

УДК 543.552

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕВОФЛОКСАЦИНА В МЯСЕ И МОЛОКЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СЕНСОРА НА ОСНОВЕ ЭЛЕКТРОВОССТАНОВЛЕННОГО ОКСИДА ГРАФЕНА И ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННОГО ФУЛЛЕРЕНА

© 2024 г. И. А. Абрамов^{a,*}, С. И. Гайнанова^a, Л. Р. Загитова^a, В. Н. Майстренко^a

^aУфимский университет науки и технологий, кафедра аналитической химии
ул. Заки Валиди, 32, Уфа, 450076 Россия

*E-mail: para.abramov@mail.ru

Поступила в редакцию 13.10.2023 г.

После доработки 11.12.2023 г.

Принята к публикации 12.12.2023 г.

Антибактериальные препараты стали неотъемлемой частью пищевой промышленности и сельского хозяйства в современном мире. Присутствие даже следовых количеств антибиотиков в продуктах питания животного происхождения может приводить к развитию аллергических реакций и к прямым токсическим эффектам в организме человека. В связи с этим требуется создание чувствительных и селективных методик определения антибактериальных препаратов с целью предотвращения их чрезмерного потребления. В работе предложен стеклотитродный вольтамперометрический сенсор на основе послойно нанесенного электровосстановленного оксида графена и функционализированного S-N,N'-бис(1-фенилэтил)малонамидом фуллерена для определения левофлоксацина (Лев, S-(-)-офлоксацин) методом дифференциально-импульсной вольтамперометрии. Градуировочный график линейен в двух диапазонах 1.0×10^{-6} – 6.0×10^{-5} М и 6.0×10^{-5} – 5.0×10^{-4} М Лев с коэффициентами чувствительности 107 и 58.0 мкА/мМ соответственно. Предел обнаружения и нижняя граница определяемых содержаний составили 1.8×10^{-7} М и 6.04×10^{-7} М соответственно. Оценена селективность сенсора к Лев относительно некоторых антибиотиков фторхинолонового ряда: ципрофлоксацина, ломефлоксацина, энрофлоксацина. Сенсор использован для определения Лев в мясе и молоке методом дифференциально-импульсной вольтамперометрии.

Ключевые слова: вольтамперометрический сенсор, функционализированный фуллерен, электровосстановленный оксид графена, левофлоксацин, продукты питания животного происхождения.

DOI: 10.31857/S0044450224060057, EDN: tuhbfp

Антибиотики — одна из важнейших биоактивных и химиотерапевтических групп соединений. Они широко применяются в сельском хозяйстве, и несоблюдение норм применения антибактериальных препаратов может приводить к появлению новых резистентных штаммов бактерий и развитию аллергических реакций у людей [1, 2]. При несоблюдении дозировок применяемых препаратов и отсутствии контроля времени выведения лекарственного соединения перед забоем антибиотики могут накапливаться в мясе крупного рогатого скота и птиц. Некоторые препараты добавляют непосредственно в продукты питания, в частности в молоко и сливки. Таким образом, существует потребность в создании чувствительных и селективных

методик определения антибиотиков в продуктах питания животного происхождения как средств контроля за их надлежащим использованием.

Левофлоксацин (Лев) — антибактериальный препарат, который входит в группу фторхинолонов III поколения и представляет (S)-изомер офлоксацина. Он активно применяется в качестве лекарственного средства в сельском хозяйстве и ветеринарии [3], при этом максимально допустимый уровень фторхинолонов в продуктах питания животного происхождения составляет от 100 до 500 мкг/кг [4]. Разработано множество методик определения фторхинолонов, в частности Лев, в реальных образцах. В работах [5–7] рассматривается определение антибиотиков, в том числе фторхинолонов, методом высоко-

эффективной жидкостной хроматографии с различными способами детектирования [5], в том числе в сочетании с тандемной масс-спектрометрией [6, 7]. Несомненными достоинствами хроматографического метода определения являются возможность одновременного определения различных соединений с высокой точностью и низкие пределы обнаружения. К недостаткам можно отнести высокую стоимость оборудования, необходимость предварительного выделения аналита из анализируемого объекта, использование токсичных растворителей, таких как ацетонитрил и метанол. Широко применяется иммуноферментный метод определения. Так, предложенный в работе [8] экспресс-тест для определения ряда фторхинолонов в мясе и крови характеризуется высокими специфичностью и надежностью, а также достаточно простой пробоподготовкой и методикой проведения анализа, но тест-полоски сложны в изготовлении и имеют относительно высокую стоимость. Для определения широкого спектра антибиотиков хорошо зарекомендовали себя биосенсоры [9] с использованием в составе чувствительного слоя антител, ферментов, аптамеров и клеток. Тем не менее применение биологических материалов требует создания специфических условий для проведения эксперимента. Использование электрохимических методов анализа позволяет не только уменьшить время пробоподготовки при сохранении уровня значений аналитических характеристик, но и снизить стоимость и упростить процедуру проведения анализа [10, 11].

В настоящее время для определения Лев разработаны различные вольтамперометрические сенсоры. В работе [12] предложен иммуносенсор на основе многостенных углеродных нанотрубок, модифицированных поли(L-лизин) и мечеными мультиферментными комплексами наночастиц золота. Главными достоинствами сенсора являются низкий предел обнаружения 4.2×10^{-10} М и высокая селективность к аналиту, однако он сложен в изготовлении и требует соблюдения специфических условий анализа, таких как строгий температурный режим и стерильность места проведения анализа. Предложены сенсоры на основе стеклоуглеродного электрода (СУЭ) с использованием восстановленного оксида графена (эвОГ) как в качестве индивидуального селектора [13], так и в составе композитного материала с поли(*пара*-аминобензолсульфоновой кислотой) [14]. В роли углеродсодержащих подложек широко применяются и другие материалы: графен [15], графитированная сажа [16], многостенные углеродные нанотрубки [17]. Использование последних позволяет не только увеличить интенсивность аналитического сигнала, но и упростить иммобилизацию селекторов на поверхность электрода. Большой популярностью пользуются наноча-

стицы металлов, в особенности серебра и золота [16, 18]. В качестве селекторов, обеспечивающих селективное взаимодействие с Лев, применяются металлоорганические каркасные структуры [17] и полимерные пленки [13–17].

В работе [19] нами предложен СУЭ, модифицированный эвОГ для увеличения интенсивности аналитического сигнала и функционализированным фуллереном (С60) для селективного взаимодействия с Лев [20]. Уникальной особенностью фуллерена является легкая функционализация, благодаря которой возможно варьировать структуру селектора и количество сайтов связывания. В работе получены следующие метанопроизводные фуллерена: S/R-2-хлоро-N-(1-фенилэтил)ацетамид (С60АА) и S/R-N,N'-бис(1-фенилэтил)малонамид фуллерена (С60МА). Исследование показало, что наилучшим связыванием обладают селекторы с S-конфигурацией, в то время как количество оптических центров не влияет на распознавание Лев. Сенсор СУЭ/эвОГ/S-С60АА использовали для определения Лев в биологических жидкостях.

Настоящее исследование направлено на определение Лев в продуктах питания животного происхождения с использованием сенсора СУЭ/эвОГ/S-С60МА. Изучены электрохимическое поведение Лев в зависимости от состава чувствительного слоя сенсора, зависимость аналитического сигнала от скорости сканирования, построена градуировочная зависимость в диапазоне концентраций от 1.0×10^{-6} до 5.0×10^{-4} , представлены результаты определения Лев в мясе и молоке, полученные методом введено-найденно, изучена селективность сенсора к Лев относительно ципрофлоксацина, ломефлоксацина, энрофлоксацина в таблетированной форме. Проведено сравнение предложенной методики с описанными в литературе для определения Лев в продуктах питания.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты и оборудование. Левофлоксацин ($\geq 98\%$), порошок оксида графена (15–20 слоев, 4–10% краевого окисления), S- и R- α -метилбензиламин ($\geq 98\%$), малоновую кислоту (99%), L-цистеин (**Л-Цис**, $\geq 97\%$), L-метионин (**Л-Мет**, $\geq 98\%$), L-триптофан (**Л-Трп**, $\geq 98\%$), L-тирозин (**Л-Тир**, $\geq 98\%$), лактозу (**Лак**, $\geq 98\%$), глюкозу (**Глю**, $\geq 97.5\%$) приобретали у Merck Life Science LLC (Россия). Фуллерен С60 (99.9%) приобретали у NeoTechProduct (Россия). В качестве фонового электролита для Лев использовали буферный раствор гидрофталата калия (**БРГ**, 0.05 М раствор $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ с pH 4.01), для электровосстановления оксида графена – фосфатный буферный раствор (**ФБР**, 0.05 М раствор $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ с pH 6.86, Ecroskhim Co., Ltd. Россия).

Деагломерированную суспензию 0.3 мкм Al_2O_3 приобретали у Allied High Tech Products (США).

Все электрохимические измерения проводили на потенциостате-гальваностате CS100 (Wuhan Corrtest Instruments Corp., Ltd, Китай) с программным обеспечением CS Studio. Стандартная трехэлектродная ячейка состояла из модифицированного СУЭ диаметром 3 мм в качестве рабочего электрода, хлоридсеребряного электрода с 3.5 М раствором KCl в качестве электрода сравнения и платинового вспомогательного электрода.

Модифицирование электрода. Чувствительный слой сенсора состоял из послойно нанесенного эвОГ и S-C60MA. Суспензию ОГ в N,N-диметилформамиде (4 мг/мл) после выдерживания в ультразвуковой ванне наносили капельным методом (0.6 мкл) на предварительно отполированный СУЭ, далее проводили электрохимическое восстановление ОГ согласно методике [21]. Модифицированный СУЭ сушили под ИК-лампой в течение 90 с. Селектор S-C60MA растворяли в толуоле (0.25 мг/мл) и наносили капельным методом (1.5 мкл) на СУЭ/эвОГ, затем СУЭ/эвОГ/S-C60MA сушили под ИК-лампой в течение 30 с.

Регистрация аналитического сигнала. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы (ДИВ) регистрировали в диапазоне потенциалов от 0.6 до 1.5 В с амплитудой 0.075 В, временем модуляции 0.075 с, скоростью сканирования 30 мВ/с. Затем ДИВ обрабатывали, используя коррекцию базовой линии. Циклические вольтамперограммы (ЦВА) регистрировали в диапазоне потенциалов от 0 до 1.9 В со скоростью сканирования от 50 до 250 мВ/с. Все электрохимические измерения повторяли пять раз при $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Приготовление растворов. Раствор Лев (0.5 мМ) готовили растворением точной навески реагента в 25 мл БРГ, растворы более низких концентраций готовили последовательным разбавлением.

Растворы Лев (0.05 мМ) с добавлением мешающих компонентов (L-Цис, L-Мет, L-Трп, L-Тир, Лак и Глю) готовили разбавлением 0.5 мМ раствора Лев с добавлением точной навески реагентов.

Растворы коммерчески доступных лекарственных препаратов в таблетированной форме с одинаковым составом вспомогательных веществ (Лев, энрофлоксацин, ломефлоксацин и ципрофлоксацин) готовили растворением навески растертых таблеток в 100 мл БРГ, затем отбирали аликвоту 10 мл и разбавляли необходимым объемом БРГ до концентрации 0.5 мМ.

Пробу мяса получали из навески 10 г говяжьего фарша, перемешивали с 10 мл БРГ с дальнейшим термостатированием при $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 90 мин, затем при $65 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 30 мин, после чего центрифугировали в течение 20 мин при 3000 об/мин. Затем в супернатант вносили Лев для получения растворов с концентрациями 4, 15 и 35 мкМ [22].

Образец молока (жирность 2.5%) объемом 10 мл разбавляли 10 мл БРГ с добавлением Лев известной концентрации (4, 15 и 35 мкМ) [22].

Для приготовления всех растворов использовали деионизованную воду с удельной электропроводностью 0.1 мкСм/см.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Работа [19] посвящена изучению электрохимических характеристик сенсора в зависимости

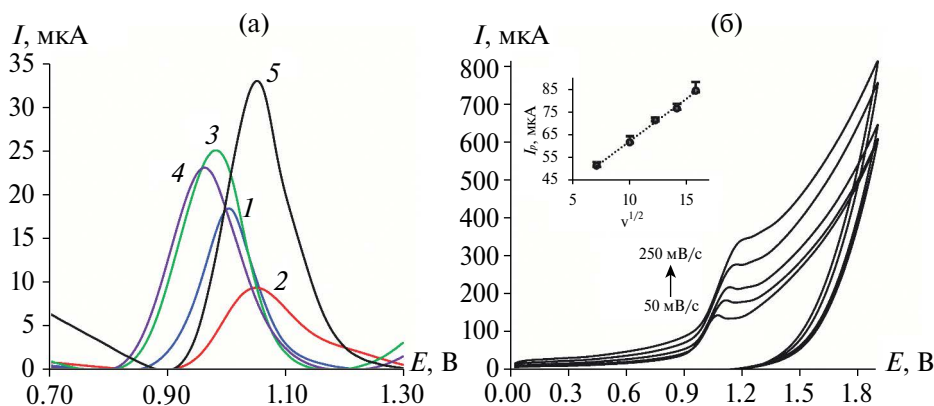


Рис. 1. (а) Дифференциально-импульсные вольтамперограммы 0.5 мМ раствора левофлоксацина на СУЭ (1), СУЭ/С60 (2), СУЭ/эвОГ (3), СУЭ/эвОГ/С60 (4), СУЭ/эвОГ/S-C60МА (5); (б) циклические вольтамперограммы 0.5 мМ раствора левофлоксацина, скорость сканирования в диапазоне от 50 до 250 мВ/с (вставка: зависимость тока пика окисления от квадратного корня скорости сканирования, $n = 5$, $P = 0.95$). Буферный раствор гидрофталата калия с рН 4.01.

от состава чувствительного слоя с использованием стандартной редокс-пары $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ с помощью циклической вольтамперометрии и спектроскопии электрохимического импеданса. Морфологические характеристики сенсоров изучены с помощью сканирующей электронной микроскопии, а также подобраны оптимальные условия регистрации аналитического сигнала. В настоящей работе акцент сделан на изучении аналитических возможностей сенсора при определении Лев в продуктах питания животного происхождения.

Электрохимическое поведение Лев в зависимости от состава чувствительного слоя изучали методом ДИВ в исследуемом диапазоне потенциалов (рис. 1а). Как видно из вольтамперограмм, внесение в состав чувствительного слоя чистого С60 вызывает резкое снижение аналитического сигнала, что, предположительно, связано с диэлектрическими свойствами С60. Для решения этой проблемы в соответствии с ранее проведенным исследованием [19] предложено использовать углеродсодержащую подложку эвОГ и функционализацию С60. Показано, что введение эвОГ способствует увеличению тока пика, а введение С60 вызывает его снижение. Наиболее интенсивный аналитический сигнал окисления Лев получен с помощью сенсора СУЭ/эвОГ/S-С60МА с послойно нанесенными эвОГ и функционализированным фуллереном.

Для выявления лимитирующей стадии электродного процесса исследовали зависимость величины тока пика окисления Лев от скорости сканирования потенциала в режиме ЦВА (рис. 1б). Получили линейный график зависимости $I_p = f(v^{1/2})$, который описывается уравнением (1), что свидетельствует о преимущественно диффузионном характере протекания процесса электроокисления Лев.

$$I_p = (3.8 \pm 0.1)v^{1/2} + (23.6 \pm 1.6), R^2 = 0.997 \quad (1)$$

Левифлоксацин определяли в режиме ДИВ. При построении градуировочного графика получили два линейных диапазона 1×10^{-6} – 6×10^{-5} М и 6×10^{-5} – 5×10^{-4} М Лев, которые описываются уравнениями (2) и (3) соответственно (рис. 2). Предел обнаружения и нижнюю границу определяемых содержаний рассчитывали по $3s_b/m$ и $10s_b/m$ критериям, они составили 1.8×10^{-7} и 6.04×10^{-7} М.

$$I_p = (107 \pm 2)c + (0.13 \pm 0.06), R^2 = 0.998, \quad (2)$$

$$I_p = (58.0 \pm 0.3)c + (2.7 \pm 0.1), R^2 = 1. \quad (3)$$

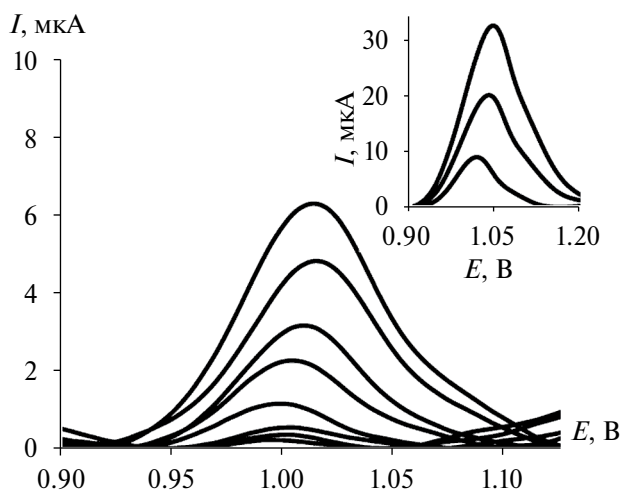


Рис. 2. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы левофлоксацина в диапазоне концентраций 0.001–0.06 мМ на СУЭ/эвОГ/S-С60МА (вставка: в диапазоне 0.06–0.5 мМ) (буферный раствор гидрофталата калия с рН 4.01).

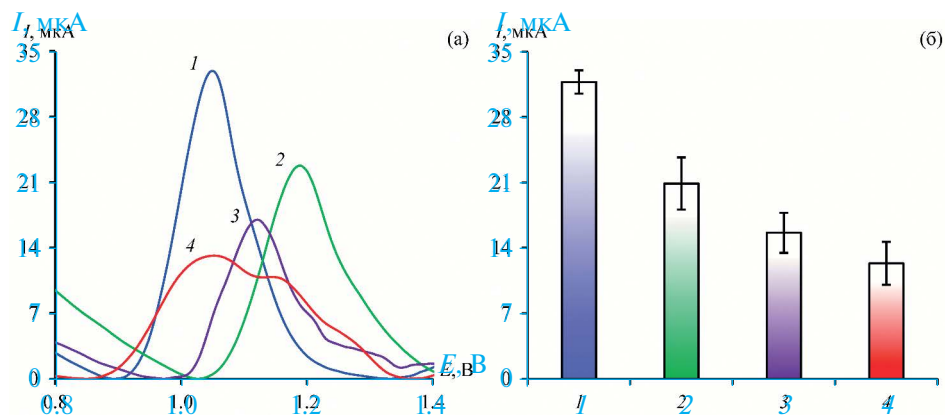


Рис. 3. (а) Дифференциально-импульсные вольтамперограммы и (б) диаграмма токов пика окисления 0.5 мМ растворов левофлоксацина (1), ципрофлоксацина (2), ломефлоксацина (3), энрофлоксацина (4) на СУЭ/эвОГ/S-С60МА ($n = 5$, $P = 0.95$, буферный раствор гидрофталата калия с рН 4.01).

Для оценки селективности сенсора СУЭ/эвОГ/S-C60MA по отношению к аналиту регистрировали ДИВ в растворах других антибиотиков фторхинолонового ряда: энрофлоксацина, ломефлоксацина, ципрофлоксацина. Как видно из ДИВ на рис. 3а, для аналитов характерно различие по потенциалам и форме пика окисления. Из диаграммы (рис. 3б) видно, что Лев характеризуется наибольшим током пика окисления.

С целью изучения влияния мешающих компонентов на определение Лев регистрировали ДИВ в 0.05 мМ растворах Лев с добавлением 25-кратного избытка аминокислот (L-Цис, L-Мет, L-Трп, L-Тир) и 100-кратного избытка углеводов (Лак, Глю). Полученные результаты свидетельствовали об отсутствии значимого

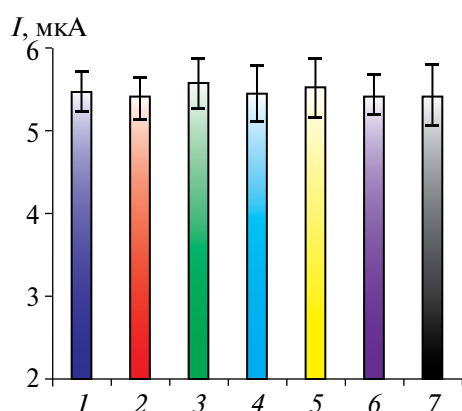


Рис. 4. Диаграмма токов пика окисления чистого 0.05 мМ раствора левофлоксацина (1) и с добавками 25-кратных избытков L-Цис (2), L-Мет (3), L-Трп (4), L-Тир (5) и 100-кратных избытков Лак (6), Глю (7) ($n = 5$, $P = 0.95$, буферный раствор гидрофталата калия с pH 4.01).

влияния мешающих компонентов, так как величина аналитического сигнала для чистого раствора Лев и для растворов с добавками с учетом погрешности практически одинакова (рис. 4).

Сенсор СУЭ/эвОГ/S-C60MA применили для определения Лев в чистых растворах, мясе и молоке стандартным методом введено—найдено (табл. 1). Сенсор правильно определил концентрацию Лев во всех исследуемых растворах. Относительное стандартное отклонение при определении Лев в мясе и молоке составило 0.7–8.0%. Степень открытия внесенного Лев в пределах 87.6–102.2% подтверждает возможность применения разработанного сенсора для определения Лев в продуктах питания животного происхождения.

Разработанный сенсор сравнили с существующими методами определения фторхинолонов в мясе и молоке (табл. 2). Предел обнаружения, несмотря на более высокое значение по сравнению с другими методами, удовлетворяет максимальному допустимому уровню содержания фторхинолонов в продуктах питания. Несомненным достоинством вольтамперометрического определения, как отмечено выше, является экспрессность, невысокая стоимость и упрощенная пробоподготовка, исключая предварительное выделение определяемого вещества.

Таким образом, для определения Лев в продуктах питания животного происхождения использован сенсор на основе послойно нанесенных эвОГ и синтезированного ранее [19] S-C60MA. Левофлоксацин определяли методом ДИВ, предел обнаружения при этом составил 1.8×10^{-7} М. Показана селективность сенсора к Лев относительно некоторых антибиотиков фторхинолонового ряда: ципрофлоксацина, ломефлок-

Таблица 1. Результаты определения левофлоксацина методом дифференциально-импульсной вольтамперометрии с использованием СУЭ/эвОГ/S-C60MA ($n = 5$, $P = 0.95$)

Объект анализа	Введено, мкМ	Найдено, мкМ	s_r , %	Степень открытия, %
Чистый раствор	4	3.9 ± 0.4	3.7	98.2
	15	15.1 ± 0.7	1.8	100.7
	35	35.2 ± 0.6	0.7	100.5
Мясо	4	3.6 ± 0.4	3.9	90.0
	15	14.9 ± 1.1	2.9	99.1
	35	35.6 ± 1.6	1.8	101.8
Молоко	4	3.5 ± 0.7	8.0	87.6
	15	15.3 ± 1.2	3.2	102.2
	35	35.6 ± 0.6	0.7	101.7

Таблица 2. Сравнение методов определения фторхинолонов в реальных образцах

Метод	Определяемое вещество	Объект анализа	Линейный диапазон	Предел обнаружения	Литература
ВЭЖХ-УФ	Нор, Цип, Пеф, Лом, Дан, Энр, Офл, Сар, Диф	Куриное мясо	5–400 мкг/л	1.0–2.2 мкг/л	[23]
МЭКХ с флуоресцентным детектором	Дан	Говяжье и свиное мясо	30–50 мкг/кг	10 мкг/кг	[24]
	Цип		10–50 мкг/кг	3 мкг/кг	
	Энр		20–50 мкг/кг	7 мкг/кг	
ВЭЖХ с люминесцентным детектором	Цип	Молоко	7.2–900 мкг/л	2.5 мкг/л	[25]
	Дан		6–900 мкг/л	2 мкг/л	
	Энр		50–900 мкг/л	20 мкг/л	
	Флу		7–900 мкг/л	2.5 мкг/л	
	Мар		65–900 мкг/л	35 мкг/л	
ВЭЖХ-МС	Флу, Энр, Дан, Сар, Диф, Нор, Пеф, Лом, Офл	Куриное мясо и яйца	0.2–200 мкг/кг	0.1–0.16 мкг/кг	[7]
ФПИА	16 фторхинолонов	Молоко и куриное мясо	0.76–120.1 мкг/л	0.46–4.40 мкг/л	[26]
Биосенсор с люминесцентным детектором	Цип	Молоко и куриное мясо	0.1–1 и 1–100 мкг/л	0.07 мкг/л	[27]
ДИВ	Лев	Молоко и говяжье мясо	0.36–21.66 и 21.66–180.7 мг/л	0.065 мг/л	Настоящая работа

Обозначения: УФ – УФ-спектроскопический детектор, МЭКХ – мицеллярная электрокинетическая хроматография, ВЭЖХ-МС – ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием, ФПИА – флуоресцентный поляризационный иммуноанализ, Нор – норфлоксацин, Цип – ципрофлоксацин, Пеф – пефлоксацин, Лом – ломефлоксацин, Дан – данофлоксацин, Энр – энрофлоксацин, Офл – офлоксацин, Сар – сарафлоксацин, Диф – дифлоксацин, Фле – флероксацин, Флу – флумехин, Мар – марбофлоксацин.

сацина, энрофлоксацина. Аналитический сигнал Лев максимален, а также отличается от других фторхинолонов по потенциалу окисления. Установлено отсутствие значимого влияния 25-кратного избытка аминокислот и 100-кратного избытка углеводов на величину аналитического сигнала окисления Лев. Доказана возможность использования разработанного вольтамперометрического сенсора для определения Лев в молоке и мясе без предварительного выделения с достаточными чувствительностью и селективностью к Лев, соответствующими максимальным допустимым уровням содержания фторхинолонов в продуктах питания животного происхождения.

Авторы выражают благодарность лаборатории синтеза низкомолекулярных биорегуляторов УФИХ УФИЦ РАН за синтез селекторов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-73-00073 (<https://rscf.ru/project/22-73-00073/>).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Stavroulaki A., Tzatzarakis M.N., Karzi V., Katsikantami I., Renieri E., Vakonaki E., Avgenaki M., Alegakis A., Stan M., Kavvalakis M., Rizos A.K., Tsatsakis A. Antibiotics in raw meat samples: Estimation of dietary exposure and risk assessment // *Toxics*. 2022. V. 10. № 8. P. 456. <https://doi.org/10.3390/toxics10080456>
2. Evtugyn G., Porfireva A., Tsekenis G., Oravczova V., Hianik T. Electrochemical aptasensors for antibiotics detection: Recent achievements and applications for monitoring food safety // *Sensors*. 2022. V. 22. № 10. P. 3684. <https://doi.org/10.3390/s22103684>
3. Sitovs A., Sartini I., Giorgi M. Levofloxacin in veterinary medicine: A literature review // *Res. Vet. Sci.* 2021. V. 137. P. 111. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.04.031>
4. Xiaoying X., Lihong L., Zhimin J., Yang S. Determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in foods of animal origin by capillary electrophoresis with field amplified samplestacking–sweeping technique // *Food Chem.* 2015. V. 176. P. 219. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.054>
5. Peris-Vicente J., Peris-García E., Albiol-Chiva J., Durgbanshi A., Ochoa-Aranda E., Carda-Broch S. *et al.* Liquid chromatography, a valuable tool in the determination of antibiotics in biological, food and environmental samples // *Microchem. J.* 2022. V. 177. Article 107309. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107309>
6. Elsayed A.S., Abusham A., Al-Touby S.S.J., Al-Rajhi W.K.H., Hossain M.A. Determination of antibiotic residues in boiler chickens by liquid chromatography-mass spectrometry // *Food Anal. Methods*. 2023. V. 16. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s12161-023-02530-4>
7. Zhuliangzi L., Fenfang D., Rong H., Lei T., Xiaoyan L., Xinhong P., Zhicong Y. A pass-through solid-phase extraction clean-up method for the determination of 11 quinolone antibiotics in chicken meat and egg samples using ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry // *Microchem. J.* 2019. V. 151. Article 104213. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104213>
8. Serrano M.J., Mata L., Pellicer S., Segura-Gil I., Razquin P., Pagán R. Development and validation of a rapid lateral flow test for the detection of fluoroquinolones in meat and blood // *Food Control*. 2024. V. 156. Article 110116. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.110116>
9. Gaudin V. Advances in biosensor development for the screening of antibiotic residues in food products of animal origin – A comprehensive review // *Biosens. Bioelectron.* 2017. V. 90. P. 363. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.12.005>
10. Майстренко В.Н., Зильберг Р.А. Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры на основе хиральных материалов // *Журн. аналит. химии*. 2020. Т. 75. С. 1080. 10.31857/S0044450220120105 (*Maistrenko V.N., Zil'berg R.A.* Enantioselective voltammetric sensors on the basis of chiral materials // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. P. 1514. <https://doi.org/10.1134/S1061934820120102>)
11. Maduraiveeran G., Sasidharan M., Ganesan V. Electrochemical sensor and biosensor platforms based on advanced nanomaterials for biological and biomedical applications // *Biosensor. Bioelectron.* 2018. V. 103. P. 113. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.12.031>
12. Zuyu H., Shuai Z., Yingju L., Yuan H., Hongtao L. A multi-walled carbon nanotubes-poly(L-lysine) modified enantioselective immunosensor for ofloxacin by using multienzyme-labeled gold nanoflower as signal enhancer // *Biosens. Bioelectron.* 2015. V. 73 P. 85. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.05.054>
13. de Farias D.M., de Faria L.V., Lisboa T.P., Matos M.A., Munoz R., Matos R. Determination of levofloxacin in pharmaceutical formulations and urine at reduced graphene oxide and carbon nanotube-modified electrodes // *J. Solid. State Electrochem.* 2020. V. 24. P. 1165. <https://doi.org/10.1007/s10008-020-04589-z>
14. Lei H., Yanfang Z., Chao C., Feng Li. A novel electrochemical sensor based on poly(p-aminobenzenesulfonic acid)-reduced graphene oxide composite film for the sensitive and selective detection of levofloxacin in human urine // *J. Electroanal. Chem.* 2018. V. 817. P. 141. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.04.008>
15. Huang J.Y., Bao T., Hu T.X., Wen W., Zhang X., Wang S.F. Voltammetric determination of levofloxacin using a glassy carbon electrode modified with poly(o-aminophenol) and graphene quantum dots // *Microchim. Acta*. 2017. V. 184. P. 127. <https://doi.org/10.1007/s00604-016-1982-5>
16. Ademar W., Anderson M. S., Orlando F.-F. Simultaneous determination of paracetamol and levofloxacin using a glassy carbon electrode modified with carbon black, silver nanoparticles and PEDOT:PSS film // *Sens. Actuators B: Chem.* 2018. V. 255. Part 2. P. 2264. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.09.020>
17. Wei W., Dong-Ming Z., Xiu-Hua Z., Hua-Yu X., Sheng-Fu W., Wei C., Yuan-Di Z. One-step fabrication of poly(o-aminophenol)/multi-walled carbon nanotubes composite film modified electrode and its application for levofloxacin determination in pharmaceuticals // *Sens. Actuators B: Chem.* 2012. V. 174. P. 202. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.08.010>
18. Liu T., Yan T., Rongfeng Z., Weilu L., Yue G., Cong L., Ruixue C., Zhiquan Z. Ag nanoparticles and electrospun CeO₂-Au composite nanofibers modified glassy carbon electrode for determination of levofloxacin // *Sens. Actuators B: Chem.* 2014. V. 203. P. 95. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.06.089>
19. Zagitova L.R., Abramov I.A., Zagitov V.V., Gainanova S.I., Maistrenko V.N. Effect of the chiral blocks of functionalized fullerene on levofloxacin enanti-

- oselective voltammetric sensing // *J. Electroanal. Chem.* 2023. V. 940. Article 117508.
<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2023.117508>
20. Zagitova L., Yarkaeva Y., Zagitov V., Gainanova S., Maistrenko V. Voltammetric chiral recognition of naproxen enantiomers by N-tosylproline functionalized chitosan and reduced graphene oxide based sensor // *J. Electroanal. Chem.* 2022. V. 922. Article 116744.
<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2022.116744>
 21. Yuan Z., Xuecheng Z., Wei J., Huilin L., Jing W., Baoguo S. Natural and artificial chiralbased systems for separation applications // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2021. V. 53. P. 27.
<https://doi.org/10.1080/10408347.2021.1932408>
 22. Шендерович В.А., Пастернак Н.А., Столярова Л.Г., Соловьева В.Е., Власова И.В., Ведьмина Е.А., Шевелева С.А. Экспресс-метод определения антибиотиков в пищевых продуктах. Методические указания. 29 марта 1995 г. МУК 4.2.026–95.
 23. Kardani F., Mirzajani R., Tamsilian Y., Kiasat A. The residual determination of 39 antibiotics in meat and dairy products using solid-phase microextraction based on deep eutectic solvents@UMCM-1 metal-organic framework /molecularly imprinted polymers with HPLC-UV // *Food Chem. Adv.* 2023. V. 2. Article 100173.
<https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100173>
 24. Terrado-Campos D., Tayeb-Cherif K., Peris-Vicente J., Carda-Broch S., Esteve-Romero J. Determination of oxolinic acid, danofloxacin, ciprofloxacin, and enrofloxacin in porcine and bovine meat by micellar liquid chromatography with fluorescence detection // *Food Chem.* 2017. V. 221. P. 1277.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.029>
 25. Yáñez-Jácome G.S., Aguilar-Caballos M.P., Gómez-Hens A. Luminescent determination of quinolones in milk samples by liquid chromatography/post-column derivatization with terbium oxide nanoparticles // *J. Chromatogr. A.* 2015. V. 1405. P. 126.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.05.070>
 26. Mi T., Wang Z., Eremin S., Shen J., Zhang S. Simultaneous determination of multiple (fluoro)quinolone antibiotics in food samples by a one-step fluorescence polarization immunoassay // *J. Agric. Food Chem.* 2013. V. 61. P. 9347.
<https://doi.org/10.1021/jf403972r>
 27. Yuphintharakun N., Nurerk P., Chullasat K., Kana-tharana P., Davis F., Sooksawat D., Bunkoed O. A nanocomposite optosensor containing carboxylic functionalized multiwall carbon nanotubes and quantum dots incorporated into a molecularly imprinted polymer for highly selective and sensitive detection of ciprofloxacin // *Spectrochim. Acta. A: Mol. Biomol. Spectrosc.* 2018. V. 201. P. 382.
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.05.034>

ORIGINAL ARTICLES

VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF LEVOFLOXACIN IN MEAT AND MILK USING A SENSOR BASED ON ELECTRICALLY REDUCED GRAPHENE OXIDE AND FUNCTIONALIZED FULLERENE

I.A. Abramov^{a, *}, S.I. Gainanova^a, L.R. Zagitova^a, V.N. Maistrenko^a

Ufa University of Science and Technology, Department of analytical chemistry, 450076 Ufa, Russia

**e-mail: papa.abramov@mail.ru*

Received October 13, 2023. **Revised** December 12, 2023. **Accepted** December 12, 2023

Abstract. Antibacterial drugs have become an integral part of the food industry and agriculture in the modern world. The presence of even trace amounts of antibiotics in food of animal origin can lead to the development of allergic reactions and direct toxic effects in the human body. In this regard, it is required to create sensitive and selective methods for the determination of antibacterial drugs in order to prevent their excessive consumption. In this work, a glass-carbon voltammetric sensor based on layer-by-layer deposited electrospun graphene oxide and functionalized S-N,N'-bis(1-phenylethyl)malonamide fullerene is proposed for the determination of levofloxacin (**Lev**, S-(-)-ofloxacin) by differential pulse voltammetry. The calibration plot is linear over two ranges of 1.0×10^{-6} – 6.0×10^{-5} M and 6.0×10^{-5} – 5.0×10^{-4} M Lev with sensitivity factors of 107 and 58.0 $\mu\text{A}/\text{mM}$, respectively. The detection limit and lower limit of detectable contents were 1.8×10^{-7} M and 6.04×10^{-7} M, respectively. The selectivity of the sensor to Lev was evaluated with respect to some fluoroquinolone antibiotics: ciprofloxacin, lomefloxacin, enrofloxacin. The sensor was used for the determination of Lev in meat and milk by differential pulse voltammetry.

Keywords: voltammetric sensor, functionalized fullerene, electrically reduced graphene oxide, levofloxacin, food of animal origin.