБФ-фенола была рассчитана для УЧ/FeXC/УСЭ и составила 3497 моль$^{-1}$·с$^{-1}$, также для разработанного электрода в работе [116] MgO/МУНТ k_{cat} составила

2675 моль$^{-1}\cdot$с$^{-1}$, а в работе [117] для модифицированного Co-CoO-Co_3O_4 электрода – 567 моль$^{-1}\cdot$с$^{-1}$. Эти данные еще раз подтверждают правильность выбора УЧ/NiXC/УСЭ для разработки методики вольтамперометрического определения КБФ-фенола в овощах.

Результаты показали, что процесс электроокисления КБФ-фенола на УЧ/NiXC/УСЭ происходит необратимо с переносом первого электрона фенольной группы ароматического кольца КБФ-фенола. К тому же, во-первых, электродный процесс осложнен адсорбционной составляющей, т.е. поверхность электрода адсорбировала КБФ-фенол за счет большой электроактивной площади поверхности УЧ/NiXC/УСЭ. Во-вторых, значение каталитической константы электродного процесса, полученной с помощью хроноамперометрии, указывает на то, что поверхность УЧ/NiXC/УСЭ обладает превосходными каталитическими свойствами по отношению к КБФ-фенолу. Таким образом, УЧ/NiXC/УСЭ является хорошей альтернативой уже разработанным электродным системам для электрохимического определения КБФ-фенола в овощах.

Глава 5. Разработка методики количественного определения карбофурана в овощах на УЧ/NiXC/УСЭ

5.1 Влияние компонентов матрицы на аналитический сигнал

В качестве объектов анализа были выбраны семена горчицы и свекла сахарная, поскольку против их вредителей зарегистрированы препараты на основе КБФ.

Пробоподготовка для анализа заключалась в том, что брали 0,2 г семян горчицы смешивали с КБФ в соотношение 100:1 масс. %, после чего к 0,202 г этой смеси добавляли 0,6 $см^3$ метанола и перемешивали в течение 15 минут при 300 об/мин без нагревания. Затем добавляли 1,4 $см^3$ 0,1 моль/$дм^3$ NaOH и смесь нагревали при 45 °С в течение 30 мин для гидролиза КБФ в КБФ-фенол. Подробный выбор условий гидролиза КБФ представлен в разделе 3.2.1. После этого образцы центрифугировали при 3000 об/мин в течение 3 мин и отбирали 1,5 мл надосадочной жидкости, переносили в электрохимическую ячейку необходимый объем и разбавляли ФБР pH 6,86 до конечного объема 10 мл для получения концентрации КБФ-фенола в линейном диапазоне концентраций градуировочной зависимости. Так же поступали со свеклой сахарной.

Зачастую компоненты реальных объектов оказывают влияние на аналитический сигнал определяемого аналита и для того, чтобы исключить это влияние была построена градуировочная зависимость аналитического сигнала от концентрации КБФ-фенола на фоне объектов анализа (рисунок 28).

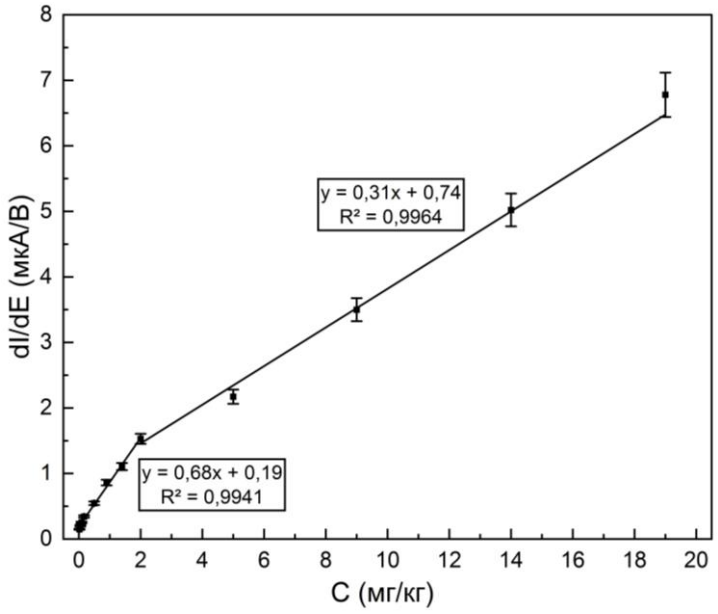


Рисунок 28 – Зависимость аналитического сигнала от концентрации КБФ-фенола в ФБР (pH 6,86) на УЧ/NiXC/УСЭ на фоне объектов анализа

Как видно по рисунку 28 от компонентов матрицы реальных объектов есть небольшой вклад в аналитический сигнал КБФ-фенола. В связи с этим данная градуировочная зависимость бралась для разработки методики вольтамперометрического определения КБФ на УЧ/NiXC/УСЭ в овощах и была подтверждена линейность разработанной методики и установлены предел обнаружения и определения.

Предел обнаружения аналита (C_{min}) – наименьшее содержание аналита, при котором он может быть обнаружен по данной методике анализа вещества или материала объекта аналитического контроля с заданной доверительной вероятностью [118]. Таким образом, предел обнаружения характеризует методику с точки зрения возможностей качественного анализа [119].

3σ критерий был использован для определения предела обнаружения КБФ-фенола в овощах по разработанной методике, где в качестве метода использовали ВА с линейной разверткой потенциала. Пределом обнаружения считали такое содержание аналита, которое составляет отношение равное утроенному стандартному отклонению фонового сигнала к коэффициенту чувствительности,

который представляет собой отношение аналитического сигнала к определяемой величине, т.е. угловой коэффициента градуировочного графика:

$$C_{min} = \frac{3S_{фон}}{b}, \quad (5)$$

где $S_{фон}$ – стандартное отклонение сигнала фона; b – коэффициент чувствительности, характеризующий отклик аналитического сигнала на содержание компонента.

Предел обнаружения КБФ для семян горчицы и свеклы сахарной составил 0,01 мг/кг (N/S=3).

Предел количественного определения аналита – наименьшее содержание аналита, которое может быть количественно определено с помощью данной методики анализа вещества или материала объекта аналитического контроля с установленными значениями характеристик погрешности или неопределенности [118].

Предел количественного определения КБФ для семян горчицы и свеклы сахарной составил 0,04 мг/кг (N/S=10).

МДУ КБФ в семенах горчицы составляет 0,05 мг/кг, а для свеклы сахарной – 0,2 мг/кг. Следовательно, рассчитанный предел определения КБФ достаточен для определения его в данных объектах анализа.

Линейность методики – это наличие линейной зависимости аналитического сигнала от концентрации или количества определяемого вещества в анализируемой пробе в пределах аналитической области методики [119].

Экспериментально в диссертации линейность методики вольтамперометрического определения КБФ в овощах устанавливали путем регистрации аналитических сигналов градуировочных растворов с добавлением образцов анализа. Зависимость аналитического сигнала от концентрации КБФ-фенола при E = (0,65±0,05) В изучали на 12 уровнях концентрации: 0,02, 0,05, 0,09, 0,17, 0,5, 0,9, 1,4 и 2, 5, 9, 14, 19 мг/кг.

В программе Origin 2022 строили градуировочные зависимости интенсивности тока пика КБФ от его концентрации в растворе на фоне образцов анализа и получили два диапазона от 0,02 до 2 мг/кг и от 2 до 19 мг/кг, в которых сохраняется линейность (рисунок 28). Уравнения регрессии полученных градуировочных характеристик для КБФ представлены в таблице 8, обработанные методом наименьших квадратов с использованием линейной модели y=kx+b.

Таблица 8 – Уравнения регрессии градуировочных зависимостей КБФ

	0,02–2 мг/кг	2–19 мг/кг
Семена горчицы и свекла сахарная	y=0,68x+0,19 R^2=0,9941	y=0,31x+0,74 R^2=0,9964

где y – dI/dE КБФ-фенола, мкА/В; x – концентрация КБФ на фоне объектов анализа, мг/кг.

Таким образом, разработанная методика вольтамперометрического определения КБФ в семенах горчицы и свекле сахарной пригодна для надежного определения КБФ в концентрациях, лежащих как выше, так и ниже максимально допустимого уровня его содержания.

5.2 Оценка адекватности модели процесса

Для проверки, правильно ли модель (в виде уравнений регрессии) описывает процесс, необходимо было оценить адекватность этой модели. Модель считается адекватной, если разброс между параллельными опытами при каждом уровне I_i больше, чем расхождения между рассчитанными по модели и экспериментальными значениями I_i [120]. Для этого была построена таблица зависимости аналитического сигнала КБФ-фенола от его концентрации для вольтамперометрического определения его в семенах горчицы и свекле сахарной (таблицы 9, 10).

Таблица 9 – Зависимость аналитического сигнала КБФ-фенола от его концентрации в растворе для вольтамперометрического определения его в овощах в диапазоне концентраций 0,02–2 мг/кг

№	C, мг/кг	I_{1i}, мкА/В	I_{2i}, мкА/В	I_{3i}, мкА/В	$I_{ср}$, мкА/В	$(I_i - I_{ср})^2$
1	0,02	0,127	0,387	0,142	0,219	0,043
2	0,05	0,178	0,198	0,205	0,194	0,0004
3	0,09	0,233	0,256	0,269	0,253	0,0007
4	0,17	0,285	0,335	0,322	0,314	0,001
5	0,5	0,518	0,597	0,551	0,555	0,003
6	0,9	0,827	0,877	0,865	0,856	0,001
7	1,4	1,062	1,110	1,087	1,086	0,001
8	2	1,414	1,536	1,427	1,459	0,009
						Σ 0,06

Таблица 10 – Зависимость аналитического сигнала КБФ-фенола от его концентрации в растворе для вольтамперометрического определения его в овощах в диапазоне концентраций 2–19 мг/кг

№	C, мг/кг	I_{1i}, мкА/В	I_{2i}, мкА/В	I_{3i}, мкА/В	$I_{ср}$, мкА/В	$(I_i - I_{ср})^2$
1	2	1,414	1,536	1,427	1,459	0,009
2	5	2,138	2,167	2,179	2,161	0,0009
3	9	3,001	2,871	4,108	3,327	0,9
4	14	3,630	4,464	4,223	4,106	0,4
5	19	5,872	6,907	3,454	5,411	6,3
						Σ 7,58

Следующим этапом являлась оценка дисперсии воспроизводимости, используя данные параллельных определений каждого независимого опыта по формуле:

$$S^2_{вос} = \frac{\sum(I_i - I_{ср})^2}{N\,(n-1)}$$

0,02–2 мг/кг

$S^2_{вос} = 0{,}004$

2–19 мг/кг

$S^2_{вос} = 0{,}758$

где N – число экспериментальных точек, n – число параллельных определений.

Далее была оценена дисперсия адекватности, которая характеризует степень отклонения экспериментальных значений I_i от рассчитанных по уравнениям регрессии, по расчетам, произведенным в таблицах 11, 12, где I* – значения токов, рассчитанные по уравнениям регрессии.

Таблица 11 – Оценка адекватности модели для овощей в диапазоне концентраций 0,02–2 мг/кг

№	C, мг/кг	$I_{ср}$, мкА/В	I*, мкА/В	$(I^* - I_{ср})^2$, мкА/В
1	0,02	0,219	0,204	0,0002
2	0,05	0,194	0,224	0,0009
3	0,09	0,253	0,251	0,000002
4	0,17	0,314	0,306	0,00007
5	0,5	0,555	0,530	0,0006
6	0,9	0,856	0,802	0,003
7	1,4	1,086	1,142	0,003
8	2	1,459	1,550	0,008
				Σ 0,016

Таблица 12 – Оценка адекватности модели для овощей в диапазоне концентраций 2–19 мг/кг

№	C, мг/кг	$I_{ср}$, мкА/В	I*, мкА/В	$(I^* - I_{ср})^2$, мкА/В
1	2	1,459	1,360	0,009
2	5	2,161	2,290	0,02
3	9	3,327	3,530	0,04
4	14	4,106	5,080	0,95
5	19	5,411	6,630	1,49
				Σ 2,50

Далее была рассчитана дисперсия адекватности по формуле:

$$S_{ад}^{\ 2} = \frac{n \sum (I^* - I_{ср})^2}{N - k}$$

0,02–2 мг/кг

$S_{ад}^{\ 2} = 0{,}007$

2–19 мг/кг

$S_{ад}^{\ 2} = 1{,}877$

где n – число параллельных опытов, N – число экспериментальных точек, k – число независимых переменных.

Завершающим этапом оценки адекватности модели был расчет по критерию Фишера через отношение дисперсии адекватности к дисперсии воспроизводимости:

$$F_{расч} = \frac{S_{ад}^2}{S_{вос}^2}$$

0,02–2 мг/кг

$F_{расч} = 1{,}86$

2–19 мг/кг

$F_{расч} = 2{,}48$

Было найдено табличное значение критерия Фишера для выбранного уровня значимости и чисел степеней свобод дисперсии адекватности (f_1) и дисперсии воспроизводимости (f_2):

для диапазона 0,02–2 мг/кг	для диапазона 2–19 мг/кг
$f_1 = n – k = 8 – 1 = 7$; $f_2 = N(n – 1) = 8·(3 – 1) = 16 => F_{табл} = 2,66$	$f_1 = n – k = 5 – 1 = 4$; $f_2 = N(n – 1) = 5·(3 – 1) = 10 => F_{табл} = 3,48$

При сравнении расчетных значений критерия Фишера с табличным, был сделан вывод об адекватности моделей для анализа КБФ в овощах, которые описываются следующими уравнениями регрессии (т.к. $F_{эксп} < F_{табл}$): для диапазона 0,02–2 мг/кг: y=0,68x+0,19 и для диапазона 2–19 мг/кг: y=0,31x+0,74.

5.3 Исследование мешающего влияния компонентов реальных объектов

Разработанный УЧ/NiXC/УСЭ использовался для количественного определения КБФ-фенола в овощах, которые содержат множество других компонентов, полезных для здоровья. В семенах горчицы и свекле сахарной содержатся в основном витамины, органические соединения и микроэлементы. В связи с этим были выбраны для оценки мешающего влияния следующие компоненты: рибофлавин, глюкоза, аскорбиновая и никотиновая кислоты, натрий, калий и кальций.

Мешающие компоненты вводили в начале при смешивании овоща и КБФ в соотношении 100:1 для витаминов и для солей металлов – 10:1. Результаты влияния потенциальных интерферирующих веществ на аналитический сигнал КБФ-фенола представлены в таблице 13.

Результаты исследований не показали существенных изменений при наличии 100-кратного избытка витаминов и 10-кратного избытка солей. Эти данные указывают на хорошую селективность УЧ/NiXC/УСЭ к КБФ-фенолу.

Таблица 13 – Влияние возможных мешающих веществ на аналитический сигнал КБФ-фенола (P=0,95, n=5)

Объект анализа	Компонент	Отношение концентраций компонент:КБФ-фенол	Содержание КБФ-фенола, мг/кг	$t_{эксп}$	$t_{табл}$
Семена горчицы	До введения компонентов		3,50±0,24	1,13	2,78
	Рибофлавин	100:1	3,30±0,20	0,71	
	Глюкоза		3,40±0,21	0,88	
	Аскорбиновая кислота		3,40±0,23	1,05	
	Никотиновая кислота		3,20±0,19	1,95	
	NaCl	10:1	3,30±0,17	1,20	
	KCl		3,20±0,19	1,78	
	$CaCl_2$		3,30±0,18	1,46	
Свекла сахарная	До введения компонентов		6,20±0,43	1,60	2,78
	Рибофлавин	100:1	5,90±0,36	1,04	
	Глюкоза		6,00±0,36	1,17	
	Аскорбиновая кислота		5,9±0,40	0,85	
	Никотиновая кислота		5,80±0,35	0,93	
	NaCl	10:1	6,10±0,37	1,02	
	KCl		5,80±0,35	1,24	
	$CaCl_2$		5,90±0,35	0,80	

5.4 Вольтамперометрическая методика определения карбофурана на УЧ/NiXC/УСЭ в семенах горчицы и свекле сахарной

Семена горчицы измельчают при помощи блендера или терки, отбирают 0,2 г и добавляют 0,6 $см^3$ метанола. После чего перемешивают в течение 15 мин при 300 об/мин при комнатной температуре. Затем добавляют 1,4 $см^3$ 0,1 $моль/дм^3$ раствора NaOH и смесь нагревают при 45 °С в течение 30 мин для гидролиза возможного присутствия КБФ в КБФ-фенол. После этого образцы центрифугируют при 3000 об/мин в течение 3 мин и собирают 1,5 $см^3$ супернатанта. Переносят необходимое количество в электрохимическую ячейку и разбавляют ФБР pH 6,86 до конечного объема 10 $см^3$. Такие же этапы пробоподготовки предусмотрены и для свеклы сахарной.

Методика определения КБФ после его гидролитического превращения в КБФ-фенол заключается в использовании трехэлектродной ячейки, где в качестве

фонового электролита выступает ФБР pH 6,86. Трехэлектродная ячейка включает в себя рабочий электрод – УЧ/NiXC/УСЭ, электрод сравнения – ХСЭ (1 моль/дм^3) и вспомогательный электрод – ХСЭ (1 моль/дм^3). Электроды подключаются к вольтамперометрическому анализатору и помещаются в 10 см^3 раствора фонового электролита. После чего проверяется чистота фона перед измерениями, для этого регистрируют вольтамперограммы с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной «холостого» фосфатного буферного раствора как минимум пять раз. При отсутствии посторонних пиков на вольтамперограммах делают вывод о чистоте фона и вносят в ячейку дозатором необходимый объем образца. При определении КБФ используют ВА с линейной разверткой потенциала в диапазоне потенциалов от –0,8 до +1 В при скорости развертки потенциала 100 мВ/с, потенциале накопления +0,4 В и времени накопления 100 с в перемешиваемом растворе. Перемешивание растворов в электрохимических ячейках осуществляется стабилизированной вибрацией рабочих электродов на уровне 5. Все эксперименты проводятся при комнатной температуре. О качественном содержании КБФ судят по наличию пика при (0,65±0,05) В, а о количественном – по градуировочному графику (рисунок 28). Время затрачиваемое на анализ с учетом подготовки образцов овощей составляет не свыше 50 минут.

5.5 Сравнительный анализ разработанной вольтамперометрической методики определения карбофурана в семенах горчицы и свекле сахарной с методом ВЭЖХ-УФ

Для оценки правильности вольтамперометрической методики определения КБФ в семенах горчицы и свекле сахарной сравнивали разработанную методику с методическими указаниями по определению остаточных количеств КБФ в зеленой массе сахарной свеклы, капусте, семенах и масле рапса (горчицы) [100]. В данных методических указаниях используется метод ВЭЖХ-УФ и КБФ определяется в овощах путем очистки экстракта методом перераспределения

между двумя несмешивающимися жидкими фазами и, при необходимости, на концентрирующем патроне Диапак [100].

В МУК 4.1.1391-03 [100] используется хроматограф жидкостный Уотерс 510 с ультрафиолетовым детектором с изменяемой длиной волны и чувствительностью не ниже 0,0050 ед. адсорбции на шкалу. Кроме того, экстракция КБФ проводится больше чем в 5 этапов. В связи с тем, что получение аналитического сигнала в хроматографических методах зависит от типа хроматографа, мы проводили валидацию данной методики на наши условия.

При количественном определении КБФ на фоне семян горчицы и свеклы сахарной на высокоэффективном жидкостном хроматографе Милихром А-02 с УФ детектором и микроколонкой Ø2х75 мм были подобраны следующие условия:

- рабочая длина волны детектора – 210 нм;
- температура колонки – 25 °С;
- подвижная фаза – 50% CH_3CN:50% H_2O;
- скорость потока – 150 мкл/мин;
- объем вводимой пробы – 6 мкл;
- режим элюирования – изократический;
- время удерживания на колонке ProntoSIL 120-5-C_{18} AQ – 4,78–4,95 мин.

Пробоподготовка образцов для ВЭЖХ-УФ определения проводилась аналогично пробоподготовке для вольтамперометрического определения КБФ за исключением стадии гидролиза и в качестве экстрагента и растворителя использовался ацетонитрил. При подобранных условиях была построена градуировочная зависимость площади пика от концентрации КБФ (рисунок 29). Установлено, что градуировочная зависимость линейна в диапазоне от 0,02 до 14 мг/кг.

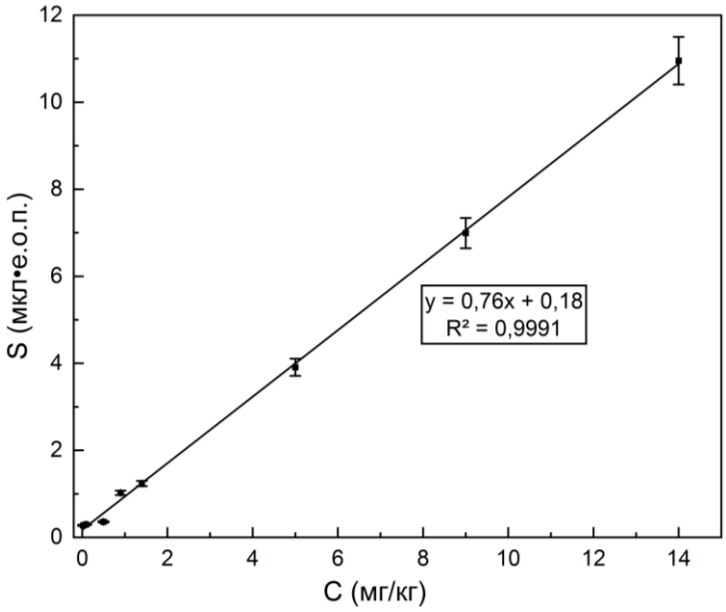


Рисунок 29 – Градуировочная зависимость площади пика от концентрации КБФ на фоне семян горчицы и свеклы сахарной в диапазоне от 0,02 до 14 мг/кг

Таким образом, эти данные использовали в качестве метода сравнения для вольтамперометрического определения КБФ в семенах горчицы и свекле сахарной. Результаты по количественному определению КБФ в овощах методом введено-найдено вольтамперометрическим и хроматографическим методами представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Результаты определения КБФ в семенах горчицы и свекле сахарной вольтамперометрическим и хроматографическим методами, (P=0,95, n=5, $t_{табл}$=2,78)

Объект анализа	Введено, мг/кг	Вольтамперометрия	ВЭЖХ-УФ	$t_{эксп}$	Степень извлечения, %
		Найдено, мг/кг	Найдено, мг/кг		
Семена горчицы	> 0,01	–	–	–	–
	0,2	0,19±0,02	0,21±0,01	1,87	95
	1,4	1,38±0,12	1,35±0,06	2,08	98
	9	8,91±0,54	9,16±0,50	1,56	99
Свекла сахарная	> 0,01	–	–	–	–
	0,2	0,18±0,02	0,19±0,01	0,92	90
	1,4	1,63±0,15	1,48±0,10	1,99	116
	9	10,29±0,62	8,37±0,40	1,05	114

При сравнении разработанной вольтамперометрической методики и референтной ВЭЖХ-УФ можно сделать вывод, что результаты разработанной методики соотносятся с результатами ВЭЖХ-УФ, кроме того она более

экспрессна, количество используемых реактивов и стоимость анализа минимальны.

5.6 Метрологические характеристики вольтамперометрической методики определения карбофурана на УЧ/NiXC/УСЭ в семенах горчицы и свекле сахарной

Метрологические характеристики методики являются важнейшим, обязательным и завершающим этапом разработки методики количественного определения аналита различными методами и должны, как минимум, содержать информацию о: 1) точности; 2) правильности или характеристике систематической погрешности; и 3) воспроизводимости или характеристике случайной погрешности.

Электрохимические методы анализа (ЭМА) переживают в последние годы своеобразное «возрождение» для анализа органических соединений и различных пестицидов в частности. Это связано с тем, что ЭМА позволяют получить информацию, как о количественном содержании определяемых соединений, так и об их химической природе. Но не было бы такого развития без основной причины – создания множества химически модифицированных электродов, позволяющие получать информацию о природе и составе сложных смесей.

Стандартный европейский образец КБФ (Sigma-Aldrich) был использован при экспериментальном наборе статистических данных для установления метрологических характеристик ВА методики определения КБФ в овощах.

В качестве аналитического сигнала для разработки ВА методики определения КБФ в овощах был выбран второй анодный пик КБФ-фенола исходя из вольтамперограммы с линейной разверткой потенциала (рисунок 18Б) при Е = (+0,65±0,05) В, где зависимость аналитического сигнала от концентрации КБФ-фенола носила линейный характер.

Были оценены следующие метрологические характеристики методик:

1. Показатель повторяемости, представляющий собой среднеквадратичное отклонение (СКО) результатов, полученных в условиях повторяемости;

2. Показатель внутрилабораторной прецизионности, представляющий собой СКО результатов, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности (разное время, разные операторы, разные приборы);

3. Показатель точности методики, представляющий собой аддитивную сумму характеристик случайной и систематической погрешности.

5.6.1 Показатели качества вольтамперометрической методики определения карбофурана в овощах

Алгоритм расчета метрологических характеристик для методики по определению КБФ в семенах горчицы и свекле сахарной приведен в приложении 1. Метрологические характеристики были рассчитаны согласно РМГ 61-2010 «Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки».

Результаты показателей качества вольтамперометрической методики определения КБФ представлены в таблице 15 для двух диапазонов концентраций.

Таблица 15 – Значение показателей точности, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности при определении КБФ в овощах (P=0,95, n=2, L=15)

C, мг/кг	σ_r*, %	$\sigma_{Rл}$*, %	$\pm\Delta_c$*, %	±Δ*, %
0,02	9	10	16	30
0,09	10	11	8	24
0,5	8	9	14	20
1,4	7	8	10	17
2	6	7	6	15
5	4	5	6	13
9	5	5	6	11
14	3	4	5	6
19	3	3	5	7

Из данных таблицы можно сделать вывод, что при определении КБФ вольтамперометрическим методом показатель точности не превышает 30 %,

показатели повторяемости и внутрилабораторной прецизионности 10 % и 11 %, соответственно.

При рассмотрении численных зависимостей показателя точности от концентрации КБФ-фенола для двух диапазонов можно сказать о нелинейном характере (рисунок 30).

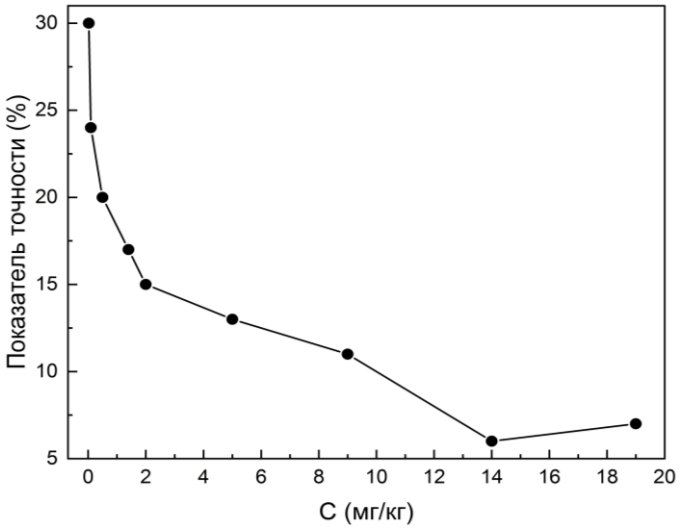


Рисунок 30 – Изменение показателя точности вольтамперометрической методики определения КБФ в овощах в зависимости от концентрации

В таком случае интервал оценки разбиваем на диапазоны и каждому диапазону приписываем количественные характеристики (таблица 16).

Таблица 16 – Диапазон измерений, значения показателей точности, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности (P=0,95, n=2, L=15)

Диапазон измерений, мг/кг	Показатели прецизионности (относительные значения)		Показатель точности (границы относительной погрешности при P = 0,95), ±Δ, %
	Показатель повторяемости, σ_r*, %	Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_{Rл}$*, %	
от 0,02–2 вкл.	9	10	30
св. 2–19 вкл.	6	7	15

Основные метрологические характеристики разработанной методики количественного определения КБФ в семенах горчицы и свекле сахарной были определены. Показатель точности для диапазона от 0,02 до 2 мг/кг включительно составил 30 %, а для диапазона свыше 2 до 19 мг/кг включительно – 15 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Были подобраны рабочие условия щелочного гидролиза с целью получения электроактивной формы карбофурана – КБФ-фенола: оптимальная концентрация NaOH составила 0,1 моль/дм^3, время гидролиза – 30 мин, температура гидролиза – 45 °С.

2. Был разработан новый модифицированный углеродсодержащий электрод – УЧ/FeXC/УСЭ – для вольтамперометрического определения КБФ. Морфология поверхности УЧ/FeXC/УСЭ была проанализирована методами СЭМ и ЭИС. Электрохимические свойства определения КБФ были изучены методом ЦВА в фосфатном буферном растворе pH 6,86 в диапазоне потенциалов от –0,4 до 1,2 В. При экспериментальных рабочих условиях ($E_{нак}$ – +0,3 В, $t_{нак}$ – 110 с, v – 100 мВ/с) методом ВА с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной линейный диапазон в модельных растворах составил от 0,25 до 10 мкмоль/дм^3. Предел обнаружения и определения КБФ составили 0,08 мкмоль/дм^3 и 0,26 мкмоль/дм^3, соответственно.

3. Кроме УЧ/FeXC/УСЭ был создан модифицированный углеродсодержащий электрод с включением другого хелатсодержащего сорбента – УЧ/NiXC/УСЭ – для вольтамперометрического определения КБФ. Электрохимические свойства КБФ-фенола исследовали в фосфатном буферном растворе методами ЦВА и ВА с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной. Были подобраны рабочие условия определения КБФ на УЧ/NiXC/УСЭ: $E_{нак}$ – +0,4 В, $t_{нак}$ – 100 с, v – 100 мВ/с. В модельных растворах КБФ линейный диапазон составил от 0,1 до 10 мкмоль/дм^3 и от 10 до 100 мкмоль/дм^3, а предел обнаружения и определения КБФ 0,06 и 0,19 мкмоль/дм^3 соответственно. Поскольку УЧ/NiXC/УСЭ обладал лучшими характеристиками в сравнении с УЧ/FeXC/УСЭ, он был выбран для дальнейшей разработки методики вольтамперометрического определения КБФ в овощах.

4. Разработаны условия пробоподготовки семян горчицы и свеклы сахарной: в качестве экстрагента выступает метанол, с последующим щелочным

гидролизом для превращения КБФ в КБФ-фенол. Была проведена оценка мешающего влияния вспомогательных компонентов матрицы на аналитический сигнал КБФ. Показано, что витамины и минералы не оказывают существенного влияния на аналитический сигнал КБФ-фенола.

5. Разработана методика вольтамперометрического определения КБФ в семенах горчицы и свекле сахарной на новом модифицированном углеродсодержащем электроде – УЧ/NiXC/УСЭ. Проведена оценка основных метрологических показателей разработанной методики.

Таким образом, исходя из вышеприведенных результатов можно предположить, что возникающий синергетический эффект при использовании углеродных чернил совместно с хелатсодержащими сорбентами для модифицирования электродов по определению карбаматных пестицидов, на примере КБФ, открывает возможности безотходного использования сорбентов колонки в рамках утилизации материалов и для «зеленой» электроаналитической химии.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

4-ТВ[8]А – 4-трет-бутилкаликс[8] арен;

Au НК – нанокристаллы золота;

Au НЧ – наночастицы золота;

Eupenicillium shearii FREI-39 – эндофитный гриб *Eupenicillium shearii* FREI-39 эстераза;

FeХС – хелатсодержащий сорбент, содержащий Хроматон N, 5% неподвижной полиэтиленгликолевой жидкой фазы 20 М и 2,5 мас. % ацетилацетоната железа III;

MIL – из семейства металлоорганических структур;

NiХС – хелатсодержащий сорбент, содержащий Хроматон N, 5% неподвижной полиэтиленгликолевой жидкой фазы 20 М, 10 мас. % ацетилацетоната никеля;

ТС-0 – 5,11,17,23-тетра-*трет*-бутил-25,26,27,28-тетракис-[1-(20-гидрокси-этил)-N-(3",4"-дигидроксифенил)амидокарбонил)-метокси)-2,8,14,20-тетратиака-ликс[4]арен в 1,3-альтернативной конформации;

Амп – амперометрия;

Ат – антитела к карбофурану;

АХ – ацетилхолин;

АХЭ – ацетилхолинэстераза;

БЛ – берлинская лазурь;

БСА – бычий сывороточный альбумин;

ВЛРП – вольтамперометрия с линейной разверткой потенциала;

ВОГ – восстановленный оксид графена;

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;

ГНТ – нанотрубки из галлуазита;

ГП – графитовый порошок;

ГХ – газовая хроматография;

ДИВ – дифференциально-импульсная вольтамперометрия;

ДЭС – двойной электрической слой;

ВА – вольтамперометрия;

КБФ – карбофуран;

КВВ – квадратно-волновая вольтамперометрия;

КГ – карбоновый графен;

Кон А – конканавалин А;

МИП – молекулярно-импринтированный полимер;

МС – масс-спектрометрия;

МУНТ – многостенные углеродные нанотрубки;

Наф – нафион;

НЧ – наночастицы;

НЧМ – наночастицы магнетита;

ОГ – оксид графена;

ОИО – оксид индия-олова;

ПДА – поли(допамин);

ПДДА – поли(диаллилдиметиламмоний);

ПЗН – полые золотые наносферы;

ПИА – проточно-инжекционный анализ;

ПП – полипиррол;

ПСС – поли(стиролсульфонат);

ПЭГ – полиэтиленгликоль;

ПЭДОТ – поли(3,4-этилендиокситиофен);

ПЭП – полиэтиленовая пленка;

Р[5]А – пиллар[5]арен;

СУЭ – стеклоуглеродный электрод;

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия;

ТББТ – 4,4’-тиобисбензотиол;

УНТ – углеродные нанотрубки;

УП – углеродная паста;

УПЭ – электрод из углеродной пасты;

УС – углеродная сажа;

УСЭ – углеродсодержащий электрод;

УЧ – углеродные чернила;

УЭТП – углеродный электрод с трафаретной печатью;

ФБР – фосфатный буферный раствор;

ФМУНТ – функционализированные многостенные углеродные нанотрубки;

Х – хитозан;

Хр – хроматон;

ХС – хелатсодержащий сорбент;

ХСЭ – хлорсеребряный электрод;

ЦВА – циклическая вольтамперометрия;

ЦТАБ – мицеллярный цетилтриметиламмоний бромид;

ЩФ – щелочная фосфатаза;

ЭВОГ – электрохимически восстановленный оксид графена.

ЭДС – энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия;

ЭИС – электрохимическая импедансная спектроскопия;

э-ОГ – электрохимически индуцирующая 3D структура оксида графена.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nowak, P. M. White Analytical Chemistry: An approach to reconcile the principles of Green Analytical Chemistry and functionality / P. M. Nowak, R. Wietecha-Posłuszny, J. Pawliszyn // TrAC Trends in Anal. Chem. – 2021. – Vol. 138. – P. 116223.

2. Gałuszka, A. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices / A. Gałuszka, Z. Migaszewski, J. Namieśnik // TrAC Trends in Anal. Chem. – 2013. – Vol. 50. – P. 78–84.

3. Федеральный закон N 109-ФЗ «О безопасном обращении с пестицидами и агрохимикатами». – 1997. – 22 с.

4. Медведь, Л. И. Справочник по пестицидам (гигиена применения и токсикология) / Коллектив авторов, под ред. академика АМН СССР, профессора Л. И. Медведя – К.: Урожай. – 1974. – 448 с.

5. Use F.A.O.P. Pesticides Trade and Pesticides Indicators–Global, Regional and Country Trends, 1990–2020 // FAOSTAT Analytical Briefs. – 2022. – Т. 46.

6. Soriano, J. M. Analysis of carbamate pesticides and their metabolites in water by solid phase extraction and liquid chromatography: a review / J. M. Soriano, B. Jiménez, G. Font, J. C. Moltó // Critical Rev. in Anal. Chem. – 2001. – Vol. 31. – № 1. – P. 19–52.

7. Abubakar, Y. Pesticides, history, and classification / Y. Abubakar, H. Tijjani, C. Egbuna, C. O. Adetunji, S. Kala, T. L. Kryeziu, J. C. Ifemeje, K. C. Patrick-Iwuanyanwu // Natural remedies for pest, disease and weed control. – Academic Press. – 2020. – P. 29–42.

8. Gupta, R. C. Carbamate pesticides / R. C. Gupta // Encyclopedia of Toxicol. – 2014. – P. 661–664.

9. Dhouib, I. B. Carbamates pesticides induced immunotoxicity and carcinogenicity in human: A review / I. B. Dhouib, A. Annabi, M. Jallouli, S. Marzouki,

N. Gharbi, S. Elfazaa, M. M. Lasram // J. of Appl. Biomedicine. – 2016. – Vol. 14. – № 2. – P. 85–90.

10. Ariffin, F. Biodegradation of carbofuran: a review / F. Ariffin, S. A. Rahman // J. of Environmental Microbiology and Toxicol. – 2020. – Vol. 8. – № 1. – P. 50–57.

11. Dias, E. A review on the assessment of the potential adverse health impacts of carbamate pesticides / E. Dias, F. G. e Costa, S. Morais, M. de Lourdes Pereira // Top. in Public Health. – 2015. – P. 197–212.

12. Мельников, Н. Н. Справочник по пестицидам / Н. Н. Мельников, К. В. Новожилов, С. Р. Белан, Т. Н. Пылова // М.: Химия. – 1985. – 352 с.

13. Mishra, S. Carbofuran toxicity and its microbial degradation in contaminated environments / S. Mishra, W. Zhang, Z. Lin, S. Pang, Y. Huang, P. Bhatt, S. Chen // Chemosphere. – 2020. – Vol. 259. – P. 127419.

14. Методические указания 4.1.1392-03. Определение остаточных количеств карбофурана в воде, почве, корнеплодах и зеленой массе сахарной свеклы, семенах и масле рапса (горчицы) методом газожидкостной хроматографии. Сборник методических указаний. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России. – 2004. – Вып. 3. – Ч. 2. – 60 с.

15. ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. М.: Стандартинформ. – 2007. – 5 с.

16. Sun, S. Pesticide pollution in agricultural soils and sustainable remediation methods: A review / S. Sun, V. Sidhu, Y. Rong, Y. Zheng // Curr. Pollut. Rep. – 2018. – Vol. 4. – P. 240–250.

17. Campbell, S. Persistence of carbofuran in marine sand and water / S. Campbell, M. D. David, L. A. Woodward, Q. H. Li // Chemosphere. – 2004. – Vol. 54. – № 8. – P. 1155–1161.

18. Howard, P. H. Handbook of environmental fate and exposure data for organic chemicals: pesticides / P. H. Howard // Routledge, 2017. – P. 3–15.

19. СанПиН 1.2.3685-21 Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания – Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 N 2, зарегистрирован в Министерстве юстиции Российской Федерации 29.01.2021 N 62296.

20. Gupta, R. C. Carbofuran toxicity / R. C. Gupta // J. of Toxicol. and Environmental Health. – 1994. – Vol. 43. – № 4. – P. 383–418.

21. Kamboj, S. S. Mitochondrial oxidative stress and dysfunction in rat brain induced by carbofuran exposure / S. S. Kamboj, V. Kumar, A. Kamboj, R. Sandhir // Cellular and Molecular Neurobiology. – 2008. – Vol. 28. – P. 961–969.

22. Rai, D. K. Role of aqueous extract of Cynodon dactylon in prevention of carbofuran-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rat brain / D. K. Rai, R. K. Sharma, P. K. Rai, G. Watal, B. Sharma // Cellular and Molecular Biology. – 2011. – Vol. 57. – № 1. – P. 135–142.

23. Saquib, Q. et al. Carbofuran cytotoxicity, DNA damage, oxidative stress, and cell death in human umbilical vein endothelial cells: Evidence of vascular toxicity / Q. Saquib, M. A. Siddiqui, S. M. Ansari, H. A. Alwathnani, A. A. Al-Khedhairy // J. of Applied Toxicol. – 2021. – Vol. 41. – № 5. – P. 847–860.

24. The WHO recommended classification of pesticide by hazard // World Health Organization Geneva. – 2009.

25. Bonner, M. R. Occupational exposure to carbofuran and the incidence of cancer in the agricultural health study / M. R. Bonner, W. J. Lee, D. P. Sandler, J. A. Hoppin, M. Dosemeci, M. C. Alavanja // Environ. Health Persp. – 2005. – Vol. 113. – P. 285–289.

26. Gammon, D. W., Carbofuran occupational dermal toxicity, exposure and risk assessment / D. W. Gammon, Z. Liu, J. M. Becker // Pest management science. – 2012. – Vol. 68. – № 3. – P. 362–370.

27. Ferguson, P. W. Carbofuran metabolism and toxicity in the rat / P. W. Ferguson, M. S. Dey, S. A. Jewell, R. I. Krieger // Fundamental and Applied Toxicol. – 1984. – Vol. 4. – № 1. – P. 14–21.

28. Song, X. Carbofuran / X. Song // Encyclopedia of Toxicol. – 2014. – P. 673–674.

29. Jaiswal, S. K. Carbofuran induced oxidative stress in rat heart: ameliorative effect of vitamin C / S. K. Jaiswal, N. J. Siddiqi, B. Sharma // International Sch. Res. Not. – 2013. – Vol. 2013.

30. Rai, D. K. Carbofuran-induced toxicity in rats: protective role of vitamin C / D. K. Rai, P. K. Rai, S. I. Rizvi, G. Watal, B. Sharma // Experimental and Toxicol. Pathology. – 2009. – Vol. 61. – № 6. – P. 531–535.

31. Agarwal, A. Pesticides induced oxidative stress in mammalian systems: a review / A. Agarwal, B. Sharma // Int. J. Biol. Med. Res. – 2010. – Vol. 1. – P. 90–104.

32. Ameno, K. Blood carbofuran concentrations in suicidal ingestion cases / K. Ameno, S.-K. Lee, S.-W. In, J.-Y. Yang, Y.-C. Yoo, S. Ameno, T. Kubota, H. Kinoshita, I. Ijiri // Forensic Sci. International. – 2001. – Vol. 116. – № 1. – P. 59–61.

33. Шорманов, В. К. Изолирование карбофурана из растительного биологического материала / В. К. Шорманов, С. Г. Галушкин, Е. А. Коваленко // Актуальные проблемы медицины. – 2012. – Т. 20. – № 22. – С. 183–186.

34. Шорманов, В. К. Определение карбофурана в биологическом материале растительного происхождения / В. К. Шорманов, С. Г. Галушкин, А. П. Терских, Е. А. Коваленко, П. В. Михалькова // Человек и его здоровье. – 2013. – № 3. – С. 107–113.

35. Шорманов, В. К. Определение карбофурана при судебно-химическом исследовании биологического материала / В. К. Шорманов, Е. А. Коваленко, Е. П. Дурицын, С. В. Маслов, С. Г. Галушкин, Е. И. Прониченко // Судебно-медицинская экспертиза. – 2013. – Т. 56. – № 4. – С. 30–34.

36. Шорманов, В. К. Изучение особенностей распределения карбофурана в организме теплокровных животных / В. К. Шорманов, С. Г. Галушкин, Е. А.

Коваленко, А. П. Терских // Судебно-медицинская экспертиза. – 2015. – Т. 58. – № 1. – С. 40–43.

37. Методические указания 4.1.1240-03. Определение остаточных количеств карбосульфана и его основного метаболита карбофурана в клубнях картофеля и почве; метаболитов карбофурана – 3-гидроксикарбофурана в клубнях картофеля и 3-кетокарбофурана в почве методом высокоэффективной жидкостной хроматографии – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – 2005. – 15 с.

38. Della Pelle, F. Nano carbon black-based screen printed sensor for carbofuran, isoprocarb, carbaryl and fenobucarb detection: Application to grain samples / F. Della Pelle, C. Angelini, M. Sergi, M. Del Carlo, A. Pepe, D. Compagnone // Talanta. – 2018. – Vol. 186. – P. 389–396.

39. Soltani-Shahrivar, M. Design and application of a non-enzymatic sensor based on metal-organic frameworks for the simultaneous determination of carbofuran and carbaryl in fruits and vegetables / M. Soltani-Shahrivar, N. Karimian, H. Fakhri, A. Hajian, A. Afkhami, H. Bagheri // Electroanal. – 2019. – Vol. 31. – № 12. – P. 2455–2465.

40. Yang, L. Development of a biosensor based on immobilization of acetylcholinesterase on NiO nanoparticles–carboxylic graphene–nafion modified electrode for detection of pesticides / L. Yang, G. Wang, Y. Liu, M. Wang // Talanta. – 2013. – Vol. 113. – P. 135–141.

41. Soulis, D. Facile and low-cost SPE modification towards ultra-sensitive organophosphorus and carbamate pesticide detection in olive oil / D. Soulis, M. Trigazi, G. Tsekenis, C. Chandrinou, A. Klinakis, I. Zergioti // Molecules. – 2020. – Vol. 25. – № 21. – P. 4988.

42. Qi, P. Sensitive and selective detection of the highly toxic pesticide carbofuran in vegetable samples by a molecularly imprinted electrochemical sensor with signal enhancement by AuNPs / P. Qi, J. Wang, X. Wang, Z. Wang, H. Xu, S. Di, Q. Wang, X. Wang // RSC advances. – 2018. – Vol. 8. – № 45. – P. 25334–25341.

43. Ahn, S. Accurate determination of carbaryl, carbofuran and carbendazim in vegetables by isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry / S. Ahn, J. Y. Lee, B. Kim // Chromatographia. – 2021. – Vol. 84. – P. 27–35.

44. Samphao, A. Alkaline phosphatase inhibition-based amperometric biosensor for the detection of carbofuran / A. Samphao, P. Suebsanoh, Y. Wongsa, B. Pekec, J. Jitchareon, K. Kalcher // Int. J. Electrochem. Sci. – 2013. – Vol. 8. – № 3. – P. 3254–3264.

45. Akkarachanchainon, N. Hydrophilic graphene surface prepared by electrochemically reduced micellar graphene oxide as a platform for electrochemical sensor / N. Akkarachanchainon, P. Rattanawaleedirojn, O. Chailapakul, N. Rodthongkum // Talanta. – 2017. – Vol. 165. – P. 692–701.

46. Wong, L. Determination of carbofuran and its toxic metabolites in animal tissue by gas chromatography of their N-trifluoroacetyl derivatives / L. Wong, F. M. Fisher // J. of Agricultural and Food Chem. – 1975. – Vol. 23. – № 2. – P. 315–318.

47. Leppert, B. C. Determination of carbosulfan and carbofuran residues in plants, soil, and water by gas chromatography / B. C. Leppert, J. C. Markle, R. C. Helt, G. H. Fujie // J. of Agricultural and Food Chem. – 1983. – Vol. 31. – № 2. – P. 220–223.

48. Júnior, E. F. Simultaneous determination of drugs and pesticides in postmortem blood using dispersive solid-phase extraction and large volume injection-programmed temperature vaporization-gas chromatography–mass spectrometry / E. F. Júnior, E. D. Caldas // Forensic Sci. International. – 2018. – Vol. 290. – P. 318–326.

49. Yang, X. B. Rapid multiresidue determination for currently used pesticides in agricultural drainage waters and soils using gas chromatography–mass spectrometry / X. B. Yang, G. G. Ying, R. S. Kookana // J. of Environmental Sci. and Health Part B. – 2010. – Vol. 45. – № 2. – P. 152–161.

50. Mariño, D. Determination of Aldicarb, Carbofuran and Methamidophos in Blood Derived from Forensic Cases through Liquid Chromatography with Electrospray

Ionization and Tandem Mass Spectrometry (LC--ESI-MS-MS) / D. Mariño, N. Patiño // J. of Anal. Toxicol. – 2022. – Vol. 46. – № 1. – P. 37–46.

51. Gonçalves, V. J. Development and validation of carbofuran and 3-hydroxycarbofuran analysis by high-pressure liquid chromatography with diode array detector (HPLC-DAD) for forensic veterinary medicine / V. J. Gonçalves, N. Q. Hazarbassanov, A. de Siqueira, J. C. Florio, C. H. P. Ciscato, P. C. Maiorka, A. R. Fukushima, H. de Souza Spinosa // J. of Chromatography B. – 2017. – Vol. 1065. – P. 8–13.

52. Iqbal, S. Development and validation of HPLC method for the simultaneous determination of insecticides (carbofuran and fipronil) in its technical and granular formulation / S. Iqbal // Pakistan J. of Anal. & Environmental Chem. – 2020. – Vol. 21. – № 2. – P. 247–253.

53. Di Ottavio, F. Determination of pesticides in wheat flour using microextraction on packed sorbent coupled to ultra-high performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry / F. Di Ottavio, F. Della Pelle, C. Montesano, R. Scarpone, A. Escarpa, D. Compagnone, M. Sergi // Food Anal. Methods. – 2017. – Vol. 10. – P. 1699–1708.

54. Vera-Avila, L. E. Determination of carbofuran in surface water and biological tissue by sol–gel immunoaffinity extraction and on-line preconcentration/HPLC/UV analysis / L. E. Vera-Avila, B. P. Márquez-Lira, M. Villanueva, R. Covarrubias, G. Zelada, V. Thibert // Talanta. – 2012. – Vol. 88. – P. 553–560.

55. Dhahir, S. A. Spectrophotometric determination of carbofuran by using p-amino phenol as a reagent / S. A. Dhahir, N. J. Mohammed, K. D. Khalaf // International J. of Chem. Sci. – 2015. – Vol. 13. – № 1. – P. 213–229.

56. Bhargavi, O. A Sensitive determination of carbofuran by spectrophotometer using 4, 4-azo-bis-3, 3′ 5, 5′-tetra bromoaniline in various environmental samples / O. Bhargavi, K. Kiran, K. Suvardhan, D. Rekha, K. Janardhanam, P. Chiranjeevi // E-J. of Chem. – 2006. – Vol. 3. – № 2. – P. 68–77.

57. Cao, J. Rapid colorimetric determination of the pesticides carbofuran and dichlorvos by exploiting their inhibitory effect on the aggregation of peroxidase-mimicking platinum nanoparticles / J. Cao, M. Wang, Y. She, A. M. Abd El-Aty, A. Hacımüftüoğlu, J. Wang, M. Yan, S. Hong, S. Lao, Y. Wang // Microchimica acta. – 2019. – Vol. 186. – P. 1–9.

58. Ni, Y. Simultaneous synchronous fluorescence determination of carbaryl, propoxur, and carbofuran with multivariate calibration methods / Y. Ni, D. Cao // Spectroscopy Lett. – 2006. – Vol. 39. – № 5. – P. 431–445.

59. Wei, J.-C. Trace determination of carbamate pesticides in medicinal plants by a fluorescent technique / J.-C. Wei, B. Wei, W. Yang, C.-W. He, H.-X. Su, J.-B. Wan, P. Li, Y.-T. Wang // Food and Chem. Toxicol. – 2018. – Vol. 119. – P. 430–437.

60. Shen, S. Fluorescence detection of carbofuran in aqueous extracts based on dual-emission $SiO_2@Y_2O_3$:(Eu^{3+}, Tb^{3+})@MIP core-shell structural nanoparticles / S. Shen, Z. Long, Y. Lu, J. Chen // Luminescence. – 2022. – Vol. 37. – № 2. – P. 348–356.

61. He, Y. Gold nanoparticles for qualitative detection of deltamethrin and carbofuran residues in soil by surface enhanced Raman scattering (SERS) / Y. He, S. Xiao, T. Dong, P. Nie // International J. of Molecular Sci. – 2019. – Vol. 20. – № 7. – P. 1731.

62. Sukmanee, T. Facile and sensitive detection of carbofuran carbamate pesticide in rice and soybean using coupling reaction-based surface-enhanced Raman scattering / T. Sukmanee, K. Wongravee, S. Ekgasit, C. Thammacharoen, P. Pienpinijtham // Anal. Sci. – 2017. – Vol. 33. – № 1. – P. 89–94.

63. Oliveira, T. M. B. F. New generation of electrochemical sensors based on multi-walled carbon nanotubes / T. M. B. F. Oliveira, S. Morais // Applied Sci. – 2018. – Vol. 8. – № 10. – P. 1925.

64. Villarreal, C. C. Carbon allotropes as sensors for environmental monitoring / C. C. Villarreal, T. Pham, P. Ramnani, A. Mulchandani // Current Opinion in Electrochem. – 2017. – Vol. 3. – № 1. – P. 106–113.

65. Oliveira, T. M. B. F. Current overview and perspectives on carbon-based (bio) sensors for carbamate pesticides electroanalysis / T. M. B. F. Oliveira, F. W. Ribeiro, C. P. Sousa, G. R. Salazar-Banda, P. de Lima-Neto, A. N. Correia, S. Morais // TrAC Trends in Anal. Chem. – 2020. – Vol. 124. – P. 115779.

66. Zhao, F. Carbon nanomaterial-enabled pesticide biosensors: Design strategy, biosensing mechanism, and practical application / F. Zhao, J. Wu, Y. Ying, Y. She, J. Wang, J. Ping // TrAC Trends in Anal. Chem. – 2018. – Vol. 106. – P. 62–83.

67. Amine, A. Enzyme inhibition-based biosensors for food safety and environmental monitoring / A. Amine, H. Mohammadi, I. Bourais, G. Palleschi // Biosensors and Bioelectronics. – 2006. – Vol. 21. – № 8. – P. 1405–1423.

68. Fischer, J. Electrochemistry of pesticides and its analytical applications / J. Fischer, H. Dejmkova, J. Barek // Current Organic Chemistry. – 2011. – Vol. 15. – № 17. – P. 2923.

69. Della Pelle, F. Press-transferred carbon black nanoparticles on board of microfluidic chips for rapid and sensitive amperometric determination of phenyl carbamate pesticides in environmental samples / F. Della Pelle, M. Del Carlo, M. Sergi, D. Compagnone, A. Escarpa // Microchimica Acta. – 2016. – Vol. 183. – P. 3143–3149.

70. Jirasirichote, A. Voltammetric detection of carbofuran determination using screen-printed carbon electrodes modified with gold nanoparticles and graphene oxide / A. Jirasirichote, E. Punrat, A. Suea-Ngam, O. Chailapakul, S. Chuanuwatanakul // Talanta. – 2017. – Vol. 175. – P. 331–337.

71. Miyazaki, C. M. Combining electrochemically reduced graphene oxide and Layer-by-Layer films of magnetite nanoparticles for carbofuran detection / C. M. Miyazaki, A. M. Adriano, R. J. Rubira, C. J. Constantino, M. Ferreira // J. of Environmental Chem. Engineering. – 2020. – Vol. 8. – № 5. – P. 104294.

72. Chekol, F. Roll-to-roll printed PEDOT/PSS/GO plastic film for electrochemical determination of carbofuran / F. Chekol, S. Mehretie, F. A. Hailu, T. Tolcha, N. Megersa, S. Admassie // Electroanal. – 2019. – Vol. 31. – № 6. – P. 1104–1111.

73. Tan, X. Electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer reduced graphene oxide and gold nanoparticles modified electrode for detection of carbofuran / X. Tan, Q. Hu, J. Wu, X. Li, P. Li, H. Yu, X. Li, F. Lei // Sensors and Actuators B: Chemical. – 2015. – Vol. 220. – P. 216–221.

74. Wang, M. Y. Electrochemical nonenzymatic sensor based on CoO decorated reduced graphene oxide for the simultaneous determination of carbofuran and carbaryl in fruits and vegetables / M. Wang, J. Huang, M. Wang, D. Zhang, J. Chen // Food chem. – 2014. – Vol. 151. – P. 191–197.

75. Mariyappan, V. Highly selective electrochemical sensor based on gadolinium sulfide rod-embedded RGO for the sensing of carbofuran / V. Mariyappan, M. Keerthi, S. M. Chen // J. of Agricultural and Food Chem. – 2021. – Vol. 69. – № 9. – P. 2679–2688.

76. Pumera, M. Electrochemistry of graphene, graphene oxide and other graphenoids / M. Pumera // Electrochem. Communications. – 2013. – Vol. 36. – P. 14–18.

77. Amatatongchai, M. Selective amperometric flow-injection analysis of carbofuran using a molecularly-imprinted polymer and gold-coated-magnetite modified carbon nanotube-paste electrode / M. Amatatongchai, W. Sroysee, P. Jarujamrus, D. Nacapricha, P. A. Lieberzeit // Talanta. – 2018. – Vol. 179. – P. 700–709.

78. Khadem, M. Voltammetric determination of carbofuran pesticide in biological and environmental samples using a molecularly imprinted polymer sensor, a multivariate optimization / M. Khadem, F. Faridbod, P. Norouzi, A. R. Foroushani, M. R. Ganjali, R. Yarahmadi, S. J. Shahtaheri // J. of Anal. Chem. – 2020. – Vol. 75. – P. 669–678.

79. Baksh, H. Ultra-selective determination of carbofuran by electrochemical sensor based on nickel oxide nanoparticles stabilized by ionic liquid / H. Baksh, J. A. Buledi, N. H. Khand, A. R. Solangi, A. Mallah, S. T. Sherazi, M. I. Abro // Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly. – 2020. – Vol. 151. – P. 1689–1696.

80. Soomro, R. A. Glutaric acid assisted fabrication of CuO nanostructures and their application in development of highly sensitive electrochemical sensor system for carbamates / R. A. Soomro, K. R. Hallam, Z. H. Ibupoto, A. Tahira, S. T. H. Sherazi, S. Juddin, S. Jawaid, M. Willander // Electroanal. – 2016. – Vol. 28. – № 7. – P. 1634–1640.

81. Amatatongchai, M. Novel amino-containing molecularly-imprinted polymer coating on magnetite-gold core for sensitive and selective carbofuran detection in food / M. Amatatongchai, S. Thimoonnee, P. Jarujamrus, D. Nacapricha, P. A. Lieberzeit // Microchemical J. – 2020. – Vol. 158. – P. 105298.

82. Yang, Y. X. CoO NPs/c-CNTs nanocomposite as electrochemical sensor for sensitive and selective determination of the carbofuran pesticide in fruits and vegetables / Y. Yang, Y. Zhou, Y. Liang, R. Wu // International J. of Electrochem. Sci. – 2021. – Vol. 16. – № 6. – P. 12.

83. Solomonenko, A. N. Adsorptive stripping voltammetric determination of carbofuran in herbs on chromatographic sorbent modified electrode / A. N. Solomonenko, E. V. Dorozhko, J. Barek, E. I. Korotkova, V. Vyskocil, A. V. Shabalina // J. of Electroanal. Chem. – 2021. – Vol. 900. – P. 115692.

84. Sun, X. Amperometric immunosensor based on gold nanoparticles/Fe_3O_4-FCNTS-CS composite film functionalized interface for carbofuran detection / X. Sun, Q. Li, X. Wang, S. Du // Anal. Lett. – 2012. – Vol. 45. – № 12. – P. 1604–1616.

85. Sun, X. A label-free electrochemical immunosensor for carbofuran detection based on a sol-gel entrapped antibody / X. Sun, S. Du, X. Wang, W. Zhao, Q. Li // Sensors. – 2011. – Vol. 11. – № 10. – P. 9520–9531.

86. Sun, X. Amperometric immunosensor for carbofuran detection based on gold nanoparticles and PB-MWCNTs-CTS composite film / X. Sun, S. Du, X. Wang // European Food Res. and Technology. – 2012. – Vol. 235. – P. 469–477.

87. Jeyapragasam, T. Electrochemical biosensing of carbofuran based on acetylcholinesterase immobilized onto iron oxide–chitosan nanocomposite / T.

Jeyapragasam, R. Saraswathi // Sensors and Actuators B: Chemical. – 2014. – Vol. 191. – P. 681–687.

88. Li, Y. Acetylcholinesterase biosensor based on electrochemically inducing 3D graphene oxide network/multi-walled carbon nanotube composites for detection of pesticides / Y. Li, R. Zhao, L. Shi, G. Han, Y. Xiao // RSC advances. – 2017. – Vol. 7. – № 84. – P. 53570–53577.

89. Shamagsumova, R. V. Acetylcholinesterase biosensor for inhibitor measurements based on glassy carbon electrode modified with carbon black and pillar [5] arene / R. V. Shamagsumova, D. N. Shurpik, P. L. Padnya, I. I. Stoikov, G. A. Evtugyn // Talanta. – 2015. – Vol. 144. – P. 559–568.

90. Li, Y. Electrochemical determination of carbofuran in tomatoes by a concanavalin A (con A) polydopamine (PDA)-reduced graphene oxide (RGO)-gold nanoparticle (GNP) glassy carbon electrode (GCE) with immobilized acetylcholinesterase (AChE) / Y. Li, Y. Li, X. Yu, Y. Sun // Analyt. Lett. – 2019. – Vol. 52. – № 14. – P. 2283–2299.

91. Zhai, C. Acetylcholinesterase biosensor based on chitosan/prussian blue/multiwall carbon nanotubes/hollow gold nanospheres nanocomposite film by one-stepelectrodeposition / C. Zhai, X. Sun, W. Zhao, Z. Gong, X. Wang // Biosensors and Bioelectronics. – 2013. – Vol. 42. – P. 124–130.

92. Dutta, R. R. Amperometric biosensing of organophosphate and organocarbamate pesticides utilizing polypyrrole entrapped acetylcholinesterase electrode / R. R. Dutta, P. Puzari // Biosensors and Bioelectronics. – 2014. – Vol. 52. – P. 166–172.

93. Evtugyn, G. A. Cholinesterase sensor based on glassy carbon electrode modified with Ag nanoparticles decorated with macrocyclic ligands / G. A. Evtugyn, R. V. Shamagsumova, P. V. Padnya, I. I. Stoikov, I. S. Antipin // Talanta. – 2014. – Vol. 127. – P. 9–17.

94. Sun, X. Amperometric immunosensor based on deposited gold nanocrystals/4, 4′-thiobisbenzenethiol for determination of carbofuran / X. Sun, Y. Zhu, X. Wang // Food Control. – 2012. – Vol. 28. – № 1. – P. 184–191.

95. Li, S. A microfluidic chip containing a molecularly imprinted polymer and a DNA aptamer for voltammetric determination of carbofuran / S. Li, J. Li, J. Luo, Z. Xu, X. Ma // Microchimica Acta. – 2018. – Vol. 185. – P. 1–8.

96. Grawe, G. F. Electrochemical biosensor for carbofuran pesticide based on esterases from Eupenicillium shearii FREI-39 endophytic fungus / G. F. Grawe, T. R. de Oliveira, E. de Andrade Narciso, S. K. Moccelini, A. J. Terezo, M. A. Soares, M. Castilho // Biosensors and Bioelectronics. – 2015. – Vol. 63. – P. 407–413.

97. Гавриленко, М. А. Концентрирование и разделение нуклеофильных веществ на сорбентах, модифицированных хелатными комплексами переходных металлов: дис. … д-ра хим. наук: 02.00. 02; 02.00. 04 / Гавриленко Михаил Алексеевич. – Томск, 2015. – 301 с.

98. Патент № 2314153 C1 Российская Федерация, МПК B01J 20/283, B01J 20/286, B01J 20/30. Способ получения композитного сорбента : № 2006112345/15 : заявл. 14.04.2006 : опубл. 10.01.2008 / М. А. Гавриленко, Ю. Г. Слижов ; заявитель Государственное образовательное учреждение Высшего профессионального образования "Томский государственный университет".

99. Slizhov, Y. G. Effect of technique of applying layers of metal acetylacetonates on acid-base and chromatographic properties of sorbents / Y. G. Slizhov, T. N. Matveeva, T. S. Minakova // Russian J. of Applied Chem. – 2013. – Vol. 86. – P. 1376–1382.

100. Методические указания 4.1.1391-03. Определение остаточных количеств карбофурана в воде, почве, корнеплодах и зеленой массе сахарной свеклы, капусте, семенах и масле рапса (горчицы) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Сб. метод. указаний. Вып. 3. Ч. 2. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 14 с.

101. ГОСТ Р 8.563-2009 Государственная система обеспечения единства измерений. Методики (методы) измерений. – М.: Стандартинформ, 2011. – 16 с.

102. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения. – М.: Стандартинформ, 2009. – 33 с.

103. ГОСТ Р ИСО 5725-2–2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений. – М: Госстандарт России, 2002. – 51 с.

104. РМГ 61-2010 Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки – М.: Стандартинформ, 2013. – 62 с.

105. Bard, A. J. Electrochemical methods: fundamentals and applications / A. J. Bard, L. R. Faulkner. – 2nd ed.: John Wiley & Sons, New York, 2001. – 864 p.

106. Wang, Y. Measurement of the diffusion coefficients of $[Ru(NH_3)_6]^{3+}$ and $[Ru(NH_3)_6]^{2+}$ in aqueous solution using microelectrode double potential step chronoamperometry / Y. Wang, J. G. Limon-Petersen, R. G. Compton // J. of Electroanal. Chem. – 2011. – Vol. 652. – № 1–2. – P. 13–17.

107. Laschuk, N. O. Reducing the resistance for the use of electrochemical impedance spectroscopy analysis in materials chemistry / N. O. Laschuk, E. B. Easton, O. V. Zenkina // RSC advances. – 2021. – Vol. 11. – № 45. – P. 27925–27936.

108. Compton, R. Understanding voltammetry / R. Compton, C. Banks. – London: Imperial college press, 2011. – 429 p.

109. Шольц, Ф. Электроаналитические методы / Ф. Шольц. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2006. – 328 с.

110. Enache, T. A. Phenol and para-substituted phenols electrochemical oxidation pathways / T. A. Enache, A. M. Oliveira-Brett // J. of Electroanal. Chem. – 2011. – Vol. 655. – № 1. – P. 9–16.

111. Kunpatee, K. A new disposable electrochemical sensor for the individual and simultaneous determination of carbamate pesticides using a nanocomposite modified screen-printed electrode / K. Kunpatee, K. Kaewdorn, J. Duangtong, S. Chaiyo, O. Chailapakul, K. Kalcher, M. Kerr, A. Samphao // Microchem. J. – 2022. – Vol. 177. – P. 107318.

112. Fernández, L. Electrochemical behavior of phenol in alkaline media at hydrotalcite-like clay/anionic surfactants/glassy carbon modified electrode / L. Fernández, C. Borrás, H. Carrero // Electrochimica acta. – 2006. – Vol. 52. – №. 3. – P. 872–884.

113. Колпакова, Н. А. Общие вопросы электрохимического анализа : учебное пособие / Н. А. Колпакова ; Томский политехнический университет. – 2-е изд., испр. и доп. – Томск : Изд-во Томского политехнического университета, 2022. – 174 с.

114. Введенский, А. В. Вольтамперометрия редокс-реакции с использованием обобщенной изотермы адсорбции окислителя или восстановителя / А. В. Введенский, Т. В. Карташова, Е. В. Бобринская // Электрохимия. – 2008. – Т. 44. – С. 1473–1481.

115. Galus, Z. Fundamentals of electrochemical analysis / Z. Galus – Ellis Horwood, Halsted Press, New York, 1976. – 520 p.

116. Tahernejad-Javazmi, F. Analysis of glutathione in the presence of acetaminophen and tyrosine via an amplified electrode with MgO/SWCNTs as a sensor in the hemolyzed erythrocyte / F. Tahernejad-Javazmi, M. Shabani-Nooshabadi, H. Karimi-Maleh // Talanta. – 2018. – Vol. 176. – P. 208–213.

117. Cheng, X. L. Co-CoO-Co_3O_4 Realizes ultra highly sensitive detection of 4-nitrochlorobenzene based on synergistic effect of adsorption and catalysis / X. L. Cheng, Q. Q. Xu, J. Ru, H. Li, X. Wang, Y. X. Zhang // Sensors and Actuators B: Chemical. – 2023. – Vol. 381. – P. 133426.

118. Терещенко, А. Г. Внутрилабораторный контроль качества результатов химического анализа: учебное пособие / А. Г. Терещенко, Н. П. Пикула. – Томск: STT, 2017. – 266 с.

119. Гармаш, А. В. Метрологические основы аналитической химии / А. В. Гармаш, Н. М. Сорокина. – М.: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2012. – 47 с.

120. Короткова, Е. И. Планирование и организация эксперимента: учебное пособие / Е. И. Короткова. – Томск: Изд-во ТПУ, 2003 – 92 с.

Приложение 1. Расчет метрологических характеристик для методики по определению карбофурана в овощах

Оценка показателя повторяемости методики анализа

Проводят следующие расчеты для определения показателя повторяемости. Для каждой серии рассчитывается среднее арифметическое результатов единичного анализа:

$$X_l = \frac{\sum X_{1,N}}{N},$$

где N – число параллельных определений.

Затем рассчитывается выборочная дисперсия для каждой строки (серии):

$$S_l^2 = \frac{\sum (X_{l,n} - X_l)^2}{N-1}$$

По критерию Кохрена проверяют, можно ли пренебречь разбросом между сериями. Для всех дисперсий выбирается наибольшее значение S_{max}^2, находят сумму всех дисперсий $\sum S_l^2$.

Находят расчетные значения критерия Кохрена:

$$G_{\text{расч}} = \frac{S_{max}^2}{\sum S_l^2}$$

Сравнивают расчетное значение с табличным значением критерия Кохрена для числа степеней свободы ν=N-1 и f=l (l - количество дисперсий, участвующих в расчетах) для P=0,95. Если $G_{\text{расч}} > G_{\text{табл}}$, то соответствующее значение S_{max}^2 исключают из дальнейших расчетов и процедуру повторяют до следующего по значению S_{max}^2 и т.д. до тех пор, пока $G_{\text{расч}}$ не станет меньше или равно $G_{\text{табл}}$. Неисключенные из расчетов S_l^2 считают однородными и по ним оценивают СКО, по которым можно установить одно значение показателя повторяемости для результатов, полученных по методике в конкретной лаборатории:

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum S_l^2}{L'}},$$

где L' - количество серий, которое осталось после проверки серий на однородность. Это значение СКО повторяемости $\sigma^*_r = S_r$ есть первая, полученная в лаборатории характеристика.

Оценка показателя внутрилабораторной прецизионности

Проводят расчет для оценивания второй характеристики, то есть для показателя внутрилабораторной прецизионности. Для этого рассчитывают общее среднее арифметическое значение по сериям:

$$X = \frac{\sum X_l}{L'}$$

Рассчитывают СКО в условиях промежуточной прецизионности:

$$S_{R\text{л}} = \sqrt{\frac{\sum(X_{l,n} - X_l)^2}{L' - 1}}$$

$\sigma^*_R = S_{R\text{л}}$ есть значение показателя промежуточной прецизионности результатов, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности.

Оценка систематической погрешности

Проводят оценивание систематической погрешности лаборатории при реализации методики.

Для этого рассчитывают Θ – разность общего среднего значения в лаборатории и аттестованного значения образца (аттестованный раствор).

$$\Theta = X - C$$

Далее проверяют его значимость по критерию Стьюдента. Для этого рассчитывают t расч. и сравнивают t табл.

$$t_{\text{расч}} = \frac{|\Theta|}{\sqrt{\frac{S^2_{R\text{л}}}{L'} + \frac{\Lambda_0^2}{3}}},$$

$\frac{S^2_{R\text{л}}}{L'}$ - дисперсия общего среднего результата;

Λ_0 - погрешность аттестованного значения раствора.

Полученное значение $t_{\text{расч}}$ сравнивают с $t_{\text{табл}}$ при числе степеней свободы f=L'-1 для доверительной вероятности P=0,95.

Если $t_{\text{расч.}} < t_{\text{табл.}}$ значит систематическая погрешность Θ не значима на фоне случайного разброса, и в этом случае ее принимают равной нулю и оценку систематической погрешности проводят по формуле:

$$\Delta^*_{\text{в,с}} = \Delta^*_{\text{н,с}} = |\Delta^*_{\text{с}}| = 1{,}96 \cdot \sqrt{\frac{S^2_{R\text{л}}}{L'} + \frac{\Lambda_0^2}{3}} = 1{,}96 \cdot \sigma^*_{\text{с}},$$

шде $\sigma^*_{\text{с}}$ - среднеквадратичное отклонение не исключенной систематической погрешности лаборатории.

Если $t_{\text{расч.}} > t_{\text{табл.}}$, то оценка систематической погрешности значима на фоне случайного разброса и ее надо учитывать при дальнейших расчетах:

$$\Delta^*_{\text{с(в,н)}} = \Theta \pm 1{,}96 \cdot \sqrt{\frac{S^2_{R\text{л}}}{L'} + \frac{\Lambda_0^2}{3}} = \Theta \pm 1{,}96 \cdot \sigma^*_{\text{с}}$$

Рассчитав верхнюю и нижнюю границы систематической погрешности, выбирают максимальное по модулю значение $|\Delta^*_{max}| = |\Delta^*_{c,\text{н}}, \Delta^*_{c,\text{в}}| = \Delta^*_{\text{с}}$ и тогда можно записать:

$$\pm\Delta_{\text{с}}^{*} = \Theta + 1{,}96 \cdot \sigma_{\text{с}}^{*}$$

Оценка характеристики погрешности

Вычисляют последнюю величину, которая характеризует погрешность. Рассчитывают границы, в которых погрешность любого из совокупности результатов измерений, полученных при реализации методики, находится с принятой P=0,95. Дисперсия погрешности формируется за счет дисперсий случайной и систематической погрешности.

Характеристику погрешности рассчитывают по формуле

$$\Delta_{\text{в}}^{*} = \Delta_{\text{н}}^{*} = |\Delta^{*}| = \Theta + 1{,}96 \cdot \sqrt{(\sigma_{Rл}^{*})^2 + (\sigma_{\text{с}}^{*})^2}$$

Расчет метрологических показателей для концентрации КБФ в электрохимической ячейке проводился для двух диапазонов от 0,02 до 2 мг/кг и от 2 до 19 мг/кг. Далее будет представлен расчет на примере 3 уровней концентрации линейной зависимости из каждого диапазона.

Содержание КБФ 0,02 мг/кг

Повторяемость:

С станд. р-ра карбофурана, мг/кг	Погрешность станд. р-ра Δm, мг/кг	Номер серии, L=15	Результаты параллельного определения		Результат измерения (среднее арифметическое)	Выборочная дисперсия результатов параллельных определений, S^2_L
			1	2		
0,02	0,000876	1	0,020	0,023	0,0215	0,0000045
		2	0,022	0,024	0,023	0,000002
		3	0,028	0,025	0,0265	0,0000045
		4	0,021	0,025	0,023	0,000008
		5	0,019	0,023	0,021	0,000008
		6	0,022	0,023	0,0225	5E-07
		7	0,02	0,021	0,0205	5E-07
		8	0,022	0,022	0,022	0
		9	0,023	0,024	0,0235	5E-07
		10	0,018	0,023	0,0205	0,0000125
		11	0,02	0,022	0,021	0,000002
		12	0,024	0,021	0,0225	0,0000045
		13	0,021	0,023	0,022	0,000002
		14	0,02	0,018	0,019	0,000002
		15	0,017	0,021	0,019	0,000008

S^2_{max}	$\sum S^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости $\sigma_r^* = S_r$
0,0000125	0,0000595	0,210	0,471	0,00199

Внутрилабораторная прецизионность:

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	0,0218

СКО в условиях промежуточной прецизионности $\sigma_{Rл}$*=$S_{Rл}$	0,00206

Оценивание систематической погрешности:

Θ*	Значимость по критерию Стьюдента	
	$t_{расч}$	$t_{табл}$
0,001833333	2,497	2,093

Т.к. $t_{расч}>t_{табл}$, значит систематическая погрешность Θ* значима на фоне случайного разброса и её нужно учитывать в дальнейших расчетах.

Рассчитываем верхнюю и нижнюю границы, в которых находится неисключенная систематическая погрешность и выбираем максимальное по модулю значение:

Δс(н)=Θ-1,96*σ_c	Δс(в)=Θ+1,96*σ_c	±Δ*$_c$
0,000394	0,00327	0,00327

Рассчитываем характеристику погрешности как сумму дисперсий случайной и систематической погрешностей:

$$\Delta в^* = \Delta н^* = \Delta^* = 0{,}0061$$

Обобщаем результаты, полученные в лаборатории для диапазона концентраций с содержанием КБФ 0,02 мг/кг по 30 результатам анализов:

σ_r*, мг/кг	σ_r*, %	$\sigma_{Rл}$*, мг/кг	$\sigma_{Rл}$*, %	±Δ*$_c$, мг/кг	±Δ*$_c$, %	±Δ*, мг/кг	±Δ*, %
0,00199	9	0,00206	10	0,00327	16	0,0061	30

Содержание КБФ 0,5 мг/кг

Повторяемость:

С станд. р-ра карбофурана, мг/кг	Погрешность станд. р-ра Δm, мг/кг	Номер серии, L=15	Результаты параллельного определения		Результат измерения (среднее арифметическое)	Выборочная дисперсия результатов параллельных определений, S^2_L
			1	2		
0,5	0,0219	1	0,519	0,536	0,5275	0,0001445
		2	0,502	0,559	0,5305	0,0016245
		3	0,541	0,619	0,58	0,003042
		4	0,519	0,532	0,5255	8,45E-05
		5	0,545	0,598	0,5715	0,0014045
		6	0,531	0,604	0,5675	0,0026645
		7	0,509	0,522	0,5155	8,45E-05
		8	0,523	0,549	0,536	0,000338
		9	0,575	0,432	0,5035	0,0102245
		10	0,537	0,511	0,524	0,000338
		11	0,521	0,438	0,4795	0,0034445

	12	0,591	0,534	0,5625	0,0016245
	13	0,541	0,514	0,5275	0,0003645
	14	0,529	0,608	0,5685	0,0031205
	15	0,512	0,582	0,547	0,00245

S^2_{max}	$\sum S^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости $\sigma_r^*=S_r$
0,0102245	0,0309	0,330	0,471	0,0454

Внутрилабораторная прецизионность:

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	0,5378
СКО в условиях промежуточной прецизионности $\sigma_{Rл}^*=S_{Rл}$	0,0470

Оценивание систематической погрешности:

Θ*	Значимость по критерию Стьюдента	
	$t_{расч}$	$t_{табл}$
0,037767	2,154	2,093

Т.к. $t_{расч}>t_{табл}$, значит систематическая погрешность Θ* значима на фоне случайного разброса и её нужно учитывать в дальнейших расчетах.

Рассчитываем верхнюю и нижнюю границы, в которых находится неисключенная систематическая погрешность и выбираем максимальное по модулю значение:

$\Delta c(н)=Θ-1,96*\sigma_c$	$\Delta c(в)=Θ+1,96*\sigma_c$	$\pm\Delta^*_c$
0,000341	0,0721	0,0721

Рассчитываем характеристику погрешности как сумму дисперсий случайной и систематической погрешностей:

$$\Delta в^* = \Delta н^* = \Delta^* = 0,0984$$

Обобщаем результаты, полученные в лаборатории для диапазона концентраций с содержанием КБФ 0,5 мг/кг по 30 результатам анализов:

σ_r^*, мг/кг	σ_r^*, %	$\sigma_{Rл}^*$, мг/кг	$\sigma_{Rл}^*$, %	$\pm\Delta^*_c$, мг/кг	$\pm\Delta^*_c$, %	$\pm\Delta^*$, мг/кг	$\pm\Delta^*$, %
0,0454	8	0,0470	9	0,0721	14	0,0984	20

Содержание КБФ 2 мг/кг

Повторяемость:

С станд. р-ра карбофурана, мг/кг	Погрешность станд. р-ра Δm, мг/кг	Номер серии, L=15	Результаты параллельного определения		Результат измерения (среднее арифметическое)	Выборочная дисперсия результатов параллельных определений, S^2_L
			1	2		
2	0,0876	1	2,112	2,061	2,0865	0,0013005

2	2,105	2	2,0525	0,0055125
3	1,995	2,101	2,048	0,005618
4	2,146	2,322	2,234	0,015488
5	2,094	1,917	2,0055	0,0156645
6	2,201	2,028	2,1145	0,0149645
7	2,199	2,367	2,283	0,014112
8	2,357	2,198	2,2775	0,0126405
9	1,634	2,113	1,8735	0,1147205
10	2,208	2,442	2,325	0,027378
11	2,165	2	2,0825	0,0136125
12	1,984	2,111	2,0475	0,0080645
13	2,239	2,100	2,1695	0,0096605
14	1,914	1,877	1,8955	0,0006845
15	2,174	1,997	2,0855	0,0156645

S^2_{max}	$\sum S^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости $\sigma_r^* = S_r$
0,1147205	0,2751	0,417	0,471	0,1354

Внутрилабораторная прецизионность:

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	2,1054
СКО в условиях промежуточной прецизионности $\sigma_{Rл}^* = S_{Rл}$	0,1402

Оценивание систематической погрешности:

Θ*	Значимость по критерию Стьюдента	
	$t_{расч}$	$t_{табл}$
0,105366667	1,694	2,093

Т.к. $t_{расч} < t_{табл}$, значит систематическая погрешность Θ* незначима на фоне случайного разброса и её можно принять равной нулю.

Границы, в которых с принятой вероятностью 0,95 находится неисключенная погрешность лаборатории:

$\pm\Delta^*_c$
0,1219

Рассчитываем характеристику погрешности как сумму дисперсий случайной и систематической погрешностей:

$$\Delta в^* = \Delta н^* = \Delta^* = 0{,}3006$$

Обобщаем результаты, полученные в лаборатории для диапазона концентраций с содержанием КБФ 2 мг/кг по 30 результатам анализов:

σ_r^*, мг/кг	σ_r^*, %	$\sigma_{Rл}^*$, мг/кг	$\sigma_{Rл}^*$, %	$\pm\Delta^*_c$, мг/кг	$\pm\Delta^*_c$, %	$\pm\Delta^*$, мг/кг	$\pm\Delta^*$, %
0,1354	6	0,1402	7	0,1219	6	0,3006	15

Содержание КБФ 9 мг/кг

Повторяемость:

С станд. р-ра карбофурана, мг/кг	Погрешность станд. р-ра Δm, мг/кг	Номер серии, L=15	Результаты параллельного определения		Результат измерения (среднее арифметическое)	Выборочная дисперсия результатов параллельных определений, S^2_L
			1	2		
9	0,3943	1	9,411	9,145	9,278	0,035378
		2	9,313	9,132	9,2225	0,0163805
		3	8,696	9,502	9,099	0,324818
		4	8,295	9,000	8,6475	0,2485125
		5	9,306	8,599	8,9525	0,2499245
		6	9,401	8,396	8,8985	0,5050125
		7	9,316	8,905	9,1105	0,0844605
		8	8,799	9,108	8,9535	0,0477405
		9	9,292	8,692	8,992	0,18
		10	9,623	9,111	9,367	0,131072
		11	9,114	8,914	9,014	0,02
		12	9,472	9,106	9,289	0,066978
		13	9	9,612	9,306	0,187272
		14	8,196	9,095	8,6455	0,4041005
		15	9,304	8,497	8,9005	0,3256245

S^2_{max}	$\sum S^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости $\sigma_r^*=S_r$
0,5050125	2,8272	0,179	0,471	0,4341

Внутрилабораторная прецизионность:

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	9,0451
СКО в условиях промежуточной прецизионности $\sigma_{Rл}^*=S_{Rл}$	0,4494

Оценивание систематической погрешности:

Θ*	Значимость по критерию Стьюдента	
	$t_{расч}$	$t_{табл}$
0,045066667	0,176	2,093

Т.к. $t_{расч}<t_{табл}$, значит систематическая погрешность Θ* незначима на фоне случайного разброса и её можно принять равной нулю.

Границы, в которых с принятой вероятностью 0,95 находится неисключенная погрешность лаборатории:

$\pm\Delta^*_c$
0,5008

Рассчитываем характеристику погрешности как сумму дисперсий случайной и систематической погрешностей:

$$\Delta в^* = \Delta н^* = \Delta^* = 1{,}0132$$

Обобщаем результаты, полученные в лаборатории для диапазона концентраций с содержанием КБФ 9 мг/кг по 30 результатам анализов:

σ_r*, мг/кг	σ_r*, %	$\sigma_{Rл}$*, мг/кг	$\sigma_{Rл}$*, %	$\pm\Delta^*_c$, мг/кг	$\pm\Delta^*_c$, %	$\pm\Delta^*$, мг/кг	$\pm\Delta^*$, %
0,4341	5	0,4494	5	0,5008	6	1,0132	11

Содержание КБФ 19 мг/кг

Повторяемость:

С станд. р-ра карбофурана, мг/кг	Погрешность станд. р-ра Δm, мг/кг	Номер серии, L=15	Результаты параллельного определения		Результат измерения (среднее арифметическое)	Выборочная дисперсия результатов параллельных определений, S^2_L
			1	2		
19	0,8324	1	19,436	19,084	19,26	0,061952
		2	18,689	19,215	18,952	0,138338
		3	19,043	19,475	19,259	0,093312
		4	19,374	18,921	19,1475	0,1026045
		5	19,592	19,097	19,3445	0,1225125
		6	18,786	19,238	19,012	0,102152
		7	19,381	18,963	19,172	0,087362
		8	18,543	18,887	18,715	0,059168
		9	18,769	19,463	19,116	0,240818
		10	18,576	19,295	18,9355	0,2584805
		11	19,332	18,174	18,753	0,670482
		12	19,633	19,389	19,511	0,029768
		13	18,991	19,115	19,053	0,007688
		14	19,317	18,958	19,1375	0,0644405
		15	19,474	18,873	19,1735	0,1806005

S^2_{max}	$\sum S^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости σ_r*=S_r
0,670482	2,2197	0,302	0,471	0,3847

Внутрилабораторная прецизионность:

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	19,1028
СКО в условиях промежуточной прецизионности $\sigma_{Rл}$*=$S_{Rл}$	0,3982

Оценивание систематической погрешности:

Θ*	Значимость по критерию Стьюдента	
	$t_{расч}$	$t_{табл}$

0,102766667	0,209	2,093

Т.к. $t_{расч} < t_{табл}$, значит систематическая погрешность Θ* незначима на фоне случайного разброса и её можно принять равной нулю.

Границы, в которых с принятой вероятностью 0,95 находится неисключенная погрешность лаборатории:

$\pm\Delta^*_c$
0,9632

Рассчитываем характеристику погрешности как сумму дисперсий случайной и систематической погрешностей:

$$\Delta в^* = \Delta н^* = \Delta^* = 1{,}2397$$

Обобщаем результаты, полученные в лаборатории для диапазона концентраций с содержанием КБФ 19 мг/кг по 30 результатам анализов:

σ_r*, мг/кг	σ_r*, %	$\sigma_{Rл}$*, мг/кг	$\sigma_{Rл}$*, %	$\pm\Delta^*_c$, мг/кг	$\pm\Delta^*_c$, %	$\pm\Delta^*$, мг/кг	$\pm\Delta^*$, %
0,3847	2	0,3982	2	0,9632	5	1,2397	7

Обобщенные полученные данные для двух диапазонов концентраций представлены в разделе 5.6.1.

Рассчитанные и представленные выше показатели методики определения КБФ в семенах горчицы и свекле сахарной являются установленными характеристиками погрешности для совокупности результатов анализа, которые были получены по разработанным методикам в отдельной лаборатории.