

## Определение тетрациклина в мёде методом проточно-инжекционной амперометрии на электроде, модифицированном частицами золота, палладия и восстановленным оксидом графена

**\*Л.Г. Шайдарова, А.А. Поздняк, А.В. Гедмина, И.А. Челнокова,  
М.А. Зиганшин, Г.К. Будников**

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) Федеральный университет»,  
Российская Федерация, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18

\*Адрес для переписки: Шайдарова Лариса Геннадиевна, E-mail: LarisaShaidarova@mail.ru

Поступила в редакцию 18 января 2024 г., после доработки – 14 февраля 2024 г.

Разработан способ иммобилизации бинарной системы золото-палладий (Au-Pd) на поверхности стеклоглеродного электрода (СУ), покрытого восстановленным оксидом графена (ГО<sub>вос</sub>). Использование ГО<sub>вос</sub> как матрицы для включения бинарной системы Au-Pd привело к многократному повышению ее каталитической активности при электроокислении тетрациклина (ТЦ), что связано с увеличением дисперсности осадка и образованием частиц металла нанометрового диапазона (средний диаметр частиц 50 нм). Выявлены оптимальные условия иммобилизации бинарной системы Au-Pd с целью регистрации максимального электрокаталитического эффекта. Продемонстрирована возможность амперометрического детектирования ТЦ на СУ, модифицированным композитом из Au-Pd и ГО<sub>вос</sub> (Au-Pd-ГО<sub>вос</sub>-СУ), в условиях проточно-инжекционного анализа (ПИА). Предложенный способ демонстрирует высокую чувствительность (нижняя граница определяемых содержаний 5 нМ), экспрессность и производительность (60 проб в час). Разработанный проточно-инжекционный амперометрический способ определения ТЦ апробирован при анализе образцов цветочного мёда из разных районов Поволжья.

**Ключевые слова:** модифицированные электроды, бинарная система золота и палладия, восстановленный оксид графена, электроокисление тетрациклина, проточно-инжекционное амперометрическое определение тетрациклина.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2024, vol. 28, no. 1, pp. 46-53

DOI: 10.15826/analitika.2024.28.1.005

## Determination of tetracycline in honey by flow-injection amperometry on an electrode modified with gold and palladium particles, and reduced graphene oxide

**\*L.G. Shaidarova, A.A. Pozdnyak, A.V. Gedmina, I.A. Chelnokova,  
M.A. Ziganshin, H.K. Budnikov**

Kazan (Volga region) Federal University (KFU)  
18 Kremlyovskaya Str., Kazan, 420008, Russian Federation

\*Corresponding author: Larisa G. Shaidarova, E-mail: LarisaShaidarova@mail.ru

Submitted on 18 January 2024, received in revised on 14 February 2024

A method of immobilizing Au-Pd binary system on a glassy carbon (GC) electrode surface covered by reduced graphene oxide (GO<sub>red</sub>) was developed. Using GO<sub>red</sub> as a matrix for inclusion of Au-Pd binary system resulted in significant increase of its catalytic activity in tetracycline (TC) electro-oxidation process due to increased dispersion of the deposit and formation of nano-sized metal particles (average diameter of particles was around 50 nm). Optimal conditions of immobilizing Au-Pd binary system for achieving maximum

electrocatalytic effect were determined. A possibility of amperometric detection of TC on GC modified with Au-Pd and GO<sub>red</sub> composite (Au-Pd-GO<sub>red</sub>-GC) by flow injection analysis (FIA) was demonstrated. The method demonstrated high sensitivity (the lowest detection limit of 5 nM), rapidity and efficiency (about 60 samples per hour). The flow injection amperometric method for TC determination hereby developed was tested in analyzing flower honey samples from different Volga Region districts.

**Keywords:** modified electrodes, gold-palladium binary system, reduced graphene oxide, tetracycline electro-oxidation, flow injection amperometric determination of tetracycline.

## ВВЕДЕНИЕ

ТЦ принадлежит к семейству антибиотиков тетрациклинового ряда и является бактериостатическим средством широкого спектра действия. ТЦ нашел применение в медицине и ветеринарии. Интенсивное применение ТЦ и его производных для профилактики и лечения инфекционных заболеваний обусловлено их активностью в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий.

Следовые количества антибиотиков, поступающих по трофической цепи в организм человека, могут привести к антибиотикорезистентности и многим другим негативным последствиям, таким как анафилактические реакции, расстройства желудка и повреждение печени. Попадание антибиотиков в водные объекты приводят к нарушению баланса микробной среды. Поэтому анализ остаточных количеств антибиотиков в воде и продуктах питания имеет важное значение [1, 2].

Мёд – это один из наиболее потребляемых в мире среди натуральных и полезных продуктов питания, не содержащих добавок и консервантов [3]. Использование ТЦ и его производных на пасаках обусловлено их действием против бактериальных заболеваний пчел, таких как американский и европейский гнилец, которые вызывают массовую гибель пчелиных семей. Однако, применение антибиотиков в период опыления приводит к их накоплению в продуктах пчеловодства, таких как прополис, пыльца и маточное молочко [4]. Следовательно, эти антибиотики могут присутствовать в мёде как загрязнители.

Основным способом определения ТЦ в пищевых продуктах и продовольственном сырье является высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС) по ГОСТ 31694-2012 [5]. Диапазон определяемых содержаний ТЦ составляет 1.0-1000 мкг/кг [6]. Для определения антибиотиков тетрациклинового ряда используют и другие методы анализа такие, как хемилюминесцентный метод [7], масс-спектрометрию [8], капиллярный электрофорез [9], флуориметрию [10], а также иммуноферментные [11] и электрохимические методы [12].

Среди преимуществ электрохимических методов, в том числе вольтамперометрии с химически модифицированными электродами (ХМЭ), выделяют невысокую стоимость, простоту выполнения эксперимента, экспрессность, высокую чувствительность и селективность анализа [13]. Для определения ТЦ в

пищевых и водных объектах используют электроды, модифицированные композитом из наночастиц золота и многослойных углеродных нанотрубок [14] или частиц тантала и восстановленного оксида графена [15].

Статья посвящена разработке модифицированного электрода на основе композита из бинарной системы Au-Pd и ГО<sub>вос</sub> для определения ТЦ в модельном растворе и образцах мёда методами вольтамперометрии в стационарных условиях и амперометрии в проточных условиях.

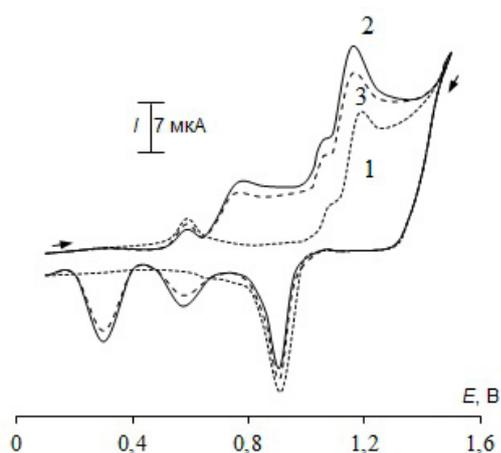
## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для регистрации циклических вольтамперограмм использовали электрохимическую ячейку, включающую электрод из СУ с видимой поверхностью 0.1 см<sup>2</sup>, а также электрод из СУ, модифицированный композитом Au-Pd-ГО<sub>вос</sub>, хлоридсеребряный электрод и платиновую проволоку, и подключенную к вольтамперометрическому анализатору «Экотест-ВА» (ООО «Эконикс-Эксперт»).

Иммобилизацию оксида графена на поверхности СУ проводили в несколько стадий, включающих капельное нанесение суспензии оксида графена (Sigma-Aldrich) с хитозаном (Sigma-Aldrich) в 0.1 M HCl (стандарт-титр, ЗАО «Уралхиминвест») на поверхность электрода, последующее испарение растворителя с помощью ИК-лампы и электрохимическое восстановление оксида графена. Ранее [16] были определены условия получения электрода ГО<sub>вос</sub>-СУ: нанесение 3 мкл суспензии ГО на поверхность СУ с последующим восстановлением ГО до ГО<sub>вос</sub> при потенциодинамическом электролизе в области потенциалов от +0.60 В до -1.50 В в течение 15 циклов. Эти условия использовали для нанесения ГО<sub>вос</sub> на СУ при изготовлении электрода Au-Pd-ГО<sub>вос</sub>-СУ.

Осаждение бинарной системы Au-Pd проводили из 0.01 M раствора H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (стандарт-титр, ЗАО «Уралхиминвест»), содержащего 5 mM PdCl<sub>2</sub> (Sigma-Aldrich) и 5 mM HAuCl<sub>4</sub> (Sigma-Aldrich) в 0.01 M серной кислоты (стандарт-титр, ЗАО «Уралхиминвест») методом потенциостатического электролиза при условиях, установленных в этой статье для определения ТЦ. Перед каждой модификацией поверхность СУ шлифовали на фильтровальной бумаге и кальке и промывали бидистиллированной водой.

Морфологию поверхности ХМЭ исследовали методом атомно-силовой микроскопии (АСМ). В качестве подложки для иммобилизации бинарной системы Au-Pd и композита Au-Pd-ГО<sub>вос</sub> использовали высокоориентированный пирографит (ВОПГ).



**Рис. 1.** Циклические вольтамперограммы, регистрируемые на электроде Au-CU (1), на Au-Pd-CU (2) и на Au-Pd-GO<sub>вос</sub>-CU (3) в растворе 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

**Fig. 1.** Cyclic voltammograms recorded on Au-GC (1), on Au-Pd-GC (2) and on Au-Pd-GO<sub>red</sub>-GC (3) electrodes in 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution

Регистрацию АСМ изображений осуществляли, используя атомно-силовой микроскоп Titanium (НТ-МДТ, Россия). Измерения проводили на воздухе в полуконтактном режиме с разрешением 512 точек на линию. Использовали стандартный кремниевый кантилевер NSG-11 (НТ-МДТ, Россия) с резонансной частотой 230 кГц. Для управления микроскопом применяли программное обеспечение Nova (NT-MDT, Россия). Обработку и анализ изображения осуществляли с помощью программы Image Analysis (NT-MDT, Россия).

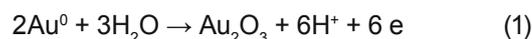
Установка для проведения ПИА состояла из перистальтического насоса «ZALIMP» (Польша), инжектора, смесителя, электрохимической ячейки и регистрирующего устройства – вольтамперометрического анализатора «Экотест-ВА» [17]. Аналитический сигнал в условиях ПИА регистрировали в потенциостатическом режиме. Раствор H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> с концентрацией 0.01 M использовали как поток-носитель в ПИА. Диапазон значений расходов жидкости составлял 7.2 - 34 мл/мин.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

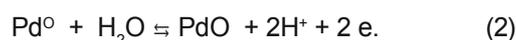
Известно [18], что большее значение электрокаталитической активности бинарных металлических систем связано либо с бифункциональным эффектом, который проявляется из-за синергизма каталитических свойств металлов, либо с электронным эффектом, благодаря которому происходят изменения электронных свойств каждого элемента, входящих в состав биметалла.

Было сопоставлено электрохимическое поведение ТЦ на электродах Au-CU и Au-Pd-CU. Пара пиков, наблюдаемая на электродах Au-CU (рис. 1, кривая 1) и Au-Pd-CU (рис. 1, кривая 2) в области потенциалов ~ + 1.0 В на фоне 0.1 M раствора H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, связана с

окислением гидроксид-ионов, адсорбированных на поверхности модифицированного электрода, и с последующим окислением металла до оксоформ золота(III) (схема 1):

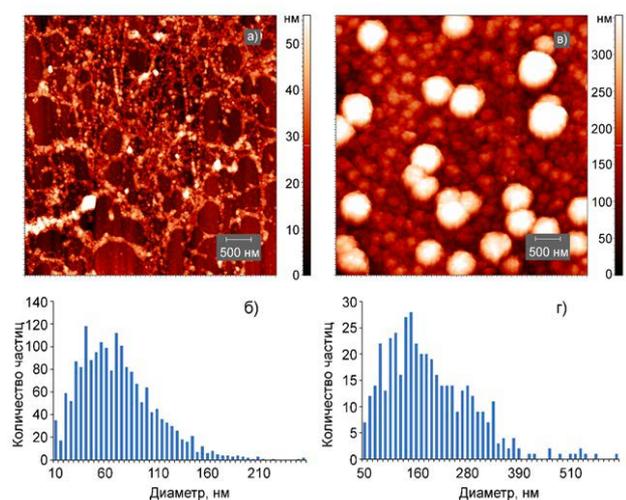


Небольшой максимум тока, наблюдаемый при потенциале пика ( $E_p$ ) + 0.58 В, вероятно, связан с окислением наноразмерных частиц Au [19]. Волна при  $E > 0.60$  В на анодной ветви ЦВА (рис. 1, кривая 2, 3) соответствует образованию оксида палладия (II). Узкий пик на катодной ветви, регистрируемый при  $E_p$  0.34 В, связан с восстановлением PdO (схема 2) [20]:



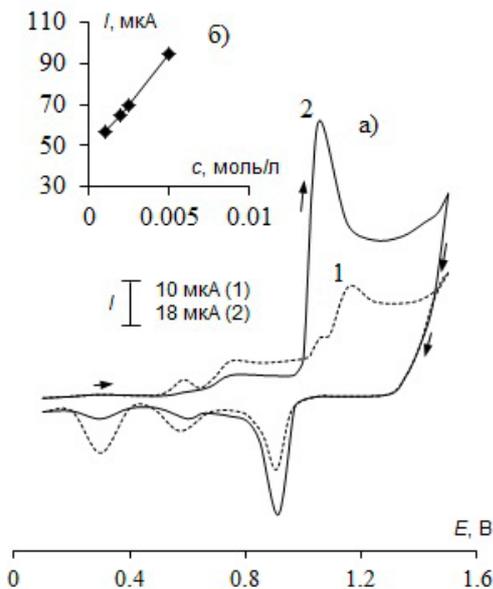
Кроме того, присутствие катодного пика при  $E + 0.60$  В, вероятно, обусловлено восстановлением интерметаллической формы Au-Pd.

Получены и сопоставлены АСМ-изображения и гистограммы распределения частиц по диаметрам на поверхности ВОПГ с композитом Au-Pd-GO<sub>вос</sub> (рис. 2 а, б) и ВОПГ с бинарной системой Au-Pd (рис. 2 в, г). Как видно из рис. 2 а, на поверхности ВОПГ с композитом Au-Pd-GO<sub>вос</sub> присутствует сетчатая структура оксида графена, на которой осажены частицы бинарной системы. Диаметр частиц изменяется от 10 до 180 нм (рис. 2 б). Средний диаметр частиц составляет 50 нм. Разброс по высоте на АСМ изображении составляет 50 нм, средняя квадратичная шероховатость – 10 нм. На поверхности ВОПГ с бинарной системой Au-Pd присутствуют сферические частицы двух типов: мелкие и круп-



**Рис. 2.** АСМ изображения поверхности электрода Au-Pd-GO<sub>вос</sub>-ВОПГ (а) и Au-Pd-ВОПГ(в), гистограммы распределения частиц по диаметрам на поверхности электрода Au-Pd-GO<sub>вос</sub>-ВОПГ (б) и Au-Pd-ВОПГ (г)

**Fig. 2.** AFM images of Au-Pd-GO<sub>red</sub>-HOPG (a) and Au-Pd-HOPG (b) electrode surfaces, histograms of particle diameter distribution on the surface of Au-Pd-GO<sub>red</sub>-HOPG (б) and Au-Pd-HOPG (г) electrodes



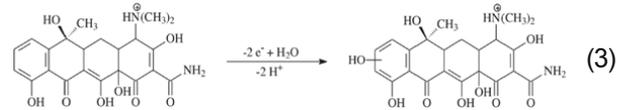
**Рис. 3.** Циклические вольтамперограммы (а), полученные на электроде Au-Pd-GO<sub>вос</sub>-Cu в отсутствие (кривая 1) и в присутствии (кривая 2) тетрациклина ( $5 \cdot 10^{-3}$  M) на фоне 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, зависимость тока пика от концентрации тетрациклина (б)

**Fig. 3.** Cyclic voltammograms (a) recorded on Au-Pd-GO<sub>red</sub>-CG electrode in the absence (line 1) and in the presence (line 2) of tetracycline ( $5 \cdot 10^{-3}$  M) against a background of 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; dependence of the peak current on tetracycline concentration (b)

ные (рис. 2 в). Диаметр крупных частиц составляет около 510 нм, большая часть поверхности образца покрыта более мелкими частицам с диаметром от 50 до 390 нм (рис. 2 г). Средний диаметр составляет 150 нм, разброс по высоте – 300 нм, средняя квадратичная шероховатость – 85 нм. Эти параметры значительно превышают размер частиц и степень шероховатости, полученные на ВОПГ с композитом Au-Pd-GO<sub>вос</sub>. Таким образом, методом АСМ показано влияние матрицы восстановленного оксида графена на морфологию поверхности ХМЭ: на поверхности GO<sub>вос</sub> образуются нанодисперсные осадки бинарной системы Au-Pd с примерно одинаковыми по диаметру и высоте наночастицами.

ТЦ в кислых средах на Cu окисляется необратимо и с перенапряжением (при E +1.25 В) [21], которое уменьшается при его окислении на электроде Au-Pd-GO<sub>вос</sub>-Cu. Наблюдаемое многократное увеличение тока в присутствии 5 мМ ТЦ в области потенциалов окисления модификатора при E 1.00 В на электроде Au-Pd-GO<sub>вос</sub>-Cu на фоне 0.1 M раствора H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, (рис. 3 а, кривая 2) и линейную зависимость регистрируемого тока от концентрации исследуемого субстрата можно объяснить каталитическим окислением ТЦ (рис. 3 б), где каталитически активными частицами, вероятно, являются оксоформы золота (III). Схему электроокисления ТЦ на электроде Au-Pd-GO<sub>вос</sub>-Cu

можно представить следующим образом (уравнение 3) [22]:



Как видно из вольтамперных характеристик, приведенных в табл. 1, при переходе от осадка индивидуального металла Au к бинарной системе Au-Pd происходит увеличение токов окисления субстрата, а при осаждении бинарной системы на матрицу восстановленного оксида графена, кроме роста тока наблюдается многократное увеличение каталитической активности модификатора, выраженной в отношении величин каталитического тока ( $I_{кат}$ ) к току окисления модификатора ( $I_{мод}$ ) –  $I_{кат}/I_{мод}$ , что можно объяснить наноразмерным эффектом. При иммобилизации бинарной системы Au-Pd на матрицу GO<sub>вос</sub> формируются наноразмерные сферические частицы (средний диаметр 50 нм), обладающие большой каталитической активностью.

Показано, что условия нанесения бинарной системы Au-Pd на GO<sub>вос</sub>-Cu оказывают влияние на значение каталитического тока при электроокислении ТЦ. Электроосаждение металлического модификатора проводили разными способами: путем потенциодинамического или потенциостатического электролиза. Потенциодинамическое осаждение бинарной системы Au-Pd проводили при циклическом изменении потенциала от -0.30 В до +0.20 В со скоростью 20 мВ/с, при условиях осаждения индивидуальных частиц палладия, предложенных в [23]. Потенциостатическое осаждение этого модификатора проводили при потенциале электролиза равном -0.30 В (рис. 4 а) и времени электролиза равном 30 с (рис. 4 б). Как видно из рис. 4, именно в этих условиях получены наибольшие значения  $I_{кат}/I_{мод}$ . Установлено 10-кратное увеличение каталитического эффекта при потенциостатическом осаждении бинарной системы по сравнению с потенциодинамическим, как и при выборе условий осаждения золота, что подтверждает предположение о проявлении каталитических свойств этого металла при электроокислении ТЦ.

Коэффициент скорости электродного процесса (критерий Семерано), находили по логарифмической

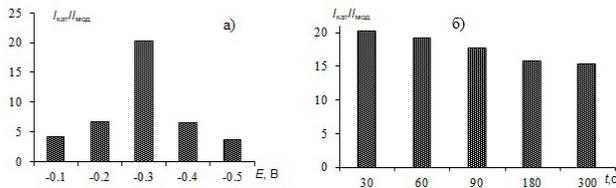
**Таблица 1**

Вольтамперные характеристики окисления тетрациклина на модифицированных электродах

**Table 1**

Voltammetric characteristics of tetracycline oxidation on modified electrodes

Электрод	$E_{мод}$ , В	$E_{кат}$ , В	$I_{кат}$ , мкА	$I_{кат}/I_{мод}$
Au-Cu	1.00	1.00	17.2	3.9
Au-Pd-Cu	1.00	1.00	56.4	5.6
Au-Pd-GO <sub>вос</sub> -Cu	1.00	1.00	94.0	20.2



**Рис. 4.** Зависимость каталитического эффекта при окислении тетрациклина на электроде Au-Pd-GO<sub>red</sub>-GC от потенциала осаждения (а) и от времени осаждения (б) при контролируемом потенциале

**Fig. 4.** Dependence of the catalytic effect during oxidation of tetracycline on Au-Pd-GO<sub>red</sub>-GC electrode on the deposition potential (a) and on the deposition time (b) at a controlled potential

зависимости значения тока при  $E$  1.00 В от скорости изменения потенциала в диапазоне от 10 до 100 мВ/с. Полученное значение критерия Семерано равно 0.49 (рис. 5 а), а также линейная зависимость  $I$  от  $v^{1/2}$  (рис. 5 б) свидетельствуют о диффузионном вкладе в процесс окисления ТЦ [24].

Значение регистрируемого тока окисления ТЦ линейно зависит от его концентрации в широком диапазоне: от  $5 \times 10^{-8}$  М до  $5 \times 10^{-3}$  М (табл. 2). При этом относительное стандартное отклонение ( $S_r$ ) не превышает 5.0 % (табл. 3) в рассматриваемом диапазоне концентраций.

Электрод Au-Pd-GO<sub>red</sub>-GC использовали при амперометрическом определении ТЦ в условиях ПИА. Изучена зависимость аналитического сигнала от гидродинамических параметров проточной системы, а именно: от объема инжестируемой пробы ( $V$ ) (рис. 6 а) и скорости потока-носителя ( $u$ ) (рис. 6 б). Выбор накладываемого потенциала детектирования также

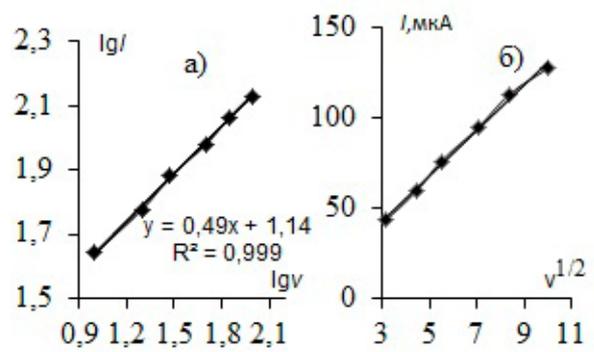
**Таблица 2**

Аналитические характеристики вольтамперометрического определения и амперометрического детектирования тетрациклина на электроде Au-Pd-GO<sub>red</sub>-GC в условиях ПИА,  $n = 6$ ,  $P = 0.95$ ,  $t_{\text{табл}} = 2.57$

**Table 2**

Analytical characteristics of voltammetric determination and amperometric detection of tetracycline on Au-Pd-GO<sub>red</sub>-GC electrode under FIA conditions,  $n = 6$ ,  $P = 0.95$ ,  $t_{\text{табл}} = 2.57$

Метод	Диапазон концентраций, М	Уравнение регрессии $\lg(I) = a + b \cdot \lg(c)$ , $I_n$ , мкА, с, моль/л		R
		$a \pm \Delta a$	$b \pm \Delta b$	
ЦВА	$5 \times 10^{-3}$ – $5 \times 10^{-8}$	$2.70 \pm 0.03$	$0.392 \pm 0.003$	0.998
ПИА	$5 \times 10^{-3}$ – $5 \cdot 10^{-9}$	$2.31 \pm 0.03$	$0.160 \pm 0.004$	0.993



**Рис. 5.** Зависимость тока пика окисления тетрациклина от скорости наложения потенциала в логарифмических координатах (а) и зависимость  $I$  от  $v^{1/2}$  (б)

**Fig. 5.** Dependence of the tetracycline oxidation peak current on the potential scan rate in logarithmic coordinates (a) and dependence of  $I$  on  $v^{1/2}$  (b)

оказывает влияние на значение ПИА-сигнала (рис. 6 в). На основе зависимостей, представленных на рис. 6, выбраны оптимальные условия регистрации ПИА-сигнала для определения ТЦ:  $V = 0.70$  мл,  $u = 15.5$  мл/мин и  $E = 1.10$  В. В табл. 2 приведены аналитические параметры амперометрического детектирования ТЦ в ПИА. Правильность разработанного амперометрического способа определения ТЦ на электроде Au-Pd-GO<sub>red</sub>-GC в условиях ПИА оценена методом введения-найденно в модельных растворах (табл. 3). Использование ПИА позволило повысить на порядок чувствительность детектирования ТЦ (нижняя граница определяемых содержаний ( $c_n$ )  $5 \cdot 10^{-9}$  М) и улучшить повторяемость его определения ( $S_r = 0.01$ - $0.03$ ) по сравнению со стационарными условиями определения методом ЦВА ( $c_n = 5 \cdot 10^{-8}$  М,  $S_r = 0.02$ - $0.05$ ). Улучшение аналитических и метро-

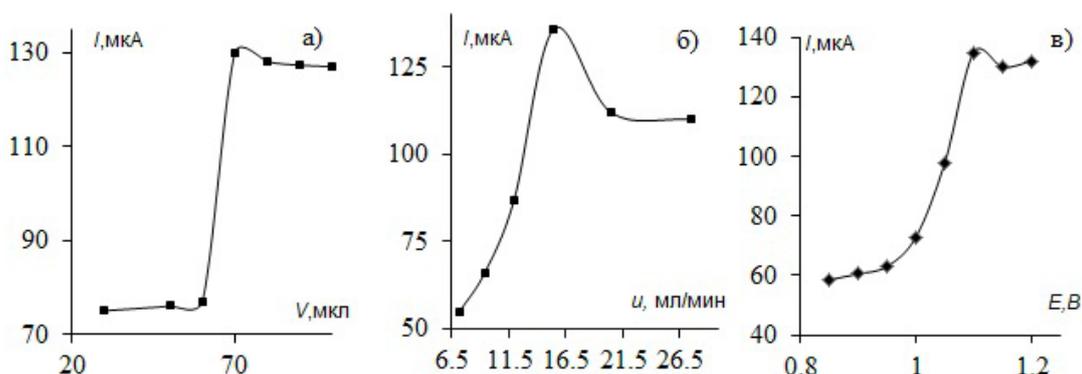
**Таблица 3**

Метрологические характеристики вольтамперометрического определения и амперометрического детектирования тетрациклина на электроде Au-Pd-GO<sub>red</sub>-GC в условиях ПИА ( $n = 6$ ,  $P = 0.95$ ,  $t_{\text{табл}} = 2.57$ )

**Table 3**

Metrological characteristics of voltammetric determination and amperometric detection of tetracycline on Au-Pd-GO<sub>red</sub>-GC electrode under FIA conditions ( $n = 6$ ,  $P = 0.95$ ,  $t_{\text{табл}} = 2.57$ )

Метод	Введено, мкМ	Найдено, ( $x \pm \Delta x$ ), мкМ	$S_r$
ЦВА	5.0	$4.9 \pm 0.2$	0.039
	10.0	$10.2 \pm 0.3$	0.028
	100	$95.0 \pm 2.0$	0.020
ПИА	5.0	$4.3 \pm 0.1$	0.022
	50.0	$47.3 \pm 1.1$	0.022
	100	$98.1 \pm 1.2$	0.012



**Рис. 6.** Зависимость ПИА-сигнала при амперометрическом определении тетрациклина на электроде Au-Pd-GO<sub>вос</sub>-СУ от объема инжектируемой пробы (а), скорости потока-носителя (б) и потенциала детектирования (в)

**Fig. 6.** Dependence of FIA signal during amperometric determination of tetracycline on Au-Pd-GO<sub>red</sub>-GC electrode on the volume of the injected sample (a), carrier flow rate (б) and detection potential (в)

логических характеристик результатов измерений в условиях ПИА связано с обновлением поверхности модифицированного электрода потоком фонового электролита и, как следствие, ограничением сорбции исследуемых соединений или продуктов электрохимических реакций.

Разработанный проточно-инжекционный амперометрический способ определения ТЦ апробирован при анализе мёда. В качестве объектов анализа выбрали образцы цветочного мёда среднего и нижнего Поволжья. Пробоподготовку образцов мёда проводили следующим образом: в стакан вместимостью 50 мл из термостойкого стекла отбирали 1 г мёда и 50 мл фосфатного буферного раствора с рН 6.86, полученную смесь интенсивно перемешивали при нагревании в течение 2 мин. Затем 1 мл растворенного мёда разбавляли 0.1 М раствором H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> до 10 мл. Из полученного раствора отбирали аликвоту объемом 0.70 мл и вводили в проточно-инжекционную систему с помощью шприцевого инжектора. Поток-носитель (0.01 М раствор H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) перемещал пробу со скоростью 15.5 мл/мин в направлении детектора, на котором измеряли значение тока при  $E = 1.10$  В. Концентрацию ТЦ в исследуемых образцах мёда

определяли по уравнению градуировочной зависимости тока от концентрации аналита, полученному при последовательном добавлении стандартного раствора ТЦ с разной концентрацией в диапазоне от  $1 \times 10^{-8}$  М по  $1 \times 10^{-6}$  М. Молярная концентрация ТЦ была пересчитана на мкг/кг и сопоставлена с допустимыми значениями санитарно-гигиенических норм мёда (табл. 4), в соответствии с СанПиН 2.3.2.1078-01 [25] уровень ТЦ в мёде ограничивают значением 10 мкг/кг. Рассчитанные значения ТЦ в образцах цветочного мёда среднего и нижнего Поволжья представлены в табл. 4. Содержание антибиотика в мёде, найденное разработанным способом, находится в рамках допустимых санитарно-гигиенических норм содержания ТЦ в мёде.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что иммобилизованная на поверхности СУ бинарная система Au-Pd проявляет каталитическую активность при электроокислении ТЦ. Использование восстановленного оксида графена в качестве матрицы для осаждения бинарной системы Au-Pd приводит к многократному увеличению каталитической активности металлического моди-

**Таблица 4**

Результаты определения тетрациклина в мёде методом проточно-инжекционной амперометрии на электроде Au-Pd-GO<sub>вос</sub>-СУ ( $n = 6$ ,  $P = 0.95$ ,  $t_{\text{табл}} = 2.57$ )

**Table 4**

Results of tetracycline determination in honey by flow-injection amperometry on Au-Pd-GO<sub>red</sub>-GC electrode ( $n = 6$ ,  $P = 0.95$ ,  $t_{\text{табл}} = 2.57$ )

Объект исследования	Найдено, С, М	Найдено, мкг/кг	ПДК, мкг/кг
Образец 1. Цветочный мёд (среднего Поволжья, п.г.т. Аксубаево)	$(3.30 \pm 0.13) \times 10^{-7}$	$7.33 \pm 0.29$	10
Образец 2. Цветочный мёд (среднего Поволжья, г. Нурлат)	$(7.76 \pm 0.27) \times 10^{-8}$	$1.72 \pm 0.06$	
Образец 3. Цветочный мёд (нижнего Поволжья, г. Астрахань)	$(1.27 \pm 0.02) \times 10^{-7}$	$2.83 \pm 0.05$	

фикатора. Предположено, что этот эффект связан с формированием высокодисперсного осадка с наноразмерными частицами бинарной системы Au-Pd на матрице восстановленного оксида графена.

Модифицированный электрод Au-Pd-ГО<sub>вос</sub>-СУ использовали для амперометрического детектирования ТЦ в ПИА. Среди преимуществ использования каталитического отклика электрода Au-Pd-ГО<sub>вос</sub>-СУ в ПИА, можно отметить следующие: улучшение повторяемости и увеличение чувствительности определения ТЦ на порядок (нижняя граница определяемых содержаний составляет  $5 \times 10^{-9}$  М) по сравнению с регистрацией аналитического сигнала в стационарных условиях ЦВА (нижняя граница определяемых содержаний составляет  $5 \times 10^{-8}$  М). Разработанный проточно-инжекционный амперометрический способ определения ТЦ на электроде Au-Pd-ГО<sub>вос</sub>-СУ был апробирован при анализе цветочного мёда среднего и нижнего Поволжья.

## ЛИТЕРАТУРА

- Lanjwani M. F., Altunay N., Tuzen M. Preparation of fatty acid-based ternary deep eutectic solvents: Application for determination of tetracycline residue in water, honey and milk samples by using vortex-assisted microextraction // *Food Chem.* 2023. V. 400. Article 134085.
- A direct competitive assay-based aptasensor for sensitive determination of tetracycline residue in honey / Wang S. [et al.] // *Talanta.* 2015. V. 131. P. 562-569.
- Determination of tetracycline residues in Greek honey / Saridakis-Papakonstadinou M. [et al.] // *Trakia J. Sciences.* 2006. V. 4, № 1. P. 33-36.
- "In-situ" antimony film electrode for the determination of tetracyclines in Argentinean honey samples / Krepper G. [et al.] // *Sens. Actuators, B: Chemical.* 2017. V. 241. P. 560-566.
- ГОСТ 31694-2012 Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания антибиотиков тетрациклиновой группы с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором. М., 2012. 20 с.
- Suarez G. Nathans D. Inhibition of aminoacyl tRNA binding to ribosomes by tetracycline // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1965. V. 18. P. 743-750.
- Zheng X., Mei Y., Zhang Z. Flow-injection chemiluminescence determination of tetracyclines with in situ electro-generated bromine as the oxidant // *Anal. Chim. Acta.* 2001. V. 440, № 2. P. 143-149.
- A simple spectrophotometric method for the determination of tetracycline and doxycycline in pharmaceutical formulations using chloramine-T / José L. Rufino [et al.] // *Eclética Química.* 2010. V. 35. P. 139-146.
- Miranda J. M., Rodríguez J. A., Galan-Vidal C. A. Simultaneous determination of tetracyclines in poultry muscle by capillary zone electrophoresis // *J. Chromatogr. A.* 2009. V. 1216, № 15. P. 3366-3371.
- Den Van Bogert C., Kroonx A. M. Fluorometric determination of tetracyclines in small blood and tissue samples // *J. Pharm. Sci.* 1981. T. 70. № 2. P.186-189.
- A receptor-based chemiluminescence enzyme linked immunosorbent assay for determination of tetracyclines in milk / Wang G. [et al.] // *Anal. Biochem.* 2019. V. 564. P. 40-46.

- Ni Y., Li S., Kokot S. Simultaneous voltammetric analysis of tetracycline antibiotics in foods // *Food Chem.* 2011. V. 124, № 3. P. 1157-1163.
- Reduced graphene oxide/ZnO nanocomposite modified electrode for the detection of tetracycline / Durović A. [et al.] // *J. Mater. Sci.* 2022. V. 57, № 9. P. 5533-5551.
- Highly sensitive determination of tetracycline in chicken meat and eggs using AuNP/MWCNT-modified glassy carbon electrodes / Palisoc S. [et al.] // *Heliyon.* 2019. V. 5, № 7. Article e02147.
- Electrochemical sensing fabricated with Ta2O5 nanoparticle-electrochemically reduced graphene oxide nanocomposite for the detection of oxytetracycline / Magesa F. [et al.] // *Biomolecules.* 2020. V. 10, № 1. P. 110.
- Электрохимическое определение стрептомицина на электроде, модифицированном композитом из оксида графена и бинарной системы золото-никель / Шайдарова Л.Г. [и др.] // *Журн. прикл. химии.* 2023. Т. 96, № 1. С. 34-42.
- Амперометрическое детектирование кофеина на электроде, модифицированном композитом на основе смешановалентных оксидов иридия и рутения, в условиях порционно-инжекционного анализа / Шайдарова Л.Г. [и др.] // *Хим.-фарм. журн.* 2015. Т. 49, № 10. С. 49-52.
- Koper M. T. M. Electrocatalysis on bimetallic and alloy surfaces // *Surf. Sci.* 2004. V. 548, № 1-3. P.1-3.
- Burke L. D. Scope for new applications for gold arising from the electrocatalytic behaviour of its metastable surface states // *Gold Bulletin.* 2004. V. 37, № 1-2. P. 125-135.
- Casella I. G., Zamboni C. G., Prete F. Liquid chromatography with electrocatalytic detection of oxalic acid by a palladium-based glassy carbon electrode // *J. Chromatogr. A.* 1999. V. 833, № 1. P. 75-82.
- Использование электрода, модифицированного поливинилпирролидоновой пленкой с включенным осадком золота, для вольтамперометрического определения тетрациклина в молоке / Шайдарова Л.Г. [и др.] // *Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки.* 2019. Т. 161, № 1. С. 20-30.
- Construction of an electrochemical sensing platform based on platinum nanoparticles supported on carbon for tetracycline determination / Kushikawa R. T. [et al.] // *Sens. Actuators, B: Chemical.* 2016. V. 228. P. 207-213.
- Шайдарова Л.Г., Гедмина А.В., Будников Г.К. Определение аскорбиновой кислоты по электрокаталитическому отклику электрода, модифицированного поливинилпирролидоновой пленкой с электроосажденным палладием // *Журн. прикл. химии.* 2003. Т. 76, № 5. С. 783-790.
- Будников Г.К. Принципы и применение вольтамперной осциллографической полярографии. Казань: Изд-во КГУ, 1975. 197 с.
- СанПиН №2.3.2.1078-01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов: введ. в действие 01.09.2002. М., 2002. 19 с.

## REFERENCES

- Lanjwani M. F., Altunay N., Tuzen M. Preparation of fatty acid-based ternary deep eutectic solvents: Application for determination of tetracycline residue in water, honey and milk samples by using vortex-assisted microextraction. *Food Chem.*, 2023, vol. 400, article 134085, doi: 10.1016/j.foodchem.2022.134085
- Wang S., Liu J., Yong W., Chen Q., Zhang L., Dong Y., Tan T. A direct competitive assay-based aptasensor for sen-

- sitive determination of tetracycline residue in honey. *Talanta*, 2015, vol.131, pp. 562-569, doi: 10.1016/j.talanta.2014.08.028
3. Saridaki-Papakonstadinou M., Andredakis S., Burriel A., Tsachev I. Determination of tetracycline residues in Greek honey. *Trakia J. Sciences*, 2006. vol. 4, no. 1, pp. 33-36.
  4. Krepper G., Pierini G. D., Pistonesi M. F., Di Nezio M. S. "In-situ" antimony film electrode for the determination of tetracyclines in Argentinean honey samples. *Sens. Actuators, B: Chemical*, 2017, vol. 241, pp. 560-566, doi: 10.1016/j.snb.2016.10.125
  5. GOST 31694-2012. *Produkty pishhevye, prodovol'stvennoe syr'e. Metod opredelenija ostatochnogo sodержaniya antibiotikov tetraciklinovoj gruppy s pomoshh'ju vysokojeffektivnoj zhidkostnoj hromatografii s mass-spektrometricheskim detektorom* [State Standard 31694-2012 Food products, food raw materials. Method for determining the residual content of tetracycline antibiotics using high-performance liquid chromatography with a mass spectrometric detector]. Moscow, Standartinform Publ., 2012. 20 p. (in Russian).
  6. Suarez G, Nathans D. Inhibition of aminoacyl tRNA binding to ribosomes by tetracycline. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1965, vol. 18, pp. 743-750, doi: 10.1016/0006-291X(65)90848-X
  7. Zheng X., Mei Y., Zhang Z. Flow-injection chemiluminescence determination of tetracyclines with in situ electrogenerated bromine as the oxidant. *Anal. Chim. Acta*, 2001, vol. 440, no. 2, pp. 143-149, doi: 10.1016/S0003-2670(01)01050-9
  8. José L. Rufino, Flávio C. B. Fernandes, Mayara S. Ruy. Helena R. Pezza, Leonardo Pezza L. A simple spectrophotometric method for the determination of tetracycline and doxycycline in pharmaceutical formulations using chloramine-T. *Eclética Química*, 2010, vol. 35, pp. 139-146, doi: 10.1590/S0100-46702010000400018
  9. Miranda J. M., Rodríguez J. A., Galan-Vidal C. A. Simultaneous determination of tetracyclines in poultry muscle by capillary zone electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 2009, vol. 1216, no. 15, pp. 3366-3371, doi: 10.1016/j.chroma.2009.01.105
  10. Den Van Bogert C., Kroonx A. M. Fluorometric determination of tetracyclines in small blood and tissue samples. *J. Pharm. Sci.*, 1981, vol. 70, no. 2, pp.186-189, doi: 10.1002/jps.2600700218
  11. Wang G., Zhang H. C., Liu J., Wang J. P. A receptor-based chemiluminescence enzyme linked immunosorbent assay for determination of tetracyclines in milk. *Anal. Biochem.*, 2019, vol. 564, pp. 40-46, doi: 10.1016/j.ab.2018.10.017
  12. Ni Y., Li S., Kokot S. Simultaneous voltammetric analysis of tetracycline antibiotics in foods. *Food Chem.*, 2011, vol. 124, no. 3, pp. 1157-1163, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.07.028
  13. Durović A., Stojanović O., Bytešniková Z., Kravić S., Švec P., Richtera L. Reduced graphene oxide/ZnO nanocomposite modified electrode for the detection of tetracycline. *J. Mater. Sci.*, 2022, vol. 57, no. 9, pp. 5533-5551, doi: 10.1007/s10853-022-06926-1
  14. Palisoc S., De Leon P. G., Alzona A., Racines L., Natividad M. Highly sensitive determination of tetracycline in chicken meat and eggs using AuNP/MWCNT-modified glassy carbon electrodes. *Heliyon*, 2019, vol. 5, no. 7, pp. e02147, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02147
  15. Magesa F., Wu Y., Dong S., Tian Y., Li G., Vianney J. M., Buza J., Liu J., He Q. Electrochemical sensing fabricated with Ta2O5 nanoparticle-electrochemically reduced graphene oxide nanocomposite for the detection of oxytetracycline. *Biomolecules*, 2020, vol. 10, no. 1, pp. 110, doi: 10.3390/biom10010110
  16. Shaidarova L.G., Pozdnyak A.A., Gedmina A.V., Chelnokova I.A., Murdasova D.A., Budnikov G.K. [Electrochemical Determination of Streptomycin on an Electrode Modified with a Composite of Graphene Oxide and Gold-Nickel Binary System]. *Zhurn. prikl. khimii* [J. Appl. Chem.], 2023, vol. 96, no. 1, pp. 27-34. doi: 10.1134/S1070427223010056. (in Russian).
  17. Shaidarova L. G., Chelnokova I. A., Degteva M. A., Makhmutova G. F., Leksina Y. A., Gedmina A. V., Budnikov G. K. Amperometric detection under batch-injection analysis conditions of caffeine on an electrode modified by mixed-valence iridium and ruthenium oxides. *Khim.farm. zhurn* [Pharm. Chem. J.], 2016, vol. 49, no. 10, pp. 711-714, doi: 10.1007/s11094-016-1358-5. (in Russian).
  18. Koper M. T. M. Electrocatalysis on bimetallic and alloy surfaces. *Surf. Sci.*, 2004, vol. 548, no. 1-3, pp.1-3, doi: 10.1016/j.susc.2003.10.045
  19. Burke L. D. Scope for new applications for gold arising from the electrocatalytic behaviour of its metastable surface states. *Gold Bulletin*. 2004, vol. 37, no. 1-2, pp. 125-135, doi: 10.1007/BF03215520
  20. Casella I. G., Zamboni C. G., Prete F. Liquid chromatography with electrocatalytic detection of oxalic acid by a palladium-based glassy carbon electrode. *J. Chromatogr. A*, 1999, vol. 833, no. 1, pp. 75-82, doi: 10.1016/S0021-9673(98)00998-4
  21. Shajdarova L.G., Gedmina A.V., Sjutkina V.N., Chelnokova I.A., Budnikov H.K. [The use of an electrode modified by polyvinylpyrrolidone film with a gold deposit for voltammetric determination of tetracycline in milk]. *Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta. Seriya Estestvennye nauki* [Scientific notes of Kazan University. Series Natural Sciences], 2019, vol. 161, no. 1, pp. 20-30. doi: 10.26907/2542-064X.2019.1.20-30. (In Russian).
  22. Kushikawa R. T., Silva M. R., Angelo A. C., Teixeira M. F. Construction of an electrochemical sensing platform based on platinum nanoparticles supported on carbon for tetracycline determination. *Sens. Actuators, B: Chemical*, 2016, vol. 228, pp. 207-213, doi: 10.1016/j.snb.2016.01.009
  23. Shajdarova L.G., Gedmina A.V., Budnikov H.K. [Determination of ascorbic acid by the electrocatalytic response of an electrode modified with a polyvinylpyridine film with electrodeposited palladium]. *Zhurn. prikl. khimii* [J. Appl. Chem.], 2003, vol. 76, no. 5, pp. 783-790. (In Russian).
  24. Budnikov H.K. *Principy i primeneniye vol'tampernojo scillograficheskoy poljarografii*. [Principles and applications of current-voltage oscillographic polarography]. Kazan: KGU Publ., 1975. 197 p. (In Russian).
  25. SanPiN 2.3.2.1280-03 *Gigienicheskie trebovaniya bezopasnosti i pishhevoj cennosti pishhevyyh produktov* [SANPIN Hygienic requirements for the safety and nutritional value of food products]. Moscow, 01.09.2002, 19 p.