

СОДЕРЖАНИЕ

Том 76, номер 12, 2021

ОБЗОРЫ

Возможности и ограничения методов твердофазной и жидкостной экстракции при определении полициклических ароматических углеводородов в объектах окружающей среды

З. А. Темердашев, Т. Н. Мусорина, Т. А. Червоная, Ж. В. Арутюнян 1059

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Анализ оксида церия масс-спектральным и атомно-эмиссионным методами с индуктивно связанной плазмой

Н. А. Короткова, К. В. Петрова, В. Б. Барановская 1077

Распознавание и определение сульфаниламидов методом флуориметрии в ближней ИК-области по их влиянию на скорость каталитического окисления карбоцианинового красителя пероксидом водорода

И. А. Степанова, А. Н. Лебедева, А. В. Шик, Е. В. Скоробогатов, М. К. Беклемишев 1089

Определение максимальной длины ДНК, расшифровываемой с точностью 99%, в полимере на основе линейного N,N-полидиметилакриламида методом капиллярного гель-электрофореза с лазер-индуцируемой флуоресценцией

Д. В. Бочарова, Я. И. Алексеев, А. А. Волков, Г. С. Лавров, А. Г. Плугов, И. А. Волков, А. А. Чемигов, Б. В. Бардин, В. Е. Курочкин 1100

Определение платины и родия методом инверсионной вольтамперометрии

А. В. Егошина, Н. А. Колтакова 1107

Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры на основе аминокислотных комплексов Cu(II), Co(III), Zn(II)

Р. А. Зильберг, Л. Р. Загитова, И. В. Вакулин, Ю. А. Яркаева, Ю. Б. Терес, Т. В. Берестова 1111

Нанокластеры рения как модификаторы иммуносенсоров при определении трициклических антидепрессантов

Э. П. Медянцева, Э. Р. Газизуллина, Д. В. Брусницын, М. А. Зиганшин, Ю. Г. Елистратова, А. Р. Мустафина, К. А. Брылев, Г. К. Будников 1123

Дифференциальная сканирующая калориметрия как метод контроля подлинности масла дикорастущей расторопши пятнистой

О. Б. Рудаков, И. А. Саранов, Ш. А. Балаева, А. Ш. Рамазанов, Я. О. Рудаков 1137

ИСТОРИЯ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

О создании Института аналитической химии Академии наук

Ю. А. Золотов 1146

ХРОНИКА

К юбилею Т. А. Марютиной

1152

УДК 543.054+543.6

ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДОВ ТВЕРДОФАЗНОЙ И ЖИДКОСТНОЙ ЭКСТРАКЦИИ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

© 2021 г. З. А. Темердашев^a, *, Т. Н. Мусорина^a, Т. А. Червонная^a, Ж. В. Арутюнян^a

^aКубанский государственный университет
ул. Ставропольская, 149, Краснодар, 350040 Россия

*e-mail: temza@kubsu.ru

Поступила в редакцию 03.06.2021 г.

После доработки 16.06.2021 г.

Принята к публикации 16.06.2021 г.

В обзоре систематизированы данные о различных экстракционных вариантах подготовки проб при определении полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в объектах окружающей среды, приведена классификация и описаны возможности этих вариантов. Обсуждаются основные варианты и способы осуществления твердофазной (ТФЭ) и жидкостно-жидкостной (ЖЖЭ) экстракции ПАУ различного строения из сложных многокомпонентных систем. Показано многообразие методов ТФЭ и ЖЖЭ, особенности их сочетания с другими методами, достоинства и недостатки каждого из методов пробоподготовки. Предпочтительными для детектирования после твердофазной или жидкостно-жидкостной экстракции ПАУ из объектов окружающей среды являются хроматографические методы.

Ключевые слова: полиароматические углеводороды, твердофазная экстракция, жидкостная экстракция, микроэкстракция, пробоподготовка.

DOI: 10.31857/S0044450221120136

Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) являются распространенными органическими загрязнителями окружающей среды. В природе ПАУ поступают в окружающую среду при извержениях вулканов, лесных пожарах, из горючих ископаемых. Кроме того, ПАУ образуются в ходе естественных процессов, зависящих от присутствия живых организмов, в результате абиогенного синтеза (без участия биомассы, при 500–1000°C) и при низкотемпературном изменении органических молекул. Антропогенные источники ПАУ – сжигание полимерных материалов или их термическая деградация [1], деятельность крупных перерабатывающих предприятий [2–11], выбросы авто- и авиатранспорта [12, 13]. В окружающей среде ПАУ распределяются с учетом их физико-химических свойств. В газообразной среде или растворенной фазе находятся в основном нафталин и схожие с ним по давлению паров и растворимости соединения – бифенил, аценафтен, аценафтилен и флуорен. Более тяжелые ПАУ агрегируются на поверхности различных частиц или осаждаются в почве и донных отложениях [14, 15].

Значения предельно допустимых концентраций (ПДК) ПАУ на территории РФ [16], в странах Европы и США [17, 18] отличаются из-за разных методологий проведения экологического мониторинга, а также имеющейся информации об уровне канцерогенности и генотоксичности различных ПАУ. В США и странах Европы принята система категорий “CRM”, где С – это канцерогенные вещества, которые при попадании в организм через органы дыхания, желудочно-кишечный тракт или кожные покровы могут вызывать онкологические заболевания или повышают вероятность их возникновения: С1 – могут вызывать онкологические заболевания, С2 – могут вызывать онкологические заболевания при вдыхании; М – мутагены – вещества, которые могут вызывать генетические наследственные изменения; R – вещества, токсичные для репродуктивной системы: R1 – могут привести к нарушениям репродуктивной функции организма; R2 – могут негативно влиять на внутриутробное развитие плода. В табл. 1 приведены нормированные содержания ПАУ в объектах окружающей среды с учетом классификаций, принятых в Российской Федерации, странах Европы и США.

Таблица 1. Нормированные содержания* ПАУ в природных объектах

ПАУ/класс опасности	Вода, мкг/л		Воздух, мкг/м ³		Почва, мкг/кг	
	РФ	США/ Европа	РФ	США/ Европа	РФ	США/Европа
Бенз[а]пирен/С2, М, R2	0.01	0.2	0.001	2/5	20	20
Нафталин	10	—	3	—	—	Σ16 ПАУ 100 мг/кг
Бифенил	1	—	—	—	—	
Дибенз[а, h]антрацен	—	0.3	5	4	—	
Фенантрен	—	—	—	—	10	
Бенз[а]антрацен/С2	—	0.1	—	2	—	
Бенз[б]флуорантен/С2	—	0.2	—	2	—	
Бенз[к]флуорантен/С2	—	—	—	—	—	
Хризен	—	0.2	—	—	—	
Инден[1,2,3-с, d]пирен	—	0.4	—	—	—	

* Значения ПДК.

На сегодняшний день не существует однозначного мнения относительно канцерогенности отдельных ПАУ, к тому же совместное их присутствие может способствовать появлению синергического эффекта [19, 20]. Таким образом, пока вопрос об установлении полного перечня веществ для целей экологического контроля остается открытым. Агентством по охране окружающей среды США предложен список из 16 соединений, оптимальный с точки зрения распространенности тех или иных наиболее токсичных ПАУ [21]. Реальные суммарные содержания ПАУ в природных объектах варьируются: в атмосферном воздухе в диапазоне от 0.02 до 20 нг/м³, в сточных водах их содержание может достигать 10 мг/л, в почвах и донных отложениях — от 20 до 5000 мкг/кг [19–24].

В основе большинства методик определения ПАУ лежит метод ВЭЖХ с ультрафиолетовым (УФ) или флуориметрическим детектированием (ФЛД) [25–29]. Газовая хромато-масс-спектрометрия (ГХ-МС) также широко востребована как метод определения суперэкоотоксикантов для целей экологического мониторинга, благодаря наличию интегрированной библиотеки масс-спектров и возможности разделения близких по свойствам и строению изомеров [30–34]. Сочетание этих методов в значительной степени расширяет возможности аналитических лабораторий, поскольку позволяет увеличить спектр аналитов, диапазоны определяемых концентраций, повышает надежность анализа природных объектов со сложной матрицей [35, 36].

Лимитирующей стадией во всех известных методиках определения ПАУ в сложных природных матрицах является пробоподготовка, которая должна обеспечить высокую эффективность извлечения и концентрирование аналитов. В дан-

ном обзоре анализируются возможности методов твердофазной (ТФЭ) и жидкостно-жидкостной экстракции (ЖЖЭ) ПАУ различного строения, обсуждаются их достоинства и недостатки при анализе сложных многокомпонентных систем.

ЖИДКОСТНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ

Для извлечения ПАУ методами жидкостной экстракции применяют индивидуальные органические растворители либо их смеси [37–39], для улучшения разделения фаз в экстракционные системы добавляют высаливатели [40]. Из водных объектов ПАУ, как правило, экстрагируют *n*-гексаном с последующим упариванием экстрактов до необходимого объема [28, 41], а выделение аналитов из твердых образцов проводят экстрагированием дихлорметаном или его смесью с другими растворителями в аппарате Сокслета [42, 43] с последующим ВЭЖХ-УФ/ФЛД или ГХ-МС-детектированием [44].

Для повышения эффективности массопереноса и интенсификации процесса, особенно в случае экстрагирования аналитов из твердых образцов, часто используют ультразвуковую (УЗ) обработку [45–47], которая хорошо сочетается с различными экстракционными системами типа *n*-гексан–ацетон, ацетон–дихлорметан, *n*-гексан–этилацетат и др. [48–51]. Ультразвуковая жидкостная экстракция в оптимизированных условиях обеспечивает пределы хроматографического определения ПАУ на уровне 2 мкг/л для водных объектов [52] и 0.002 мкг/кг для почв и донных отложений [53]. Высокая эффективность ультразвуковой эмульсионной жидкостно-жидкостной экстракции при извлечении 16 ПАУ из водной среды в сочетании с высокой степенью концентрирования [54] позволила достичь преде-

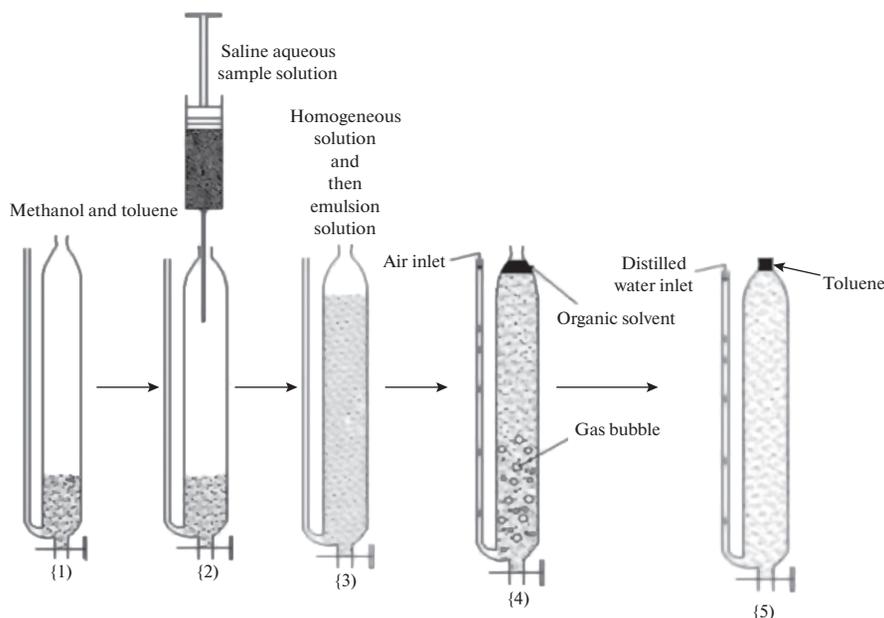


Рис. 1. Схема экстракции ПАУ из воды толуолом по технике HLLLE [61].

лы ГХ-МС-определения 0.5 нг/л для ПАУ, содержащих три–четыре бензолных кольца.

При очевидных преимуществах традиционных вариантов жидкостной экстракции они отличаются длительностью, многоэтапностью и требуют использования большого количества достаточно токсичных органических растворителей. Для устранения этих недостатков перспективны минимизация объемов применяемых экстрагентов до микролитров и сокращение продолжительности анализа [55]. В этих случаях требуется применение высокочувствительных методов детектирования ввиду малых объемов образца и, как следствие, низких коэффициентов концентрирования.

Гомогенная жидкостно-жидкостная экстракция. Известные варианты трехкомпонентных экстракционных систем обладают рядом преимуществ как по суммарному выходу экстрактивных веществ, так и по качественному составу экстрактов, а также по технологичности самого процесса. Примером является гомогенная ЖЖЭ – HLLLE (homogeneous liquid–liquid extraction), предусматривающая добавление в анализируемый образец смеси растворителей и последующее внесение агента, способствующего отделению фазы экстрагента [56]. Данный вариант пробоподготовки подходит для водных объектов [57], почв и донных отложений [58, 59]. В этих случаях обычно используют вариант HLLLE с добавлением в гомогенный раствор вода–метанол небольшого количества гидрофобного растворителя – хлороформа или гексана. Техника гомогенной жидкостно-жидкостной микроэкстракции и подробное описание ее модификаций рассмотрены в обзоре [60].

Авторы работы [61] для упрощения работы с растворителями с плотностью ниже плотности воды предложили специальную установку, в которой экстрагирующий растворитель (толуол) отделяется флотацией от гомогенизирующего растворителя (метанола) и собирается в верхней узкой части колбы (рис. 1). Такую схему использовали для определения четырех ПАУ в воде с пределами хроматографического определения от 14 до 41 мкг/л.

Трехкомпонентные системы, содержащие поверхностно-активные вещества. В рамках реализации концепции “зеленой химии” предложен вариант с использованием трехкомпонентных экстракционных систем с поверхностно-активными веществами (ПАВ) – неионогенными или анионными [62–64]. Так, применение Triton X-114 при извлечении группы приоритетных ПАУ из воды позволило достичь пределов их ВЭЖХ-определения 0.3–12 нг/л [65]. Авторы работы [64] отметили, что смеси ПАВ обеспечивают большую стабильность и эффективность извлечения компонентов. При ГХ-МС-определении ПАУ в морской воде с использованием смеси неионогенных веществ – полиоксиэтилен-10-лаурилового эфира (POLE) с Triton X-114 и Brij 30 предложенный подход обеспечил их определение на уровне 23–230 нг/л.

Авторы работ [66–69] указывают, что наиболее эффективно использование анионных ПАВ, таких как додецилсульфат натрия, додецилбензолсульфонат натрия и додекан-1-сульфонат натрия, обеспечивающих 80–100%-ное извлечение ПАУ. Их применение значительно упрощает схему анализа за счет исключения необходимости

варьирования pH, температуры и ионной силы раствора. Экстракция с использованием додецилсульфата натрия позволяет определять содержание бенз[а]пирена в воде на уровне 0.05 мкг/л при степени извлечения различных ПАУ 67–93% [70].

Как вариант развития жидкостно-жидкостной экстракции в последнее время находит применение техника с использованием микроэмульсий (МЭ). Такие системы обладают большой солибилизирующей емкостью, позволяющей извлекать различные по природе соединения из объектов со сложной матрицей. Данные системы состоят из экстрагента, воды и ПАВ, а в ряде случаев для стабилизации микроэмульсий добавляют со-ПАВ. Экстрагентом в этом случае является любое несмешивающееся с водой органическое соединение; при определении ПАУ это гексан, бензол, толуол, гексадекан, гептан и др. [71]. Под воздействием внешних факторов микроэмульсии способны терять термодинамическую стабильность и расслаиваться на две несмешивающиеся фазы: водную и органическую, при этом гидрофобные соединения концентрируются в органической фазе. Авторы работы [72] предложили способ определения десяти ПАУ в почве с использованием МЭ с 3% додецилсульфата натрия, 0.8% бензола, 6% *n*-бутанола, 90.2% воды, который в сочетании с ВЭЖХ-ФЛД-анализом обеспечил высокие степени извлечения всех аналитов от 91 до 106%. В некоторых случаях использование ПАВ может приводить к необратимым процессам в хроматографической колонке, что ограничивает применение таких систем для рутинного анализа.

Дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция (DLLME). Эффективным вариантом пробоподготовки при определении ПАУ является дисперсионная жидкостно-жидкостная экстракция – DLLME (dispersive liquid–liquid microextraction) [73]. Площадь поверхности контакта в экстракционной системе DLLME в разы повышается за счет образования мутного раствора (cloudy solution), представляющего собой фазу экстрагирующего растворителя в диспергирующем агенте. В качестве экстрагента используют растворители с плотностью выше плотности воды, чаще всего хлорорганические, а в роли диспергирующего агента – ацетон, метанол, ацетонитрил. При этом извлечение ПАУ из объектов окружающей среды наиболее эффективно при использовании ацетонитрила [74, 75]. Существуют варианты, когда вместо диспергирующего растворителя используют УЗ-излучение – UA-DLLME (ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction) [76], встряхивание на вортексе – VSA-DLLME (vortex- and shaker-assisted liquid–liquid microextraction) либо вертикальное встряхивание – UD-SA-DLLME (up-and-down-shaker-assisted dispersive liquid–liquid microextraction) [77]. Для этих целей также применяют микроэмульсии с неионогенными ПАВ – WLSEME (water with low concentration of

surfactant in dispersed solvent-assisted emulsion dispersive liquid–liquid microextraction), причем в сравнении с Tween 60, Tween 80, Triton X-100 большей эффективностью обладает поверхностно-активное вещество Triton X-114 [78].

Интересным представляется сочетание техники DLLME и затвердевающей капли растворителя – SFOD-DLLME (dispersive liquid–liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet) [79]. В этом случае используют собирающиеся на поверхности “легкие” растворители, которые замораживают, образовавшиеся капли собирают с поверхности системы и расплавляют при комнатной температуре непосредственно перед анализом. Также существуют варианты, в которых вместо диспергирующего агента используют УЗ-обработку. Так, авторами работы [80] рассмотрена возможность определения шести ПАУ из воды методом UA-SFOD-DLLME с пределами ВЭЖХ-УФД-определения от 0.17 до 2.6 мкг/л и степенью извлечения от 83 до 96%.

Известен также метод деэмульсификационной экстракции SD-DLLME (solvent-based demulsification dispersive liquid–liquid microextraction), в котором исключена стадия центрифугирования и для разделения экстрагирующей смеси метиленхлорид–*n*-гексан (1 : 1) и диспергирующего агента (ацетонитрила) использовали этанол в качестве деэмульгирующего растворителя [81]. В данной модификации пределы ГХ-МС/МС-определения для 15 ПАУ составили от 2.1 до 14 нг/л.

Общим недостатком перечисленных выше методов дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции является их невысокая эффективность, поскольку не обеспечивается достаточная площадь поверхности контакта фаз. При использовании растворителей с плотностью ниже воды необходимо учитывать возможность их быстрого испарения с поверхности раствора, что может приводить к потере некоторых аналитов и низкой воспроизводимости результатов.

Другой достаточно эффективный подход заключается в использовании в качестве экстрагента ионных жидкостей – IL-DLLME (ionic liquid based dispersive liquid–liquid microextraction), но его возможности мало изучены [82]. Некоторые аналитические характеристики при определении ПАУ в водных объектах вариантами DLLME приведены в табл. 2. При концентрировании аналитов методом DLLME в сочетании с газохроматографическим анализом экстракты можно анализировать сразу, а в случае ВЭЖХ-анализа требуется упаривание растворителя и повторное растворение в подходящем реактиве – метаноле или ацетонитриле, что создает определенные трудности.

Для анализа твердых образцов с использованием DLLME традиционная схема анализа требует корректирования. Перед проведением микро-

Таблица 2. Некоторые аналитические характеристики при определении ПАУ в водных объектах вариантами DLLME

Способ экстракции/ метод детектирования	ПАУ	Экстрагент/ диспергирующий агент	ПО, мкг/л	R, %	ЛДК, мкг/л	Литера- тура
DLLME / GX-ПВД	Нафталин	Ацетон/тетра- хлорэтилен	0.010	99	0.02–200	[74]
	Аценафтилен		0.010	97	0.02–200	
	Аценафтен		0.070	82	0.02–200	
	Флуорен		0.080	92	0.02–200	
	Фенантрен		0.090	99	0.02–200	
	Антрацен		0.090	95	0.02–100	
	Флуорантен		0.010	91	0.02–200	
	Пирен		0.010	111	0.02–200	
	Бензфлуорен		0.010	101	0.02–20	
	Бенз[а]антрацен		0.010	103	0.02–20	
	Хризен		0.010	94	0.02–20	
	Бенз[е]аценафтилен		0.015	88	0.05–20	
	Бенз[е]пирен		0.015	102	0.05–20	
	Бенз[а]пирен		0.020	102	0.05–20	
	Перилен		0.020	96	0.05–20	
	Бенз[g,h,i]перилен		0.030	101	0.05–20	
VSA-DLLME/GX-МС	Нафталин	Дихлорме- тан/встряхова- ние на вортексе	0.002	82	0.010–0.200	[77]
	Аценафтилен		0.002	82	0.010–0.200	
	Аценафтен		0.002	83	0.010–0.200	
	Флуорен		0.002	85	0.010–0.200	
	Фенантрен		0.002	82	0.010–0.200	
	Антрацен		0.002	83	0.010–0.200	
	Флуорантен		0.002	86	0.010–0.200	
	Пирен		0.003	84	0.010–0.200	
	Хризен		0.003	76	0.010–0.200	
	Бенз[а]антрацен		0.003	81	0.010–0.200	
	Бенз[b]флуорантен		0.002	77	0.010–0.200	
	Бенз[k]флуорантен		0.003	74	0.010–0.200	
	Бенз[а]пирен		0.003	84	0.010–0.200	
	Дибенз[a,h]антрацен		0.005	78	0.010–0.200	
	Инден[1,2,3,-с,d]пирен		0.005	78	0.010–0.200	
	Бенз[g,h,i]перилен		5.0	74	0.010–0.200	
UDSA–DLLME /GX-МС	Аценафтилен	1-Гептанол/ встряхивание на вертикальном шейкере	0.025	98	0.2–100	[78]
	Аценафтен		0.022	97	0.2–100	
	Флуорен		0.030	98	0.2–100	
	Фенантрен		0.040	98	0.2–100	
	Антрацен		0.040	98	0.2–100	
	Флуорантен		0.032	99	0.2–100	
	Пирен		0.035	99	0.2–100	
	Бенз[а]антрацен		0.034	99	0.2–100	
	Бенз[b]флуорантен		0.025	100	0.2–100	
	Бенз[а]пирен		0.060	101	0.2–100	
	Инден[1,2,3,-с,d]пирен		0.060	95	0.2–100	
WLSME/GX-МС	Аценафтилен	1-Нонанол/ Triton X-100	0.022	97	0.2–100	[78]
	Аценафтен		0.024	102	0.2–100	
	Флуорен		0.029	103	0.2–100	
	Фенантрен		0.035	101	0.2–100	
	Антрацен		0.028	93	0.2–100	
	Флуорантен		0.070	102	0.2–100	
	Пирен		0.063	100	0.2–100	
	Бенз[а]антрацен		0.051	89	0.2–100	
	Бенз[b]флуорантен		0.120	91	0.5–100	
	Бенз[а]пирен		0.130	96	0.5–100	
	Инден[1,2,3,-с,d]пирен		0.130	97	0.5–100	

Таблица 2. Окончание

Способ экстракции/ метод детектирования	ПАУ	Экстрагент/ диспергирующий агент	ПО, мкг/л	R, %	ЛДК, мкг/л	Литера- тура
UA-SFODME/ВЭЖХ-УФ	Аценафтилен	1-Ундеканол/ УЗ-воздействие	0.22	90	10–400	[80]
	Антрацен		0.17	95	10–400	
	Флуорантен		1.13	97	10–400	
	Пирен		1.35	97	10–400	
	Бенз[а]антрацен		1.24	92	10–400	
	Бенз[а]пирен		2.62	84	10–400	
IL-DLLME/ВЭЖХ-ФЛД	Нафталин	Гексафторфос- фат 1-октил-3- метилимидазо- лия/ацетон	0.0017	92	0.20–200	[82]
	Аценафтен		0.0067	92	0.20–200	
	Флуорен		0.0007	95	0.05–40	
	Фенантрен		0.0004	98	0.02–20	
	Антрацен		0.0005	99	0.02–20	
	Флуорантен		0.0025	101	0.05–40	
	Пирен		0.0005	100	0.02–20	
	Хризен		0.0005	97	0.02–20	
	5-метилхризен		0.0004	100	0.02–20	
	Бенз[а]антрацен		0.0001	100	0.02–20	
	Бенз[b]флуорантен		0.0006	97	0.05–40	
	Бенз[k]флуорантен		0.0001	100	0.02–20	
	Бенз[а]пирен		0.0001	102	0.02–20	
	Бенз[e]пирен		0.0027	99	0.05–40	
	Дибенз[a,l]пирен		0.0005	95	0.02–20	
	Дибенз[a,h]антрацен		0.0003	90	0.05–40	
	Инден[1,2,3,-с,d]пирен		0.0016	100	0.02–20	
Бенз[g,h,i]перилен	0.0002	99	0.05–40			

Обозначения: ПО – предел обнаружения, R – степень извлечения, ЛДК – линейный диапазон концентраций.

экстракции необходимо предварительное извлечение аналитов в органический растворитель. В предложенном авторами работы [83] варианте DLLME для извлечения 15 ПАУ из донных отложений на первом этапе аналиты извлекали из образца в ацетонитрил при встряхивании на вортексе, затем смесью дихлорметан–ацетонитрил отделяли экстракт и проводили ВЭЖХ-ФЛД-анализ. Пределы определения ПАУ находились в диапазоне 2.3–6.8 мкг/кг при степени их извлечения от 73 до 97%. Высокая стабильность экстракционных систем наблюдается при использовании другого хлорорганического компонента – хлороформа, а пределы ГХ-МС-определения 20 ПАУ составили от 0.2 до 0.5 мкг/кг при степени их извлечения 98% [84].

Экстракционное вымораживание. Упрощение процесса пробоподготовки возможно за счет экстракционного вымораживания под действием центробежных сил (ЭВЦ). В этом случае извлечение, концентрирование аналитов и очистка экстрактов совмещаются в одну стадию [85]. Эффективность применения метода ЭВЦ при определении ПАУ в почвах и донных отложениях продемонстрировали авторы работы [86]: для определения 10 “легких” ПАУ предложена экстракционная смесь с 15% ацетонитрила. При

этом полученные пределы определения аналитов варьировали от 0.83 до 0.92 мкг/кг. Более универсальная методика, позволяющая определять ПАУ с числом бензольных колец до шести, предполагает использование содержащей не менее 50% ацетонитрила смеси, при этом предел ГХ-МС-определения “легких” ПАУ составил 5 мкг/кг, а “тяжелых” – 1 мкг/кг. Данная техника пробоподготовки сочетается как с ГХ-МС, так и ВЭЖХ-ФЛД/УФ, поскольку позволяет проводить анализ экстрактов непосредственно после проведения процедуры ЭВЦ без повторного растворения.

ТВЕРДОФАЗНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ

Варианты твердофазной экстракции приобрели популярность благодаря высокой воспроизводимости и степени извлечения целевых соединений, экономии дорогих растворителей, возможности автоматизации процесса и универсальности по отношению к объектам исследования, их успешно используют и для концентрирования ПАУ из воздуха на этапе пробоотбора [87, 88].

Для концентрирования и отделения целевых компонентов с последующим элюированием подходящим растворителем в традиционном варианте ТФЭ используют патрон с сорбентом, че-

рез который прокачивают объем исследуемой пробы в жидком или газообразном агрегатном состоянии [89]. Элюируют ПАУ из картриджей для ТФЭ обычно гексаном, гептаном, ацетоном, ацетонитрилом, бензолом, дихлорметаном или их смесями [90].

Сорбенты на основе силикагеля. Для извлечения ПАУ различного строения из природных объектов наиболее широко применяют силикагель, модифицированный различными функциональными группами, например аминопропилимидазолом [91], гуминовыми кислотами [92], графеном [93]. Наибольшее распространение для извлечения ПАУ из различных объектов получили силикагелевые сорбенты, модифицированные октил C_8 или октадецильными C_{18} группами [94–96]. Они могут использоваться непосредственно при реализации техники твердофазной экстракции или на стадии очистки в сочетании с другими вариантами извлечения [97, 98]. Для концентрирования содержащих не более двух колец ПАУ максимальная эффективность извлечения достигается с использованием силикагеля- C_8 , а для более тяжелых – только C_{18} [99]. Для концентрирования аналитов и очистки экстрактов от матричных компонентов эффективна комбинация сорбентов типа флорисил/силикагель- C_{18} /оксид алюминия [100].

Для извлечения ПАУ из твердых или вязких проб описан способ матричной дисперсионной твердофазной экстракции – MSPD (matrix solid phase dispersion) [101–103], где сорбенты или их смесь добавляют непосредственно в образец, при этом совмещаются процедуры извлечения и очистки экстракта. При необходимости для осушения образцов к смеси добавляют неорганическую соль, обычно сульфат натрия [104]. В данном варианте силикагель- C_{18} и флорисил обладают сопоставимой эффективностью извлечения ПАУ из донных отложений, а степени извлечения для различных компонентов варьируют в диапазоне 70–100%. Пределы ВЭЖХ-ФЛД-определения ПАУ в почвах находятся на уровне 0.01 мкг/кг [105]. Достоинствами такого варианта являются высокая интенсивность сорбции и десорбции, существенно ускоряющие пробоподготовку, постоянство объема сорбентов при контакте с органическими и водно-солевыми растворами. Сорбенты не требуют предварительного набухания, после проведения активации либо регенерации готовы к повторному использованию, проявляют достаточную химическую стабильность, хотя и уступают полимерным материалам.

Углеродные сорбенты. Для извлечения ПАУ из природных объектов описано применение углеродных материалов различной модификации [106]. Высокая эффективность биологически активного углерода отмечена при концентрирова-

нии ПАУ из природной воды [107] и воздуха [108]. Сильные сорбционные взаимодействия осложняют последующую десорбцию аналитов с углеродных материалов. Чаще активированный уголь применяют для ремидации природных объектов [109]. С сорбентов данного типа извлечение ПАУ органическим растворителем обычно не превышает 40%, наибольшую эффективность для их десорбции проявляет смесь типа толуол–метанол [110]. Использование черного углеродного сорбента для концентрирования ПАУ может быть эффективнее всех остальных типов сорбентов [111, 112], но определенная доля общей массы аналитов остается на углеродных сорбентах заключенной в порах и делает их недоступными для растворителя [113].

Хорошими сорбционными свойствами обладает новый тип углеродных сорбентов – биоуголь (biochar), получаемый пиролизом растительных материалов, в частности органических отходов [114, 115]. Внесение в почвы biochar повышает биодegradацию ПАУ, при этом не угнетается жизнедеятельность почвенных бактерий [116]. Степень извлечения ПАУ из biochar в аппарате Сокслета в зависимости от выбора растворителя может достигать 70% [117]. Пример извлечения ПАУ из воды описан в работе [118], но сами сорбенты эффективны при высоких концентрациях ПАУ, поэтому использование biochar в аналитических целях ограничено [119, 120].

Весьма привлекательно использование наномодификаций углерода для твердофазной экстракции ПАУ, реализуемой пропуском анализируемого образца через картридж с углеродными наночастицами или их добавлением непосредственно в образец, с последующим элюированием аналитов для хроматографирования. При ГХ-МС пределы определения ПАУ в водных объектах могут варьировать от 2.0 до 60 нг/л [121, 122].

Сорбционное концентрирование в проточных системах. Наряду с традиционными приемами твердофазной экстракции ПАУ, отметим применение проточных автоматизированных систем, состоящих из отдельных колонок для концентрирования аналитов и их хроматографического разделения с последующим детектированием. Для концентрирования ПАУ перспективным представляется использование фторуглеродных полимеров ввиду их малой реакционной способности. Авторы работ [123, 124] описали применение поливинилиденфторида и политетрафторэтилена для определения пяти ПАУ – нафталина, бифенила, аценафтена, антрацена и пирена – с пределами определения от 0.005 до 0.6 мкг/л. При этом недостатком подобных материалов является возможный эффект “памяти” при концентрировании гидрофобных аналитов. С помощью математического моделирования изучено поведение ПАУ на

силикагеле- C_{18} в условиях концентрирования в проточной сорбционно-хроматографической системе на примере нафталина и пирена [125]. Данный подход в сочетании со спектрофлуориметрическим детектированием позволил определить ПАУ на уровне 0.001–0.09 мкг/л.

Твердофазная микроэкстракция (SPME). В настоящее время часто используется вариант твердофазной микроэкстракции SPME (solid phase microextraction) – сорбция на специальное устройство с кварцевыми волокнами, покрытыми полимерной пленкой, например, полидиметилсилоксаном (ПДМС) [126]. В той или иной модификации SPME может применяться для анализа образцов в любом агрегатном состоянии. Поглощение аналитов проводят в устройстве в статическом режиме, после чего его переносят в инжектор газового хроматографа, где некоторое время выдерживают для десорбции ПАУ. При ВЭЖХ-анализе дополнительно требуется блок для термодесорбции.

Для повышения эффективности массопереноса при работе с твердыми образцами (почвы или донные отложения) применяют УЗ-обработку проб, встряхивание на вортексе или микроволновое разложение. При ГХ-МС-определении 16 ПАУ в донных отложениях эффективным оказалось сочетание SPME с предварительным микроволновым разложением пробы, при этом расходуется сравнительно небольшой объем органических растворителей (~10 мл), а степени извлечения аналитов достигают 70–110% с пределами определения 0.28–2.5 мкг/кг [127].

Известен способ, предполагающий нанесение пленки ионной жидкости на кварцевые волокна, предварительно покрытые мембраной, которая позволяет повысить стабильность работы пленки при десорбции аналитов [128, 129]. Проблемы хрупкости волокон и сравнительно малой площади их поверхности устраняют модификацией традиционной SPME: микроэкстракция в покрытие, нанесенное на магнитную мешалку [130], а также PAL SPME-Agrow – когда устройство содержит закрытое кварцевое волокно, позволяющее избежать загрязнения покрытий при контакте с воздухом [131]. Модифицированное устройство снабжено специальным наконечником, использование которого значительно увеличивает количество вводов проб. Данная модификация позволила достичь пределов ГХ-МС-определения разных ПАУ от 0.5 до 2.5 нг/л.

Во многих работах [132–134] при анализе природных объектов с использованием SPME продемонстрированы большие значения коэффициентов извлечения “легких” ПАУ. С другой стороны, высокие концентрации флуорантена, пирена, флуорена отмечаются в самой ПДМС-пленке (около 10 нг/г), что неминуемо приведет к повы-

шению предела определения, ухудшив тем самым метрологические показатели методики [135]. Можно также выделить ряд общих недостатков различных модификаций SPME: эффект “памяти”, хрупкость самих волокон и малая площадь поверхности контакта экстрагирующей системы и пробы, что не позволяет гарантировать количественное извлечение аналитов из образцов.

Молекулярно-импринтированные полимеры. Наряду с SPME приобрела популярность микроэкстракция с использованием молекулярно-импринтированных полимеров – MIP (molecularly imprinted polymer) [136]. Данная техника позволяет создавать MIP со специфическими свойствами для селективного извлечения аналитов. Синтез полимеров проводят с использованием целевого шаблона, функционального мономера и сшивающего агента, способных к дальнейшей самосборке при полимеризации [137]. Описано [138] успешное применение созданных на основе фенилтриметоксисилана MIP для экстракции ПАУ из морской воды с пределами их ГХ-МС-определения в диапазоне от 5.0 до 13 нг/л при степени извлечения от 90 до 100%. Для снижения стоимости процесса получения MIP предложено проводить синтез материалов на основе метакриловой кислоты [139]. Эффективность полученных сорбентов при извлечении из воды продемонстрирована на шести ПАУ с пределами определения 0.3–1.5 мкг/л. Однако широкое применение в качестве сорбентов MIP для экстракции суперэко-токсикантов из объектов окружающей среды ограничено существенными недостатками. Это – потеря способности распознавания аналитов материалами при анализе сложных объектов ввиду взаимодействия с матричными компонентами (в частности, ионами кальция и магния), снижение эксплуатационных характеристик сорбентов из-за их частой промывки [138, 140].

Магнитная твердофазная микроэкстракция. Одним из перспективных направлений концентрирования позиционируется применение магнитных наночастиц – магнитная твердофазная микроэкстракция – MSPME (magnetic solid-phase extraction) [141]. Метод применим для экспрессного определения группы приоритетных ПАУ в образцах природных вод. Так, авторы работы [142] в качестве экстракционной системы применяли гидрофобные магнитные наночастицы в среде октанола-1. Сорбент от раствора отделяли магнитом, последующую десорбцию ПАУ с поверхности частиц осуществляли ацетонитрилом при УЗ-обработке. Пределы ГХ-МС-определения аналитов при этом составили 0.04–0.21 мкг/л. Преимуществами данного подхода являются быстрый массоперенос, отсутствие необходимости центрифугирования, легкое отделение сорбированных на частицах компонентов от матрицы при помощи магнита. Широкому распространению

метода препятствует склонность магнитных частиц к агрегации в растворе ввиду избыточной свободной энергии [143], что можно устранить модификацией магнетита. Так, исследована [144] эффективность модифицированного полифураном магнетита для извлечения нафталина, флуорена и антрацена из образцов воды и мочи, при этом пределы ГХ-ПИД-определения составили 5–20 нг/л.

В концепции “зеленой химии” актуальным становится применение в качестве сорбента иммобилизованных на магнетит ионных жидкостей. При использовании наночастиц состава $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MPS}@\text{IL}$ для ВЭЖХ-ФЛД-определения ПАУ в кофе пределы определения составили 0.5–34 нг/л [145]. Использование магнитных наночастиц с привитой фазой ионной жидкости для извлечения ПАУ из воды позволило добиться довольно низких пределов ВЭЖХ-ФЛД-определения флуорена, антрацена, пирена, бенз[а]антрацена и бенз[а]пирена в диапазоне 0.1–2 нг/л [146].

Сочетание MIP и MSPME позволило разработать сферические частицы из винилового полимера, нанесенные на магнетит – PAM-magMIP (“nanoMUP”, Испания), за счет которых происходит селективное извлечение ПАУ, при этом пределы ВЭЖХ-ФЛД/УФ-определения некоторых ПАУ в воде составили от 4 до 50 нг/л [147]. Для более гидрофильных ПАУ, несмотря на высокие степени извлечения большинства соединений (98–100%), пределы определения являются довольно высокими – от 80 до 3200 нг/л при степени извлечения не выше 60%.

Отбор и концентрирование ПАУ из воздуха. Самым простым способом отбора и концентрирования ПАУ из воздуха является пассивный отбор образцов воздуха при помощи специализированных картриджей или различных устройств с соответствующим покрытием [148, 149]. Популярность пассивных пробоотборников обусловлена простотой и удобством их использования, не требуются аспираторы для пробоотбора [150–154]. Большинство таких пробоотборников функционирует на основе явления молекулярной диффузии, поэтому продолжительность экспозиции может исчисляться неделями. При активном пробоотборе необходимый объем воздуха прокачивают через сорбенты различного состава, кварцевые фильтры или их комбинации с последующим извлечением аналитов из данных материалов [155].

Одним из наиболее распространенных материалов для отбора проб воздуха при определении ПАУ является пенополиуретан, известный также как PUF [156–158]. Несмотря на его популярность, он обладает сравнительно невысокой емкостью, возможен проскок летучих аналитов [159, 160]. В качестве альтернативы PUF можно рас-

сматривать полимерные смолы XAD [161], состоящие из конгломерата большого числа микросфер. Эффективность полимера обусловлена его структурой – в процессе поглощения примесей гидрофобная часть молекулы токсичного вещества адсорбируется на гидрофобной поверхности полистирольного адсорбента посредством вандер-ваальсовых взаимодействий. Адсорбирующиеся соединения не проникают глубоко в микросферы полимера, что позволяет достаточно легко десорбировать целевые компоненты. При сравнении в лабораторных условиях сорбентов различной пористости (XAD-2, XAD-4 и XAD-16) установлено, что лучшими показателями эффективности при пробоотборе ПАУ характеризуется модификация сорбента XAD-4, что, скорее всего, связано с более развитой структурой микропор [162]. С другой стороны, отмечена [163] его малая эффективность по отношению к “тяжелым” ПАУ.

Весьма популярными являются устройства для SPME в качестве пассивного пробоотборника [164]. Ряд публикаций [165–167] посвящен успешному применению метода SPME при определении ПАУ в воздухе. В случае скрининга веществ данного класса небольшой объем воздуха прокачивают через устройство для SPME, после чего его вводят в инжектор хроматографа для десорбции и последующего анализа (рис. 2).

Интересное решение предложено авторами работы [169] при определении ПАУ в воздухе сочетанием фильтров XAD-2 с SPME, где после отбора проб воздуха на фильтр аналиты десорбировали в растворитель, затем при воздействии микроволнового излучения на экстракт сорбировали аналиты на волокно SPME и переносили его в инжектор ГХ-МС. Степень извлечения ПАУ (нафталина, аценафтилена, аценафтена, флуорена, фенантрена, антрацена, флуорантена и пирена) с использованием такой схемы анализа составила 85–108%.

Термодесорбция. Перспективным способом извлечения и детектирования сконцентрированных в сорбционной трубке ПАУ представляется метод термодесорбции (ТДС) в сочетании с хромато-масс-спектрометрическим детектированием. Заполнение сорбционных трубок при этом бывает однослойное или комбинированное. Описано [170] успешное применение смеси сорбентов на основе углерода Carbotrap B (100 м²/г) и Carboxen-1000 (1200 м²/г, углеродные сита) при определении 87 органических загрязнителей воздуха, включая нафталин, со степенью извлечения 99%. Применение заполненных Carborack C (10 м²/г) и Carborack B (100 м²/г) термодесорбционных трубок для определения ПАУ позволило достичь пределов их ГХ-МС-определения на уровне 0.1 мкг/м³ при степени извлечения для низкомом-

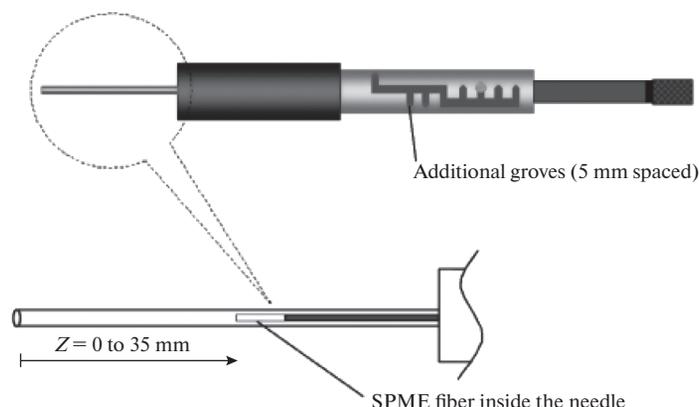


Рис. 2. Устройство SPME для извлечения ПАУ из воздуха [168].

лекулярных ПАУ 100%, высокомолекулярных 97–99% [171].

Для определения ПАУ и их окси- и нитропроизводных на частицах выхлопных газов с пределами определения 0.03–0.3 пг предложено сочетание ТДС с тандемной газовой хромато-масс-спектрометрией [172]. Весьма интересной представляется оригинальная схема определения ПАУ в воздухе помещений, где аналиты сорбировали на покрытой пленкой ПДМС мешалке, которую затем помещали в специальное устройство для термодесорбции [173]. Степени извлечения нафталина и некоторых высокомолекулярных ПАУ не превышали 75%, но извлечение аценафтилена, аценафтена, флуорена, фенантрена, антрацена, пирена и бенз[а]антрацена составило от 82 до 109%.

Нестандартным можно назвать способ концентрирования аналитов, когда на покрытые сорбентом алюминиевые пластинки наносили капли стандартных растворов 16 ПАУ. После улетучивания растворителя их разрезали и помещали в трубку из пирекса с заглушкой из стекловаты. Подготовленную трубку с добавкой ПАУ помещали вместо лайнера в инжектор, где вручную устанавливали температуру десорбции [174], пределы хромато-масс-спектрометрического определения аналитов при этом составили 0.005–0.137 нг/м³.

Пористый полимерный материал на основе 2,6-дифениленоксида Tenax TA (35 м²/г) показал себя перспективным сорбентом при определении ПАУ [175]. Материал характеризуется высокой улавливающей способностью по отношению к ПАУ и другим суперэтоксикантам и в зависимости от модификации способен выдерживать нагрев до 275–300°C. Сродство молекул ПАУ к частицам сорбента Tenax-TA сходно со связыванием ПАУ в почвах органическим веществом. Сравнительно низкая трудоемкость процесса термодесорбции и возможность его автоматизации позволяют говорить об этом способе как об

одном из наиболее эффективных при определении органических соединений в воздухе [176].

Поскольку ПАУ находятся в объектах окружающей среды в следовых количествах, перед исследователями стоит задача минимизации влияния фона сорбента на метрологические характеристики методики. Зачастую сорбенты приходится предварительно очищать кондиционированием при высокой температуре или длительной обработкой ультразвуком. Авторы работы [177] исследовали на наличие ПАУ стеклянные и кварцевые фильтры после предварительного 48-часового выдерживания при 400°C. Выяснилось, что стекловолоконные фильтры содержат большее количество аценафтилена и фенантрена (32–600 нг/мл) по сравнению с кварцевыми фильтрами (1.1–12 нг/л).

Наряду с очевидными достоинствами, методы ТФЭ характеризуются некоторыми недостатками: в случае, если анализируемая проба содержит твердые частицы, требуется предварительная фильтрация образца, на этой стадии возможна потеря аналитов. Кроме того, обычно требуется длительное время на подготовку устройства или сорбентов, что критично при проведении рутинных анализов.

Из существующего на сегодняшний день множества традиционных и новых вариантов пробоподготовки для целей экологического мониторинга ПАУ, определенную нишу заняли способы ТФЭ, из них – активно развивающиеся SPME, MSPME, MIP и их комбинации. Среди вариантов жидкостной экстракции лидирующее положение занимают способы с использованием многокомпонентных систем, такие как HLE, DLLME, МЭ и экстракционное вымораживание. Каждый из рассмотренных способов характеризуется экспрессностью, простотой исполнения и эффективностью извлечения ПАУ из природных объек-

тов. Стоит отметить тенденцию к стиранию границ между методами твердофазной и жидкостной экстракции и успешное применение их сочетаний. К примеру, комбинация MSPME и DLLME позволяет повысить эффективность экстракции ПАУ за счет применения модифицированных наночастиц и добиться высокой степени концентрирования аналитов. Интерес к этим методам возрастает в связи с возможностью их адаптации к автоматизированным системам анализа и сокращением времени экстракции, а также реализацией в них элементов “зеленой химии”.

Исследования проводились в рамках выполнения гранта РФФИ (№ 20-43-235001 “p_Наставник_Краснодар”) с использованием научного оборудования ЦКП “Эколого-аналитический центр” Кубанского государственного университета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kwon E.E., Castaldi M.J. Mechanistic understanding of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from the thermal degradation of tires under various oxygen concentration atmospheres // *Environ. Sci. Technol.* 2012. V. 46. P. 12921.
2. Davies I.W., Harrison R.M., Perry R., Ratnayaka D., Wellings R.A. Municipal incinerator as source of polynuclear aromatic hydrocarbons in environment // *Environ. Sci. Technol.* 1976. V. 10. P. 451.
3. Motelay-Massei A., Ollivon D., Garban B., Teil M.J., Blanchard M., Chevreuil M. Distribution and spatial trends of PAHs and PCBs in soils in the Seine River basin, Franc // *Chemosphere.* 2004. V. 55. P. 555.
4. Yamanaka T., Mizota C., Murae T., Hashimoto J. A currently forming petroleum associated with hydrothermal mineralization in a submarine caldera. Kagoshima Bay. Japan // *J. Geochem.* 1999. V. 33. P. 355.
5. Wilcke W. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil – A review // *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 2000. V. 163. P. 229.
6. Li C.-T., Zhuang H.-K., Hsieh L.-T., Lee W.-J., Tsao M.-C. PAH emission from incineration of three plastic wastes // *Environ. Int.* 2001. V. 27. P. 61.
7. Morillo E., Romero A. S., Maqueda C., Madrid L., Ajmone-Marsan F., Grzman H., Davidson C. M., Hursthouse A. S., Villaverde J. Soil pollution by PAHs in urban soils: a comparison of three European cities // *J. Environ. Monitor.* 2007. V. 9. P. 1001.
8. Hyotylainen T., Oikari A. Bioaccumulation of PAHs from creosote-contaminated sediment in a laboratory-exposed freshwater oligochaete. *Lumbriculus variegatus* // *Chemosphere.* 2004. V. 57. P. 159.
9. Темердашев З.А., Колычев И.А., Мусорина Т.Н., Аракелян Э.В. Хромато-масс спектрометрическая идентификация полиароматических углеводородов в термически измененных нефтепродуктах и продуктах термодеструкции органических материалов различного происхождения // *Журн. аналит. химии.* 2017. Т. 72. № 9. С. 845. (Temerdashev Z.A., Kolychev I.A., Musorina T.N., Arakel'yan E.V. Chromatography–mass spectrometry identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in thermally modified petroleum products and thermal destruction products of organic materials of various origins // *J. Anal. Chem.* 2017. T. 72. № 9. C. 999.)
10. Lemieux P.M., Lutes C.C., Santoianni D.A. Emissions of organic air toxics from open burning: A comprehensive review // *Prog. Energy Comb. Sci.* 2004. V. 30. P. 1.
11. Huang W., Huang B., Bi X., Lin Q., Liu M., Ren Z., Zhang G., Wang X., Sheng G., Fu J. Emission of PAHs, NPAHs and OPAHs from residential honeycomb coal briquette combustion // *Energy Fuels.* 2014. V. 28. P. 636.
12. Ray S., Khillare P.S., Agarwal T., Shridhar V. Assessment of PAHs in soil around the International Airport in Delhi, India // *J. Hazard. Mater.* 2008. V. 156. P. 9.
13. Seed T., Mutairi M.A. Volatile organic compounds (VOCs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the water-soluble fraction (WSF) of kerosene and aviation fuel in seawater // *Pak. J. Anal. Chem.* 2004. V. 5. P.77.
14. Lichtfouse É., Apitz S., Nanny M. The biogeochemistry of polycyclic aromatic hydrocarbons // *Org. Geochem.* 1999. V. 30. P. 873.
15. Park J.S., Wade T.L., Sweet S. Atmospheric distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons and deposition to Galveston Bay. Texas. USA // *Atmos. Environ.* 2001. V. 35. P. 3241.
16. СанПиН 1.2.3685-21. Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания. Официальный интернет-портал правовой информации www.pravo.gov.ru. N 0001202102030022. 2021. 645 с. (23.03.2021).
17. ATSDR, Case studies in environmental medicine toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) course. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. WB 1519, 2012. 68 p.
18. ATSDR, Decision support methodologies for human health assessment of toxic substances: Agency for Toxic Substances and Disease Registry’s perspectives on collaboration and infrastructure development among government, academia, and industry. Review in *Toxicology Letters.* Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1995. 283 p.
19. Jacob J. The significance of polycyclic aromatic hydrocarbons as environmental carcinogens. 35 years research on PAH—A retrospective // *Polycycl. Aromat. Compd.* 2008. V. 28. P. 242.
20. White P.A. The genotoxicity of priority polycyclic aromatic hydrocarbons in complex mixtures. Mutation research // *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 2002. V. 515. P. 85.
21. Keith L.H. The Source of U.S. EPA’s sixteen PAH priority pollutants // *Polycycl. Aromat. Compd.* 2014. V. 35. P. 147.
22. IARC, Inorganic and organic lead compounds / IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. France, 2004. V. 87. 529 p.

23. *Maliszewska-Kordybach B., Smreczak B., Klimkowicz-Pawlas A.* Monitoring of the total content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in arable soils in Poland // *Chemosphere*. 2008. V. 73. P. 1284.
24. *Kameda Y., Shirai J., Komai T., Nakanishi J., Masunaga S.* Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: size distribution. Estimation of their risk and their depositions to human respiratory tract // *Sci. Total. Environ.* 2005. V. 340. P. 71.
25. *De Boer J., Law R.J.* Developments in the use of chromatographic techniques in marine laboratories for the determination of halogenated contaminants and polycyclic aromatic hydrocarbons // *J. Chromatogr. A*. 2003. V. 1000. P. 223.
26. EPA 600/4-82-025. Determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in industrial and municipal wastewaters. Springfield: National Technical Information Service, 1982. 95 p.
27. *Gimeno R.A., Altelaar A.F.M., Marcé R.M., Borrull F.* Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic sulfur heterocycles by high-performance liquid chromatography with fluorescence and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry detection in seawater and sediment samples // *J. Chromatogr. A*. 2002. V. 958. P. 141.
28. ГОСТ 31860-2012. Вода питьевая. Метод определения содержания бенз(а)пирена. Москва: Стандартинформ, 2019. 16 с.
29. ФР. 131.2009.60214. Количественный химический анализ почв. Методика выполнения измерений массовых долей полициклических ароматических углеводородов в почвах, донных отложениях, осадках сточных вод и отходах производства и потребления методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Москва, 2009. 35 с.
30. EPA/600/R-95/131. Methods for the Determination of Organic Compounds in Drinking Water, Supplement III (Methods 504.1, 524.2, 525.2 and 551.1). Washington: US Environmental Protection Agency, 1995. 60 p.
31. EPA/625/R-96/010b. Compendium method TO-13A: determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in ambient air using gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS) / Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air. 2nd Ed. Cincinnati: US Environmental Protection Agency, 1999. 84 p.
32. *Baumard P., Budzinski H.* Internal standard quantification method and gas chromatograph-mass spectrometer (GC-MS): A reliable tool for polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) quantification in natural matrices // *Analisis*. 1997. V. 25. P. 246.
33. ГОСТ Р ИСО 12884-2007. Воздух атмосферный. Определение общего содержания полициклических ароматических углеводородов (в газообразном состоянии и в виде твердых взвешенных частиц). Отбор проб на фильтр и сорбент с последующим анализом методом хромато-масс-спектрометрии. Москва: Стандартинформ, 2008. 24 с.
34. МУК 4.1.1044-01. Хромато-масс-спектрометрическое определение полициклических ароматических углеводородов в воздухе. Москва: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2002. 64 с.
35. EPA/600/4-84/063. Method 610 polynuclear aromatic hydrocarbons, PART 136 guidelines establishing test procedures for the analysis of pollutants; appendix A: methods for organic chemical analysis of municipal and industrial wastewater. Washington: US Environmental Protection Agency, 2002. 25p.
36. *Poster D.L., Schantz M.M., Kucklick R.J., Lopez de Alda J.M., Porter J.B., Pugh R., Wise A.S.* Three new mussel tissue standard reference materials (SRMs) for the determination of organic contaminants // *Anal. Bioanal. Chem.* 2004. V. 378. P. 1213.
37. *Wu S., Yu W.* Liquid-liquid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in four different edible oils from China / *Food Chem.* 2012. V. 134. P. 597.
38. *Titato G.M., Lanças F.M.* Comparison between different extraction (LLE and SPE) and determination (HPLC and Capillary-LC) techniques in the analysis of selected PAHs in water samples // *J. Liq. Chrom. Relat. Technol.* 2005. V. 28. P. 3045.
39. *Shabeer T.P.A., Saha A., Gajbhiye V.T., Gupta S.* Optimization and validation of LLE/HPLC-DAD method to determine the residues of selected PAHs in surface water // *Int. J. Agric. Environ. Biotechnol.* 2013. V. 6. P. 241.
40. *Полякова О.В., Мазур Д.М., Артаев В.Б., Лебедев А.Т.* Определение полициклических ароматических углеводородов в воде методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии с ускоренной пробоподготовкой // *Масс-спектрометрия*. 2012. Т. 9. № 4. С. 215. (*Polyakova O.V., Mazur D.M., Artaev V.B., Lebedev A.T.* Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by gas chromatography/mass spectrometry with accelerated sample preparation // *J. Anal. Chem.* 2013. V. 68. № 13. P. 1099.)
41. *Brum D.M., Cassella R.J., Pereira Netto A.D.* Multivariate optimization of a liquid-liquid extraction of the EPA-PAHs from natural contaminated waters prior to determination by liquid chromatography with fluorescence detection // *Talanta*. 2008. V. 74. P. 1392.
42. *Kayali-Sayadi M.N., Rubio-Barroso S., Díaz-Díaz C.A., Polo-Díaz L.M.* Rapid determination of PAHs in soil samples by HPLC with fluorimetric detection following sonication extraction // *Fresenius J. Anal. Chem.* 2000. V. 368. P. 697.
43. *Другов Ю.С., Родин А.А.* Анализ загрязнений почвы и опасных отходов. Практическое руководство. Москва: БИНОМ, 2013. 469 с.
44. *Frenna S., Mazzola A., Orecchio S., Tuzzolino N.* Comparison of different methods for extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from Sicilian (Italy) coastal area sediments // *Environ. Monit. Assess.* 2012. V. 185. P. 5551.
45. *Priego-Lopez E., Luque de Castro M.D.* Ultrasound-assisted derivatization of phenolic compounds in spiked water samples before pervaporation, gas chromatographic separation, and flame ionization detection // *Chromatographia*. 2003. V. 57. P. 513.
46. *Luque de Castro M.D., Priego Capote F.* Analytical applications of ultrasound // *Tech. Instrum. Anal. Chem.* 2007. V. 26. P. 1.

47. *Ozcan S., Tor A., Aydin M.E.* Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in waters by ultrasound-assisted emulsification-microextraction and gas chromatography-mass spectrometry // *Anal. Chim. Acta.* 2010. V. 665. P. 193.
48. *Navarro P., Etxebarria N., Arana G.* Development of a focused ultrasonic-assisted extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediment and mussel samples // *Anal. Chim. Acta.* 2009. V. 648. P. 178.
49. *Yan J., Kim M., Haberl M., Kwok H., Brunswick P., MacInnis C., Shang D.* Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water using simplified liquid-liquid micro-extraction and pseudo-MRM GC/MS/MS // *Anal. Methods.* 2018. V. 10. P. 405.
50. *Banjoo D.R., Nelson P.K.* Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments // *J. Chromatogr. A.* 2005. V. 1066. P. 9.
51. *Song Y., Jing X., Fleischmann S., Wilke B.-M.* Comparative study of extraction methods for the determination of PAHs from contaminated soils and sediments // *Chemosphere.* 2002. V. 48. P. 993.
52. *Hayakawa K., Makino F., Yasuma M., Yoshida S., Chondo Y., Toriba A., Kameda T., Tang N., Kunugi M., Nakase H., Kinoshita C., Kawanishi T., Zhou Z., Qing W., Mishukov V., Tishchenko P., Lobanov V.B., Chizhova T., Koudryashova Y.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water of the southeastern Japan Sea // *Chem. Pharm. Bull.* 2016. V. 64. № 6. P. 625.
53. *Ozcan S., Tor A., Aydin M.E.* Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by miniaturized ultrasonic extraction and gas chromatography-mass selective detection // *Clean - Soil. Air. Water.* 2009. V. 37. P. 811.
54. *Темердашев З.А., Мусорина Т.Н., Киселева Н.В., Елецкий Б.Д., Червонная Т.А.* Хромато-масс-спектрометрическое определение полициклических ароматических углеводородов в поверхностных водах // *Журн. аналит. химии.* 2018. Т. 73. № 12. С. 897. (*Temerdashev Z.A., Musorina T.N., Kiseleva N.V., Chervonnaya T.A., Eletsii B.D.* Gas chromatography-mass spectrometry determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water // *J. Anal. Chem.* 2018. T. 73. № 12. C. 1154.)
55. *Saleh A., Yamini Y., Faraji M., Rezaee M., Ghambarian M.* Ultrasound-assisted emulsification microextraction method based on applying low density organic solvents followed by gas chromatography analysis for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples // *J. Chromatogr. A.* 2009. V. 1216. P. 6673.
56. *Akiyama R., Takagai Y., Igarashi S.* Determination of lower sub ppt levels of environmental analytes using high-powered concentration system and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection // *Analyst.* 2004. V. 129. P. 396.
57. *Tavakoli L., Yamini Y., Ebrahimzadeh H., Shariati S.* Homogeneous liquid-liquid extraction for preconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons using a water/methanol/chloroform ternary component system // *J. Chromatogr. A.* 2008. V. 1196-1197. P. 133.
58. *Hassan J., Izadib M., Homayonnejad S.* Application of low density homogeneous liquid-liquid extraction combined with GC for TPH and PAH determination in semi-micro solid samples // *J. Braz. Chem. Soc.* 2013. V. 24. P. 639.
59. *Shamsipur M., Hassan J.* A novel miniaturized homogeneous liquid-liquid solvent extraction-high performance liquid chromatographic-fluorescence method for determination of ultra traces of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment samples // *J. Chromatogr. A.* 2010. V. 1217. P. 4877.
60. *Дмитриенко С.Г., Аляри В.В., Горбунова М.В., Толмачева В.В., Золотов Ю.А.* Гомогенная жидкостная микроэкстракция органических соединений // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. № 11. С. 963. (*Dmitrienko S.G., Alyari V.V., Gorbunova M.V., Tolmacheva V.V., Zolotov Y.A.* Homogeneous liquid-liquid microextraction of organic compounds // *J. Anal. Chem.* 2020. T. 75. № 11. C. 1371.)
61. *Hosseini M.H., Rezaee M., Akbarian S., Mizani F., Pourjavid M.R., Arabieh M.* Homogeneous liquid-liquid microextraction via flotation assistance for rapid and efficient determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples // *Anal. Chim. Acta.* 2013. V. 762. P. 54.
62. *Zhu L., Synergistic S.F.* Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons by mixed anionic-nonionic surfactants // *Chemosphere.* 2002. V. 53. P. 459.
63. *Ferrer R., Beltran J.L., Guiteras J.* Optimization of an online precolumn preconcentration method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in water samples (river and sea water) // *Anal. Lett.* 1996. V. 29. P. 2201.
64. *Delgado B., Pino V., Ayala H.J., González V., Afonso M.A.* Nonionic surfactant mixtures: a new cloud-point extraction approach for the determination of PAHs in seawater using HPLC with fluorimetric detection // *Anal. Chim. Acta.* 2004. V. 518. P. 165.
65. *Ferrer R., Beltrh J.L., Guiteras J.* Use of cloud point extraction methodology for the determination of PAHs priority pollutants in water samples by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection and wavelength programming // *Anal. Chim. Acta.* 1996. V. 330. P. 199.
66. *Sicilia D., Rubio S., Pérez-Bendito D., Maniasso N., Zagatto E.A.G.* Anionic surfactants in acid media: a new cloud point extraction approach for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental // *Anal. Chim. Acta.* 1999. V. 392. P. 29.
67. *Zhao Q., Weise L., Li P., Yang K., Zhang Y., Dong D., Li P., Li X.* Ageing behavior of phenanthrene and pyrene in soils: A study using sodium dodecylbenzenesulfonate extraction // *J. Hazard. Mater.* 2010. V. 183. P. 881.
68. *Casero I., Sicilia D., Rubio S., Pe'rez-Bendito D.* An acid-induced phase cloud point separation approach using anionic surfactants for the extraction and preconcentration of organic compounds // *Anal. Chem.* 1999. V. 71. P. 4519.
69. *Merino F., Rubio S., Perez-Bendito D.* Acid-induced cloud point extraction and preconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental solid samples // *J. Chromatogr. A.* 2002. V. 962. P. 1.
70. *Goryacheva I.Y., Shtykov S.N., Loginov A.S., Panteleva I.V.* Preconcentration and fluorimetric determina-

- tion of polycyclic aromatic hydrocarbons based on the acid-induced cloud-point extraction with sodium dodecylsulfate // *Anal. Bioanal. Chem.* 2005. V. 382. P. 1413.
71. Song G., Lu C., Lin J.-M. Application of surfactants and microemulsions to the extraction of pyrene and phenanthrene from soil with three different extraction methods // *Anal. Chim. Acta.* 2007. V. 596. P. 312.
 72. Толмачева Н.Г., Чжан М., Пирогов А.В., Попик М.В., Шпигун О.А. Применение микроэмульсии для извлечения, концентрирования и определения десяти ПАУ из различных типов почв // *Журн. аналит. химии.* 2017. Т. 72. № 6. С. 515. (Tolmacheva N.G., Zhang M., Pirogov A.V., Popik M.V., Shpigun O.A. Application of microemulsions to the recovery, pre-concentration, and determination of ten surfactants from various soils // *J. Anal. Chem.* 2017. V. 72. P. 602.)
 73. Yan H., Wang H. Recent development and applications of dispersive liquid-liquid microextraction // *J. Chromatogr. A.* 2013. V. 1295. P. 1.
 74. Rezaee M., Assadi Y., Hosseini M.-R. M., Aghae E., Ahmadi F., Berijani S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction // *J. Chromatogr. A.* 2006. V. 1116. P. 1.
 75. Kamankesha M., Mohammadia A., Hosseinia H., Modarres Z. Rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meat using microwave assisted extraction and dispersive liquid-liquid microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry // *Eur. Food Res. Technol.* 2015. V. 240. P. 441.
 76. Avino P., Notardonato I., Perugini L., Russo M.V. New protocol based on high-volume sampling followed by DLLME-GC-IT/MS for determining PAHs at ultra-trace levels in surface water samples // *Microchem. J.* 2017. V. 133. P. 251.
 77. Zheng J., Liu B., Ping J., Chen B., Wu H., Zhang B. Vortex- and shaker-assisted liquid-liquid microextraction (VSA-LLME) coupled with gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS) for analysis of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in offshore produced water // *Water Air Soil Pollut.* 2015. V. 226. P. 318.
 78. Tseng W.-C., Chen P.-S., Huang S.-D. Optimization of two different dispersive liquid-liquid microextraction methods followed by gas chromatography-mass spectrometry determination for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) analysis in water // *Talanta.* 2014. V. 120. P. 425.
 79. Mansour F.R., Danielson N.D. Solidification of floating organic droplet in dispersive liquid-liquid microextraction as a green analytical tool // *Talanta.* 2017. V. 170. P. 22.
 80. Song X., Zhang S., Li T. A novel method for PAHs in aqueous samples based on ultrasound-assisted solidified floating organic drop microextraction // *IOP Conf. Series: Earth Environ. Sci.* 2018. V. 121. P. 1.
 81. Zhu J., Wang Q., Li M., Ren L., Zheng B., Zou X. Binary mixed solvent-based solvent demulsification-dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry in determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples // *Anal. Methods.* 2017. V. 12. P. 1.
 82. Pena T., Casais C., Mejuto C., Cela R. Development of an ionic liquid based dispersive liquid-liquid microextraction method for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples // *J. Chromatogr. A.* 2009. V. 1216. P. 6356.
 83. Leng G., Lui G., Chen Y., Yin H., Dan D. Vortex-assisted extraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment by high performance liquid chromatography // *J. Sep. Sci.* 2012. V. 00. P. 1.
 84. Темердашев З.А., Мусорина Т.Н., Червонная Т.А. Хромато-масс-спектрометрическое определение полициклических ароматических углеводородов в почвах и донных отложениях с применением техники дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. № 8. С. 1. (Temerdashev Z.A., Musorina T.N., Chervonnaya T.A. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil and bottom sediments by gas chromatography-mass spectrometry using dispersive liquid-liquid microextraction // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 8. P. 1000.)
 85. Бехтерев В.Н., Гаврилова С.Н., Шипанов И.Н. Применение экстракционного вымораживания на этапе предварительной подготовки биопроб в ГХ-МС химико-токсикологическом анализе // *Судебная медицина.* 2019. Т. 62. № 6. P. 53.
 86. Темердашев З.А., Червонная Т.А., Мусорина Т.Н., Бехтерев В.Н. Пробоподготовка почв и донных отложений с использованием техники экстракционного вымораживания при хроматомасс-спектрометрическом определении ПАУ // *Аналитика и контроль.* 2020. Т. 24. № 4. С. 287.
 87. McDowall R.D. Sample preparation for biochemical analysis // *J. Chromatogr.* 1989. V. 492. P. 3.
 88. Marcé R., Borrull F. Solid-phase extraction of polycyclic aromatic compounds // *J. Chromatogr. A.* 2000. V. 885. P. 273.
 89. Van Drooge B.L., Nikolova I., Ballesta P.P. Thermal desorption gas chromatography-mass spectrometry as an enhanced method for the quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons from ambient air particulate matter // *J. Chromatogr. A.* 2009. V. 1216. P. 4030.
 90. Buszewski B., Szultka M. Past, present, and future of solid phase extraction: A review // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2012. V. 42. P. 198.
 91. Wang N., Guo Y., Wang L., Liang X., Liu S., Jiang S. Preparation of an aminopropyl imidazole-modified silica gel as a sorbent for solid-phase extraction of carboxylic acid compounds and polycyclic aromatic hydrocarbons // *Analyst.* 2014. V. 139. P. 2531.
 92. Luo D., Yu Q.-W., Yin H.-R., Feng Y.Q. Humic acid-bonded silica as a novel sorbent for solid-phase extraction of benzo[a]pyrene in edible oils // *Anal. Chim. Acta.* 2007. V. 588. P. 261.
 93. Huang K.-J., Liu Y.-J., Li J., Gan T., Liu Y.-M. Ultra-trace determination of polycyclic aromatic hydrocarbons using solid-phase extraction coupled with HPLC based on graphene-functionalized silica gel composites // *Anal. Methods.* 2014. V. 6. P. 194.
 94. Kiss G., Varga-Puchony Z., Hlavay J. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in precipitation us-

- ing solid-phase extraction and column liquid chromatography // *J. Chromatogr. A*. 1996. V. 725. P. 261.
95. *Brown J.N., Peake B.M.* Determination of colloiddally-associated polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fresh water using C₁₈ solid phase extraction disks // *Anal. Chim. Acta*. 2003. V. 486. P. 159.
 96. *Krauss M., Wilcke W.* Biomimetic extraction of PAHs and PCBs from soil with octadecyl-modified silica disks to predict their availability to earthworms // *Environ. Sci. Technol.* 2001. V. 35. P. 3931.
 97. *Ahmad U.K., Ujang Z., Woon C.H., Indran S., Mian M.N.* Development of extraction procedures for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in municipal sewage sludge // *Water Sci. Technol.* 2004. V. 50. P. 137.
 98. *Sun F., Littlejohn D., David Gibson M.* Ultrasonication extraction and solid phase extraction clean-up for determination of US EPA 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons in soils by reversed-phase liquid chromatography with ultraviolet absorption detection // *Anal. Chim. Acta*. 1998. V. 364. P. 1.
 99. *Liu Y., Lee M.L., Hageman K.J., Yang Y., Hawthorne S.B.* Solid-phase microextraction of PAHs from aqueous samples using fibers coated with HPLC chemically bonded silica stationary phases // *Anal. Chem.* 1997. V. 69. P. 5001.
 100. *Dąbrowska H., Dąbrowski Ł., Biziuk M., Gaca J., Namieśnik J.* Solid-phase extraction clean-up of soil and sediment extracts for the determination of various types of pollutants in a single run // *J. Chromatogr. A*. 2003. V. 1003. P. 29.
 101. *Barker S.A.* Matrix solid-phase dispersion (MSPD). Review // *J. Biochem. Biophys. Methods*. 2007. V. 70. P. 151.
 102. *Barker S.A., Long A.R.* Preparation of milk samples for immunoassay and HPLC screening using matrix solid phase dispersion // *J. AOAC. Int.* 1994. V. 77. P. 848.
 103. *Barker S.A., Long A.R., Hines M.E.* The disruption and fractionation of biological materials by matrix solid phase dispersion // *J. Chromatogr.* 1993. V. 629. P. 23.
 104. *Pena M.T., Casais M.C., Mejuto M.C., Cela R.* Development of a matrix solid-phase dispersion method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge samples // *Anal. Chim. Acta*. 2008. V. 626. P. 155.
 105. *Pena M.T., Casais M.C., Mejuto M.C., Cela R.* Optimization of the matrix solid-phase dispersion sample preparation procedure for analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils: Comparison with microwave-assisted extraction // *J. Chromatogr. A*. 2007. V. 1165. P. 32.
 106. *Гончарова Е.Н., Статкус М.А., Цизин Г.И., Золотов Ю.А.* Пористый графитированный углерод для разделения и концентрирования гидрофильных веществ // *Журн. аналит. химии*. 2020. Т. 75. № 4. С. 291. (*Goncharova E.N., Statkus M.A., Tsizin G.I., Zolotov Y.A.* Porous graphitized carbon for the separation and preconcentration of hydrophilic substances // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 4. P. 423.)
 107. *Augulyte L., Kliugaite D., Racys V., Jankunaite D., Zaliauskiene A., Bergqvist P.A., Andersson L.P.* Multivariate analysis of a biologically activated carbon (BAC) system and its efficiency for removing PAHs and aliphatic hydrocarbons from wastewater polluted with petroleum products // *J. Hazard. Mater.* 2009. V. 170. P. 103.
 108. *Zacharia R., Ulbricht H., Hertel T.* Interlayer cohesive energy of graphite from thermal desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons // *Phys. Rev. B*. 2004. V. 69. P. 72.
 109. *Hale E.S., Meynet P., Davenport J. R., Jones D.M., Werner D.* Changes in polycyclic aromatic hydrocarbon availability in River Tyne sediment following bioremediation treatments or activated carbon amendment // *Water Research*. 2010. V. 44. P. 4529.
 110. *Jonker M.T.O., Koelmans A.A.* Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soot and sediment: Solvent evaluation and implications for sorption mechanism // *Environ. Sci. Technol.* 2002. V. 36. P. 4107.
 111. *Cornelissen G., Kukulska Z., Kalaitzidis S., Christanis K., Gustafsson Ö.* Relations between environmental black carbon sorption and geochemical sorbent characteristics // *Environ. Sci. Technol.* 2004. V. 38. P. 3632.
 112. *Accardi-Dey A., Gschwend P.M.* Reinterpreting literature sorption data considering both absorption into organic carbon and adsorption onto black carbon // *Environ. Sci. Technol.* 2003. V. 37. P. 99.
 113. *Cornelissen G., Gustafsson Ö.* Effects of added PAHs and precipitated humic acid coatings on phenanthrene sorption to environmental black carbon // *Environ. Pollut.* 2006. V. 141. P. 526.
 114. *Oleszczuk P., Hale S. E., Lehmann J., Cornelissen G.* Activated carbon and biochar amendments decrease pore-water concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sewage sludge // *Bioresour. Technol.* 2012. V. 111. P. 84.
 115. *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*. 1st Ed. / Eds. Lehmann J., Joseph S. London · Sterling, VA: Earthscan, 2009. P. 89.
 116. *Kong L., Gao Y., Zhou Q., Zhao X., Sun Z.* Biochar accelerates PAHs biodegradation in petroleum-polluted soil by biostimulation strategy // *J. Hazard. Mater.* 2018. V. 343. P. 276.
 117. *Hilber I., Blum F., Leifeld J., Schmidt H.-P., Bucheli T.D.* Quantitative determination of PAHs in biochar: A prerequisite to ensure its quality and safe application // *J. Agric. Food Chem.* 2012. V. 60. P. 3042.
 118. *Janus A., Goulas A., Pelfrène A., Douay F., Waterlot C.* Determination of PAHs by ultra fast liquid chromatography using a core-shell technology – Application to their determination after using biochar as adsorbent // *Measurement*. 2017. V. 4702. P. 1.
 119. *Wang C., Wang Y., Herath H.M.S.K.* Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in biochar – Their formation, occurrence and analysis: A review // *Org. Geochem.* 2017. V. 114. P. 1.
 120. *Fabbri D., Rombolà A.G., Torri C., Spokas K.A.* Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in biochar and biochar amended soil // *J. Anal. Appl. Pyrolysis*. 2013. V. 103. P. 60.
 121. *Ma J., Xiao R., Li J., Yu J., Zhang Y., Chen L.* Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water samples by solid-phase extraction using

- multi-walled carbon nanotubes as adsorbent coupled with gas chromatography–mass spectrometry // *J. Chromatogr. A*. 2010. V. 1217. P. 5462.
122. Jiménez-Soto J.M., Cárdenas S., Valcárcel M. Evaluation of single-walled carbon nanohorns as sorbent in dispersive micro solid-phase extraction // *Anal. Chim. Acta*. 2012. V. 714. P. 76.
 123. Oliferova L., Statkus M., Tsysin G., Shpigun O., Zolotov Y. On-line solid-phase extraction and HPLC determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water using fluorocarbon polymer sorbents. // *Anal. Chim. Acta*. 2005. V. 538. № 1–2. P. 35.
 124. Oliferova L., Statkus M., Tsysin G., Zolotov Y. On-line solid-phase extraction and high performance liquid chromatography determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water using polytetrafluoroethylene capillary // *Talanta*. 2007. V. 72. P. 1386.
 125. Статкус М.А., Кадомцева Е.Н., Цизин Г.И. Проточное сорбционно-жидкостно-хроматографическое определение полициклических ароматических углеводородов в водных растворах: выбор условий концентрирования // *Журн. аналит. химии*. 2010. Т. 65. № 2. С. 124. (Statkus M.A., Kadomtseva E.N., Tsizin G.I. On-line adsorption-liquid-chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous solutions: selection of pre-concentration conditions // *J. Anal. Chem.* 2010. V. 65. № 2. P. 120.)
 126. Ouyang G. SPME and environmental analysis / *Handbook of Solid Phase Microextraction*. 2012. V. 8. P. 251.
 127. Rocha M.J., Rocha E., Cruzeiro C., Ferreira P.C., Reis P.A. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in coastal sediments from the Porto Region (Portugal) by microwave-assisted extraction. Followed by SPME And GC–MS // *J. Chromatogr. Sci.* 2011. V. 49. P. 695.
 128. Hsieh Y.-N., Huang P.-C., Sun I.-W., Whang T.-J., Hsu C.-Y., Huang H.-H., Kuei C.-H. Nafion membrane-supported ionic liquid-solid phase microextraction for analyzing ultra trace PAHs in water samples // *Anal. Chim. Acta*. 2006. V. 557. P. 321.
 129. Wei G.T., Yang Z., Chen C.J. Room temperature ionic liquid as a novel medium for liquid/liquid extraction of metal ions // *Anal. Chim. Acta*. 2003. V. 488. P. 183.
 130. Sanchez-Rojas F., Bosch-Ojeda C., Cano-Pavon J.M. A Review of stir bar sorptive extraction // *Chromatographia*. 2009. V. 69. P. 79.
 131. Kremser A., Jochmann M.A., Schmidt T.C. PAL SPME Arrow – evaluation of a novel solid-phase microextraction device for freely dissolved PAHs in water // *Anal. Bioanal. Chem.* 2016. V. 408. P. 943.
 132. Koziel J.A., Odziemkowski M., Pawliszyn J. Sampling and analysis of airborne particulate matter and aerosols using in-needle trap and SPME fiber devices // *Anal. Chem.* 2001. V. 73. P. 47.
 133. Doong R., Chang S., Sun Y. Solid-phase microextraction and headspace solid-phase microextraction for the determination of high molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons in water and soil samples // *J. Chromatogr. Sci.* 2000. V. 38. P. 528.
 134. Eriksson M., Fäldt J., Dalhammar G., Borg-Karlson A.-K. Determination of hydrocarbons in old creosote contaminated soil using headspace solid phase microextraction and GC–MS // *Chemosphere*. 2001. V. 44. P. 1641.
 135. Söderström H.; Hajšlová J., Kocourek V., Siegmund B., Kocan A., Obiedzinski W. M., Tysklind M., Bergqvist P.-A. PAHs and nitrated PAHs in air of five European countries determined using SPMDs as passive samplers // *Atmospheric Environ.* 2005. V. 39. P. 1627.
 136. Advincula R.C. Engineering molecularly imprinted polymer (MIP) materials: Developments and challenges for sensing and separation technologies // *Korean J. Chem. Eng.* 2011. V. 28. P. 1313.
 137. Ho W.L., Lin T.C., Liu Y.Y., Chen J.A. Analysis of smoke PAHs from selected Taiwanese cigarettes by using molecular imprinting polymers // *J. Environ. Sci. Health B. Part A*. 2010. V. 45. P. 211.
 138. Song X., Li J., Xu S., Ying R., Ma J., Liao C., Liu D., Yu J., Chen L. Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in seawater using molecularly imprinted solid-phase extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry // *Talanta*. 2012. V. 99. P. 75.
 139. Krupadam R.J., Khan M.S., Wate S.R. Removal of probable human carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated water using molecularly imprinted polymer // *Water Research*. 2010. V. 44. P. 681.
 140. Turiel E., Martin-Esteban A. Molecularly imprinted polymers for sample preparation: A review // *Anal. Chim. Acta*. 2010. V. 668. P. 87.
 141. Huang D., Deng C., Zhang X. Functionalized magnetic nanomaterials as solid-phase extraction adsorbents for organic pollutants in environmental analysis // *Anal. Methods*. 2014. V. 6. P. 7130.
 142. Shi Z.G., Lee H.K. Dispersive liquid–liquid microextraction coupled with dispersive μ -solid-phase extraction for the fast determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water samples // *Anal. Chem.* 2010. V. 82. P. 1540.
 143. Petersson K., Ilver D., Johansson C., Krozer A. Brownian motion of aggregating nanoparticles studied by photon correlation spectroscopy and measurements of dynamic magnetic properties // *Anal. Chim. Acta*. 2006. V. 573–574. P. 138.
 144. Amiri A., Baghayeri M., Kashmari M. Magnetic nanoparticles modified with polyfuran for the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons prior to their determination by gas chromatography // *Mikrochim. Acta*. 2016. V. 183. P. 149.
 145. Shi Y., Wu H., Wang C., Guo X., Du J., Du L. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee and tea samples by magnetic solid-phase extraction coupled with HPLC–FLD // *Food Chem.* 2016. V. 199. P. 75.
 146. Liu X., Lu X., Huang Y., Liu C., Zhao S. Fe₃O₄ ionic liquid methyl orange nanoparticles as a novel nano-adsorbent for magnetic solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water samples // *Talanta*. 2014. V. 119. P. 341.

147. Villar-Navarro M., Martín-Valero M.J., Fernández-Torres R.M., Callejón-Mochón M., Bello-López M.A. Easy, fast and environmental friendly method for the simultaneous extraction of the 16 EPA PAHs using magnetic molecular imprinted polymers (mag-MIPs) // *J. Chromatogr. B*. 2017. V. 1044–1045. P. 63.
148. Barroa R., Regueirob J., Llompert M., Garcia-Jares C. Analysis of industrial contaminants in indoor air: Part I. Volatile organic compounds, carbonyl compounds, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls // *J. Chromatogr. A*. 2009. V. 1216. P. 540.
149. Trabue S., Scoggin K., Mitloehner F., Li H., Burns R., Xin H. Field sampling method for quantifying volatile sulfur compounds from animal feeding operations // *Atmospheric Environ.* 2008. V. 42. P. 3332.
150. Possanzini M., Gigliucci P., Scianò M.C.T., Cecinato A. Determination of phase-distributed PAH in Rome ambient air by denuder/GC-MS method // *Atmospheric Environ.* 2004. V. 38. P. 1727.
151. Chaemfa C., Barber J.L., Gocht T., Harner T., Holoubek I., Klanova J., Jones K.C. Field calibration of polyurethane foam (PUF) disk passive air samplers for PCBs and OC pesticides // *Environ. Pollut.* 2008. V. 156. P. 1290.
152. Harner T., Farrar N.J., Shoeib M., Jones K.C., Gobas F.A.P.C. Characterization of polymer coated glass as a passive air sampler for persistent organic pollutants // *Environ. Sci. Technol.* 2003. V. 37. P. 2486.
153. Hayward S.J., Lei Y.D., Wania F. Sorption of a diverse set of organic chemical vapors onto XAD-2 resin: measurement, prediction and implications for air sampling // *Atmospheric Environ.* 2011. V. 45. P. 296.
154. Bartkow M.E., Booij K., Kennedy E.K., Müller F.J., Hawker W.D. Passive air sampling theory for semivolatile organic compounds // *Chemosphere*. 2005. V. 60. P. 170.
155. Pandey S.K., Kim K.-H., Brown J.C. R. A review of techniques for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in air // *Trends Anal. Chem.* 2011. V. 30. P. 1716.
156. Iwata H., Tanabe S., Sakai N., Tatsukawa R. Distribution of persistent organochlorines in the oceanic air and surface seawater and the role of ocean on their global transport and fate // *Environ. Sci. Technol.* 1993. V. 21. P. 1080.
157. Li-bin L., Yan L., Jin-ming L., Ning T., Kazuichi H., Tsuneaki M. Development of analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in airborne particulates: A review // *J. Environ. Sci.* 2007. V. 19. P. 1.
158. Menichini E., Iacovella N., Monfredini F., Turrio-Baldassarri L. Atmospheric pollution by PAHs, PCDD/Fs and PCBs simultaneously collected at a regional background site in central Italy and at an urban site in Rome // *Chemosphere*. 2007. V. 69. P. 422.
159. Junk G. A., Richard J.J. Organics in water: solid phase extraction on a small scale // *Anal. Chem.* 1988. V. 60. P. 451.
160. Burdick N.F., Bidleman T.F. Frontal movement of hexachlorobenzene and polychlorinated biphenyl vapors through polyurethane foam // *Anal. Chem.* 1981. V. 53. P. 1926.
161. Galarneau E., Harner T., Shoeib M., Kozma M., Lane D. A preliminary investigation of sorbent-impregnated filters (SIFs) as an alternative to polyurethane foam (PUF) for sampling gas-phase semivolatile organic compounds in air // *Atmospheric Environ.* 2006. V. 40. P. 5734.
162. Lee J.J., Huang K.-L., Yu Y.Y., Chen M.S. Laboratory retention of vapor-phase PAHs using XAD adsorbents // *Atmospheric Environ.* 2004. V. 38. P. 6185.
163. Крылов А.И., Костюк И.О., Вольнец Н.Ф. Определение полиароматических углеводородов в воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с концентрированием и фракционированием на ХАД-2 // *Журн. аналит. химии*. 1995. Т. 50. № 5. С. 543. (Krylov A.I., Kostyuk I.O., Volynets N.F. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by high-performance liquid chromatography with preconcentration and fractionation on XAD-2 // *J. Anal. Chem.* 1995. V. 50. P. 543.)
164. Soderstrom H., Hajslova J., Kocourek V., Siegmund B., Kocand A., Obiedzinskie W.M., Tysklinda M., Bergqvist P.-A. PAHs and nitrated PAHs in air of five European countries determined using SPMDs as passive samplers // *Atmospheric Environ.* 2005. V. 39. P. 1627.
165. Vaz J. Screening direct analysis of PAHs in atmospheric particulate matter with SPME // *Talanta*. 2003. V. 60. P. 687.
166. Choi S., Baek S., Chang Y. Influence of a large steel complex on the spatial distribution of volatile polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) determined by passive air sampling using membrane-enclosed copolymer (MECOP) // *Atmospheric Environ.* 2007. V. 41. P. 6255.
167. Koziel J. A., Odziemkowski M., Pawliszyn J. Sampling and analysis of airborne particulate matter and aerosols using in-needle trap and SPME fiber devices // *Anal. Chem.* 2001. V. 73. P. 47.
168. Ouyang G., Pawliszyn J. Recent developments in SPME for on-site analysis and monitoring // *Trends Anal. Chem.* 2006. V. 25. P. 692.
169. Wei M.-C.i., Chang W.-T., Jen J.-F. Monitoring of PAHs in air by collection on XAD-2 adsorbent then microwave-assisted thermal desorption coupled with headspace solid-phase microextraction and gas chromatography with mass spectrometric detection // *Anal. Bioanal. Chem.* 2007. V. 387. P. 999.
170. Pankow J.F., Luo W., Isabelle L.M., Bender D.A., Baker R.J. Determination of a wide range of volatile organic compounds in ambient air using multisorbent adsorption/thermal desorption and gas chromatography/mass spectrometry // *Anal. Chem.* 1998. V. 70. P. 5213.
171. Li Y., Xian Q., Li L. Development of a short path thermal desorption–gas chromatography/mass spectrometry method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in indoor air // *J. Chromatogr. A*. 2017. V. 1497. P. 127.
172. Fushimi A., Hashimoto S., Ieda T., Ochiai N., Takazawa Y., Fujitani Y., Tanabe K. Thermal desorption –

- comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry for determination of trace polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives // *J. Chromatogr. A*. 2012. V. 1252. P. 164.
173. *Li X.-M., Zhang Q.-H., Wang P., Li Y.-M., Jiang G.-B.* Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in air by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography tandem mass spectrometry // *Chin. J. Anal. Chem.* 2011. V. 39. P. 1641.
174. *Ho S., Yu J.Z.* In-injection port thermal desorption and subsequent gas chromatography-mass spectrometric analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and *n*-alkanes in atmospheric aerosol samples // *J. Chromatogr. A*. 2004. V. 1059. P. 121.
175. *Павлюк Т.С., Ануфриев М.А., Пономарева О.Н.* Сорбционные трубки TENAX-ТА как эффективный инструмент при выполнении анализа воздушной среды методом газовой хроматографии // *Изв. ТулГУ. Естеств. науки*. 2016. Вып. 4. С. 75.
176. *John W. Russell* Analysis of air pollutants using sampling tubes and gas chromatography // *Environ. Sci. Technol.* 1975. V. 9-13. P. 1175.
177. *Delgado-Saborit J.M., Aquilina N., Baker S., Harrad S., Meddings C., Harrison R. M.* Determination of atmospheric particulate-phase polycyclic aromatic hydrocarbons from low volume air samples // *Anal. Methods*. 2010. V. 2. P. 231.

УДК 543.42,543.51

АНАЛИЗ ОКСИДА ЦЕРИЯ МАСС-СПЕКТРАЛЬНЫМ И АТОМНО-ЭМИССИОННЫМ МЕТОДАМИ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ

© 2021 г. Н. А. Короткова^а, К. В. Петрова^а*, В. Б. Барановская^а

^аИнститут общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова
Ленинский просп., 31, стр. 1, Москва, 119071 Россия

*e-mail: gkv007@mail.ru

Поступила в редакцию 12.04.2021 г.

После доработки 08.06.2021 г.

Принята к публикации 09.06.2021 г.

Разработаны методики многоэлементного анализа оксида церия высокой чистоты для изготовления люминофоров и оптических материалов с использованием масс-спектрометрии (МС-ИСП) и атомно-эмиссионной спектрометрии (АЭС-ИСП) с индуктивно связанной плазмой. Приведены результаты поиска и применения “устойчивых” настроек масс-спектрометра применительно к определению Fe, Ni, Cr, Co, Cu, V, Mn, PЗЭ в оксиде церия (скорость распылительного потока, скорость подачи образца в распылитель, глубина отбора плазмы, потенциал на линзе-экстракторе), позволяющих снизить влияние матрицы и, следовательно, использовать для анализа более концентрированные растворы. Оценено влияние матричного элемента при прямом анализе оксида церия методом АЭС-ИСП. Показаны преимущества комбинирования масс-спектрального и атомно-эмиссионного методов, позволяющие расширить круг определяемых элементов и повысить надежность анализа. В частности, применение метода АЭС-ИСП позволяет определять низкие содержания тербия в оксиде церия (предел определения тербия методом АЭС-ИСП составляет 1×10^{-4} мас. %), а также снизить пределы определения Fe и Pt в 4–5 раз по сравнению с методом МС-ИСП. Пределы определения целевых компонентов (Fe, Ni, Cr, Co, Cu, V, Mn, PЗЭ) в оксиде церия методами МС-ИСП и АЭС-ИСП лежат в интервале $n \times 10^{-6}$ – $n \times 10^{-4}$ мас. %.

Ключевые слова: анализ церия, оксид церия высокой чистоты для изготовления люминофоров и оптических материалов, масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой.

DOI: 10.31857/S0044450221120069

Редкоземельные металлы (РЗМ) находят применение во многих высокотехнологичных областях [1–4]. При этом большое значение имеет их химическая чистота. Так, при изготовлении люминофоров и оптических материалов используют оксид церия CeO_2 высокой чистоты (содержание основного вещества должно составлять не менее 99.99%) [5–7]. Критическими примесями в оксиде церия для люминофоров и оптических материалов являются окрашенные ионы Fe, Ni, Cr, Co, Cu, V, Mn, а также редкоземельные примеси, содержание которых не должно превышать 5×10^{-5} – 1×10^{-3} мас. %. Для обеспечения требований к целевой чистоте оксида церия необходимо использовать высокочувствительные, многоэлементные и точные методы анализа.

В последние годы наиболее востребованными для анализа чистых и высокочистых РЗМ являются методы масс-спектрометрии с индуктивно

связанной плазмой (МС-ИСП) и атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) [8–12]. Следует отметить, что число доступных отечественных и зарубежных публикаций, посвященных анализу церия и его соединений, невелико [13–15]. Кроме того, большинство работ в этой области посвящено способам определения только редкоземельных примесей, которые включают трудоемкие операции разделения и концентрирования. В то же время для обеспечения требований к чистоте оксида церия необходимо контролировать содержание и других элементов.

Цель данной работы – исследование и комбинирование методов МС-ИСП и АЭС-ИСП, что позволит выявить их потенциальные возможности и ограничения и при совместном применении решить задачу определения целевых компонентов (Fe, Ni, Cr, Co, Cu, V, Mn, а также РЗМ) в ок-

сиде церия с высокими чувствительностью и точностью.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Аппаратура. Для анализа методом МС-ИСП применяли квадрупольный масс-спектрометр XSeries II (Thermo Scientific, США) с охлаждаемой до 3°C конической распылительной камерой и распылителем SeaSpray. Измерения проводили частично при стандартных настройках масс-спектрометра: выходная мощность генератора 1300 Вт, вспомогательный поток 0.80 л/мин, плазмообразующий поток 13 л/мин, глубина плазмоотбора 100 усл. ед., расход потока аргона через распылитель 0.80 л/мин, скорость подачи образца 50 об/мин, потенциал на линзе-экстракторе –150 В. Влияние глубины плазмоотбора, расхода потока аргона через распылитель, скорости подачи образца, потенциала на линзе-экстракторе исследовали дополнительно. При всех настройках уровень оксидных ионов BaO^+/Ba^+ был меньше 3%, уровень двухзарядных ионов Ba^{++}/Ba^+ меньше 1.5%.

Для анализа методом АЭС-ИСП применяли атомно-эмиссионный спектрометр ICAP PRO XR (Thermo Electron Corp., США). Для достижения максимальной чувствительности измерения проводили в режиме аксиального обзора плазмы. Анализ методом АЭС-ИСП осуществляли при следующих настройках: выходная мощность генератора 1100 Вт, распылительный поток 0.60 л/мин, вспомогательный поток 0.35 л/мин, охлаждающий поток 10 л/мин, скорость перистальтического насоса 60 об/мин.

Реактивы и материалы. Использовали многоэлементные и одноэлементные стандартные растворы производства High-Purity Standards (США), азотную кислоту ос. ч. по ГОСТ 11125, фтористоводородную кислоту ос. ч. “27-5” ТУ 2612-007-66853262-2010, деионизованную воду с удельным сопротивлением 18.2 МОм/см. Рабочие растворы готовили из стандартных растворов последовательным разбавлением 2%-ной HNO_3 с добавлением HF. Использовали одноразовые пробирки из полипропилена объемом 15 и 50 мл производства Corning (США), мерные колбы по ГОСТ 1770-74, стаканы стеклянные по ГОСТ 25336 и т.д.

Методика разложения образцов оксида церия. К навеске 0.1 г приливали 1–2 мл дистиллированной воды, перемешивали и оставляли на 2–3 мин. Затем приливали 25 мкл плавиковой кислоты (HF) и 5–6 мл азотной кислоты. Полученную смесь нагревали при 90°C в течение 10 мин. После охлаждения полученный раствор разбавляли до объема 100 мл деионизованной водой. Перед проведением анализа методом МС-ИСП получен-

ный раствор разбавляли в 2 раза. Для анализа методом АЭС-ИСП использовали исходный раствор без разбавления.

Изложенный вариант разложения образцов ориентирован на пробы оксида церия, не подвергнутые предварительной термической обработке (прокаливанию). Следует отметить, что концентрация HF в анализируемом растворе с учетом коэффициентов разбавления составляла 0.025 и 0.012% для АЭС-ИСП и МС-ИСП-анализа соответственно, что соответствует каталитическим количествам [16]. Эти концентрации достаточно низкие, чтобы не влиять на аналитические характеристики используемых методов при определении целевых примесных элементов в оксиде церия.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор условий анализа оксида церия методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Анализ методом МС-ИСП включает не только масс-спектральное измерение, но и операции растворения, разбавления и при необходимости концентрирования или разделения элементов. Таким образом, чтобы реализовать потенциальные возможности этого метода, необходимо четко и тщательно осуществить стадии, предшествующие масс-спектральному определению. При этом чистота используемых реактивов в значительной степени влияет на пределы обнаружения и определения элементов. Следует отметить, что используемые в данной работе отечественные кислоты (азотная и плавиковая) марки ос. ч. характеризуются содержанием Fe, Ni, Cr, Co, Cu, V, Mn на уровне не более $n \times 10^{-6}\%$ и поэтому пригодны для определения целевых примесей в оксиде церия с требуемой чувствительностью. Кроме того, для учета содержания определяемых элементов в реактивах одновременно с приготовлением растворов анализируемой пробы готовили растворы контрольного опыта: выполняли все операции без добавления анализируемой пробы.

Два основных ограничения метода МС-ИСП на стадии измерения – это матричный эффект и спектральные интерференции.

Матричный эффект при анализе РЗМ и их соединений выражается в подавлении сигнала ионов определяемого элемента (аналита) с увеличением концентрации матричного элемента [17, 18]. На рис. 1 представлена зависимость интенсивности сигналов элементов Be, Mg, Cu, In, Ba, Tl, Pb, Th от концентрации матричного элемента церия в растворе при стандартных условиях работы масс-спектрометра. Как видно, присутствие церия в анализируемом растворе в концентрации выше 100 мг/л приводит к подавлению аналитических сигналов выбранных элементов. Для рас-

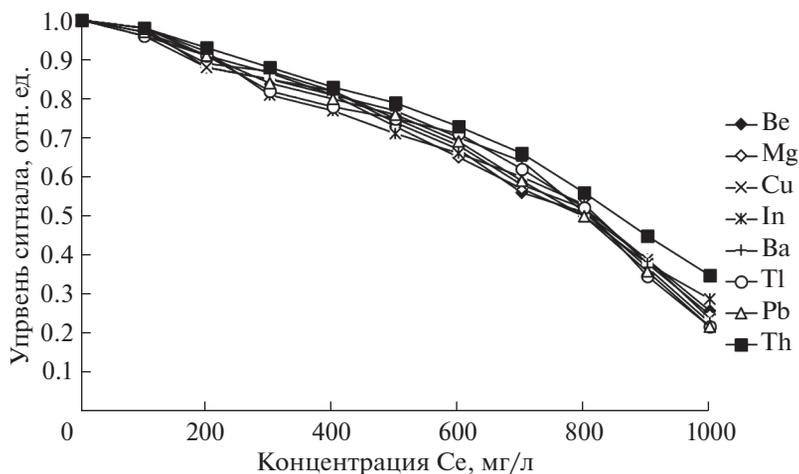


Рис. 1. Влияние концентрации церия в растворе на интенсивность сигналов аналитов в методе МС-ИСП.

творов с концентрацией матричного элемента 100 мг/л подавление сигналов большинства элементов не превышает 1–8%. Для растворов с концентрацией матричного элемента 1000 мг/л подавление сигналов некоторых элементов достигает 65–78%. Однако разбавление до уровня 100 мг/л основного элемента негативно сказывается на пределах определения примесных элементов. Как известно, толерантность масс-спектрометра к содержанию матричного компонента в пробе можно повысить, варьируя настройки системы ввода образца и источника ионизации [19–23]. В связи с этим важным этапом данной работы было изучение рабочих параметров масс-спектрометра применительно к анализу оксида церия — “устойчивых” настроек.

Исследовали влияние ряда параметров (расстояние между горелкой и сэмплером (глубина плазмоотбора), скорость подачи образца в распылитель, скорость потока аргона через распылитель, а также напряжение на линзе-экстракторе) на величину матричного эффекта от церия и уровень подавления сигналов ионов аналитов. Мощность плазмы во всех экспериментах составляла 1300 Вт. В экспериментах по выбору условий использовали растворы, содержащие 10 мкг/л Li, Co, In, Ba и U, и 500 мг/л Се (рис. 2–5). Элементы выбирали таким образом, чтобы охарактеризовать всю массовую шкалу. Сигнал от полученных растворов сравнивали с сигналом чистого раствора (2%-ная HNO_3), содержащего 10 мкг/л определяемых элементов. Величину матричного эффекта рассчитывали как I_i/I_0 , где I_i — интенсивность сигнала изотопа аналита в растворе с матричным элементом (500 мкг/мл Се), I_0 — интенсивность сигнала изотопа в чистом азотнокислом растворе без матричного элемента.

На рис. 2 приведены данные по влиянию скорости распылительного потока на величину матричного эффекта. Влияние расхода газа в распылителе рассматривали в диапазоне 0.6–1.0 мл/мин. При скорости распылительного потока выше 1.0 мл/мин наблюдается заметное повышение уровня сигнала оксидных и двухзарядных ионов (BaO^+/Ba^+ и $\text{Ba}^{++}/\text{Ba}^+$) до 5%. Максимальная интенсивность сигналов ионов-аналитов в отсутствие матричного элемента наблюдается при расходе газа в распылителе 0.80 мл/мин. При скорости распылительного потока ниже 0.80 мл/мин наблюдали значительное снижение уровня сигналов определяемых элементов (до 85% при скорости 0.6 мл/мин). В присутствии матричного элемента подавление сигнала большинства определяемых элементов минимально при величине распылительного потока 0.90 мл/мин, поэтому дальнейшие эксперименты проводили при этом значении.

На рис. 3 приведены данные по влиянию глубины плазмоотбора на величину матричного эффекта в растворе, содержащем 500 мг/л церия. Интенсивность сигналов ионов-аналитов в отсутствие матричного элемента максимальна при глубине плазмоотбора 100 усл. ед. Увеличение расстояния между горелкой и пробоотборным конусом приводит к снижению интенсивности сигналов ионов-аналитов как в присутствии, так и в отсутствие матричного элемента (рис. 3). Увеличение глубины плазмоотбора до 500 усл. ед. приводит к снижению интенсивности сигналов определяемых элементов на 70–80% для растворов без матрицы. Дальнейшие эксперименты проводили при глубине плазмоотбора 100 усл. ед.

На рис. 4 приведены данные по влиянию потенциала на линзе-экстракторе на величину матричного эффекта в растворе, содержащего 500 мг/л Се. В отсутствие матричного элемента максимальная интенсивность сигнала ионов-аналитов наблю-

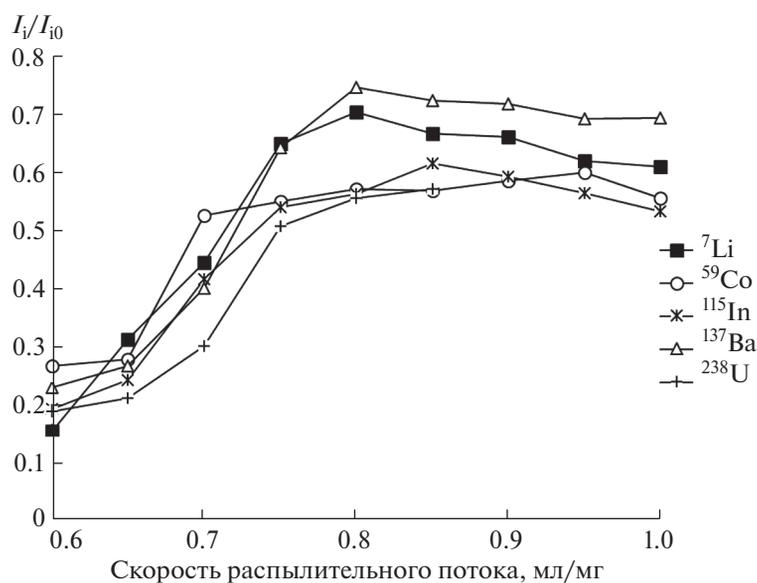


Рис. 2. Влияние скорости распылительного потока на величину матричного эффекта в растворе, содержащем 500 мг/л церия.

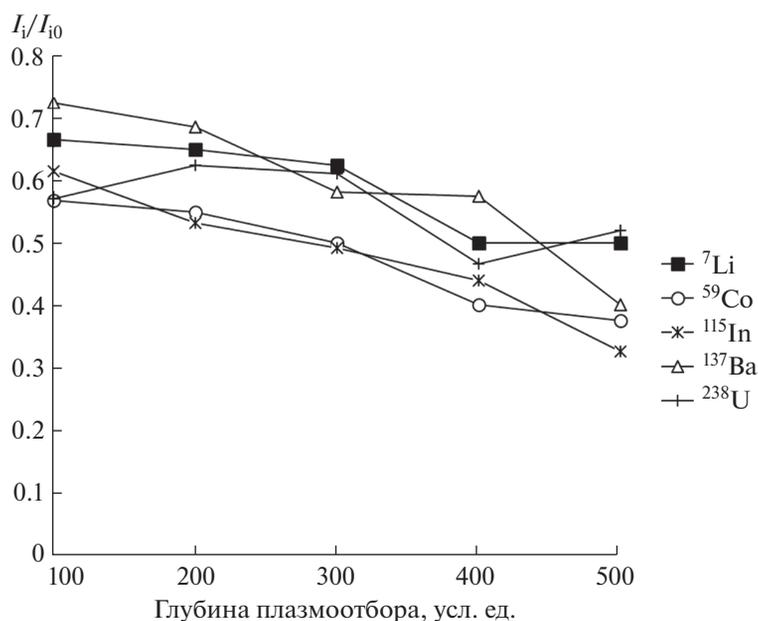


Рис. 3. Влияние глубины плазмоотбора на величину матричного эффекта в растворе, содержащем 500 мг/л церия.

далась при потенциале -150 В. В присутствии 500 мг/л Се при снижении напряжения на линзе-экстракторе до -200 В наблюдается повышение значения I_i/I_0 до 0.74–0.95 отн. ед., однако, при дальнейшем снижении потенциала уровень сигнала определяемых элементов снижается. Дальнейшие измерения осуществляли при значении потенциала на линзе-экстракторе -200 В.

На рис. 5 приведены данные по влиянию скорости подачи образца на величину матричного

эффекта. Скорость подачи образца 50 об/мин соответствует максимальной интенсивности сигналов аналитов в растворе без матричного элемента. Как видно из рис. 5, снижение скорости подачи образца от 50 до 30 об/мин незначительно влияет на уровень сигнала определяемых ионов, однако при уменьшении скорости подачи до 20–25 об/мин отношение I_i/I_0 повышается до 0.70–0.88 отн. ед. Интенсивности сигналов ионов аналитов при скорости 20 об/мин снижаются всего

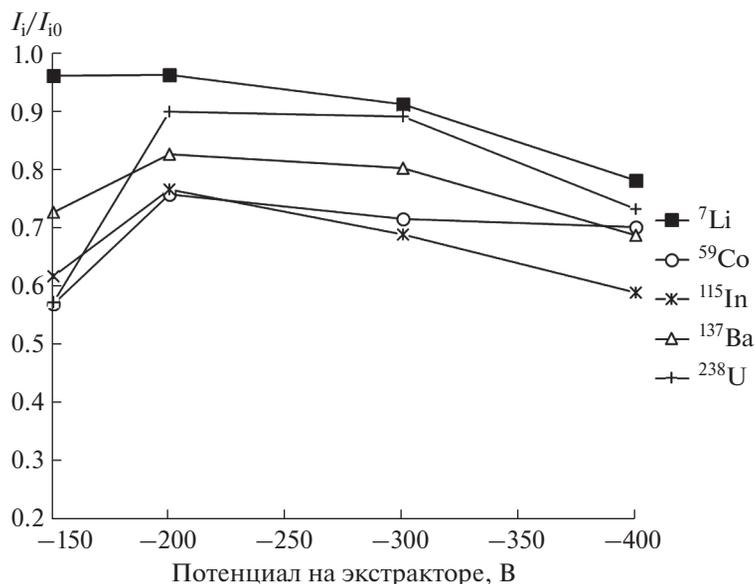


Рис. 4. Влияние потенциала на линзе-экстракторе на величину матричного эффекта в растворе, содержащем 500 мг/л церия.

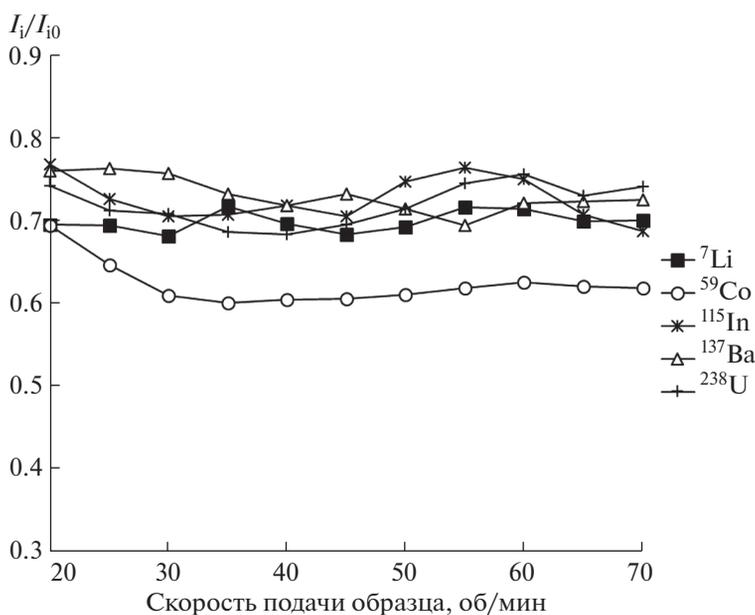


Рис. 5. Влияние скорости подачи образца на величину матричного эффекта в растворе, содержащем 500 мг/л церия.

на 5–10% для раствора без матрицы и на 9–21% для растворов, содержащих 500 мг/л Се. Дальнейшие измерения осуществляли при скорости подачи образца 20 об/мин.

В табл. 1 приведены пределы обнаружения и определения целевых элементов в оксиде церия методом МС-ИСП. Пределы обнаружения рассчитывали по 3s-критерию для 10 параллельных измерений холостого опыта (2%-ная HNO_3 с добавлением HF). Пределы определения приведе-

ны для матрицы, содержащей 500 мг/л Се при “устойчивых” настройках масс-спектрометра. Для учета матричного эффекта в анализируемые растворы добавляли 15 мкг/л In и Re в качестве внутренних стандартов. Как видно из табл. 1, для большинства примесных элементов пределы определения находятся в диапазоне от 0.02 до 1.5 мкг/л.

Серьезной проблемой при анализе церия и его соединений методом МС-ИСП являются спектральные интерференции, которые приводят к

Таблица 1. Пределы обнаружения и определения элементов в оксиде церия методом МС-ИСП

Элемент	Изотоп	Предел обнаружения, мкг/л	Предел определения**, мкг/л	Спектральные интерференции
V	⁵¹ V	0.03	0.1	—
Cr	⁵² Cr	0.02	0.1	—
	⁵³ Cr	0.04	0.2	—
Mn	⁵⁵ Mn	0.01	0.05	—
Fe	⁵⁴ Fe	0.5	10.3*	³⁸ Ar ¹⁶ O ⁺ , ⁴⁰ Ar ¹⁴ N ⁺
	⁵⁷ Fe	0.8	10.5	⁴⁰ Ar ¹⁶ O ¹ H ⁺
Co	⁵⁹ Co	0.002	0.06	—
Ni	⁵⁸ Ni	0.03	0.1	—
	⁶⁰ Ni	0.02	0.6	—
	⁶² Ni	0.05	0.4	—
Cu	⁶³ Cu	0.02	0.1	—
	⁶⁵ Cu	0.04	0.1	—
Y	⁸⁹ Y	0.004	0.03	—
La	¹³⁹ La	0.006	0.2	—
Pr	¹⁴¹ Pr	0.001	10.6*	¹⁴⁰ Ce ¹ H ⁺
Nd	¹⁴³ Nd	0.04	7.2*	¹⁴² Ce ¹ H ⁺
	¹⁴⁵ Nd	0.02	0.1	—
	¹⁴⁶ Nd	0.001	0.2	—
Sm	¹⁴⁷ Sm	0.002	0.03	—
	¹⁴⁹ Sm	0.001	0.3*	¹³⁶ Ce ¹³ C ⁺
	¹⁵² Sm	0.04	315*	¹³⁶ Ce ¹⁶ O ⁺ , ¹³⁸ Ce ¹⁴ N ⁺ , ¹⁴⁰ Ce ¹² C ⁺
Eu	¹⁵⁴ Sm	0.05	495*	¹³⁸ Ce ¹⁶ O ⁺ , ¹⁴⁰ Ce ¹⁴ N ⁺ , ¹⁴² Ce ¹² C ⁺
	¹⁵¹ Eu	0.001	0.02	—
	¹⁵³ Eu	0.003	9.2*	¹³⁶ Ce ¹⁶ O ¹ H ⁺ , ¹³⁸ Ce ¹³ C ⁺ , ¹³⁸ Ce ¹⁵ N ⁺ , ¹⁴⁰ Ce ¹³ C ⁺
Gd	¹⁵⁵ Gd	0.002	5.2*	¹³⁸ Ce ¹⁶ O ¹ H ⁺ , ¹⁴⁰ Ce ¹⁵ N ⁺
	¹⁵⁶ Gd	0.01	30460*	¹⁴⁰ Ce ¹⁶ O ⁺ , ¹⁴² Ce ¹⁴ N ⁺
	¹⁵⁷ Gd	0.002	16850*	¹⁴⁰ Ce ¹⁶ O ¹ H ⁺ , ¹⁴² Ce ¹⁵ N ⁺
	¹⁵⁸ Gd	0.02	3980*	¹⁴² Ce ¹⁶ O ⁺
Tb	¹⁶⁰ Gd	0.003	1.2*	¹⁴² Ce ¹⁸ O ⁺ , ¹⁴² Ce ¹⁷ O ¹ H ⁺
	¹⁵⁹ Tb	0.001	345*	¹⁴² Ce ¹⁶ O ¹ H ⁺
Dy	¹⁶¹ Dy	0.003	0.2	—
	¹⁶² Dy	0.01	0.1	—
	¹⁶³ Dy	0.002	0.08	—
	¹⁶⁴ Dy	0.02	0.06	—
Ho	¹⁶⁵ Ho	0.002	0.03	—
Er	¹⁶⁶ Er	0.002	0.1	—
	¹⁶⁷ Er	0.001	0.05	—
	¹⁶⁸ Er	0.003	0.06	—
Tm	¹⁶⁹ Tm	0.001	0.02	—
Yb	¹⁷¹ Yb	0.006	0.07	—
	¹⁷² Yb	0.007	0.8	—
	¹⁷³ Yb	0.005	1.5	—
	¹⁷⁴ Yb	0.005	1.0	—
Lu	¹⁷⁵ Lu	0.005	0.07	—

*Приведена кажущаяся концентрация, соответствующая сигналу на определяемой массе (m/z) при анализе раствора, содержащего 500 мкг/мл церия. **Глубина плазмоотбора 100 усл. ед., расход потока аргона через распылитель 0.90 л/мин, скорость подачи образца 20 об/мин, потенциал на линзе-экстракторе –200 В.

уменьшению круга определяемых элементов и увеличению их пределов определения. Как видно из табл. 1, при определении Sm, Eu, Nd, Gd, Pr, Tb в церии наблюдаются спектральные интерференции от полиатомных ионов, образованных элементом основы (церием). В таких случаях в табл. 1 приведены кажущиеся концентрации, соответствующие сигналу на определяемой массе (m/z), полученному при анализе раствора, содержащего 500 мкг/мл Ce. При этом в случае Eu, Sm, Nd, Gd удается выбрать изотопы, свободные от значимых полиатомных интерференций церия (^{151}Eu , ^{147}Sm , ^{145}Nd , ^{146}Nd , ^{160}Gd соответственно). Пределы определения этих элементов составляют 0.02–1.2 мкг/л, что достаточно для анализа оксида церия, используемого для изготовления люминофоров и оптических материалов. Наибольшую сложность при анализе оксида церия методом МС-ИСП представляет определение низких содержаний моноизотопных Pr и Tb. Так, определению ^{141}Pr мешают спектральные помехи, обусловленные наличием гидридных полиатомных ионов $^{140}\text{Ce}^1\text{H}$, а также присутствием “хвоста” соседнего интенсивного пика ^{140}Ce . Определение ^{159}Tb затруднено в связи с наличием гидроксидных помех от матричного элемента $^{142}\text{Ce}^{16}\text{O}^1\text{H}$.

В настоящее время для решения проблемы спектральных интерференций при анализе РЗМ и их соединений используют ряд приемов. Это – предварительное химическое отделение и концентрирование примесных элементов [13–15], использование систем десольватации, применение газонаполненных реакционно-столкновительных ячеек [24]. Однако стадия предварительного отделения трудоемка и мало пригодна для рутинного анализа. Эффективным способом подавления полиатомных наложений является применение газонаполненных реакционно-столкновительных ячеек [24]. Однако следует учесть, что не все современные масс-спектрометры оснащены таким блоком. Кроме того, они эффективны для подавления оксидных и гидроксидных полиатомных ионов и не решают проблему помех от гидридных ионов, а также от “хвостов” соседнего интенсивного пика элемента-основы (в случае определения празеодима в оксиде церия).

В данной работе для определения Pr и Tb в оксиде церия, а также с целью контроля правильности определения других примесных элементов исследовали возможности альтернативного метода АЭС-ИСП.

Выбор аналитических линий примесных элементов и оценка матричного эффекта методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой. Основной проблемой при анализе соединений церия методом АЭС-ИСП является чрезвычайная сложность эмиссионных спектров элемента-основы, что усложняет процедуру выбо-

ра аналитических линий определяемых элементов. При выборе аналитических линий использовали раствор, содержащий 1000 мг/л церия, а также чистые растворы, содержащие 1–50 мкг/л определяемых элементов. Основными критериями при выборе аналитических линий определяемых элементов являлись отсутствие наложения линий матричного элемента или возможность их разрешения, а также возможность учета фона в окрестности аналитической линии определяемого элемента. В табл. 2 представлены выбранные аналитические линии, а также пределы обнаружения и определения примесных элементов в оксиде церия. Следует отметить, что выбранные линии ориентированы на анализ чистого оксида церия. В случае высокого содержания железа в пробе при определении празеодима (если концентрация железа превышает концентрацию празеодима в 10–1000 раз) рекомендуется вводить дополнительную поправку в связи со спектральным наложением линии Fe I 410.074 нм на линию Pr II 410.072 нм.

Достоинством метода АЭС-ИСП по сравнению с методом МС-ИСП является менее выраженная зависимость от содержания матричного элемента в анализируемом растворе. Однако при анализе реальных проб необходимо оценить концентрацию матричного элемента, оптимальную для определения целевых элементов с требуемой чувствительностью и без предварительного разбавления. Для оценки матричного эффекта при анализе оксида церия методом АЭС-ИСП использовали растворы, содержащие 50 мг/л определяемых элементов и 500–3000 мг/л Ce. В качестве примера на рис. 6 представлена зависимость интенсивности сигналов V, Cu, Cr, Mn, Eu, Tb от концентрации церия в анализируемом растворе. Как видно, значимое подавление сигналов большинства определяемых элементов наблюдается при концентрации церия в анализируемом растворе выше 1000 мг/л. Так, при концентрации матричного элемента 3000 мг/л подавление сигналов некоторых аналитов достигает 30%. Чтобы устранить матричный эффект, для построения градуировочных зависимостей использовали растворы (10, 50 и 200 мкг/л определяемых элементов), содержащие, как и исследуемая проба, 1000 мг/л основного компонента (церия).

Оценка показателей качества результатов анализа. Правильность анализа методами МС-ИСП и АЭС-ИСП контролировали методом введено-найденно с использованием растворов, содержащих 0.1, 1, 5, 10, 50 мкг/л Fe, Ni, Cr, Co, Cu, V, Mn и РЗМ, а также анализом образца оксида церия. Растворы для метода введено-найденно готовили из стандартных растворов последовательным разбавлением 2%-ной HNO_3 с добавлением HF. Содержание церия в анализируемом растворе составляло 500 мг/л для метода МС-ИСП и

Таблица 2. Аналитические линии, пределы обнаружения и определения элементов в оксиде церия методом АЭС-ИСП

Элемент	Длина волны, нм	Интенсивность	Предел обнаружения*, мкг/л	Предел определения**, мкг/л
Tb	332.440	300000 (II)	0.6	1
Gd	310.050	500000 (II)	0.5	3
Ho	345.600	2500000 (II)	0.2	2
Er	326.478	1200000 (II)	0.7	1.5
Yb	289.138	3000000 (II)	0.6	5
Lu	261.542	2000000 (II)	0.1	2
Pr	410.072	90000 (II)	0.5	4
Fe	263.105	100000 (II)	0.5	5
Ni	220.671	90000 (II)	0.6	5.5
Co	238.892	1000000 (II)	0.3	1.5
Cu	324.754	5000000 (I)	0.6	5
V	290.882	1000000 (II)	0.6	2
Mn	257.610	10000000 (II)	0.1	3.5
Cr	267.716	2000000 (II)	0.3	2
Eu	290.668	500000 (II)	0.5	2
Dy	340.780	300000 (II)	0.4	4
La	261.034	180000 (II)	0.5	6

* Пределы обнаружения найдены по 3 σ -критерию для 10 параллельных измерений холостого опыта (2%-ная HNO₃ с добавлением HF). **Пределы определения рассчитывали для раствора, содержащего 1000 мг/л церия.

1000 мг/л для метода АЭС-ИСП. При МС-ИСП-измерениях для учета матричного влияния использовали два внутренних стандарта – In и Re (содержание внутреннего стандарта в анализируемых растворах составляло 15 мкг/л). Полученные результаты приведены в табл. 3. Результаты анализа образца оксида церия методами МС-ИСП и

АЭС-ИСП приведены в табл. 4. Как видно, комбинирование двух спектральных методов (МС-ИСП и АЭС-ИСП) позволяет одновременно определять целевые примесные элементы в чистом оксиде церия с высокой чувствительностью и без применения предварительного химического разделения и концентрирования. В частности, при-

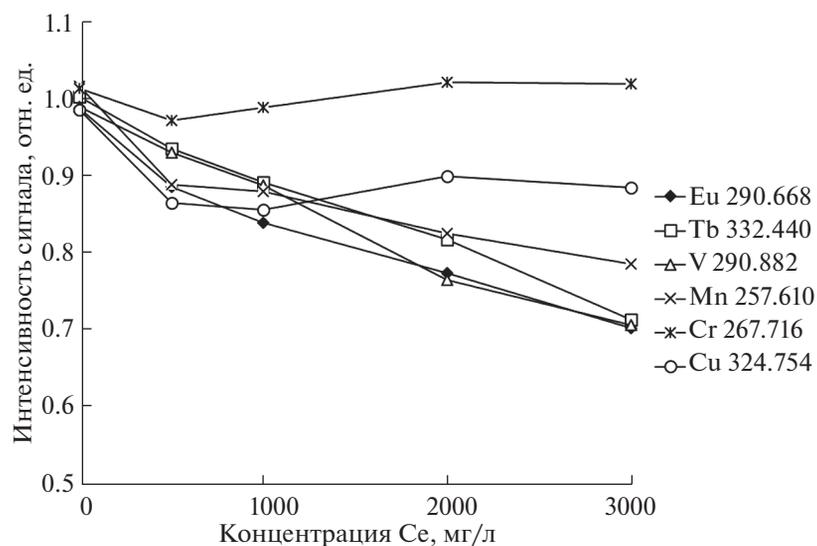
**Рис. 6.** Влияние концентрации церия в растворе на интенсивность сигналов аналитов в методе АЭС-ИСП.

Таблица 3. Результаты определения целевых аналитов способом введено–найдено в растворах CeO₂ ($n = 3$, $P = 0.95$)

Элемент	ИСП-МС		ИСП-АЭС*	
	введено, $x \pm \Delta$, мкг/л	найдено, $x \pm \Delta$, мкг/л	введено, $x \pm \Delta$, мкг/л	найдено, $x \pm \Delta$, мкг/л
V	0.1 ± 0.0025	0.098 ± 0.004	5 ± 0.0025	5.8 ± 0.8
	1 ± 0.025	1.02 ± 0.02	10 ± 0.025	10.1 ± 0.9
	50 ± 0.5	50.07 ± 0.05	50 ± 0.5	49.7 ± 1.1
Cr	0.1 ± 0.0025	0.108 ± 0.009	5 ± 0.0025	5.5 ± 0.6
	1 ± 0.025	1.05 ± 0.05	10 ± 0.025	10.31 ± 0.6
	50 ± 0.5	50.32 ± 0.20	50 ± 0.5	49.6 ± 0.4
Mn	0.1 ± 0.0025	0.101 ± 0.004	5 ± 0.0025	4.8 ± 0.8
	1 ± 0.025	1.02 ± 0.02	10 ± 0.025	9.6 ± 0.4
	50 ± 0.5	49.85 ± 0.15	50 ± 0.5	49.5 ± 0.5
Fe	0.1 ± 0.0025	<ПО* (10.3)	5 ± 0.0025	5.05 ± 1.9
	1 ± 0.025	<ПО (10.3)	10 ± 0.025	9.89 ± 1.8
	50 ± 0.5	50.09 ± 0.10	50 ± 0.5	50.8 ± 1.8
Co	0.1 ± 0.0025	0.101 ± 0.006	5 ± 0.0025	5.04 ± 0.2
	1 ± 0.025	1.06 ± 0.07	10 ± 0.025	9.6 ± 0.4
	50 ± 0.5	50.01 ± 0.05	50 ± 0.5	49.5 ± 0.6
Ni	0.1 ± 0.0025	0.11 ± 0.01	5 ± 0.0025	<ПО (5.5)
	1 ± 0.025	1.07 ± 0.06	10 ± 0.025	10.6 ± 1.4
	50 ± 0.5	50.01 ± 0.04	50 ± 0.5	49.9 ± 1.2
Cu	0.1 ± 0.0025	0.101 ± 0.002	5 ± 0.0025	5.4 ± 0.4
	1 ± 0.025	1.03 ± 0.04	10 ± 0.025	10.5 ± 0.6
	50 ± 0.5	50.05 ± 0.06	50 ± 0.5	49.5 ± 0.8
Y**	0.1 ± 0.0025	0.102 ± 0.03		
	1 ± 0.025	1.04 ± 0.05	—	—
	50 ± 0.5	50.10 ± 0.07		
La	0.1 ± 0.0025	0.099 ± 0.010	5 ± 0.0025	<ПО (6)
	1 ± 0.025	1.08 ± 0.09	10 ± 0.025	11.8 ± 1.9
	50 ± 0.5	50.31 ± 0.15	50 ± 0.5	50.3 ± 1.9
Pr	0.1 ± 0.0025	<ПО (10.6)	5 ± 0.0025	5.4 ± 1.0
	1 ± 0.025	<ПО (10.6)	10 ± 0.025	11.67 ± 1.8
	50 ± 0.5	50.06 ± 0.09	50 ± 0.5	49.6 ± 2.1
Nd**	0.1 ± 0.0025	0.102 ± 0.06		
	1 ± 0.025	1.01 ± 0.03	—	—
	50 ± 0.5	50.25 ± 0.10		
Sm**	0.1 ± 0.0025	0.106 ± 0.006		
	1 ± 0.025	1.02 ± 0.03	—	—
	50 ± 0.5	50.04 ± 0.06		
Eu	0.1 ± 0.0025	0.108 ± 0.009	5 ± 0.0025	4.8 ± 0.9
	1 ± 0.025	1.04 ± 0.05	10 ± 0.025	10.7 ± 0.95
	50 ± 0.5	50.60 ± 0.35	50 ± 0.5	49.2 ± 1.2
Gd	0.1 ± 0.0025	<ПО (1.2)	5 ± 0.0025	4.8 ± 0.9
	1 ± 0.025	<ПО (1.2)	10 ± 0.025	10.8 ± 0.8
	50 ± 0.5	50.76 ± 0.40	50 ± 0.5	49.8 ± 0.9

Таблица 3. Окончание

Элемент	ИСП-МС		ИСП-АЭС*	
	введено, $x \pm \Delta$, мкг/л	найдено, $x \pm \Delta$, мкг/л	введено, $x \pm \Delta$, мкг/л	найдено, $x \pm \Delta$, мкг/л
Tb	0.1 ± 0.0025	<ПО (345)	5 ± 0.0025	4.96 ± 0.4
	1 ± 0.025	<ПО (345)	10 ± 0.025	10.5 ± 0.8
	50 ± 0.5	95.02 ± 0.08	50 ± 0.5	49.7 ± 0.8
Dy	0.1 ± 0.0025	0.1 ± 0.04	5 ± 0.0025	4.8 ± 0.9
	1 ± 0.025	1.02 ± 0.03	10 ± 0.025	10.9 ± 0.9
	50 ± 0.5	49.82 ± 0.18	50 ± 0.5	50.2 ± 1.1
Ho	0.1 ± 0.0025	0.104 ± 0.005	5 ± 0.0025	4.6 ± 0.4
	1 ± 0.025	1.04 ± 0.06	10 ± 0.025	9.6 ± 0.4
	50 ± 0.5	49.84 ± 0.10	50 ± 0.5	49.4 ± 0.6
Er	0.1 ± 0.0025	0.103 ± 0.004	5 ± 0.0025	5.4 ± 0.6
	1 ± 0.025	1.04 ± 0.06	10 ± 0.025	10.0 ± 0.8
	50 ± 0.5	50.03 ± 0.05	50 ± 0.5	49.20 ± 1.2
Tm**	0.1 ± 0.0025	0.102 ± 0.005		
	1 ± 0.025	1.02 ± 0.03	—	—
	50 ± 0.5	49.93 ± 0.07		
Yb	0.1 ± 0.002	0.11 ± 0.01	5 ± 0.0025	5.03 ± 0.6
	1 ± 0.025	1.04 ± 0.04	10 ± 0.025	10.2 ± 0.2
	50 ± 0.5	50.09 ± 0.15	50 ± 0.5	49.39 ± 0.8
Lu	0.1 ± 0.0025	0.105 ± 0.005	5 ± 0.0025	5.1 ± 0.2
	1 ± 0.025	1.04 ± 0.05	10 ± 0.025	9.8 ± 0.2
	50 ± 0.5	50.15 ± 0.28	50 ± 0.5	49.7 ± 0.4

* Предел обнаружения. ** Y, Sm, Tm, Nd методом АЭС-ИСП не определяли в связи с наличием спектральных интерференций от матричного элемента.

влечение метода АЭС-ИСП позволяет определять низкие содержания тербия в оксиде церия (пределы определения тербия методом АЭС-ИСП составляют 1×10^{-4} мас. %), а также снизить пределы определения Fe и Pr в 4–5 раз. Это способствует расширению круга определяемых элементов, повышению точности и значительно сокращает продолжительность анализа.

* * *

Исследовано влияние матричного элемента и выбраны аналитические линии и изотопы для прямого определения примесных элементов (Fe, Ni, Cr, Co, Cu, V, Mn, а также РЗМ) в оксиде церия методами МС-ИСП и АЭС-ИСП. Благодаря оптимизации настроек масс-спектрометра удалось улучшить аналитические характеристики при определении целевых компонентов в оксиде церия для изготовления люминофоров и оптических материалов. В частности, уменьшение матричного влияния позволило использовать для анализа более концентрированные растворы (содержащие 500 мг/л матричного элемента) и сни-

зить пределы определения большинства примесных элементов в оксиде церия по сравнению с таковыми при стандартных настройках масс-спектрометра. Для решения проблемы спектральных интерференций при определении Pr и Tb в оксиде церия, а также с целью контроля правильности определения других примесных элементов предложено применение альтернативного метода АЭС-ИСП. Пределы определения Tb и Pr методом АЭС-ИСП составили 1×10^{-4} и 3×10^{-4} мас. % соответственно. Кроме того, привлечение метода АЭС-ИСП позволило снизить пределы определения железа в оксиде церия в четыре раза по сравнению с методом МС-ИСП. Пределы определения для МС-ИСП и АЭС-ИСП лежат в диапазоне от $n \times 10^{-6}$ до $n \times 10^{-4}$ мас. %, что позволяет определять целевые компоненты в оксиде церия с требуемой чувствительностью. Таким образом, сочетание методов МС-ИСП и АЭС-ИСП позволяет не только расширить номенклатуру определяемых примесей в РЗМ и их соединениях, но и в рамках одной лаборатории оперативно контролировать правильность анализа.

Таблица 4. Результаты ($x \pm \Delta$, мкг/г) анализа проб оксида церия методами ИСП-МС и АЭС-ИСП ($n = 3$, $P = 0.95$)

Элемент	ИСП-МС		ИСП-АЭС	
	проба 1	проба 2	проба 1	проба 2
V	0.35 ± 0.01	<0.25	<1	<1
Cr	4.81 ± 0.12	3.76 ± 0.13	4.8 ± 0.2	3.8 ± 0.2
Fe	<ПО (20.6)	<ПО (20.6)	10.2 ± 1.5	21.7 ± 0.98
Mn	0.12 ± 0.04	0.17 ± 0.03	<3.5	<3.5
Ni	0.07 ± 0.02	0.12 ± 0.02	<5.5	<5.5
Co	0.01 ± 0.01	0.21 ± 0.01	<1.5	<1.5
Cu	0.35 ± 0.02	1.17 ± 0.02	<5	<5
Y	0.89 ± 0.02	3.13 ± 0.02	–	–
La	1.41 ± 0.3	41.04 ± 0.3	<6	38.1 ± 3.1
Pr	23.27 ± 0.6	175.6 ± 0.6	24.1 ± 2.1	173.8 ± 3.2
Nd	0.63 ± 0.07	14.70 ± 0.08	–	–
Sm	0.07 ± 0.02	2.19 ± 0.02	–	–
Eu	0.03 ± 0.05	0.32 ± 0.05	<2	<2
Gd	2.81 ± 0.4	3.43 ± 0.40	<3	3.5 ± 1.4
Tb	<ПО (690)	<ПО (690)	9.86 ± 0.75	61.7 ± 1.8
Dy	0.36 ± 0.01	0.60 ± 0.02	<4	<4
Ho	0.03 ± 0.01	0.46 ± 0.01	<2	<2
Er	0.75 ± 0.02	1.27 ± 0.02	<1.5	<1.5
Tm	<ПО (0.04)	0.5 ± 0.02	–	–
Yb	0.81 ± 0.02	2.82 ± 0.02	<5	<5
Lu	0.26 ± 0.02	1.89 ± 0.02	<2	<2

* Y, Sm, Tm, Nd методом ИСП-АЭС не определяли в связи с наличием спектральных интерференций от матричного элемента.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 20-13-00180) с использованием оборудования ЦКП ФМИ ИОНХ РАН и ЦКП АО "Гиредмет".

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барановская В.Б., Карпов Ю.А., Петрова К.В., Короткова Н.А. Современные тенденции использования редкоземельных металлов и их соединений в металлургии и производстве оптических материалов // Цветные металлы. 2020. № 11. С. 54. (Baranovskaya V.B., Karpov Yu.A., Petrova K.V., Korotkova N.A. Current trends in the use of rare earth metals and their compounds in metallurgy and production of optical materials // Tsvetnye Metally. 2020. № 11. P. 54.)
2. Барановская В.Б., Карпов Ю.А., Петрова К.В., Короткова Н.А. Актуальные тенденции применения редкоземельных металлов и их соединений в производстве магнитных и люминесцентных материалов // Известия высших учебных заведений. Цветная металлургия. 2020. № 6. С. 4. (Baranovskaya V.B., Karpov Yu.A., Petrova K.V., Korotkova N.A. Actual trends in the application of rare-earth metals and their compounds in the production of magnetic and luminescent materials: A review // Russ. J. Non-Ferrous Metals. 2021. V. 62. № 1. P. 10.)
3. Kanna R.R., Sakthipandi K., Seeni S.M. Maraikkayar M.A., Lenin N. Doping effect of rare earth (lanthanum, neodymium and gadolinium) ions on structural, optical, dielectric and magnetic properties of copper nanoferrites // J. Rare Earths. 2018. V. 36. P. 1299.
4. Oliveira A., Hneda M.L., Fernandez-Outon L.E., Barros de Sousa E.M., Ardisson J.D. Synthesis and characterization of nanocomposites based on rare earth orthoferrites and iron oxides for magnetic hyperthermia applications // Ceramics International. 2019. V. 45. P. 17920.
5. Wu Q., He Z., Huang Q., Zhao Q., Zhou J. The electronic structure, site occupancy and luminescent properties of Ce³⁺ activated Li₂Ca₂Si₂O₇ blue phosphor // Ceramics Int. 2020. V. 46. № 4. P. 4511.
6. Li Q., Cheng L., Zhang W., Xie J., Zhang X. Luminescence properties and energy transfer investigations of Ce³⁺ and Tb³⁺ co-doped NaCaGaSi₂O₇ phosphors // Appl. Radiat. Isot. 2019. V. 150. P. 175.
7. Tamulaitis G., Auffray E., Gola A., Korzhik M., Mazzi A., Mechinski V., Vasil'ev A. Improvement of the timing properties of Ce-doped oxyorthosilicate LYSO scintillating crystals // J. Phys. Chem. Solids. 2020. V. 139. P. 109.
8. Цыганкова А.Р., Лундовская О.В., Дружинин Р.А. Разработка методик количественного анализа празеодима с использованием атомно-эмиссионной и

- масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой // Полифункциональные химические материалы и технологии. Материалы Международной научной конференции / Под ред. Слижова Ю.Г., 2019. С. 181.
9. *Цыганкова А.Р., Лундовская О.В., Сапрыкин А.И.* Анализ соединений европия, иттрия и лантана методом атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой // Журн. аналит. химии. 2016. Т. 71. № 2. С. 185.
 10. *Yin J., Hu B., He M., Jiang Z.* Micro-sampling, high sensitivity ETV-ICP-MS method for the determination of trace rare earth impurities in high purity lanthanum oxide // *Atom. Spectrosc.* 2005. V. 26. № 5. P. 197.
 11. *Daskalova N., Velichkov S., Krasnobaeva N., Slavova P.* Spectral interferences in the determination of traces of scandium, yttrium and rare earth elements in “pure” rare earth matrices by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry – I. Cerium, neodymium and lanthanum matrices // *Spectrochim. Acta B: Atom. Spectrosc.* 1992. V. 47. № 14. P. 1595.
 12. *Zhang A., Liu X., Zhang W.* Determination of rare earth impurities in high purity europium oxide by inductively coupled plasma-mass spectrometry and evaluation of concentration values for europium oxide standard material // *Eur. J. Mass Spectrom.* 2004. V. 10. № 4. P. 589.
 13. *Herzig C., Frank J., Opitz A.K., Fleig J., Limbeck A.* Quantitative analysis of gadolinium doped cerium oxide thin films via online-LASIL-ICP-OES // *J. Anal. Atom. Spectrom.* 2019. V. 34. P. 2333.
 14. *Bing Li, Yan Zhang, Ming Yin.* Determination of trace amounts of rare earth elements in high-purity cerium oxide by inductively coupled plasma mass spectrometry after separation by solvent extraction // *Analyst.* 1997. V. 122. № 6. P. 543.
 15. *Shuai Qin, Hu Bin, Qin Yongchao, Ruth Wanjau, Jiang Zucheng.* Determination of trace rare earth impurities in high-purity cerium oxide by using electrothermal vaporization ICP-AES after HPLC separation with 2-ethylhexylhydrogen 2-ethylhexylphosphonate resin as the stationary phase // *J. Anal. Atom. Spectrom.* 2000. V. 15. № 10. P. 1413.
 16. *Florent Lemont, Alizée Barbier.* Kinetics and mechanism of the reduction-dissolution of cerium oxide catalyzed by fluoride ions in hydrochloric acid solution // *Hydrometallurgy.* 2019. V. 183. P. 193.
 17. *Agatemor C., Beauchemin D.* Matrix effects in inductively coupled plasma mass spectrometry: a review // *Anal. Chim. Acta.* 2011. V. 706. № 1. P. 66.
 18. *Olivares J.A., Houk R.S.* Suppression of analyte signal by various concomitant salts in inductively coupled plasma mass spectrometry // *Anal. Chem.* 1986. V. 58. № 1. P. 20.
 19. *Карандашев В.К., Лейкин А.Ю., Хвостиков В.А., Куцева Н.К., Пирогова С.В.* Анализ вод методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2015. Т. 81. № 5. С. 5. (*Karandashev V.K., Leikin A. Yu., Khvostikov V.A., Kutseva N.K., Pirogova S.V.* Analysis of water using mass spectrometry with inductively coupled plasma // *Industrial laboratory. Diagnostics of materials.* 2015. V. 81. № 5. P. 5.)
 20. *Tromp J.W., Pomares M., Alvarez-Prieto Manuel, Cole A.S., Hai Ying, Salin E.D.* Exploration of robust operating conditions in inductively coupled plasma mass spectrometry // *Spectrochim. Acta B: Atom. Spectrosc.* 2003. V. 58. № 11. P. 1927.
 21. *Карандашев В.К., Лейкин А.Ю., Жерноклеева К.В.* Снижение матричного эффекта в ИСП-МС за счет оптимизации настроек ионной оптики // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69. № 1. С. 26.
 22. *Olesic J.W., Jiao S.* Matrix effects using an ICP-MS with a single positive ion lens and grounded stop: analyte mass dependent // *J. Anal. Atom. Spectrom.* 2017. V. 32. P. 951.
 23. *Medvedev N.S., Shaverina V.A., Tsygankova A.R., Saprykin A.I.* Comparison of analytical performances of inductively coupled plasma mass spectrometry and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry for trace analysis of bismuth and bismuth oxide // *Spectrochim. Acta B: Atom. Spectrosc.* 2018. V. 142. P. 23.
 24. *Лейкин А.Ю., Якимович П.В.* Системы подавления спектральных интерференций в масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой // Журн. аналит. химии. 2012. Т. 67. № 8. С. 752.

УДК 543.4:544.47:535:37

РАСПОЗНАВАНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУЛЬФАНИЛАМИДОВ МЕТОДОМ ФЛУОРИМЕТРИИ В БЛИЖНЕЙ ИК-ОБЛАСТИ ПО ИХ ВЛИЯНИЮ НА СКОРОСТЬ КАТАЛИТИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ КАРБОЦИАНИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ ПЕРОКСИДОМ ВОДОРОДА

© 2021 г. И. А. Степанова^а, А. Н. Лебедева^а, А. В. Шик^а,
Е. В. Скоробогатов^а, М. К. Беклемишев^{а, *}

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет
Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, 119991 ГСП-1 Россия

*e-mail: mkb@analyt.chem.msu.ru

Поступила в редакцию 16.06.2021 г.

После доработки 21.06.2021 г.

Принята к публикации 21.06.2021 г.

Работа направлена на развитие флуориметрических методов анализа биообъектов с целью расширения круга определяемых низкомолекулярных органических аналитов и сокращения операций пробоподготовки при использовании доступных флуорофоров и реагентов, а также применения одних и тех же флуориметрических систем для качественного и количественного анализа. Предложено использовать катализируемую медью(II) реакцию окисления карбоцианинового флуорофора пероксидом водорода, приводящую к изменению интенсивности флуоресценции в ближней ИК-области (700 нм). Найдено, что несколько органических соединений разной природы ускоряют или замедляют индикаторную реакцию, причем в различной степени при разном времени протекания процесса. В качестве модельных аналитов подробно рассмотрели восемь сульфаниламидов, которые можно различить на качественном уровне за счет использования кинетического фактора при обработке данных методом главных компонент. На примере фталилсульфатаиозола показано, что получение сигнала возможно не только в водном растворе, но и в присутствии гомогената мышц индейки на уровне 0.08–0.5 мМ ($s_f = 0.09$) без использования разделения. Сделано заключение о перспективах развития подобных флуоресцентных платформ.

Ключевые слова: флуориметрия в ближней ИК-области, карбоцианины, катализ, сульфаниламиды, фталилсульфатаиозол, метод “отпечатков пальцев”.

DOI: 10.31857/S0044450221120124

Флуориметрические методы определения низкомолекулярных органических соединений развиваются по пути прямого определения аналитов и сокращения операций пробоподготовки [1]. Такие методы, как правило, просты, экспрессны и относительно доступны в части аппаратного оформления. Однако развитию и более широкому использованию флуориметрии органических аналитов препятствует ряд обстоятельств. Для получения селективных зондов в подавляющем большинстве случаев требуется синтез. Синтетические сложности и малая доступность реагентов ограничивают их практическое использование, а способность зонда давать отклик на единственный аналит не позволяет перейти к определению других на той же платформе. Несложно определять флуориметрическими методами типичные

тушители, соединения, способные к переносу энергии или электрона или связывающиеся с флуорофором ковалентно [1–4]; для других аналитов флуориметрическое определение проводят косвенно или с использованием дериватизации [5]. Для определения низкомолекулярных органических аналитов недостаточно широко применяется флуориметрия в ближней ИК-области спектра – так называемом первом окне прозрачности биологических тканей (NIR-I): от 650 до 1000 нм [6, 7], в котором собственная флуоресценция биологических объектов и поглощение ими возбуждающего и излученного света минимальны. Для регистрации сигнала обычно используют спектрофлуориметры и реже – фотокамеры [8], в частности, камеры смартфонов для флуоресценции в видимой области [9]. Для реги-

страции эмиссии в ближней ИК (БИК)-области спектра также целесообразно применять фотометрию [10].

Таким образом, очевидно, что актуальна разработка новых флуоресцентных сенсорных платформ, которые позволяли бы получать отклик органических соединений разной природы (в том числе не обладающих флуоресценцией и не взаимодействующих с флуорофорами); измерять сигнал в биоматрицах за счет использования БИК-области спектра; создавать линейки различных сенсоров на единой платформе. Целесообразно также использование сочетания двух сигналов: флуориметрического и фотометрического [11]. Желательно, чтобы разрабатываемые платформы не предусматривали синтез реагентов.

Нами предложен подход к решению перечисленных задач за счет использования реакций окисления красителей, излучающих в ближней ИК-области спектра. Если такая реакция катализируется ионом переходного металла, то по влиянию на ее протекание можно было бы определять

соединения-лиганды, что позволило бы расширить круг аналитов, определяемых флуориметрическими методами. Варьирование природы металл-катализатора могло бы привести к расширению круга аналитов. В химическом анализе ранее использовалось немало каталитических редокс-систем [13, 14], однако БИК-флуорофоры в качестве восстановителей не применяли. Впрочем, подбор условий окисления таковых не должен вызывать принципиальных сложностей.

В данной работе обнаружена возможность окисления коммерчески доступного карбоцианинового красителя I пероксидом водорода, катализируемого медью(II) (схема 1). Одним из традиционных восстановителей в этой каталитической реакции был гидрохинон [14], а активаторами служили аминсоединения [14, 15]. Изученное нами влияние низкомолекулярных органических соединений (в основном лекарственных веществ) на протекание реакции показало возможность получения сигналов для соединений разной природы.

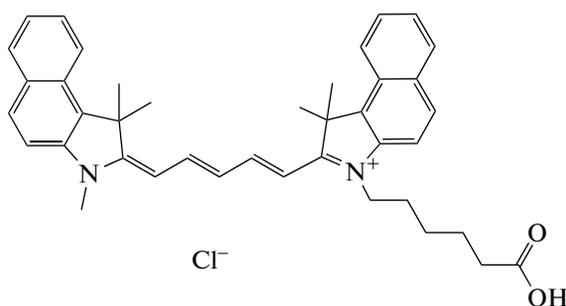


Схема 1. Структура красителя I
(Су5.5 карбоновая кислота).

Цель данной работы – показать перспективы и целесообразность исследования систем предлагаемого типа как с целью распознавания соединений близкой природы, так и для определения отдельных веществ. В качестве определяемых соединений более подробно рассмотрены сульфаниламиды (схема 2), применяемые в составе антибактериальных препаратов. Для флуоресцентного определения сульфаниламиды обычно дериватизируют, чаще всего флуорескаминном, в сочетании с ВЭЖХ в до- или послеколоночном варианте [5, 16]. Используют также собственную флуоресценцию сульфаниламидов в УФ-области или фотоиндуцированную флуоресценцию [17]. Для определения сульфаниламидов методом флуоресцентного поляри-

зационного иммуноанализа синтезируют трейсеры с производными флуоресцеина [18].

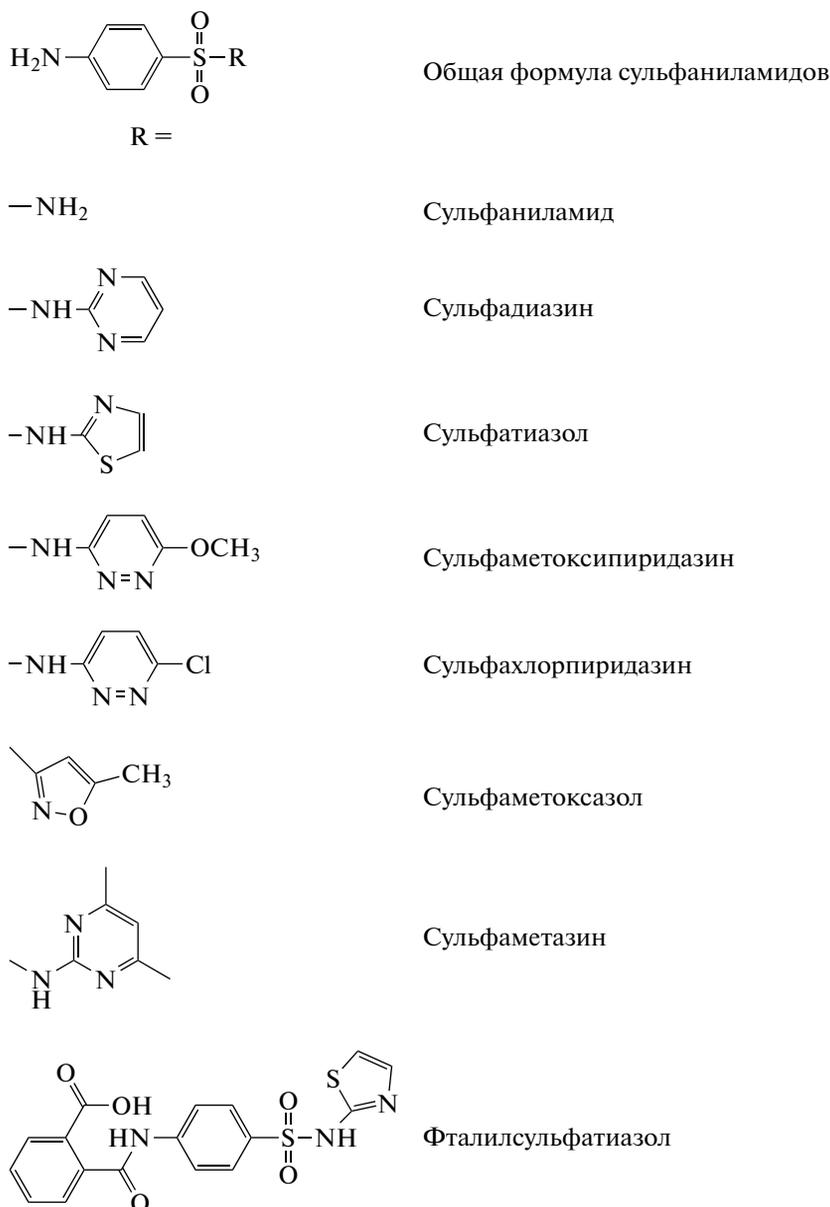


Схема 2. Структурные формулы изученных сульфаниламидов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы и оборудование. Краситель I (Су5.5-СООН), CAS No. 1449612-07-0, мол. масса 619.2, приобретенный в ООО “Люмипроб Рус” (Россия), растворяли в 95%-ном этаноле (ООО “Брынцалов-А”, Россия) и получали при этом раствор с концентрацией 1 г/л. В день, когда проводили эксперимент, из него готовили коллоидный раствор путем разбавления водой в 60 раз (0.017 г/л). Использовали перексид водорода ос. ч., другие вещества имели квалификацию х. ч., ч. д. а. или поступали из Sigma-Aldrich (ФРГ). Растворы модельных аналитов (5 мМ) готовили в 95%-ном этаноле или в воде, дополнительно очищенной на

установке Millipore. Медь(II) вводили в виде сульфата, используя 1×10^{-4} М водный раствор.

Большинство опытов проводили в 96-луночных флуориметрических планшетах (Thermo Scientific Nunc F96 MicroWell, белые, кат. № 136101). Спектры поглощения в УФ- и видимой областях регистрировали на спектрофотометре СФ-102 (Интерфотофизика, Россия) в кварцевых кюветках длиной 1 см. Спектры флуоресценции получали на спектрофлуориметре “Флюорат-02 Панорама” (Люмэкс, Россия) в кварцевых кюветках длиной 1 или 0.2 см. Флуоресценцию в БИК-диапазоне в 96-луночных планшетах регистрировали с помощью установки (рис. 1), содержащей светодиод-

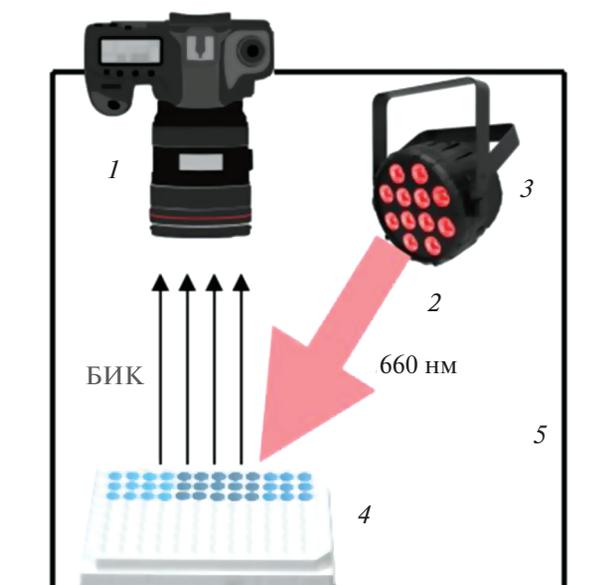


Рис. 1. Установка для регистрации флуоресценции в ближнем ИК-диапазоне: 1 – модернизированный фотоаппарат Nikon D80, 2 – красные светодиоды, 3 – алюминиевый радиатор для отвода тепла, 4 – 96-луночный полистирольный планшет с образцами, 5 – светонепроницаемый кожух.

ный источник (11 красных светодиодов мощностью 3 Вт с максимумом излучения 660 нм) (MiniFetmeг, Москва, Россия) и цифровую фотокамеру (в фотоаппарате Nikon D80 стандартный светофильтр, расположенный перед матрицей, был заменен на светофильтр с пропусканием выше 700 нм). Для количественных измерений получали два кадра с поворотом планшета на 180 градусов для компенсации не вполне равномерного освещения планшета из-за бокового расположения источника света.

В качестве модельных аналитов использовали 47 соединений – действующих веществ распространенных лекарств. Эти соединения содержат широкий спектр функциональных групп, имеют надежно установленный состав и коммерчески доступны. Среди изученных соединений можно выделить несколько групп, например аминокози́ды, цефалоспорины, фторхинолоны, сульфаниламиды, что позволяет изучать поведение соединений, сходных по структуре.

Методика эксперимента. Для каталитического окисления красителя I в лунку планшета с помощью дозатора в типичном эксперименте добавляли (конкретные условия указаны в подписях к рисункам; вещества добавляли в лунку в том порядке, в котором они перечислены): 30 мкл буферного раствора (0.05 М водный раствор тетрабората натрия для создания pH 9.2 или 0.1 М ацетатный буферный раствор с pH 3.7), 60 мкл 1 мМ раствора ме-

ди(II), 30 мкл 1 М раствора H_2O_2 , 60 мкл 5 мМ раствора модельного аналита, 60 мкл воды (если раствор аналита приготовлен в этаноле) или 60 мкл этанола (в случае водного раствора аналита) и 60 мкл раствора красителя I (0.017 г/л). Содержание этанола в серии опытов поддерживали постоянным, поскольку от него зависит квантовый выход эмиссии красителя. Считали, что реакция начинается в момент добавления красителя. Заметим, что в боратном буферном растворе медь(II) окисляет пероксид водорода, превращаясь в оксид меди(I) [19]. При высоких концентрациях меди(II) (от 1 мМ) в лунках был замечен рыжеватый осадок Cu_2O , который, однако, не мешал измерениям.

За окислением красителя следили по флуоресценции в ближней ИК-области. Интенсивности фиксировали фотографическим методом в режиме отражения в планшете, что давало возможность быстро и одновременно измерять несколько образцов, работать с мутными суспензиями, многократно фиксировать сигнал во времени. Фотографии планшета получали через различные промежутки времени (от 1 мин до 1–2 ч) в БИК-визуализаторе (рис. 1). Фотографии оцифровывали в программе ImageJ, рассчитывая общую интенсивность. Усредненные по каждой лунке интенсивности использовали в качестве сигнала; иногда представляли сигнал как долю от интенсивности на фотографии, полученной сразу после начала реакции. Для хемометрической обработки получали по шесть параллельных результатов в соседних лунках планшета и загружали их в программу Unscrambler X (Camo Software, Норвегия), где обрабатывали методом главных компонент, используя установки по умолчанию.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Свойства системы в отсутствие модельных аналитов. Использовали краситель I, поглощающий свет при 660 нм и излучающий в БИК-области (в этаноле максимум находится при 700 нм, рис. 2). Реагент относится к гидрофобным карбоцианинам, которые при разбавлении органического раствора водой образуют прозрачный, очень слабо флуоресцирующий коллоидный раствор наночастиц диаметром порядка 100 нм [10]. Однако при добавлении органического растворителя растворимость карбоцианина и его флуоресценция повышаются. Установлено, что введение 15–25 об. % этанола в водный раствор позволяет наблюдать БИК-флуоресценцию красителя I, удобную для измерений.

В присутствии пероксида водорода и солей меди(II) краситель I медленно окисляется, при этом падает интенсивность эмиссии при 710 нм и поглощение при 660 нм. Светопоглощение и флуо-

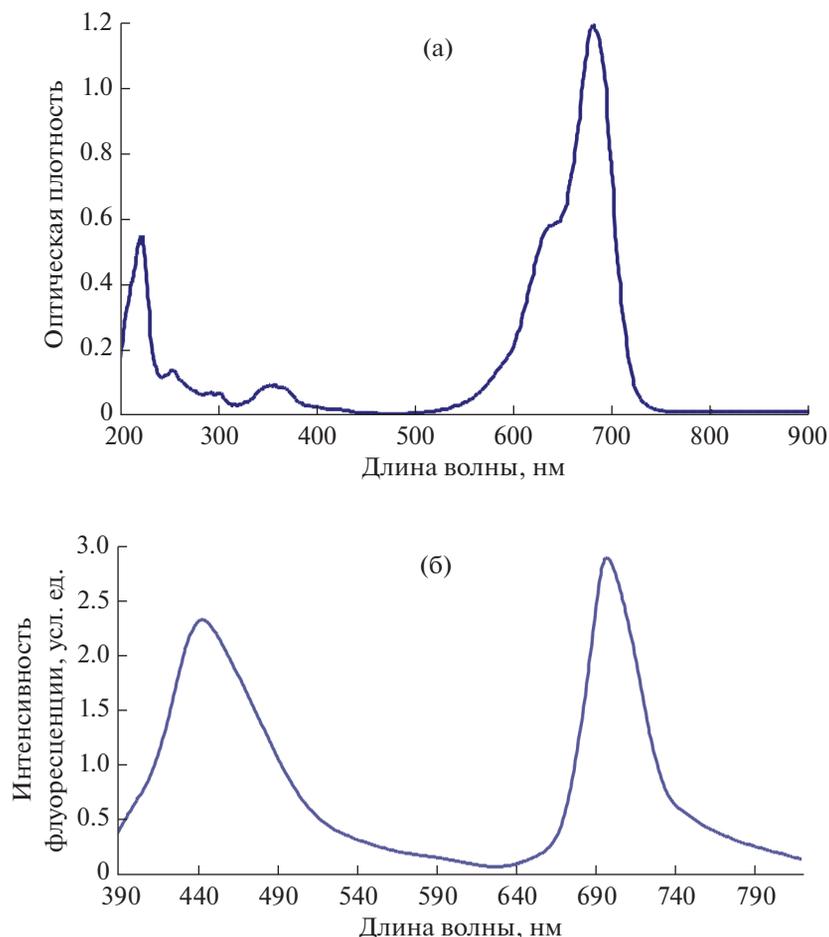


Рис. 2. Спектры поглощения (а) и флуоресценции (возбуждение при 370 нм) (б) красителя I в этаноле (2.7×10^{-6} М).

ресценция изменяются не синхронно: так, при рН 3.7 изменения контрольного сигнала в БИК-диапазоне заметны через 10 мин после начала реакции, а изменения поглощения начинаются только через полчаса. В данной работе мы опирались на измерения БИК-флуоресценции, меньше зависящей от собственной окраски анализируемых объектов.

Влияние модельных аналитов на интенсивность флуоресценции. На скорость окисления красителя I могут влиять различные соединения, в том числе образующие комплексы с ионами меди(II). Для оценки возможности получения отклика модельных аналитов проводили скрининговое исследование в 96-луночной планшете (рис. 3). В нейтральном и слабощелочном растворах сигнал дают немногие соединения, в частности, заметно ускоряют окисление красителя диклофенак, рибофлавин и сульфаниламиды (темные лунки на рис. 3а). В слабокислой среде набор модельных веществ, изменяющих сигнал, расширяется (рис. 3б): ускоряют реакцию также цефотаксим, сульфаниламиды, эритромицин; замедляют — бен-

зилпенициллин, неомицин, гентамицин, метамизол, прокаин, ванкомицин, симвастатин, изониазид, моксифлоксацин, тетрациклин, феногиазины.

В присутствии некоторых аналитов интенсивность флуоресценции красителя выше контрольной, т.е. его окисление замедляется. Это заметно, например, для симвастатина (рис. 3а, 3б, ряд 3, поз. 5), что можно объяснить агрегацией: для гидрофобных карбоцианинов характерно тушение эмиссии в водных растворах и ее разгорание при включении красителя в гидрофобные домены различных наноструктур [10, 20]. Симвастатин, как и другие липофильные водорастворимые соединения [21], вероятно, образует мицеллоподобные частицы при отсутствии четкой критической концентрации мицеллообразования. Включение карбоцианина в такие структуры может иметь два следствия: повышение квантового выхода эмиссии из-за перехода в гидрофобное окружение и замедление окисления пероксидом; и то, и другое могло бы объяснить повышение измеряемой интенсивности по сравнению с контрольным опытом.

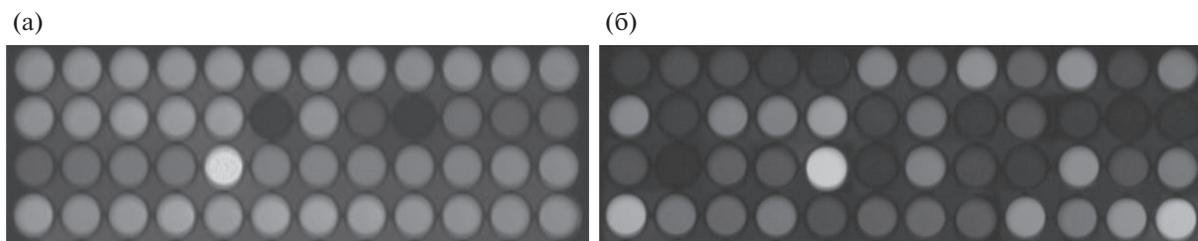


Рис. 3. Фотографии флуоресцирующих планшетов с системой краситель I—Cu(II)—H₂O₂ через 20 мин после начала реакции в присутствии модельных аналитов: 1-я строка — контроль (без аналита), цефтриаксон, цефазолин, цефтазидим, цефотаксим, бензилпенициллин, амикацин, неомицин, фосфомоцицин, гентамицин, стрептомицин, метамизол; 2-я строка: циметидин, парацетам, аскорбат, прокаин, ванкомицин, диклофенак, глутатионат, рибофлавин, сульфадиазин, сульфаметоксазол, сульфатиазол, α-гидроксипролин; 3-я строка: 5-гидрокситриптофан, эритромицин, сульфаметазин, тирамин, симвастатин, винпоцетин, меропенем, хлорамфеникол, мебгидролин, изониазид, ампициллин, доксициклин; 4-я строка: тетрациклин, пefлоксацин, энрофлоксацин, цiproфлоксацин, офлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин, триметоприм, промазин, прометазин, хлорпромазин, перфеназин: (а) — pH 7.4, (б) — pH 3.7.

Как видно из рис. 3, рассматриваемая флуориметрическая система чувствительна к соединениям разной природы. Представляет интерес изучение возможности распознавания аналитов, сходных по структуре.

Влияние сульфаниламидов на флуоресцентный сигнал. Для более подробного рассмотрения выбрали сульфаниламиды (8 соединений). Известно, что эти соединения образуют комплексы с медью(II) [22]. В отсутствие металла-катализатора и пероксида сульфаниламиды не влияют на БИК-флуоресценцию, за исключением фталилсульфатиазола (ФСТ), который в слабокислой среде (pH 3.7) частично тушит эмиссию красителя, в том числе в отсутствие пероксида и катализатора. В боратном буферном растворе ФСТ и сульфатиазол ускоряют каталитическую реакцию окисления красителя (рис. 4); другие соединения (сульфадиазин, сульфаметазин, сульфаметоксипиридазин, сульфаклорпиридазин) реакцию замедляют, давая сигнал выше контрольного (рис. 5). Эти соединения относительно липофильны, а их высокие сигналы можно объяснить теми же причинами, что приведены выше для симвастатина. Фосфатный буферный раствор (pH 7.4) ингибирует окисление красителя (рис. 4в).

Особенность каталитических редокс-систем — изменение сигнала во времени, что увеличивает продолжительность анализа по сравнению с некаталитическими методами, однако дает возможность наблюдения сигнала через различные промежутки времени, при этом разные аналиты могут проявлять свое влияние в различной степени. Как видно из рис. 5 и 6, концентрационные условия и время наблюдения сигнала можно выбрать так, что сигнал будут давать, например, фталилсульфатиазол (на первых минутах реакции) и сульфатиазол (через 13 мин) — за счет ускорения окисления красителя (уменьшение флуоресценции); через полчаса и далее остальные сульфаниламиды будут давать сигнал, наоборот, выше

контрольного за счет замедления реакции. (Перечисленные результаты относятся к концентрации добавляемого раствора меди(II) 1 мМ; при снижении количества катализатора времена увеличиваются: так, для 0.1 мМ раствора меди(II) отличие сигнала остальных сульфаниламидов от контрольного наступит через 1.5 ч).

Идентификация сульфаниламидов в водном растворе. Для оценки возможностей предлагаемой флуориметрической системы провели распознавание сульфаниламидов в растворе. Для каждого из восьми аналитов выполнили по 6 параллельных экспериментов в системе H₂O₂—Cu(II)—краситель I при pH 3.7 (каждым сульфаниламидом заполнили по шесть лунок планшета). Фиксировали флуоресценцию красителя через различные промежутки времени, выбирая для обработки фотографии, на которых сигналы сульфаниламидов существенно различались (через 2, 10, 15 и 21 мин после начала реакции). Измеренные интенсивности обработали методом главных компонент (ГК). Пример графика счетов приведен на рис. 7 (одинаковыми символами обозначены параллельные опыты с одним сульфаниламидом).

Как видно из рис. 7, разным сульфаниламидам отвечают разные группы точек на графике. Все семь соединений одновременно различить нельзя, однако любые пары сульфаниламидов разделяются в одной из систем координат: 1–2 ГК, 1–3 ГК (рис. 7) либо 2–3 ГК.

Приведенные результаты указывают на перспективность развития флуоресцентных платформ рассматриваемого типа для решения задач качественного анализа.

Определение фталилсульфатиазола в водном растворе. Изучили возможность использования рассматриваемой флуориметрической системы для наблюдения сигнала ФСТ в водном растворе, а также в присутствии гомогената мышц индейки, обладающей собственной флуоресценцией

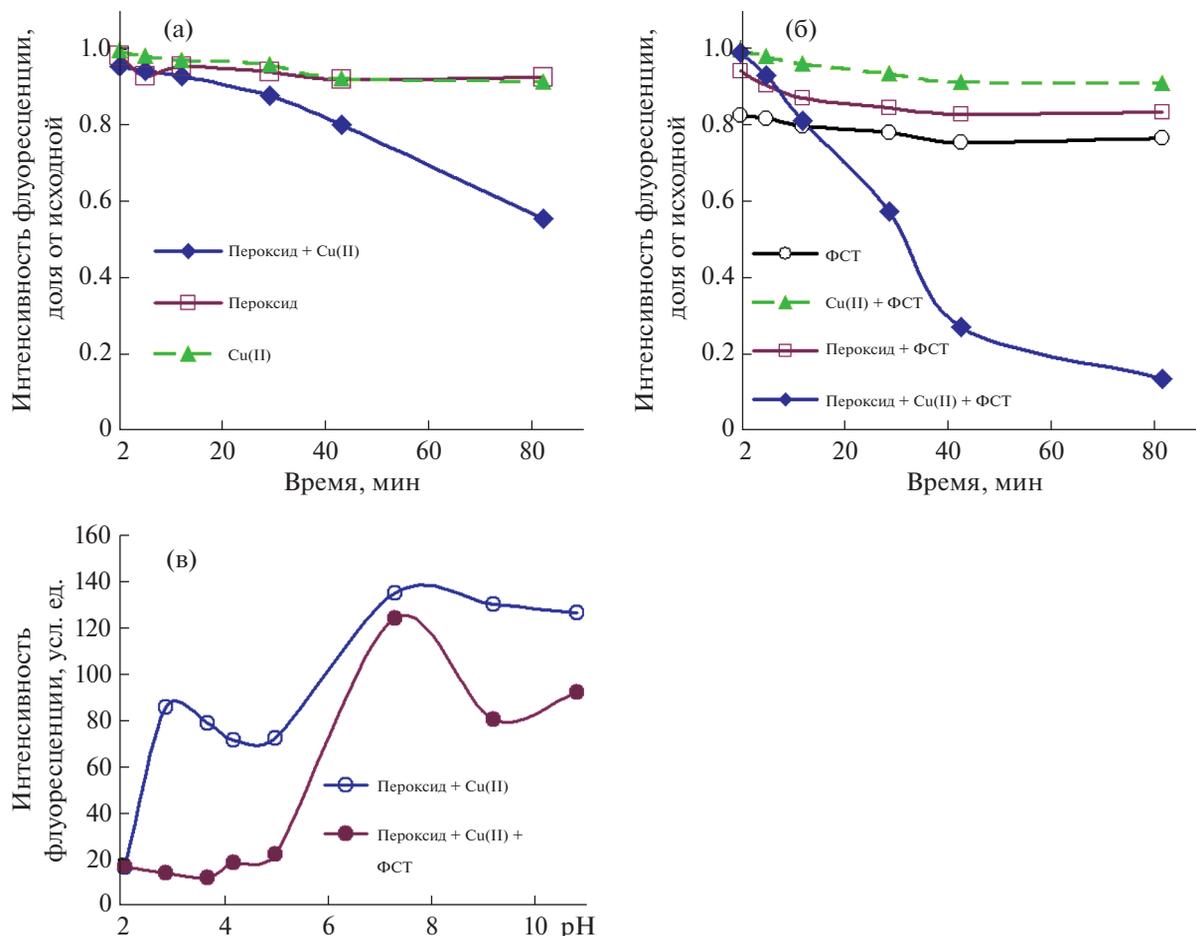


Рис. 4. Зависимость БИК-флуоресцентного сигнала системы пероксид–Cu(II)–фталилсульфатазол от времени при pH 3.7 в отсутствие (а) и в присутствии ФСТ (0.5 мМ в лунке) (б); (в) – зависимость от pH, полученная через 29 мин после начала реакции. В лунки вводили по 30 мкл буферного раствора и 1×10^{-4} М CuSO_4 , по 60 мкл: 0.5 М H_2O_2 , 5 мМ сульфаниламида в этаноле, воду и водный раствор красителя I (0.017 г/л) в перечисленном порядке. Буферные растворы: HCl (pH 2), ацетатные (pH 3–5), фосфатный (pH 7.4), боратные (pH 9.2–10.8).

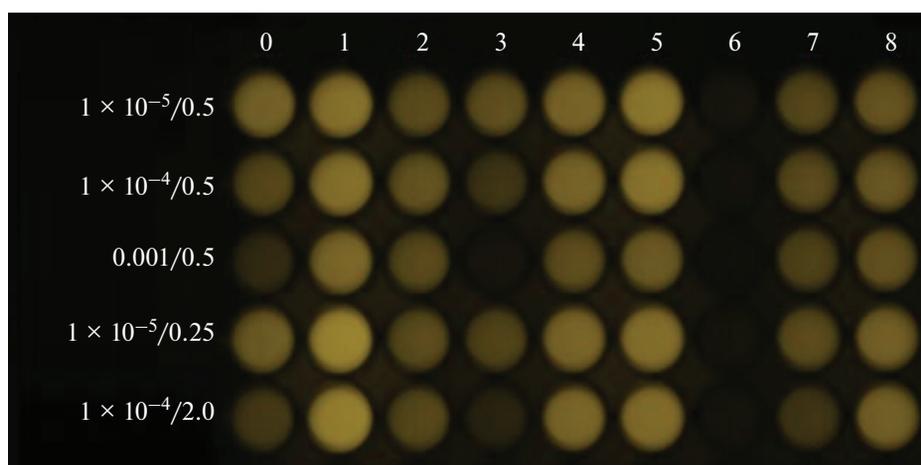


Рис. 5. Пример фотографии флуоресцирующего планшета в ближнем ИК-диапазоне через 30 мин после начала реакции окисления красителя I пероксидом водорода в присутствии меди(II): столбец 0 – контрольный опыт, 1 – сульфадiazин, 2 – сульфаметоксазол, 3 – сульфатазол, 4 – сульфаметазин, 5 – сульфаметоксипиридазин, 6 – фталилсульфатазол, 7 – сульфаниламид, 8 – сульфаклорпиридазин. Концентрации растворов вводимой меди(II) и H_2O_2 (М) показаны слева от изображений; в лунки помещали по 30 и 60 мкл этих растворов соответственно, а также 60 мкл модельного раствора аналита (5 мМ), 60 мкл воды или этанола и 30 мкл 0.05 М раствора $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ (pH 9.2).

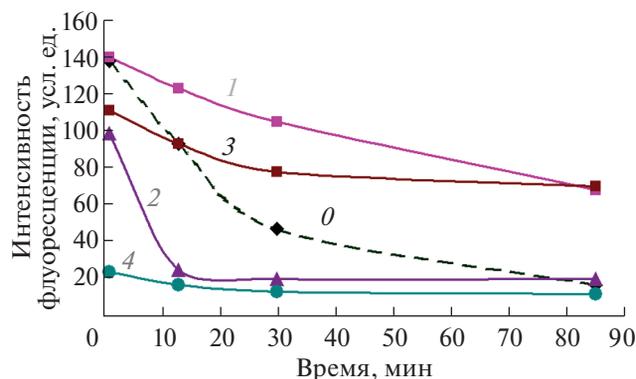


Рис. 6. Кинетические кривые для реакции окисления красителя I, катализируемой медью(II), в присутствии некоторых сульфаниламидов: 0 – без сульфаниламида, 1 – сульфаметоксипиридазин, 2 – сульфатиазол, 3 – сульфаниламид, 4 – фталилсульфатиазол. Условия: вводили 60 мкл 0.5 М H_2O_2 и 30 мкл 1 мМ раствора сульфата меди(II) (строка “0.001/0.5” на рис. 5); остальные условия см. в подписи к рис. 5.

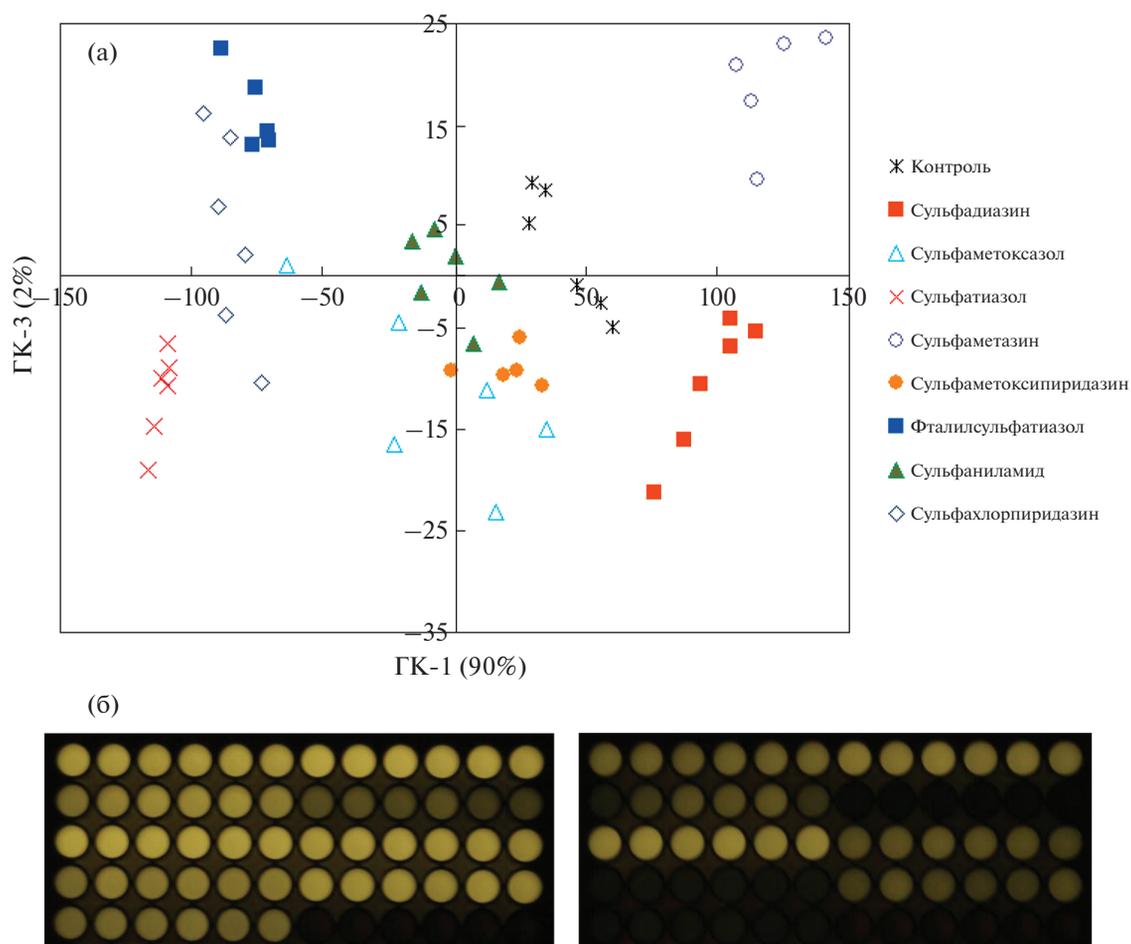


Рис. 7. (а) График счетов метода главных компонент для реакции H_2O_2 –Cu(II)–краситель I при pH 3.7 в присутствии 8 сульфаниламидов, перечисленных в легенде в координатах 1-й и 3-й главных компонент; (б) некоторые фотографии, использованные для обработки (при временах реакции 2 и 15 мин). Аналиты помещали по 6 лунок в ряд в порядке, перечисленном в легенде: А1–А6 – контроль (без сульфаниламида), А7–А12 – сульфадиазин, В1–В6 – сульфаметоксазол и т.д. вплоть до лунки Е6. Условия реакции – см. подпись к рис. 4.

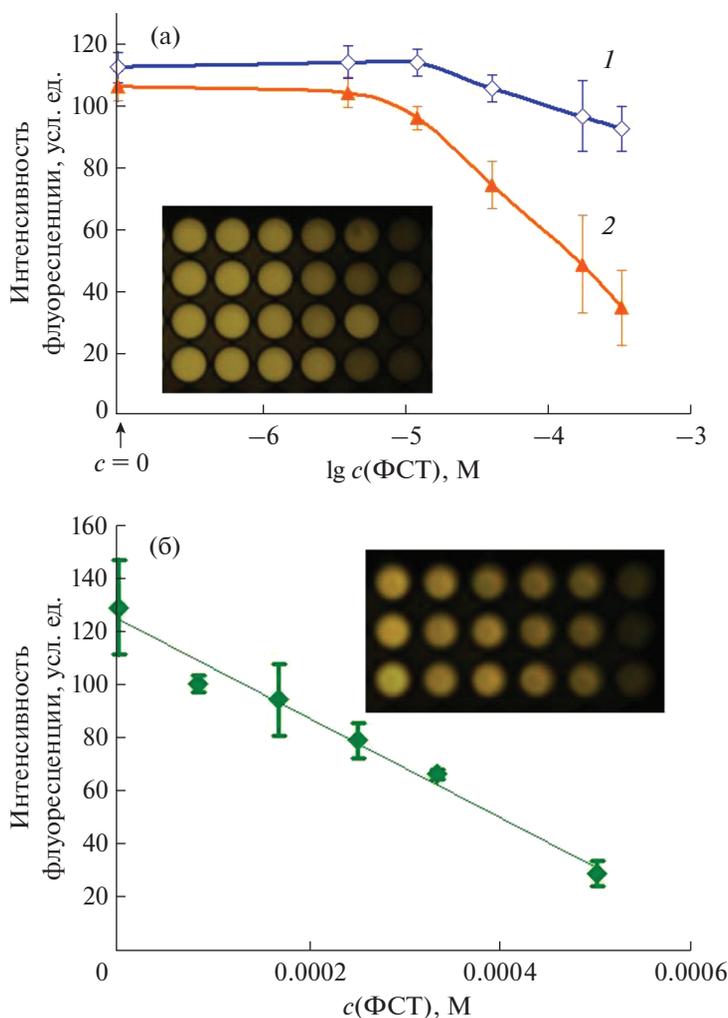


Рис. 8. Сигнал различных концентраций фталисульфатиазола (ФСТ) в водном растворе (а) и в присутствии гомогената мышц индейки (б). На вставках показаны фотографии лунок планшетов с параллельными опытами для приведенных на графиках концентраций ФСТ (на рис. 8а – для кривой 2). Время от начала реакции до измерения: (а): 1 – 2 мин, 2 – 8 мин; (б): 13 мин. Конечные концентрации в лунке планшета: (а): $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 5 мМ, Cu(II) 1×10^{-5} М, H_2O_2 0.05 М, ФСТ от 0 до 0.3 мМ, этанол 19 об. %; (б): $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 5 мМ, Cu(II) 0.2 мМ, H_2O_2 0.2 М, гомогенат индейки 3 г/л, ФСТ от 0 до 0.5 мМ; этанол 17 об. %; во всех случаях концентрация красителя 5.5 мкМ.

при 400–600 нм и сильно поглощающей возбуждающее излучение в видимом и УФ-диапазоне. Определение проводили в слабощелочной среде, в которой набор потенциально мешающих аналитов аналитов более узок, чем в кислой (рис. 3). Интенсивность флуоресценции пропорциональна логарифму концентрации ФСТ (рис. 8а) при времени реакции не более 8 мин. Среднее значение относительного стандартного отклонения для этого интервала составило 0.17 (для 4 параллельных опытов). При малых временах реакции (например, 2 мин) есть тенденция к повышению сигнала по сравнению с контрольным опытом, т.е. ФСТ способен не только ускорять, но, как и

другие сульфаниламиды, замедлять индикаторную реакцию.

Для того чтобы наблюдать сигнал ФСТ в присутствии гомогената индейки, концентрации пероксида и меди(II) потребовалось увеличить в 4 и 20 раз соответственно. Полученная зависимость (рис. 8б) линейна в диапазоне концентраций ФСТ 8×10^{-5} – 5×10^{-4} М (коэффициент корреляции – 0.95, $s_r = 0.09$, усредненное по диапазону концентраций).

Полученные результаты подтверждают, что в режиме отражения можно измерять флуоресценцию мутных суспензий, а поскольку красное и БИК-излучение в заметной степени проникают

через биологическую ткань, целесообразно использование БИК-флуорофора [6, 23], позволяющего получать сигнал аналита в таком сложном объекте, как гомогенат мышц индейки, без отделения матрицы.

* * *

Таким образом, на основе каталитической реакции окисления БИК-флуорофора предложена флуориметрическая сенсорная платформа, позволяющая получать сигнал соединений различной природы, в том числе нетипичных для определения флуориметрическими методами. Используемый в работе метод БИК-флуориметрии с фотографической регистрацией сигнала подтверждает свою высокую производительность, удобство и целесообразность использования для определения и обнаружения низкомолекулярных органических аналитов. Предложена индикаторная реакция, позволившая получать сигналы веществ разной природы, различать соединения одного класса, анализировать биологические матрицы, которая к тому же может быть легко модифицирована путем замены красителя, окислителя или катализатора, что создаст предпосылки для дальнейшего расширения круга аналитов и разработки эффективных аналитических методик. Представленный материал свидетельствует о перспективности использования рассматриваемой флуориметрической системы не только для определения/обнаружения индивидуальных аналитов, но и для классификации (дискриминации) объектов, чему будут посвящены отдельные публикации.

Авторы благодарят Алексея Добротворского (*photodrom.com*) за предоставление БИК-фотоаппаратов и Владислава Орехова за помощь в расчетах по хемометрике.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 20-13-00330).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Demchenko A.P. Introduction to Fluorescence Sensing. Springer, Switzerland, 2015. 818 p.
2. Verbitskiy E.V., Rusinov G.L., Chupakhin O.N., Charushin V.N. Design of fluorescent sensors based on azaheterocyclic push-pull systems towards nitroaromatic explosives and related compounds: A review // *Dyes Pigm.* 2020. V. 180. Article 108414. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108414>
3. Chen X., Zhou Y., Peng X., Yoon J. Fluorescent and colorimetric probes for detection of thiols // *Chem. Soc. Rev.* 2010. V. 39. P. 2120. <https://doi.org/10.1039/b925092a>
4. Salem F.B. Spectrophotometric and fluorimetric determination of catecholamines // *Anal. Lett.* 1993. V. 26. P. 281. <https://doi.org/10.1080/00032719308017385>
5. Gehring T.A., Rushing L.G., Thompson H.C., Jr. Determination of sulfonamides in edible salmon tissue by liquid chromatography with postcolumn derivatization and fluorescence detection // *J. AOAC Int.* 1997. V. 80. P. 751.
6. Chen C., Tian R., Zeng Y., Chu C., Liu G. Activatable fluorescence probes for “turn-on” and ratiometric biosensing and bioimaging: From NIR-I to NIR-II // *Bioconjugate Chem.* 2020. V. 31. P. 276. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.9b00734>
7. Wu D., Chen L., Lee W., Ko G., Yin J., Yoon J. Recent progress in the development of organic dye based near-infrared fluorescence probes for metal ions // *Coord. Chem. Rev.* 2018. V. 354. P. 74. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2017.06.011>
8. Rukosueva E.A., Dobrolyubov E.O., Goryacheva I.Yu., Beklemishev M.K. Discrimination of whiskies using an “add-a-fluorophore” fluorescent fingerprinting strategy // *Microchem. J.* 2019. V. 145. P. 397. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.11.002>
9. Liu T., Zhang S., Liu W., Zhao S., Lu Z., Wang Y., Wang G., Zou P., Wang X., Zhao Q., Rao H. Smartphone based platform for ratiometric fluorometric and colorimetric determination H₂O₂ and glucose // *Sens. Actuators B.* 2020. V. 305. Article 127524. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127524>
10. Zakharenkova S.A., Katkova E.A., Doroshenko I.A., Kriveleva A.S., Lebedeva A.N., Vidinchuk T.A., Shik A.V., Abramchuk S.S., Podrugina T.A., Beklemishev M.K. Aggregation-based fluorescence amplification strategy: “Turn-on” sensing of aminoglycosides using near-IR carbocyanine dyes and pre-micellar surfactants // *Spectrochim. Acta A.* 2021. V. 247. Article 119109. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.119109>
11. Zhou Y., Huang X., Hu X., Tong W., Leng Y., Xiong Y. Recent advances in colorimetry/fluorimetry-based dual-modal sensing technologies // *Biosens. Bioelectron.* 2021. V. 190. Article 113386. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113386>
12. Mottola H.A., Perez-Bendito D. Kinetic determinations and some kinetic aspects of analytical chemistry // *Anal. Chem.* 1994. V. 66. P. 131R.
13. Crouch S.R., Scheeline A., Kirkor E.S. Kinetic determinations and some kinetic aspects of analytical chemistry // *Anal. Chem.* 2000. V. 72. P. 53. <https://doi.org/10.1021/a1000004b>
14. Долманова И.Ф., Пеукова В.М. Определение микроколичеств меди с использованием каталитической реакции окисления гидрохинона перекисью водорода в присутствии пиридина // *Журн. аналит. химии.* 1964. Т. 19. С. 297.
15. Beklemishev M.K., Petrova Yu.Yu., Dolmanova I.F. Sorption-catalytic determination of imazapyr on a copper-containing sorbent // *Mikrochim. Acta.* 2001. V. 136. № 1–2. P. 35.
16. Maudens K.E., Zhang G.-F., Lambert W.E. Quantitative analysis of twelve sulfonamides in honey after acidic hydrolysis by high-performance liquid chromatography with post-column derivatization and fluorescence detection // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1047. P. 85. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.07.007>

17. Flores J.L., Fernandez de Cordova M.L., Diaz A.M. Flow-through optosensor combined with photochemically induced fluorescence for simultaneous determination of binary mixtures of sulfonamides in pharmaceuticals, milk and urine // *Anal. Chim. Acta.* 2007. V. 600. P. 164.
18. Eremin S.A., Murtazina N.R., Ermolenko D.N., Zherdev A.V., Mart'ianov A.A., Yazynina E.V., Michura I.V., Formanovsky A.A., Dzantiev B.B. Production of polyclonal antibodies and development of fluorescence polarization immunoassay for sulfanilamide // *Anal. Lett.* 2005. V. 38. P. 951. <https://doi.org/10.1081/AL-200054059>
19. Miliero F.J., Sharma V.K., Karn B. The rate of reduction of copper(II) with hydrogen peroxide in seawater // *Marine Chem.* 1991. V. 36. P. 71.
20. Humphry-Baker R., Graetzel M., Steiger R. Drastic fluorescence enhancement and photochemical stabilization of cyanine dyes through micellar systems // *J. Am. Chem. Soc.* 1980. V. 102. P. 847.
21. Madenci D., Egelhaaf S.U. Self-assembly in aqueous bile salt solutions // *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2010. V. 15. P. 109. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2009.11.010>
22. Bult A., Uitterdijk J.D., Klasen H.B. Copper(II) complexes of sulfanilamide derivatives // *Transit. Met. Chem.* 1979. V. 4. P. 285.
23. Reineck P., Gibson B.C. Near-infrared fluorescent nanomaterials for bioimaging and sensing // *Adv. Opt. Mater.* 2017. V. 5. № 2. 1600446. <https://doi.org/10.1002/adom.201600446>

УДК 543.061

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАКСИМАЛЬНОЙ ДЛИНЫ ДНК, РАСШИФРОВЫВАЕМОЙ С ТОЧНОСТЬЮ 99%, В ПОЛИМЕРЕ НА ОСНОВЕ ЛИНЕЙНОГО N,N-ПОЛИДИМЕТИЛАКРИЛАМИДА МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ГЕЛЬ-ЭЛЕКТРОФОРЕЗА С ЛАЗЕР-ИНДУЦИРУЕМОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЕЙ

© 2021 г. Д. В. Бочарова^{а, *}, Я. И. Алексеев^{а, б}, А. А. Волков^с, Г. С. Лавров^а,
А. Г. Плугов^б, И. А. Волков^б, А. А. Чемигов^б, Б. В. Бардин^а, В. Е. Курочкин^а

^аИнститут аналитического приборостроения Российской академии наук
ул. Ивана Черных, 31/33, Санкт-Петербург, 198095 Россия

^бООО “Научно-производственная фирма Синтол”
ул. Тимирязевская, 42, корп. Б, офис 316, Москва, 127434 Россия

^сВсероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО)
ул. В. Красносельская, 17, Москва, 107140 Россия

*e-mail: souldarydary@gmail.com

Поступила в редакцию 16.03.2021 г.

После доработки 01.04.2021 г.

Принята к публикации 02.04.2021 г.

Расшифровка последовательности (секвенирование) ДНК — одна из важнейших задач современных молекулярно-генетических исследований. Точность расшифровки является основополагающим параметром секвенирования ДНК. В настоящей работе установлены максимальные длины фрагментов ДНК, полученные по методу Сенгера, расшифровываемые с точностью 99% в полимере на основе линейного N,N-полидиметилакриламида ПДМА-6 для капилляров длиной 50 см до оптического окна детектора на отечественном генетическом анализаторе Нанофор 05 и на импортном генетическом анализаторе GA 3500xL. Проведено сравнение результатов расшифровки последовательности ДНК при использовании различных алгоритмов анализа. Подобраны параметры алгоритмов анализа, которые позволят пользователям генетических анализаторов получать лучшие результаты расшифровки ДНК при использовании полимера ПДМА-6.

Ключевые слова: секвенирование ДНК, капиллярный гель-электрофорез, линейный поли-N,N-диметилакриламид, генетический анализатор, Нанофор 05, GA 3500xL.

DOI: 10.31857/S0044450221100042

Расшифровка последовательности фрагментов ДНК по методу Сенгера [1] с использованием капиллярного гель-электрофореза является классической технологией с помощью которой были прочитаны первые геномы различных организмов, начиная с простейших фагов [2] и заканчивая геномом человека [3, 4]. Расшифровка генома любого организма позволяет понять его структурную организацию, выявить гены или группы генов, ответственные за те или иные функции и признаки исследуемого организма. В ходе популяционных исследований, представляющих собой сравнение множества геномов родственных организмов, удается выявлять более тонкие различия на уровне замены единичных нуклеотидов, которые также определяют разнообразие функ-

ций и признаков организмов. Так, например, в геноме человека размером шесть миллиардов пар нуклеотидов найдено более 25 тысяч генов, содержащих более трех миллионов однонуклеотидных замен, обуславливающих фенотипическое разнообразие вида *Homo sapiens* [5]. Таким образом, замена всего одного нуклеотида может изменить функцию изучаемого организма, поэтому точность расшифровки ДНК — один из важнейших параметров, требующих тщательной оценки [6]. Исторически массовое секвенирование геномов методом Сенгера началось с внедрением автоматических секвенаторов ДНК. Полученные с помощью этих приборов “сырые” данные требовали разработки и применения специального программного обеспечения, позволяющего рас-

Таблица 1. Показатели качества Phred [8]

Phred Quality Score, Q	Вероятность некорректного определения нуклеотида	Достоверность, %
10	1 из 10	90
20	1 из 100	99
30	1 из 1000	99.9
40	1 из 10000	99.99
50	1 из 100000	99.999

шифровать последовательности ДНК с высокой точностью, а также ввести критерии оценки точности. Так, с 1998 года использовалось программное обеспечение “Phred base calling” [7, 8]. Показатель качества Phred определяется как свойство, логарифмически связанное с вероятностями ошибок при присвоении пика на электрофореграмме соответствующего ему наименования нуклеотида А, Т, G или С по характеристичному для каждого нуклеотида сигналу флуоресценции (цвет пика). Для расчета показателя качества используют следующую формулу [8]:

$$Q = -10 \lg P, \quad (1)$$

где P – вероятность ошибки при определении нуклеотида. В табл. 1 представлены варианты значений показателя качества Q , вероятности некорректного определения нуклеотида и достоверности секвенирования ДНК.

Однако в 2010 году было статистически доказано превосходство алгоритма, реализованного в программном обеспечении KB™ Basecaller, разработанном производителем автоматических секвенаторов ДНК серии ABIPrizm компанией “Applied Biosystem” (сейчас “ThermoFisher Scientific”), в сравнении с “Phred base calling” [9]. С тех пор вышло несколько новых версий программы KB™ Basecaller, однако техническая часть алгоритма расшифровки последовательности ДНК до сих пор не опубликована.

В начале 2000-х годов в России были созданы первые отечественные приборы для капиллярного электрофореза серии “Нанофор”, предназначенные для автоматического количественного определения состава жидких проб практически любых неорганических и органических веществ, в том числе биологически активных [10]. Приборы Нанофор 01 со спектрофотометрическим детектором и Нанофор 02 с высокочувствительным флуоресцентным детектором выпускались малыми сериями в 2000–2005 гг., а в 2005 г. был разработан первый однокапиллярный автоматический

секвенатор ДНК Нанофор 03-С. Прибор снабжен четырехканальным детектором лазер-индуцированной флуоресценции и устройством автоматического заполнения капилляра раствором разделяющего полимера. В 2011 году был создан первый отечественный 8-капиллярный секвенатор ДНК Нанофор 05 [11], предназначенный для решения задач определения длин фрагментов ДНК в исследуемом образце по стандарту с известными длинами (фрагментный анализ ДНК или генетическое типирование ДНК) [12] и расшифровки первичной структуры ДНК по методу Сенгера (секвенирование ДНК) [13]. Одновременно с разработкой прибора Нанофор 05 велась разработка собственного алгоритма расшифровки последовательности ДНК, реализованного в программе “ДНК Анализ”. Детальное описание данного алгоритма будет представлено в отдельной публикации.

Для эффективного решения широкого спектра пользовательских задач в области капиллярного гель-электрофоретического анализа нуклеиновых кислот необходимо использовать оптимизированные параметры программ электрофореза: напряжение, температуру, время и т.д. [14]. В данном исследовании в качестве полимера, разделяющего фрагменты ДНК, использовали коммерческий полимер на основе линейного N,N-полидиметилакриламида ПДМА-6, предназначенный для секвенирования ДНК.

Цель настоящего исследования – определение длины фрагмента ДНК, последовательность нуклеотидов в котором расшифровывается с точностью 99%, при разделении продуктов реакции секвенирования в полимере ПДМА-6 на приборах капиллярного гель-электрофореза с детекцией лазер-индуцированной флуоресценции с использованием различных алгоритмов анализа.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты. Полимер ПДМА-6 (ООО “НПФ Синтол”, Россия), формамид Hi-Di (ThermoFisher Scientific, США), буферный раствор для электрофореза ТАПС (ООО “НПФ Синтол”, Россия), спектральный калибратор BigDye Terminator v3.1 Matrix Standard (ThermoFisher Scientific, США), сиквенсный стандарт BigDye Terminator v3.1 Sequencing Standard (ThermoFisher Scientific, США).

Приборы и материалы. Капиллярный гель-электрофорез с детекцией лазер-индуцируемой флуоресценции проводили на генетических анализаторах Нанофор 05 (Институт аналитического приборостроения РАН, Россия) и 3500xL Genetic Analyzer (ThermoFisher Scientific, США). Для исследований на приборе Нанофор 05 использовали капилляры внутренним диаметром 50 мкм, внешним диаметром 192 мкм, длиной 60 см (дли-

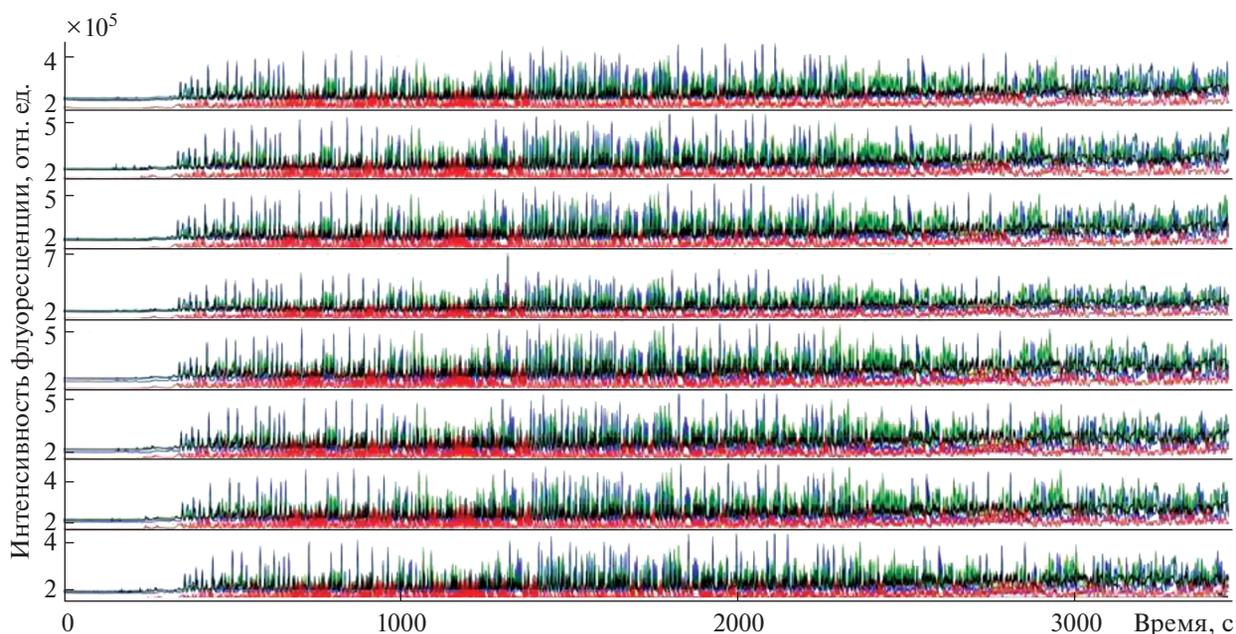


Рис. 1. Результат электрофоретического разделения сиквенсного стандарта BigDye Terminator v3.1 на генетическом анализаторе Нанофор 05 по 8 капиллярам.

на до окна детектора – 50 см) (Molex, США). Капилляры были собраны в линейки из 8 капилляров каждая (Институт аналитического приборостроения РАН, Россия). Для исследования на 3500xL Genetic Analyzer использовали стандартную (50 см до оптического окна) 8-капиллярную линейку 3500 Genetic Analyzer 8-Capillary Array (ThermoFisher Scientific, США). Для денатурации продуктов реакции секвенирования использовали амплификатор GeneAmp 2720 Thermal Cycler (ThermoFisher Scientific, США). Для растворения и центрифугирования образцов использовали низкоскоростную микроцентрифугу-вортекс Циклотемп-901 (ООО “Циклотемп”, Россия). Для центрифугирования образцов в стрипах применяли низкоскоростную микроцентрифугу Циклотемп-903 (ООО “Циклотемп”, Россия).

Подготовка проб и анализ данных. Спектральный калибратор BigDye Terminator v3.1 Matrix Standard готовили следующим образом: 8 мкл раствора калибратора смешивали с 72 мкл деионизованного формамида и раскапывали по 10 мкл в каждую пробирку стрипа, состоящего из 8 пробирок объемом 0.2 мл. Закрывали крышки микропробирок и центрифугировали их в течение 2 мин. Затем стрипы помещали в амплификатор и денатурировали ДНК в следующих условиях: 95°C – 5 мин, 4°C – 5 мин. Затем центрифугировали пробирки в течение 2 мин со скоростью вращения 4500 об/мин.

Сиквенсный стандарт BigDye Terminator v3.1 Sequencing Standard готовили следующим обра-

зом: лиофилизированный сиквенсный стандарт растворяли в 300 мкл деионизованного формамида. Перемешивали на вортексе в течение 1 мин. Затем раскапывали по 10 мкл в каждую пробирку стрипа. Последующие действия осуществляли аналогично описанному выше протоколу подготовки образцов спектрального калибратора.

Гель-электрофоретическое разделение сиквенсного стандарта BigDye Terminator v3.1 проводили с помощью программы управления прибором Нанофор 05 – SeqPI версия 174 (Институт аналитического приборостроения РАН, Россия) и программы 3500 Data Collection Software v.1.0 (ThermoFisher Scientific, США) для прибора 3500xL Genetic Analyzer по стандартному протоколу: напряжение нанесения образца – 1.8 кВ, время нанесения 24 с, напряжение электрофореза 12.2 кВ. Пример разделения сиквенсного стандарта BigDye Terminator v3.1 в 8 капиллярах линейки на приборе Нанофор 05 приведен на рис. 1.

Экспериментальные данные, полученные на приборах Нанофор 05 и 3500xL Genetic Analyzer, анализировали с помощью программы “ДНК Анализ”, версия 5.0.4.3 (Институт аналитического приборостроения РАН, Россия) с визуализацией в программе “ПАР²СЕК”, версия 1.7.0 (Институт аналитического приборостроения РАН, Россия), а также с помощью программы Sequencing Analysis Software v6.0 Built Id:FC3 (ThermoFisher Scientific, США).

Таблица 2. Результаты выравнивания экспериментально расшифрованных последовательностей сиквенного стандарта на референсную последовательность, полученные на приборе Нанофор 05 и проанализированные разными алгоритмами

Параметры расшифровки последовательности ДНК	ДНК Анализ, версия 5.0.4.3	КВ, версия 1.4.1.8
Совпадение с референсной последовательностью, %	97.2 ± 0.1*	96.9 ± 0.2**
Максимальная длина расшифровки с точностью Q20*, нуклеотид	798.4 ± 6.8*	776.8 ± 3.2**

* Доверительный интервал, при $\alpha = 0.05$, $P = 53$. ** Доверительный интервал, при $\alpha = 0.05$, $P = 61$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Точность секвенирования ДНК в каждом из 8 капилляров оценивали путем выравнивания расшифрованных последовательностей на референс – известную последовательность сиквенного стандарта Synthetic construct BigDye Terminator Cycle Sequencing Standard sequence длиной 1000 нуклеотидов с помощью программы BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) на сайте NCBI [14]. Экспериментально полученную последовательность (Query) выравнивали на референсную (Sbjct). Максимальную длину, соответствующую точности 99% (Phred Q20), рассчитывали как расстояние между первым из двух неверно определенных нуклеотидов с 5' конца и вторым из двух неверно определенных нуклеотидов с 3' конца. В обоих случаях в расчет принимали только те пары неверно определенных нуклеотидов, которые находились между собой на расстоянии, не превышающем 100 нуклеотидов. Пример определения максимальной длины фрагмента ДНК, последовательность нуклеотидов в котором расшифровывается с точностью 99%, приведен на рис. 2.

Для получения результата, приведенного на рис. 2, использовали данные, полученные на генетическом анализаторе Нанофор 05 и автоматически конвертированные в формат .ab1. Для данного образца максимальная длина расшифровки последовательности сиквенного стандарта с точностью 99% (Phred Q20) составила 800 нуклеотидов при использовании алгоритма анализа КВ версия 1.4.1.8 (ThermoFisher Scientific, США), файл мобильности KB_3130_POP6_BDTv3.mob, значение “Spacing” выставляли равным 24.0. Данные, полученные для этого же образца (в формате .srd) анализировали также в программе “ДНК Анализ”, версия 5.0.4.3 (Институт аналитического приборостроения РАН, Россия) и визуализированы в программе ПАР²СЕК (Институт аналитического приборостроения РАН, Россия). Величина максимальной, расшифровываемой с

точностью 99%, длины сиквенного стандарта составила 821 нуклеотид (рис. 3).

В табл. 2 приведены результаты выравнивания на референс данных, полученных с помощью двух разных алгоритмов расшифровки последовательности ДНК. Последовательность 53 образцов расшифрована с помощью алгоритма, реализованного в программе “ДНК Анализ”, версия 5.0.4.3. Последовательность 61 образца расшифрована с помощью алгоритма КВ версия 1.4.1.8 (файл мобильности KB_3130_POP6_BDTv3.mob, значение “Spacing” равно 24.0), реализованного в программе “Sequencing Analysis”, v. 6.0. Данные получены на приборе Нанофор 05 с использованием геля ПДМА-6 при напряжении электрофореза 12.2 кВ.

Аналогичным образом были получены данные на приборе 3500xL Genetic Analyzer. Анализ с использованием алгоритма КВ версия 1.4.1.8 (файл мобильности KB_3130_POP7_BDTv3.mob, значение “Spacing” равно 12.0) позволил установить следующие параметры расшифровки последовательности ДНК: совпадение с референсной последовательностью составило 97.9 ± 0.2%, максимальная длина расшифровки с точностью Q20 составила 813.4 ± 6.6 нуклеотидов (доверительный интервал при $\alpha = 0.05$, $P = 93$).

Как видно из табл. 2, длина расшифрованной с точностью Q20 последовательности сиквенного стандарта на приборе Нанофор 05, полученная с использованием алгоритма “ДНК Анализ”, версия 5.0.4.3 больше в среднем на 22 нуклеотида по сравнению с полученной с помощью алгоритма КВ 1.4.1.8. Совпадение с референсной последовательностью также больше на 0.3% при обработке данных с использованием программы “ДНК Анализ”.

При обработке данных, полученных на приборе 3500xL GA, с помощью программы “Sequencing Analysis”, v. 6.0 отмечается увеличение длины расшифровываемой последовательности ДНК на 15 нуклеотидов по сравнению с данными, получен-

Synthetic construct DigDye Terminator Cycle Sequencing Standard sequence

Sequence ID: [AY390769.1](#) Length: 1000 Number of Matches: 1Range 1: 13 to 956 [GenBank](#) [Graphics](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1587 bits(859)	0.0	921/946(97%)	24/946(2%)	Plus/Plus
Query 1	GGGGTGGCTGC	SCCTGGTTATGATTACTGTTAATGTTGCTACTACTGCTGACAATGCTG	59	
Sbjct 13	GGCGTGGCTGC	SCCTGGTTATGATTACTGTTAATGTTGCTACTACTGCTGACAATGCTG	72	
Query 60	CTGCTGCTTCTCCTCACGTCTCCACTTCTTGAACAATGCGCCGTCATGCTTCTTTTGC	119		
Sbjct 73	CTGCTGCTTCTCCTCACGTCTCCACTTCTTGAACAATGCGCCGTCATGCTTCTTTTGC	132		
Query 120	CTCCCCTGCTCCAGAAAGCTAGGCCGCAGATCAGAACCACACAGTCAATATCACCCACC	179		
Sbjct 133	CTCCCCTGCTCCAGAAAGCTAGGCCGCAGATCAGAACCACACAGTCAATATCACCCACC	192		
Query 180	TTCTCTTATAGATTCCGAATCTCATGATAGGGGCTCAGCCTCTGTGCGAGTGGAGAGAA	239		
Sbjct 193	TTCTCTTATAGATTCCGAATCTCATGATAGGGGCTCAGCCTCTGTGCGAGTGGAGAGAA	252		
Query 240	GTTTGCAGGCGAGCTGAGGAGCAATTGCAGGTGATATGATGTGCTCGGCTCAAGAAGCTG	299		
Sbjct 253	GTTTGCAGGCGAGCTGAGGAGCAATTGCAGGTGATATGATGTGCTCGGCTCAAGAAGCTG	311		
Query 300	GGCCCGGAGAGGAAGAAGTCGTGCCGGGGCTAATTATTGGCAAAACGAGCTCTTGTGTA	359		
Sbjct 312	GGCCCGGAGAGGAAGAAGTCGTGCCGGGGCTAATTATTGGCAAAACGAGCTCTTGTGTA	371		
Query 360	AACATTGATCCAAC TGG AATGTCACTAATGGCGAATCAATATTTCCATAAGGCATGATGGT	419		
Sbjct 372	AACATTGATCCAAC TGG AATGTCACTAATGGCGAATCAATATTTCCATAAGGCATGATGGT	431		
Query 420	TGCTCAGAGGCAGGAGAAGAGCAACGAATACGATCCTATAAAAAGATAAAACATAAATAAA	479		
Sbjct 432	TGCTCAGAGGCAGGAGAAGAGCAACGAATACGATCCTATAAAAAGATAAAACATAAATAAA	491		
Query 480	CAGTCTTGATTATATTTCTGGGTATTAAGCCACAATCAGAACAATAATATGCTTTGTATC	539		
Sbjct 492	CAGTCTTGATTATATTTCTGGGTATTAAGCCACAATCAGAACAATAATATGCTTTGTATC	551		
Query 540	TTTTCTTGCTTCTTCATTACCAACTGCTTCCGCGGCCACATTAAGAGAACTTGTGGTAA	599		
Sbjct 552	TTTTCTTGCTTCTTCATTACCAACTGCTTCCGCGGCCACATTAAGAGAACTTGTGGTAA	611		
Query 600	GATAAGAAGATATTTTATTCGTTCTGCTGACTTGCTGGATGTCGGGAAATATTCTGCATT	659		
Sbjct 612	GATAAGAAGATATTTTATTCGTTCTGCTGACTTGCTGGATGTCGGGAAATATTCTGCATT	671		
Query 660	TGATAAGAGCGGTTAATTGCAGATATAATTGGTAGTGAAAAGGGTCGTTGCTATGGTCA	719		
Sbjct 672	TGATAAGAGCGGTTAATTGCAGATATAATTGGTAGTGAAAAGGGTCGTTGCTATGGTCA	731		
Query 720	CCGTGAAGCGAGTACTAGCAGCACAGAATGTGTGCCGTTCTCAGTTAATATTGTTTGAA	779		
Sbjct 732	CCGTGAAGCGAGTACTAGCAGCACAGAATGTGTGCCGTTCTCAGTTAATATTGTTTGAA	790		
Query 780	TATGGTAACCTGTTTTAGTCGGTTTTAAAGGTAAGAAGATCTAAC - AAAA - C - AACTGCA	836		
Sbjct 791	TATGGTAACCTGTTTTAGTCGGTTTTAAAGGTAAGAAGATCTAACAAAAACAACACTGCA	850		
Query 837	GTGACTGATTGTAGTATT - ATTTTT - - ACT - AA - CT - A - TTT - GGTGTA - CATCA - CG -	885		
Sbjct 851	GTGACTGATTGTAGTATTATTTTTTACTTAATCTTAATTTTGGTGAAAACATCAACGG	910		
Query 886	CGCACT - CA - CCA - TACTC - A - TGTTT - - TCCATCGACATGACGTT	924		
Sbjct 911	CGCACTCAACCAATACTCCAATGTTTTATCCATCGACATGACGTT	956		

Рис. 2. Результат выравнивания экспериментально полученной (Query) и референсной (Sbjct) последовательностей сиквентного стандарта на сайте NCBI. Стрелками показаны первый (позиция 4) и последний (позиция 825) нуклеотиды, определяющие максимальную длину расшифровываемого с точностью 99% фрагмента ДНК. Прямоугольниками выделены ближайшие к ним внутри окна длиной в 100 нуклеотидов ошибки определения (в данном примере в позициях расшифрованной последовательности пропущен нуклеотид А (позиция 12 Query) и ошибочно определен нуклеотид Т (позиция 739 Query)).

ными на приборе Нанофор 05 и обработанными алгоритмом “ДНК Анализ”, версия 5.0.4.3. Разница в совпадении с референсной последовательностью также оказалась незначительна (на 0.7%) лучше в

случае данных, полученных на приборе 3500xL GA при обработке алгоритмом KB версия 1.4.1.8.

Данные, полученные в настоящей работе, авторы планируют использовать для дальнейшей

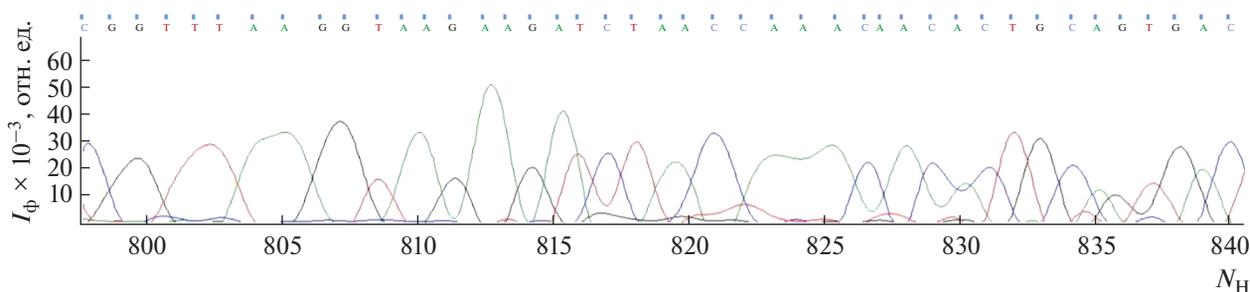


Рис. 3. Электрофореграмма фрагмента расшифрованной последовательности сиквенсного стандарта BigDye Terminator v3.1 от 798 до 840 нуклеотида в капилляре А, выравненного на референсную последовательность синтетической конструкции Synthetic construct BigDye Terminator Cycle Sequencing Standard sequence длиной 1000 нуклеотидов, программа ПАР²СЕК.

оптимизации алгоритма расшифровки пиков в программе “ДНК Анализ” для полимера ПДМА-6. Кроме того, будет изучена возможность использования для секвенирования ДНК полимера ПДМА-4, разделяющего фрагменты ДНК за более короткое время, который ранее применяли только для фрагментного анализа ДНК.

* * *

Установлены максимальные длины прочтения последовательности ДНК, полученные по методу Сенгера и расшифровываемые с точностью 99% в полимере на основе линейного N,N-полидиметилакриламида ПДМА-6 для капилляров длиной 50 см до оптического окна детектора на ответственном генетическом анализаторе Нанофор 05 и импортном генетическом анализаторе 3500xL Genetic Analyzer. Проведено сравнение максимальных значений длин ДНК, расшифровываемых с точностью Q20 для стандартных протоколов электрофоретического разделения продуктов реакции секвенирования ДНК. Полученные данные позволят пользователям генетических анализаторов получать лучшие результаты расшифровки последовательности ДНК с использованием полимера ПДМА-6.

Работа выполнена по Государственному заданию Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-00780-19-00 по теме № 0074-2019-0017.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sanger F., Niclein S., Coulson A.R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1977. V. 74. P. 5463. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
2. Sanger F., Air G.M., Barrell B.G., Brown N.L., Coulson A.R., Fiddes J.C., Hutchison C.A., Slocombe P.M., Smith M. Nucleotide sequence of bacteriophage phi X174 DNA // Nature. 1977. V. 265. № 5596. P. 687. <https://doi.org/10.1038/265687a0>
3. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome // Nature. 2001. V. 409. P. 860. <https://doi.org/10.1038/35057062>
4. Venter J.C. et al. The sequence of the human genome // Science. 2001. V. 291. P. 1304. <https://doi.org/10.1126/science.1058040>
5. International HapMap Consortium. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs // Nature. 2007. V. 449. № 7164. P. 851. <https://doi.org/10.1038/nature06258>
6. Волков А.А., Волков И.А., Плугов А.Г., Кулябина Е.В., Мелкова О.Н., Лавров Г.С., Бочарова Д.В., Алексеев Я.И. Генетический анализатор Нанофор 05 в качестве средства измерений при секвенировании ДНК // Измерительная техника. 2021. № 1. С. 60. <https://doi.org/10.32446/0368-1025it.2021-1-60-65>
7. Ewing B., Hillier L., Wendl M.C., Green P. Base-calling of automated sequencer traces using Phred. I. Accuracy assessment // Genome Res. 1998. V. 8. P. 175.
8. Ewing B., Green P. Base-calling of automated sequencer traces using Phred. II. Error probabilities // Genome Research. 1998. V. 3. № 3. P. 186.
9. Hyman R.W., Jiang H., Fukushima M., Davis R.W. A direct comparison of the KB™ Basecaller and phred for identifying the bases from DNA sequencing using chain termination chemistry // BMC Research Notes. 2010. V. 3. № 257. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-3-257>
10. Бельский Б.Г., Курочкин В.Е. Высокоэффективный капиллярный электрофорез и микрофлюидные чип-анализаторы. I. Приборы высокоэффективного капиллярного электрофореза // Научное приборостроение. 2002. Т. 12. № 4. С. 42.
11. Алексеев Я.И., Белов Ю.В., Малюченко О.П., Моныхова Ю.А., Натыров А.Н., Орехов В.А., Коновалов С.В., Курочкин В.Е., Петров А.И. Генетический анализатор для фрагментного анализа ДНК

- // Научное приборостроение. 2012. Т. 22. № 4. С. 86.
12. *Sokolenko A.P., Savonevich E.L., Ivantsov A.O., Raskin G.A., Kuligina E.S., Gorodnova T.V., Preobrazhenskaya E.V., Kleshchov M.A., Tiurin V.I., Mukhina M.S., Kotiv K.B., Shulga A.V., Kuznetsov S.G., Berlev I.V., Imyanitov E.N.* Rapid selection of BRCA1-proficient tumor cells during neo adjuvant therapy for ovarian cancer in BRCA1 mutation carriers // *Cancer Lett.* 2017. V. 397. P. 127. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.03.036>
 13. *Slatko B.E., Kieleczawa J., Ju J., Gardner A.F., Hendrickson C.L., Ausubel F.M.* “First Generation” auto-mated DNA sequencing technology // *Curr. Protocols Mol. Biol.* 2011. V. 96. № 1. P. 7.2.1. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb0702s96>
 14. Бочарова Д.В., Алексеев Я.И., Курочкин В.Е. Изучение влияния напряжения электрического поля на эффективность разделения одноцепочечных фрагментов ДНК при капиллярном гель-электрофорезе в полимерах на основе линейного поли-N,N-диметилакриламида // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. № 12. С. 1148. <https://doi.org/10.31857/S0044450220100035>
 15. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (23.02.2021).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЛАТИНЫ И РОДИЯ МЕТОДОМ ИНВЕРСИОННОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ

© 2021 г. А. В. Егошина^а, *, Н. А. Колпакова^а

^аНациональный исследовательский Томский политехнический университет
просп. Ленина, 30, Томск, 634050 Россия

*e-mail: antaresave@mail.ru

Поступила в редакцию 23.02.2021 г.

После доработки 04.05.2021 г.

Принята к публикации 15.05.2021 г.

Исследована возможность определения платины(IV) и родия(III) без их разделения в растворе методом инверсионной вольтамперометрии по пику селективного электроокисления свинца из электролитического осадка свинец–платина–родий при потенциале -0.3 В. Свинец, платину и родий электроосаждали в режиме *in situ* на поверхность графитового электрода из 1 М НСl. В электролитическом осадке платина и родий не образуют твердых растворов между собой, но образуют интерметаллические соединения (ИМС) со свинцом. Селективное электроокисление свинца из ИМС PtPb и родия из ИМС Pb₂Rh наблюдается при потенциале -0.3 В. Показана возможность определения платины(IV) и родия(III) без их разделения с использованием метода добавок. Нижняя граница определяемых содержаний платины(IV) по пику селективного электроокисления свинца из ИМС PbPt составляет 0.86 мг/л. Нижняя граница определяемых содержаний родия(III) по пику селективного электроокисления свинца из ИМС Pb₂Rh составляет 0.0046 мг/л.

Ключевые слова: графитовый электрод, электролитический осадок свинец–платина–родий, метод инверсионной вольтамперометрии.

DOI: 10.31857/S0044450221120057

Определение низких содержаний платиновых металлов (ПМ) в минеральном сырье и продуктах его переработки возможно только после их отделения от матрицы пробы [1–3]. Современные высокочувствительные методы анализа, например атомно-абсорбционная спектрометрия или инверсионная вольтамперометрия (ИВ), требуют проведения пробоподготовки с выделением каждого ПМ или группы ПМ для дальнейшего их определения [4–7].

В последние годы высокочувствительному методу инверсионной вольтамперометрии уделяется все больше внимания при определении благородных металлов [8] из-за низкой стоимости анализа, простоты, быстрого отклика и высокой чувствительности. Метод ИВ сочетает возможность электрохимического концентрирования определяемого металла на поверхность электрода, чаще всего графитового (ГЭ), с последующим электроокислением металла. Однако потенциалы электроокисления осадков платины и родия (выше 1 В) перекрываются потенциалом выделения кислорода из воды, что делает невозможным прямое определения этих элементов методом ИВ. Поляризационные кривые, зависящие от концентрации платины(II, IV) и родия(III), наблюдаются только в

случае модификации ГЭ неблагородным металлом [9]. При электроокислении осадков на вольтамперной кривой наблюдаются анодные пики, обусловленные селективным электроокислением неблагородного компонента из интерметаллических соединений (ИМС) с платиной или родием, которые формируются на поверхности ГЭ на стадии предварительного электролиза. Показана возможность определения платины и родия с использованием ГЭ, модифицированного в режиме *in situ* ртутью [10, 11], индием [12], свинцом [13, 14].

Цель данной работы – разработка методики ИВ-определения платины(II, IV) или родия (III) без разделения компонентов по пику селективного электроокисления свинца из электролитического осадка свинец–платина–родий.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Использовали вольтамперометрический анализатор ТА-4 с трехэлектродной ячейкой (ООО “ТомьАналит”, Томск). Рабочим служил ГЭ, импрегнированный парафином и полиэтиленом низкого давления, подготовленный по методике [15]. Вспомогательным электродом и электродом сравнения служили насыщенные хлоридсеребря-

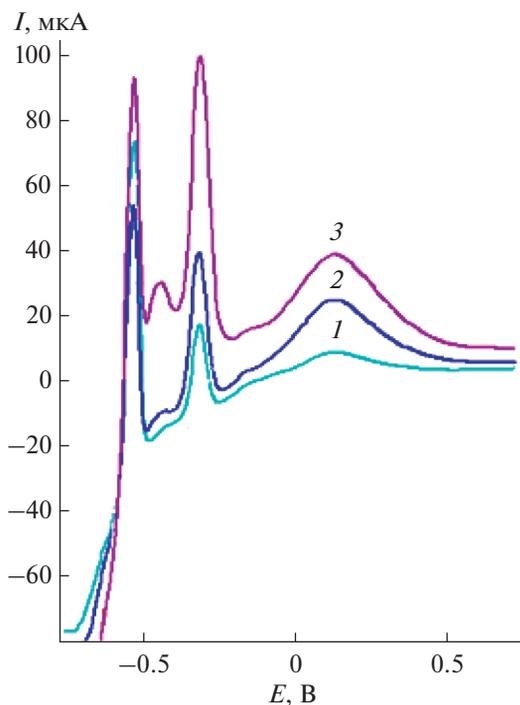


Рис. 1. Вольт-амперные кривые электроокисления осадка свинец–платина–родий в 1 М НСl. $E_3 = -1$ В: 1 – 60 мг/л Pb(II) + 0.5 мг/л Pt(IV); 2 – 60 мг/л Pb(II) + 1.0 мг/л Pt(IV); 3 – 60 мг/л Pb(II) + 1.0 мг/л Pt(IV) + 1.0 мг/л Rh(III).

ные электроды, заполненные 1 М раствором КСl. Деаэрирование растворов не проводили. Перемешивание раствора в процессе электролиза предусмотрено анализатором и осуществлялось автоматически за счет вибрации рабочего электрода.

Основные растворы, используемые для оценки содержания ионов свинца(II), родия(III) и платины(IV) в растворе, готовили в 1 М НСl разбавлением государственных стандартных образцов. Электроосаждение осадка свинец–платина–родий проводили на поверхность импрегнированного полиэтиленом ГЭ в режиме *in situ* при потенциале -1.0 В в течении 60 с из растворов 1 М НСl, содержащих свинец(II), родий(III) и платину(IV). Электроокисление осадков проводили при линейном изменении потенциала ($V = 60$ мВ/с) в области потенциалов от -0.8 до $+0.8$ В.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При использовании в качестве модификатора ГЭ свинца селективное электроокисление свинца из электролитических осадков свинец–платина–родий происходит при одном потенциале (-0.3 В) (рис. 1). Как видно из рис. 1, ток пика при потенциале -0.3 В зависит как от концентрации Pt(IV), так и от концентрации Rh(III). Различия чувствительностей определения платины и родия связа-

но как с разным составом ИМС, из которых происходит селективное электроокисление свинца, так и с разной скоростью их электроокисления. В работах [13, 14, 16] показано, что пик при потенциале -0.3 В обусловлен селективным электроокислением свинца из ИМС с платиной и селективным электроокислением свинца из ИМС с родием. Со свинцом платина образует ИМС состава PtPb, селективное электроокисление свинца из которого происходит при потенциале -0.3 В. Селективное электроокисление свинца из ИМС Pb₂Rh происходит также при потенциале -0.3 В. В работе [14] показано, что в электрохимическом концентрате свинец–родий на поверхности ГЭ свинец может входить и в другие ИМС с родием. Так, селективное электроокисление свинца из ИМС Pb₄Rh наблюдается на вольт-амперной кривой при потенциале -0.42 В, из ИМС Pb₂Rh₃ – при потенциале -0.16 В (рис. 1). Для определения платины и родия методом ИВ без их разделения нами выбран пик при потенциале -0.3 В.

Обычно ПМ в электролитических осадках образуют между собой твердые растворы замещения [17]. При селективном электроокислении благородного металла из осадка, содержащего твердый раствор из двух ПМ, должно наблюдаться смещение потенциала пика селективного электроокисления благородного металла в зависимости от мольной доли каждого ПМ в электролитическом осадке. На практике потенциал селективного электроокисления свинца, даже при наличии платины и родия в электролитическом осадке со свинцом, остается постоянным. Увеличивается только ток селективного электроокисления свинца, потому что увеличивается площадь осадков платины и родия с увеличением их концентрации в растворе. Такое необычное поведение пика селективного электроокисления свинца из ИМС с родием и платиной из осадка свинец–платина–родий обусловлено тем, что наноструктурированные осадки платины и родия не образуют между собой твердый раствор [18]. Полученные данные позволили рекомендовать аналитический сигнал селективного электроокисления свинца из ИМС с платиной и родием, наблюдаемый при одном потенциале -0.3 В (рис. 1), для определения содержания платины(II, IV) и родия(III) методом ИВ без разделения компонентов. Для определения компонентов в анализируемом растворе использовали метод добавок в графическом варианте. Анализировали раствор, содержащий 0.12 мг/л родия(III) + 5.9 мг/л платины(IV) + 60 мг/л свинца(II). Градуировочная зависимость для определения платины(IV) по количеству электричества, затраченного на селективное электроокисление свинца из ИМС со свинцом, описывается уравнением $Q = 0.041c_{Pt} + 0.24$ ($R^2 = 0.9942$); градуиро-

Таблица 1. Результаты инверсионно-вольтамперометрического определения содержания платины(IV) и родия(III) методом введено–найдено ($n = 9$, $P = 0.95$)

Введено Pt(IV), мг/л	Найдено Pt(IV), мг/л	σ , %	Введено Rh(III), мг/л	Найдено Rh(III), мг/л	σ , %
0.2	0.18 ± 0.02	10	0.02	0.017 ± 0.003	15
0.5	0.52 ± 0.05	10	0.05	0.048 ± 0.003	6
1.0	1.10 ± 0.08	8	1.0	0.97 ± 0.03	3
1.5	1.49 ± 0.06	4	1.5	1.52 ± 0.03	2

вочная зависимость для определения родия(III) описывается уравнением $Q = 13.87c_{Rh} + 1.61$ ($R^2 = 0.9942$).

Для получения статистически значимых значений аналитического сигнала при определении платины(IV) и родия(III) методом ИВ следует использовать соотношение $c_{Pb} : c_{Pm}$ не ниже 5 : 1, а также следующие условия эксперимента: фоновый электролит 1 М HCl, потенциал электролиза –1 В, скорость изменения потенциала 0.06 В/с. Предел обнаружения платины по площади под пиком селективного электроокисления свинца из ИМС PtPb и родия по площади под пиком селективного электроокисления свинца из ИМС Pb₂Rh оценивали по 3 σ -критерию с применением уравнения [19]:

$$c_{\min, Rh} = 3s_{\text{хол}}/\text{tg}\theta = 3 \times 0.02/14 = 0.0043 \text{ мг/л,}$$

$$c_{\min, Pt} = 3s_{\text{хол}}/\text{tg}\theta = 3 \times 0.02/0.04 = 1.5 \text{ мг/л,}$$

где $\text{tg}\theta$ – тангенс угла наклона градуировочной прямой, $s_{\text{хол}}$ – стандартное отклонение холостого опыта (0.02).

Правильность определений проверяли методом введено–найдено. Результаты приведены в табл. 1.

В будущем авторы планируют получить результаты ИВ-определения платины и родия в минеральном сырье или продуктах переработки минерального сырья по пикам селективного электроокисления свинца из электролитического осадка свинец–платина–родий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гинзбург С.И., Езерская Н.А., Прокофьева И.В., Федоренко Н.В., Шленская В.И., Вельский Н.К. Аналитическая химия платиновых металлов. М.: Наука, 1972. С. 613.
2. Бимшиш Ф. Аналитическая химия благородных металлов. М.: Мир, 1969. Ч. 1. С. 297.
3. Harris F.M., Lington J.B., Farrell F. Spectrographic determination of gold and platinum metals in geologicals by fire-assay preconcentration // *Talanta*. 1978. V. 25. P. 257.
4. Юделевич И.Г., Старцева Е.А., Гордеев Г.А. Атомно-абсорбционные методы определения платиновых металлов // Заводск. лаборатория. 1982. Т. 48. № 8. С. 23.
5. Колпакова Н.А., Шифрис Б.С., Швец Л.А., Кропоткина С.В. Определение платиновых металлов и золота методом инверсионной вольтамперометрии // *Журн. аналит. химии*. 1991. Т. 46. № 10. С. 1910.
6. Торгов В.Г., Корда Т.М., Демидова М.Г., Гуськова Е.А., Бухбиндер Г.Л. Экстракционно-реэкстракционное концентрирование в системе на основе *n*-алкиланилина и сульфидов нефти для определения платиновых металлов и золота методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой // *Журн. аналит. химии*. 2009. Т. 64. № 9. С. 901.
7. Torgov V.G., Korda T.M., Demidova M.G., Gus'kova E.A., Bukhbinder G.L. ICP AES determination of platinum group elements and gold in collective extract and strip product solution in analysis of geological samples // *J. Anal. At. Spectrom.* 2009. V. 24. P. 1551.
8. Tanaka S., Yoshida H. Stripping voltammetry of silver(I) with a carbonpaste electrode modified with thiocrown compounds // *Talanta*. 1989. V. 36. № 10. P. 1044.
9. Колпакова Н.А., Борисова Н.В., Невоструев В.А. Природа положительного анодного пика тока на вольтамперной кривой в инверсионной вольтамперометрии бинарных систем платина–металл // *Журн. аналит. химии*. 2001. Т. 56. № 8. С. 835.
10. Галкин П.С., Новожилов И.Н. Формирование аналитического сигнала платины в методе анодной вольтамперометрии на электродах из композиционного углеродного материала и углеродного волокна / *Материалы IX науч. конф. "Аналитика Сибири и Дальнего Востока"*. 2012. С. 95.
11. Попов Г.Н., Пнев В.В., Захаров М.С. Определение родия методом инверсионной вольтамперометрии // *Журн. аналит. химии*. 1972. Т. 27. № 12. С. 2456.
12. Ustinova E.M., Gorchakov E.V., Kolpakova N.A. Anodic stripping determination of Pt(IV) based on the anodic oxidation of In from electrochemically deposited Pt–In alloy phases // *J. Solid State Electrochem.* 2012. V. 16. № 7. С. 2455.
13. Колпакова Н.А., Немова В.В., Стромберг А.Г. Возможность применения метода пленочной полярографии с накоплением для определения платины // *Журн. аналит. химии*. 1971. Т. 21. № 6. С. 1217.
14. Kolpakova N.A., Oskina Y.A., Sabitova J.K. Determination of Rh(III) by stripping voltammetry on a graphite electrode modified with lead // *J. Solid State Electrochem.* 2018. V. 22. № 6. С. 1933.

15. *Брайнина Х.З., Нейман Е.Я.* Инверсионные электроаналитические методы. М.: Химия, 1982. С. 260.
16. *Егошина А.В.* Определение содержаний платины и родия методом калибровочной прямой / Материалы XXI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л.П. Кулёва и Н.М. Кижнера, посвященной 110-летию со дня рождения профессора А.Г. Стромберга. Томск, 21–24 сентября 2020 г. Томск: ТПУ, 2020. С. 256.
17. *Коваленко Н.Л., Белоусов О.В., Дорохова Л.И., Жарков С.М.* Исследование укрупнения Pd- и Rh-черной и механизма образования твердых растворов в реакциях цементации // Журн. неорг. химии. 1995. Т. 40. № 4. С. 678.
18. *Коваленко Н.Л., Белоусов О.В., Гризан В.Б.* Восстановление хлороплатиноводородной кислоты родиевой чернью при 180°C // Журн. неорг. химии. 1997. Т. 42. № 7. С. 1134.
19. *Смагунова А.Н., Карпукова О.М.* Методы математической статистики в аналитической химии. Ростов-на-Дону: Феникс, 2012. С. 348.

УДК 543.552

ЭНАНТИОСЕЛЕКТИВНЫЕ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЕ СЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ КОМПЛЕКСОВ Cu(II), Co(III), Zn(II)

© 2021 г. Р. А. Зильберг^а, *, Л. Р. Загитова^а, И. В. Вакулин^а, Ю. А. Яркаяева^а,
Ю. Б. Терес^а, Т. В. Берестова^а

^аБашкирский государственный университет, химический факультет
ул. Заки Валиди, 32, Уфа, 450076 Россия

*e-mail: ZilbergRA@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.01.2021 г.

После доработки 07.06.2021 г.

Принята к публикации 07.06.2021 г.

Исследованы электрохимические и аналитические характеристики энантиоселективных сенсоров на основе стеклоуглеродных электродов, модифицированных хелатными комплексами (бис(L-фенилаланинат) меди(II), глициinato-L-фенилаланинат меди(II), трис(L-фенилаланинат) кобальта(II), бис(L-фенилаланинат) цинка). Установлено, что наиболее перспективным для определения энантиомеров триптофана является сенсор, модифицированный (бис)L-фенилаланинатом меди(II). При определении энантиомеров триптофана указанный сенсор обеспечивает линейный диапазон концентраций от 6.25×10^{-7} до 0.5×10^{-3} М для L-триптофана и от 5×10^{-6} до 0.5×10^{-3} М для D-триптофана. Большую чувствительность сенсор проявляет к L-триптофану. Предложенный сенсор использован для распознавания и определения энантиомеров триптофана в образцах мочи и плазмы крови человека, а также в смеси энантиомеров. Статистическая оценка результатов определений методом введено—найден свидетельствует об отсутствии значимой систематической погрешности.

Ключевые слова: энантиоселективные сенсоры, аминокислотные комплексы переходных металлов, полиэлектролитный комплекс хитозана, энантиомеры триптофана, вольтамперометрия.

DOI: 10.31857/S004445022112015X

Современная фармакология и медицинская химия базируются на разработке и применении хиральных молекул в качестве действующих веществ. Необходимость использования оптически активных веществ с высокой степенью оптической чистоты в фармакологии вытекает из современных представлений молекулярной биологии, генетики и физиологии о механизмах действия лекарственных препаратов. Очевидно, что широкое использование оптически активных веществ предъявляет особые требования к аналитическим методам, которые применяются на всех стадиях разработки и применения лекарственных препаратов: определение оптической чистоты, установление конфигурации, определение энантиомеров в ходе доклинических исследований, анализ качества препаратов, содержащих оптически активные вещества. Одним из перспективных методов, способным решать перечисленные задачи, является вольтамперометрия с использованием энантиоселективных сенсоров [1–4].

Современные стратегии создания энантиоселективных сенсоров предполагают использование технологии молекулярного импринтинга [5–8] или

применение хиральных модификаторов различной природы [9–17], которые создают на поверхности электрода хиральный слой. Последний, собственно, и задает энантиоселективность по отношению к оптическим изомерам аналитов. В рамках второй стратегии энантиоселективные сенсоры на основе композитных стеклоуглеродных электродов выгодно отличаются простотой изготовления, доступностью и некоторой универсальностью, т.е. возможностью определения ряда аналитов одним сенсором [1]. Важным преимуществом таких сенсоров является возможность надежной идентификации и определения энантиомеров в присутствии широкого спектра посторонних компонентов [17].

Несмотря на определенные успехи в создании и применении энантиоселективных сенсоров на основе композитных стеклоуглеродных электродов, поиск оптимальных хиральных модификаторов все еще остается важной и актуальной задачей. Действительно, широко используемые в настоящее время модификаторы, такие как аминокислоты и их производные [9, 10], циклодекстрины [11–13], краун-эфир [14], хиральные биополимеры (бел-

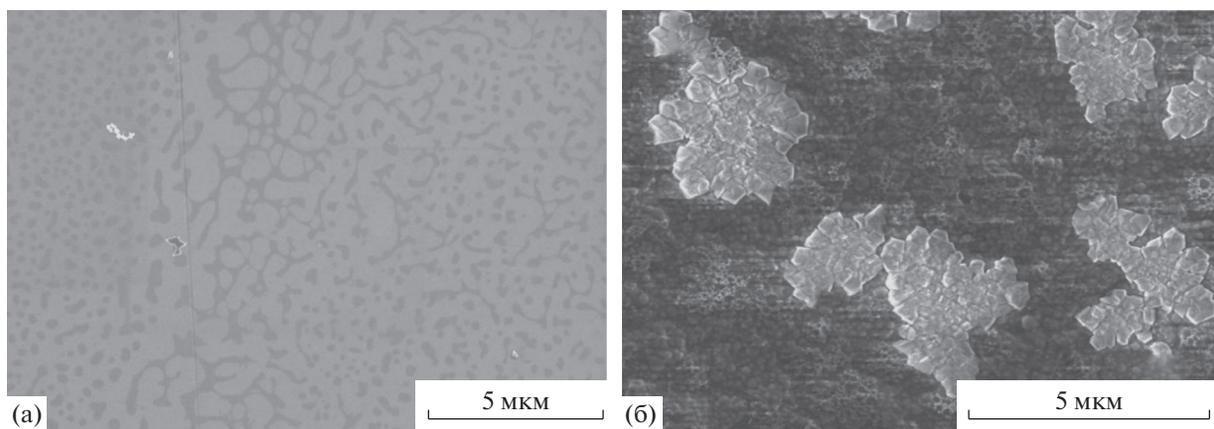


Рис. 1. СЭМ-изображения поверхности стеклоуглеродных электродов, модифицированных ПЭК (а) и ПЭК/[Cu(L-Phe)₂] (б).

ки, полисахариды) [13, 15, 16], чаще всего не способны одновременно удовлетворять всем требованиям, предъявляемым к хиральным модификаторам: обладать низкой стоимостью, стабильностью, воспроизводимостью, быть простыми в изготовлении.

В данной работе изучена возможность применения хелатных комплексов переходных металлов Cu(II), Co(III), Zn(II) в качестве хиральных селективных вольтамперометрических сенсоров. Подобные комплексы вполне устойчивы [18–20], доступны и способны обеспечить достаточную энантиоселективность при определении хиральных органических соединений [21–25].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование и реагенты. Все электрохимические измерения проводили на потенциостате/гальваностате AUTOLAB PGSTAT 204 с модулем FRA 32M (Metrohm AUTOLAB, Нидерланды). Измерения проводили в стандартной термостатированной трехэлектродной ячейке при $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$. Индикаторным электродом служил модифицированный стеклоуглеродный электрод (СУЭ) ($d = 3$ мм), в качестве вспомогательного электрода использовали платиновую пластинку площадью 200 мм^2 . Все измерения проводили относительно насыщенного хлоридсеребряного электрода.

Для модифицирования СУЭ использовали композит аминокислотного комплекса переходных металлов и полиэлектролитного комплекса (ПЭК) (табл. 1) на основе гидрохлорида хитозана (ПЭК-АК) (с молекулярной массой 30 кДа и степенью деацетилирования 75%) и натриевой соли N-сукцинилхитозана (с молекулярной массой 200 кДа, полученной из хитозана со степенью деацетилирования 82%) (ЗАО “Биопрогресс”, Россия).

Поверхность и микроструктуру образцов пленки изучали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с полевой эмиссией на электронном микроскопе HITACHI Regulus SU8220 (Япония). Съемку изображений вели в режиме регистрации вторичных электронов при ускоряющем напряжении 1 кВ. На рис. 1 приведены СЭМ-снимки поверхности СУЭ, модифицированных ПЭК и ПЭК/[Cu(L-Phe)₂]. Видно, что поверхность электрода при нанесении ПЭК формирует однородную пленку, где более темные пятна обусловлены пленкой меньшей толщины. В то же время ПЭК/[Cu(L-Phe)₂] формирует на поверхности СУЭ неоднородную зернистую структуру, на поверхности которой формируются дополнительные частицы размером $\sim 2\text{--}4$ мкм, напоминающие сростки кристаллов неправильной формы.

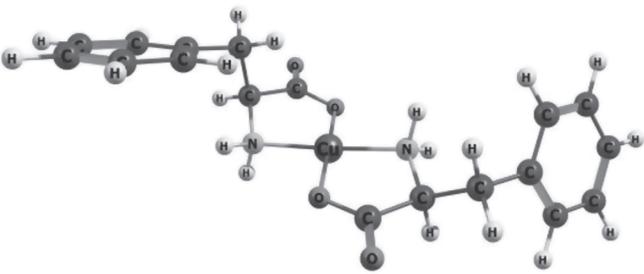
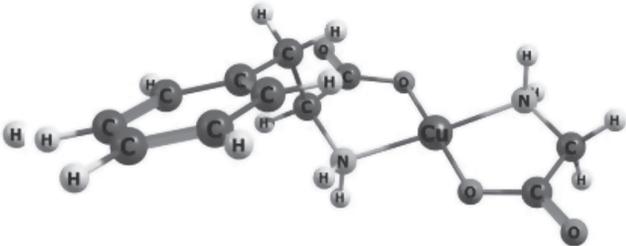
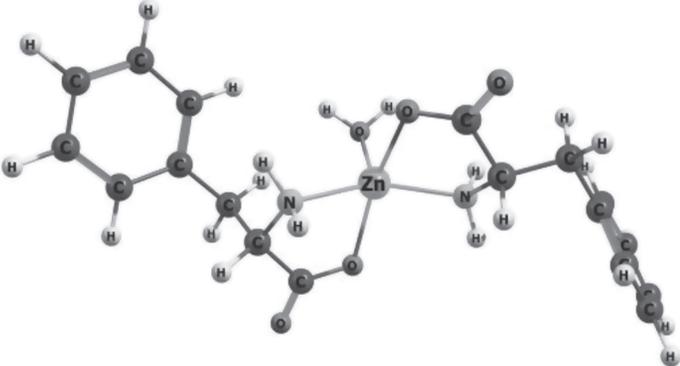
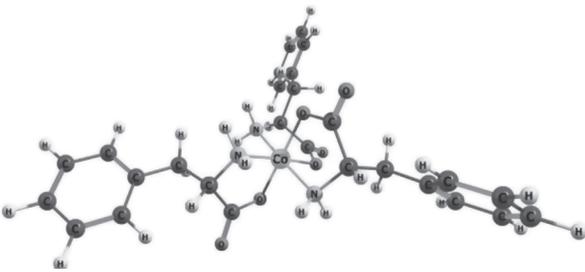
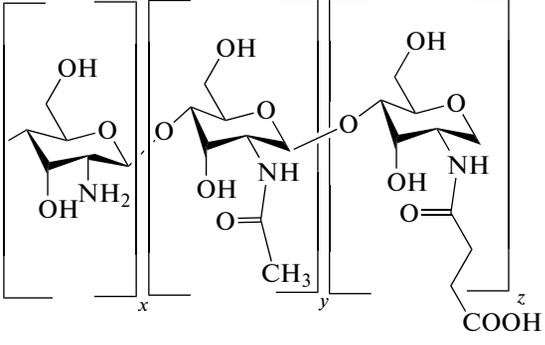
Величину pH измеряли с помощью pH-метра Seven Compact pH/Ion S220 (Mettler-Toledo AG, Швейцария).

В качестве индифферентного электролита использовали 0.1 М фосфатный буферный раствор (ФБ) с pH 6.86, содержащий Na_2HPO_4 и KH_2PO_4 . Раствор $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ готовили с использованием 0.1 М раствора KCl в качестве фонового электролита. Все водные растворы приготовлены с использованием деионизованной воды с удельной проводимостью 0.1 мкСм/см.

В качестве исследуемых веществ использовали D- и L-триптофан (Trp), D- и L-тирозин (Tyr), и R- и S-пропранолол (Prp) ($\geq 97\%$) (Sigma-Aldrich, США). Растворы энантиомеров (0.5 мМ) готовили растворением навески вещества в 100 мл ФБ с pH 6.86. Растворы более низких концентраций получали путем последовательного разбавления исходных растворов. Исследуемый раствор объемом 20 мл помещали в электрохимическую ячейку.

Свежезамороженную плазму крови (A(II)Rh^+) человека приобретали на Республиканской стан-

Таблица 1. Состав модификаторов

Формула комплекса	Структура комплекса
[Cu(L-Phe) ₂]	
[Cu(L-Phe)(Gly)]	
[Zn(L-Phe) ₂]	
[Co(L-Phe) ₃]	
Полиэлектролитный комплекс на основе хитозана и N-сукцинилхитозана	

ции переливания крови (Уфа), образцы мочи получали с письменного согласия донора. Образцы мочи и плазмы крови объемом 2 мл центрифугировали в течение 10 мин. В полученные растворы добавляли известные количества D- и L-Trp для получения растворов с концентрациями 0,04, 0,08, 0,3 мМ. Затем разбавляли ФБ с рН 6,86 в колбах емк. 25 мл, доводя раствор до метки.

Модифицирование стеклоуглеродного электрода. Перед каждым измерением поверхность стеклоуглеродного рабочего электрода полировали в течение 1 мин специальным материалом Spec-Cloth Adhesive black disc 200 мм с нанесенной на него деагломерированной суспензией оксида алюминия (0,3 мкм) с последующим многократным промыванием электрода деионизованной водой и высушиванием на воздухе при комнатной температуре.

Гидрохлорид хитозана получали в виде пленки из солянокислого раствора хитозана (0,25 г хитозана в 50 мл 1%-ной HCl) путем высушивания в сушильном шкафу до постоянной массы. Водные дисперсии полиэлектролитного комплекса получали путем добавления к водным растворам N-сукцинилхитозана (0,005%) по каплям водный раствор гидрохлорида хитозана (0,005%) при интенсивном перемешивании (500 об/мин) и 25°C с интервалом между введением порций 2 мин. При добавлении к полученному раствору новых порций раствора гидрохлорида хитозана происходит разделение фаз (возникает устойчивая опалесценция общей системы). Область существования дисперсий частиц полиэлектролитного комплекса указанных полисахаридов ограничивается мольным соотношением равным 1 : 10, выше которого в процессе смешения компонентов наблюдается образование осадка комплекса [26]. Полиэлектролитный комплекс хранили в течение 5 сут в холодильнике.

Бис[$\text{Cu}(\text{L-Phe})_2$] [27], $[\text{Zn}(\text{L-Phe})_2]$ и разнолигандные $[\text{Cu}(\text{L-Phe})(\text{Gly})]$ хелатные комплексы получали взаимодействием растворов соли металла с L-фенилаланином (**L-Phe**) в соотношении 1 : 2; с L-фенилаланином и глицином (**Gly**) в соотношении 1 : 1 : 1 на основе методики [28]. Комплекс $[\text{Co}(\text{L-Phe})_3]$ получали на основе методики [29].

Для синтеза комплексов использовали аминокислоты и кристаллогидраты солей Cu(II), Co(III), Zn(II) ч. д. а. ("AppliChem Panreac" ITW Companies, "авилон-компанихим", Россия).

Твердые образцы комплексов $[\text{Cu}(\text{L-Phe})_2]$, $[\text{Co}(\text{L-Phe})_3]$, $[\text{Zn}(\text{L-Phe})_2]$, $[\text{Cu}(\text{L-Phe})(\text{Gly})]$ анализировали методом Фурье-ИК-спектроскопии и рентгенофазовым анализом (дифрактометр ДРОН-4, линия $\text{CuK}\alpha$ 1,5406 Å).

ИК (KBr), cm^{-1} $[\text{Co}(\text{L-Phe})_3]$: 3064–3029 cm^{-1} ($\nu_{\text{as, s}}(-\text{NH}_2)$); 2840 cm^{-1} ($\nu_{\text{as, s}}(\text{CH}, \text{CH}_2)$); 1612 о.с.,

1603 о.с. ($\nu_{\text{as, s}}(\text{C}=\text{O})$); 1368 cm^{-1} ($(\nu_{\text{as, s}}(\text{C}-\text{O}) + \delta(\text{CH}))$); 1154 cm^{-1} , 1076–1062 cm^{-1} ($\nu(\text{C}-\text{N}) + \delta(\text{NH}_2) + \delta(\text{CH})$).

ИК (KBr), cm^{-1} $[\text{Zn}(\text{L-Phe})_2]$: 3334 cm^{-1} , 3258 cm^{-1} , 3029 cm^{-1} ($\nu_{\text{as, s}}(-\text{NH}_2)$); 2957 cm^{-1} , 2912 cm^{-1} , 2871 cm^{-1} ($\nu_{\text{as, s}}(\text{CH}, \text{CH}_2)$); 1625 о.с., 1620 о.с., 1614 о.с. ($\nu_{\text{as, s}}(\text{C}=\text{O})$); 1409 cm^{-1} , 1390 cm^{-1} , 1367 cm^{-1} , 1343 cm^{-1} , 1324 cm^{-1} ($(\nu_{\text{as, s}}(\text{C}-\text{O}) + \delta(\text{CH}))$); 1088 cm^{-1} , 1073 cm^{-1} ($\nu(\text{C}-\text{N}) + \delta(\text{NH}_2) + \delta(\text{CH})$).

ИК (KBr), cm^{-1} $[\text{Cu}(\text{L-Phe})(\text{Gly})]$: 3331 cm^{-1} , 3309 cm^{-1} , 3245 cm^{-1} ($\nu_{\text{as, s}}(-\text{NH}_2)$); 2830 ($\nu_{\text{as, s}}(-\text{CH}, \text{CH}_2)$); 1620 о.с. ($\nu_{\text{as, s}}(\text{C}=\text{O})$); 1396 cm^{-1} , 1367 cm^{-1} , 1328 cm^{-1} ($(\nu_{\text{as, s}}(\text{C}-\text{O}) + \delta(\text{CH}))$); 1123 cm^{-1} , 1077 cm^{-1} ($\nu(\text{C}-\text{N}) + \delta(\text{NH}_2) + \delta(\text{CH})$). ИК-спектр $[\text{Cu}(\text{L-Phe})_2]$ приведен в работе [29]. ИК-спектры поглощения регистрировали в диапазоне 450–3700 cm^{-1} с использованием Фурье-спектрометра FTIR-8400S (Shimadzu) при комнатной температуре. Разрешение – 4 cm^{-1} , количество сканирований – 20.

Раствор композита ПЭК-АК готовили растворением точной навески (0,002 г) комплексов $[\text{Cu}(\text{L-Phe})_2]$, $[\text{Co}(\text{L-Phe})_3]$, $[\text{Zn}(\text{L-Phe})_2]$ в 10 мл готового раствора ПЭК с последующим выдерживанием в ультразвуковой ванне в течение 20 мин и фильтрованием.

С помощью автоматической пипетки отбирали 10 мкл готового раствора ПЭК-АК и наносили на поверхность предварительно отполированного СУЭ, далее сушили электрод под ИК-лампой в течение 6 мин и давали ему остыть в течение 3 мин.

Методика эксперимента. Линейные вольтамперограммы регистрировали в диапазоне потенциалов от 0,0 до 1,2 В, циклические вольтамперограммы – от 0,6 до 1,4 В, со скоростью развертки потенциала 0,1 В/с. Спектры импеданса регистрировали в диапазоне частот переменного тока от 500 кГц до 0,1 Гц с амплитудой 5 мВ.

Структуры и термодинамические параметры индивидуальных соединений и комплексов рассчитывали с использованием полуэмпирического приближения РМЗ [30–33]. Структуры ассоциатов типа $\text{M}(\text{L-Phe})_n^* \text{L-Trp}$ определяли в два этапа из-за большого количества вариантов взаимного расположения взаимодействующих молекул. На первом этапе в программе Accelrys Material Studio v6.0 [34–36] методом молекулярной механики в приближении силового поля Compass-II [37] с использованием оптимизации по методу Монте-Карло [38] определяли предварительное наиболее выгодное взаимное расположение молекул в ассоциате. После этого для полученной структуры проводили оптимизацию и расчет энтальпии образования в приближении РМЗ. Энтальпию ассоциации рассчитывали по закону Гесса.

Таблица 2. Схемы электроокисления аналитов

Аналит	Схема электроокисления	Ссылки на статьи
Тур		[39]
Prp		[40]
Trp		[41, 42]

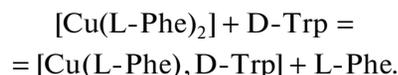
РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для сравнения аналитических характеристик энантиоселективных вольтамперометрических сенсоров используют общие для всех сенсоров параметры: селективность, чувствительность, предел обнаружения, рабочий диапазон, точность, время отклика, срок эксплуатации и др. Среди них самой важной характеристикой является селективность [1]. В настоящей работе изучена селективная специфичность предложенных сенсоров по отношению к энантиомерам ряда биологически активных веществ: Тур, Prp и Trp. Схемы электроокисления аналитов представлены в табл. 2.

Из табл. 3 видно, что наибольшая разница в потенциалах окисления и коэффициентах селективности наблюдается для энантиомеров Trp для сенсора СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe)₂]. Таким образом, наиболее перспективным сенсором с модификатором хелатной природы для определения энантиомеров Trp является СУЭ/ПЭК, модифицированный комплексом [Cu(L-Phe)₂].

Особенность энантиоселективных сенсоров на основе подобных комплексов, применяемых в качестве модификаторов, – возможность реализации нескольких механизмов, обеспечивающих появление различий аналитических сигналов L- и D-энантиомеров аналита. С одной стороны, аналит способен концентрироваться на поверхности хирального слоя за счет разного рода межмолекулярных взаимодействий (водородные связи, π-π и ван-дер-ваальсовы взаимодействия) [3, 43], которые по-разному проявляются для энантиомеров аналита из-за различий в конфигурации. За счет разных конфигураций могут разли-

чаться как токи пиков энантиомеров, так потенциалы. С другой стороны, комплексы металлов способны к лигандному обмену [21–25, 42], например



Замена лиганда в комплексе на энантиомер аналита вызывает изменение его электронной структуры и, как следствие, различие в формах вольтамперограмм. Очевидно, что скорость лигандного обмена и степень изменения электронной структуры будут различаться для комплексов типа [Me(L-Ligand, L-Analyte)] и [Me(L-Ligand, D-Analyte)], что приведет к появлению различий в аналитических сигналах L- и D-энантиомеров аналита. К сожалению, точного представления о вкладе указанных механизмов в формирование энантиоселективности конкретного сенсора до сих пор нет.

Мы полагаем, что первый механизм является основным, а для проявления лигандного обмена необходимы достаточная лабильность модифицирующего комплекса и способность аналита образовывать прочный комплекс, что не всегда возможно. Например, для энантиомеров Prp, который явно не способен к лигандному обмену с комплексами [Cu(L-Phe)(Gly)], [Zn(L-Phe)₂], [Cu(L-Phe)₂], токи пиков и потенциалы окисления различны. С другой стороны, в случае аминокислот (Trp, Тур), способных к лигандному обмену [21, 23, 25], можно ожидать, что энантиоселективность будет формироваться в рамках двух указанных выше механизмов. Действительно,

Таблица 3. Сравнение энантиоселективности сенсоров на основе стеклоуглеродного электрода, модифицированных композитами ПЭК-АК*, и расчетные значения** разностей энтальпии реакций ассоциации триптофана, тирозина, пропранолола с комплексными модификаторами

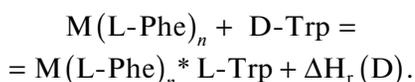
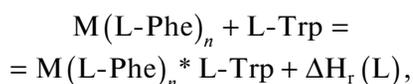
Сенсор	Аналит	ΔE_p , мВ	i_{pL}/i_{pD}	$\Delta\Delta H_r$, кДж/моль
СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe)(Gly)]	Трп	20	1.23	13.7
СУЭ/ПЭК-[Zn(L-Phe) ₂]	Трп	10	1.16	4.3
СУЭ/ПЭК-[Co(L-Phe) ₃]	Трп	10	1.13	6.7
СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe) ₂]	Трп	39	1.33	25.3
СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe)(Gly)]	Тур	28	1.28	6.7
СУЭ/ПЭК-[Zn(L-Phe) ₂]	Тур	10	1.14	4.9
СУЭ/ПЭК-[Co(L-Phe) ₃]	Тур	10	1.06	5.5
СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe) ₂]	Тур	20	1.30	29.6
СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe)(Gly)]	Прп	11	1.24	3.01
СУЭ/ПЭК-[Zn(L-Phe) ₂]	Прп	20	1.07	6.78
СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe) ₂]	Прп	10	1.15	2.12

* 0.5 мМ растворы энантиомеров, фосфатный буферный раствор с рН 6.86, скорость развертки потенциала 0.1 В/с.

** В приближении РМЗ.

разности потенциалов окисления (табл. 3), наблюдаемые при определении D- и L-энантиомеров этих кислот на сенсорах, модифицированных комплексами Cu(II), Co(III), Zn(II), совпадают с данными [44] о лабильности комплексных соединений металлов, которая должна падать в ряду Cu > Zn > Co.

На основе расчета структур ассоциатов Трп с комплексными модификаторами можно предложить механизм формирования энантиоселективности:



Расчетные данные, полученные в приближении РМЗ, свидетельствуют о том, что все рассмотренные комплексы должны обеспечивать энантиоселективность сенсора по отношению к энантиомерам Трп и Тур, причем наилучшую энантиоселективность обеспечивают комплексы меди (табл. 3), что неплохо коррелирует с экспериментальными данными.

Судя по структуре ассоциатов, основным сайтом связывания аналитов с комплексами является ароматический фрагмент лигандов. Появление отличий во взаимодействиях обеспечивается разницей в пространственном строении L- или D-конфигураций триптофана. Например, для ассоциата Cu(L-Phe)₂*L-Trip имеет место дополнительное взаимодействие между аминокетонами

аналита и лиганда, которое отсутствует в случае Cu(L-Phe)₂*D-Trip.

Для изучения электрохимических свойств предложенного сенсора СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe)₂] провели циклические вольтамперометрические и импедансометрические измерения в стандартном растворе гексацианоферрата(II/III) калия. Циклические вольтамперограммы описывают типичный одноэлектронный обратимый окислительно-восстановительный процесс (рис. 2а) редокс-пары [Fe(CN)₆]^{3-/4-}. Из рисунка видно, что после модифицирования поверхности стеклоуглеродного электрода пленкой ПЭК пики окислительно-восстановительной пары [Fe(CN)₆]^{3-/4-} уменьшаются по сравнению с немодифицированным электродом, что обусловлено увеличением сопротивления переноса заряда в результате модифицирования поверхности электрода. При введении в электролитный комплекс аминокислотного комплекса меди(II) [Cu(L-Phe)₂] токи на циклических вольтамперограммах возрастают по сравнению с СУЭ, модифицированным только ПЭК.

Для подтверждения полученных закономерностей параметры электронного переноса оценили методом спектроскопии электрохимического импеданса, используя для количественной характеристики эквивалентные ячейки Рэндлса. Диаграммы Найквиста (рис. 2б) показывают, что при нанесении пленки композита на поверхность электрода происходит замедление процесса переноса электронов по сравнению с немодифицированным электродом ($R_{ct} = 5.3$ кОм). Наименьшую электропроводность имеет электрод, модифицированный ПЭК ($R_{ct} = 21.9$ кОм). Электрод, модифицирован-

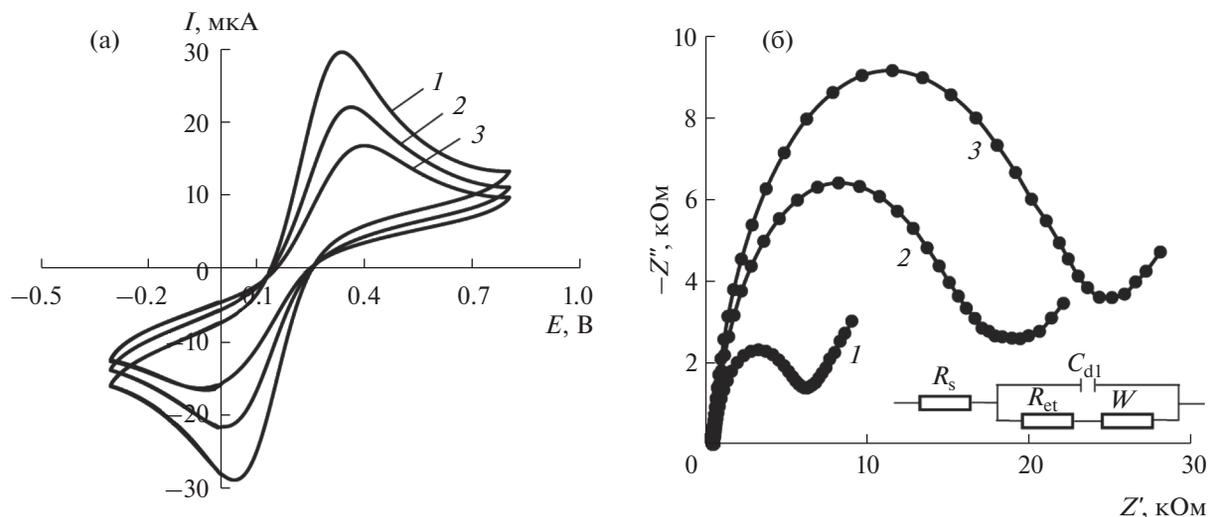


Рис. 2. Циклические вольтамперограммы (а) и диаграммы Найквиста (б) 5.0 мМ раствора редокс-пары $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ на различных электродах (1 – СУЭ, 2 – СУЭ/ПЭК- $[\text{Cu}(\text{L-Phe})_2]$, 3 – СУЭ/ПЭК) на фоне 0.1 М раствора КСl при скорости развертки потенциала 0.1 В/с.

ный ПЭК- $[\text{Cu}(\text{L-Phe})_2]$, занимает промежуточное положение ($R_{\text{et}} = 15.8$ кОм).

Рассчитанная по уравнению Рэндлса–Шевчика [45] эффективная площадь поверхности составляет 2.38 ± 0.09 мм² для СУЭ, 1.12 ± 0.09 мм² для СУЭ/ПЭК и 1.44 ± 0.09 мм² для СУЭ/ПЭК- $[\text{Cu}(\text{L-Phe})_2]$, т.е. добавление аминокислотного комплекса приводит к увеличению площади эффективной поверхности по сравнению с СУЭ/ПЭК.

Известно, что Тгр необратимо окисляется в ФБ с рН 6.86 на СУЭ с переносом двух электронов [41] с образованием на вольтамперограмме одного пика в диапазоне потенциалов от 0.6 до 1.2 В. На рис. 3 представлены линейные вольтамперограммы окисления энантиомеров Тгр на изученных электродах. Следует отметить, что вольтамперограммы энантиомеров Тгр на немодифицированном СУЭ не отличаются друг от друга, на СУЭ, модифицированных только ПЭК, имеются небольшие различия в высоте максимальных токов пиков окисления и форме вольтамперограмм, что свидетельствует о том, что данный комплекс за счет своих функциональных групп проявляет небольшую энантиоселективность по отношению к энантиомерам Тгр. При добавлении к ПЭК аминокислотного комплекса меди $[\text{Cu}(\text{L-Phe})_2]$ (рис. 3в) возникает значительное различие между потенциалами окисления ($\Delta E_p = 39$ мВ), токами пика энантиомеров ($\Delta i_p = 1.41$ мкА); коэффициент селективности ($i_p\text{L}/i_p\text{D}$) составляет 1.33, что свидетельствует о хорошей энантиоселективности разработанного сенсора по отношению к энантиомерам Тгр.

Для установления природы электрохимического процесса оценили влияние скорости изменения потенциала на токи окисления энантиомеров в 0.3 мМ растворах Тгр в диапазоне от 0.01 до 0.75 В/с. Критерий Семерано [46] (коэффициент скорости электродного процесса), рассчитанный из логарифмической зависимости тока пика электроокисления энантиомеров Тгр от скорости развертки потенциала ($\text{tg} \alpha = \Delta \lg I_p / \Delta \lg v$) для L-Тгр и D-Тгр, равен 0.46 и 0.48 соответственно, в обоих случаях коэффициенты корреляции близки к 1 (0.991–0.998), следовательно, процесс окисления контролируется диффузией анализитов, что также подтверждается линейной зависимостью токов окисления от квадратного корня скорости развертки потенциала (рис. 4).

На рис. 5 представлены линейные вольтамперограммы окисления последовательно разбавленных растворов L- и D-Тгр и соответствующие градуировочные графики на СУЭ, модифицированном ПЭК- $[\text{Cu}(\text{L-Phe})_2]$. Сенсор позволяет определять L-Тгр в модельном растворе с пределом обнаружения 5.75×10^{-7} М в диапазоне определяемых концентраций 6.25×10^{-7} до 0.5×10^{-3} М, D-Тгр – с пределом обнаружения 7.34×10^{-7} М в диапазоне определяемых концентраций 5×10^{-6} до 0.5×10^{-3} М. Чувствительность сенсора к L-Тгр ($\Delta i_p / \Delta c = 15.2$ мкА/мМ) больше, чем к D-Тгр ($\Delta i_p / \Delta c = 11.9$ мкА/мМ).

Правильность результатов определения энантиомеров Тгр предложенным сенсором оценивали методом введено–найдено (табл. 4). Установлено, что сенсор с высокой точностью позволяет определять содержание энантиомеров Тгр в широком диапазоне концентраций. Относительное

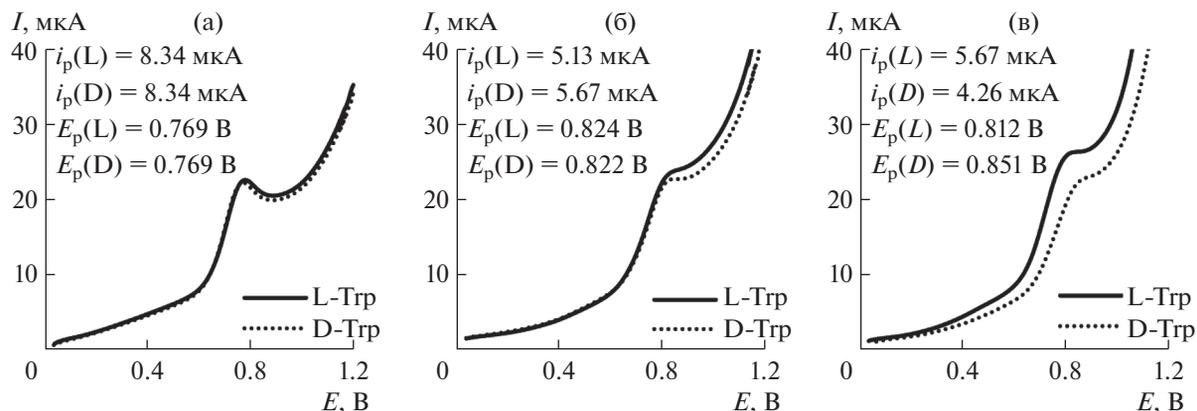


Рис. 3. Линейные вольтамперограммы 0.3 мМ растворов L- и D-Трп на СУЭ (а), СУЭ/ПЭК (б) и СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe)₂] (в) (фосфатный буферный раствор с рН 6.86, скорость развертки потенциала 0.1 В/с).

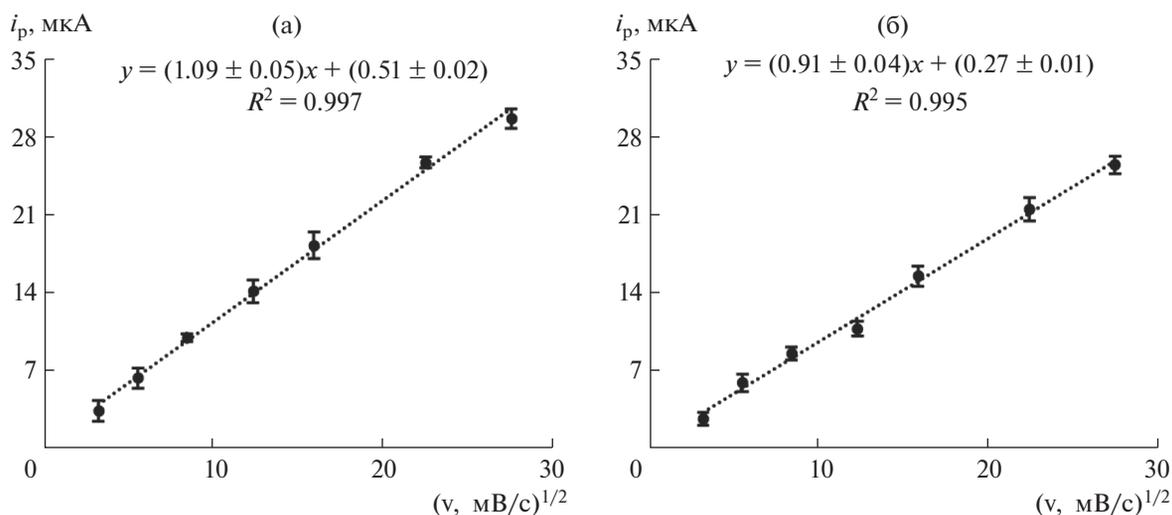


Рис. 4. Зависимость тока пика от квадратного корня скорости развертки потенциала в диапазоне от 10 до 750 мВ/с для L-Трп (а) и D-Трп (б) (фосфатный буферный раствор с рН 6.86).

стандартное отклонение при определении энантиомеров Трп в чистом растворе колеблется в пределах 1.1–4.5%, в моче 1.5–4.8%, а в плазме крови 1.3–6.1%. В моче человека показатели правильности более стабильны по сравнению с показателями в плазме крови, что связано со сложным составом плазмы крови, в которой содержится около 7–10% органических и неорганических веществ, в том числе и аминокислот, а в моче человека содержание таких веществ не превышает 1% [47].

Изучена возможность использования композитного сенсора СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe)₂] для оценки содержания энантиомеров Трп в их смеси. На рис. 6 приведены линейные вольтамперограммы при различном содержании L-Трп (0, 20, 40, 60, 80, 100%) в 0.3 мМ растворах смеси энантиомеров Трп на СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe)₂]. Видно, что потенциалы пиков смещаются в сторону положи-

тельных значений, в то время как токи пиков возрастают с увеличением содержания L-Трп. Линейные зависимости изменения токов пика и потенциалов окисления, свидетельствуют о том, что сенсор на основе СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe)₂] с хорошими аналитическими характеристиками позволяет определять энантиомеры Трп в смесях с различным соотношением L- и D-Трп.

Изученные в работе характеристики композитных энантиоселективных вольтамперометрических сенсоров с использованием хелатных комплексов переходных металлов Cu(II), Co(III), Zn(II) в качестве хиральных селекторов показывают, что комплексы стабильны в условиях эксперимента и обеспечивают достаточную энан-

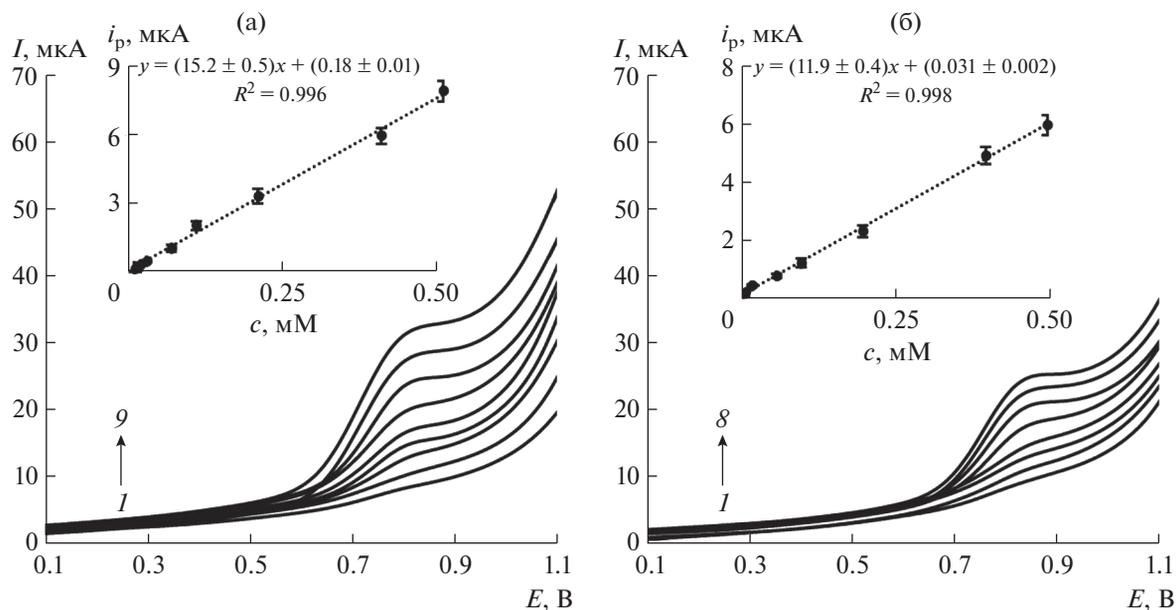


Рис. 5. Линейные вольтамперограммы растворов L-Трп (а) и D-Трп (б) различной концентрации на СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe)₂]; $I \rightarrow 9$ для L-Трп: 0.000625 (1), 0.005 (2), 0.01 (3), 0.02 (4), 0.06 (5), 0.1 (6), 0.2 (7), 0.4 (8), 0.5 (9) mM; $I \rightarrow 8$ для D-Трп: 0.005 (1), 0.01 (2), 0.02 (3), 0.06 (4), 0.1 (5), 0.2 (6), 0.4 (7), 0.5 (8) mM (фосфатный буферный раствор с pH 6.86, скорость развертки потенциала 0.1 В/с). Вставки: соответствующие градуировочные графики.

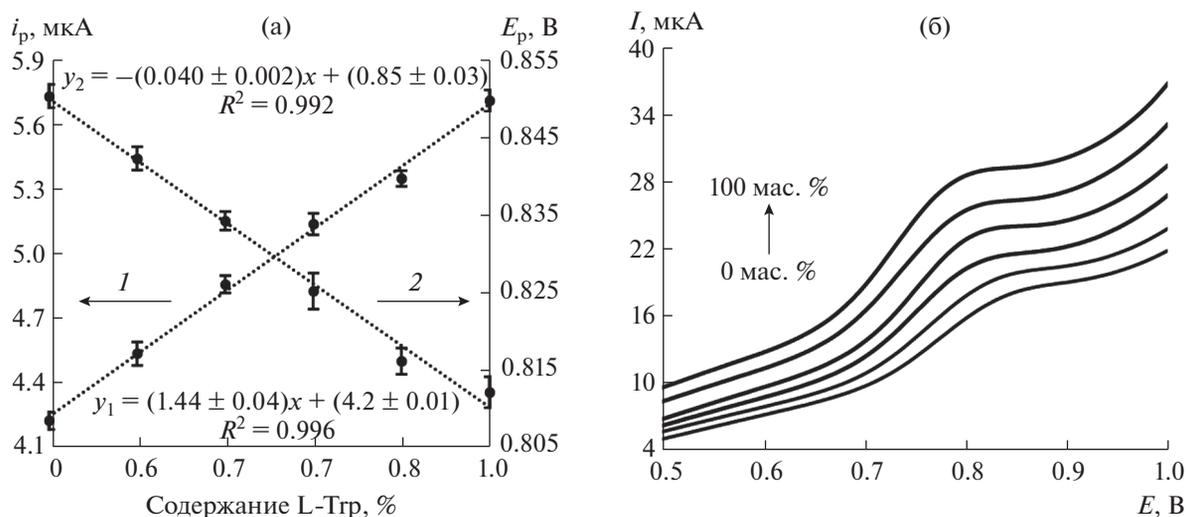


Рис. 6. (а) Зависимость максимального тока пика (1) и потенциала пика (2) от содержания L-Трп в 0.3 mM растворе смеси энантиомеров. (б) Линейные вольтамперограммы 0.3 mM смесей энантиомеров Трп с разным содержанием L-Трп на СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe)₂] (фосфатный буферный раствор с pH 6.86, скорость развертки потенциала 0.1 В/с). Содержание L-Трп, мас. %: 0, 20, 40, 60, 80, 100.

тиоселективность при определении хиральных аналитов, например триптофана, тирозина и пропранолола. Показано, что энантиоселективность зависит от металла комплексообразователя и структуры комплекса. Наилучшие результаты наблюдаются при использовании комплексов меди, которые согласно квантово-химическим расчетам имеют строение, близкое к планарному.

Так, сенсор на основе СУЭ, модифицированного композитом полиэлектrolитного комплекса хитозан-сукцинилхитозана и бисфенилаланилата меди(II), обеспечивает определение энантиомеров триптофана с коэффициентом энантиоселективности 1.33. По результатам исследований электродных характеристик энантиоселективный сенсор на основе СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe)₂]

Таблица 4. Результаты вольтамперометрического определения энантиомеров триптофана на СУЭ/ПЭК-[Cu(L-Phe)₂] в чистых растворах и в биологических жидкостях (ФБ с рН 6.86, скорость развертки потенциала 0.1 В/с, $n = 5$, $P = 0.95$)

Исследуемый образец	Определяемый энантиомер	Введено, мкМ	Найдено, мкМ	s_r , %	Относительная погрешность, %
Чистый раствор	L-Trp	300	298.2 ± 4.1	1.1	0.4
		80	82.3 ± 2.4	2.3	2.9
		40	40.4 ± 2.2	4.5	1.0
	D-Trp	300	301.9 ± 5.4	1.5	0.6
		80	78.8 ± 3.4	3.5	1.5
		40	40.1 ± 1.9	3.8	0.3
Моча	L-Trp	300	294.9 ± 5.5	1.5	1.7
		80	79.5 ± 2.3	2.4	0.6
		40	38.0 ± 2.2	4.8	4.0
	D-Trp	300	296.6 ± 5.3	1.4	1.1
		80	78.0 ± 3.0	3.1	2.5
		40	39.8 ± 2.2	4.4	2.0
Плазма	L-Trp	300	295.8 ± 6.1	1.7	1.4
		80	79.1 ± 4.0	4.1	1.1
		40	40.9 ± 2.7	5.5	4.7
	D-Trp	300	299.5 ± 4.8	1.3	0.2
		80	81.6 ± 5.0	4.9	2.0
		40	39.4 ± 3.0	6.1	1.5

представляется эффективной хиральной платформой для определения энантиомеров триптофана в широком круге объектов. По сравнению с ранее описанными хиральными сенсорами [12, 48–50] данный сенсор отличается низкой стоимостью, простотой изготовления, высокими чувствительностью и точностью определения энантиомеров триптофана как в модельных растворах, так и в искусственно приготовленных образцах биологических жидкостей. В целом можно отметить, что сенсоры, модифицированные различными аминокислотными комплексами переходных металлов, обладают перекрестной чувствительностью к энантиомерам биологически активных веществ и могут быть использованы в мультисенсорных системах не только для контроля “энантиомерной чистоты” лекарственных средств [12, 51], но и для установления их подлинности, производителя [52, 53] и срока годности [54].

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-13-00169, <https://rscf.ru/project/21-13-00169/>.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Майстренко В.Н., Евтюгин Г.А., Зильберг Р.А. Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры. Уфа: Изд-во БашГУ, 2018. 188 с.
2. Майстренко В.Н., Зильберг Р.А. Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры на основе хиральных материалов // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 12. С. 1080. (Maistrenko V.N., Zil'berg R.A. Enantioselective voltammetric sensors on the basis of chiral materials // J. Anal. Chem. 2020. V. 75. № 12. P. 1514.)
3. Niu X., Yang X., Li H., Liu J., Liu Z., Wang K. Application of chiral materials in electrochemical sensors // Microchim. Acta. 2020. V. 187. Article 676.
4. Майстренко В.Н., Сидельников А.В., Зильберг Р.А. Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры: новые решения // Журн. аналит. химии. 2018. Т. 73. № 1. С. 3. (Maistrenko V.N., Sidel'nikov A.V., Zil'berg R.A. Enantioselective voltammetric sensors: New solutions // J. Anal. Chem. 2018. V. 73. № 1. P. 1.)
5. Jacob B.-C., Bodoki E., Oprean R. Chiral electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymers with pharmaceutical applications / Handbook of Sustainable Polymers: Processing and applications / Eds. Thakur V.K., Thakur M.R. Jenny Stanford Publishing, 2016. P. 587.

6. *Moein M.M.* Advancements of chiral molecularly imprinted polymers in separation and sensor fields: A review of the last decade // *Talanta*. 2021. V. 224. Article 121794.
7. *Bel Bruno J.J.* Molecularly imprinted polymers // *Chem. Rev.* 2019. V. 119. P. 94.
8. *Radi A.-E., Wahdan T., EL-Basiony A.* Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymers for pharmaceuticals analysis // *Curr. Anal. Chem.* 2019. V. 15. P. 219.
9. *Kingsford O.J., Zhang D., Ma Y., Wu Y., Zhu G.* Electrochemically recognizing tryptophan enantiomers based on carbon black/poly-L-cysteine modified electrode // *J. Electrochem. Soc.* 2019. V. 166. P. B1226.
10. *Stoian I.A., Iacob B.C., Ramalho J.P.P., Marian I.O., Chiş V., Bodoki E., Oprean R.* A chiral electrochemical system based on L-cysteine modified gold nanoparticles for propranolol enantiodiscrimination: Electroanalysis and computational modeling // *Electrochim. Acta*. 2019. V. 326. Article 134961.
11. *Upadhyay S.S., Gadhari N.S., Srivastava A.K.* Biomimetic sensor for ethambutol employing β -cyclodextrin mediated chiral copper metal organic framework and carbon nanofibers modified glassy carbon electrode // *Biosens. Bioelectron.* 2020. V. 165. Article 112397.
12. *Зильберг Р.А., Майстренко В.Н., Яркаяева Ю.А., Дубровский Д.И.* Энантиоселективная вольтамперометрическая сенсорная система для распознавания D и L-триптофана на основе стеклоглеродных электродов, модифицированных композитами полиариленафталида с α -, β - и γ -циклодекстринами // *Журн. аналит. химии*. 2019. Т. 74. С. 941. (*Zil'berg R.A., Maistrenko V.N., Yarkaeva Y.A., Dubrovskii D.I.* An enantioselective voltammetric sensor system based on glassy carbon electrodes modified by polyarylenephthalide composites with α -, β -, and γ -cyclodextrins for recognizing D- and L-tryptophans // *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. P. 1245.)
13. *Zilberg R.A., Maistrenko V.N., Kabirova L.R., Dubrovsky D.I.* Selective voltammetric sensors based on composites of chitosan polyelectrolyte complexes with cyclodextrins for the recognition and determination of atenolol enantiomers // *Anal. Methods*. 2018. V. 10. P. 1886.
14. *Atta N.F., Galal A., Ahmed Y.M.* Highly conductive crown ether/ionic liquid crystal-carbon nanotubes composite based electrochemical sensor for chiral recognition of tyrosine enantiomers // *J. Electrochem. Soc.* 2019. V. 166. P. B623.
15. *Sun Y., He J., Huang J., Sheng Y., Xu D., Bradley M., Zhang R.* Electrochemical recognition of tryptophan enantiomers based on the self-assembly of polyethyleneimine and chiral peptides // *J. Electroanal. Chem.* 2020. V. 865. Article 114130.
16. *Zhang Y., Liu G., Yao X., Gao S., Xie J., Xu H., Lin N.* Electrochemical chiral sensor based on cellulose nanocrystals and multiwall carbon nanotubes for discrimination of tryptophan enantiomers // *Cellulose*. 2018. V. 25. P. 3861.
17. *Зильберг Р.А., Яркаяева Ю.А., Проворова Ю.Р., Гуськов В.Ю., Майстренко В.Н.* Вольтамперометрическое определение энантиомеров пропранолола в модельных растворах лекарственных форм и биологических жидкостях // *Аналитика и контроль*. 2018. Т. 22. № 3. С. 292.
18. *Ghiamati E., Oliaei S.* Thermodynamic Studies on the Interaction between phenylalanine with some divalent metal ions in water and water-dioxane mixtures // *SOJ Biochem.* 2017. V. 3. P. 1.
19. *Pettit L.D.* Critical survey of formation constants of complexes of histidine, phenylalanine, tyrosine, L-DOPA and tryptophan // *Pure Appl. Chem.* 1984. V. 56 № 2. P. 247.
20. *Ariga K., Shionoya M.* Nanoarchitectonics for coordination asymmetry and related chemistry // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 2021. V. 94. P. 839.
21. *Bao L., Dai J., Yang L., Ma J., Tao Y., Deng L., Kong Y.* Electrochemical recognition of tyrosine enantiomers based on chiral ligand exchange with sodium alginate as the chiral selector // *J. Electrochem. Soc.* 2015. V. 162. P. H486.
22. *Chen X., Zhang S., Shan X., Chen Z.* Derivative chiral copper(II) complexes as template of an electrochemical molecular imprinting soL-gel sensor for enantiorecognition of aspartic acid // *Anal. Chim. Acta*. 2019. V. 1072. P. 54.
23. *Zhou Y., Nagaoka T., Yu B., Levon K.* Chiral ligand exchange potentiometric aspartic acid sensors with polysiloxane films containing a chiral ligand N-carbobenzoxy-aspartic acid // *Anal. Chem.* 2009. V. 81. P. 1888.
24. *Chen Q., Zhou J., Han Q., Wang Y., Fu Y.* Electrochemical enantioselective recognition of tryptophan enantiomers based on chiral ligand exchange // *Coll. Surface B*. 2012. V. 92. P. 130.
25. *Zhao Y., Cui L., Ke W., Zheng F., Li X.* Electroactive Au@Ag nanoparticle assembly driven signal amplification for ultrasensitive chiral recognition of D-/L-Trp // *ACS Sustain Chem. Eng.* 2019. V. 7. P. 5157.
26. *Колесов С.В., Гурина М.С., Мударисова Р.Х.* Об устойчивости водных нанодисперсий полиэлектролитных комплексов на основе хитозана и N-сукцинилхитозана // *Высокомолекулярные соединения. Серия А*. 2019. Т. 61. № 3. С. 195.
27. *Berestova T.V., Gizatov R.R., Galimov M.N., Mustafin A.G.* Influence of the absolute configuration of the ligand's chiral center on the structure of planar-square phenyl-containing bis-(N,O)copper(II) chelates // *J. Mol. Struct.* 2021. V. 1236. Article 130303.
28. *Berestova T.V., Khursan S.L., Mustafin A.G.* Experimental and theoretical substantiation of differences of geometric isomers of copper(II) α -amino acid chelates in ATR-FTIR spectra // *J. Spectrochim. Acta A*. 2020. V. 229. Article 117950.
29. *Alam M.M., Rahman S.M.M., Rahman M.M., Islam S.M.S.* Simultaneous preparation of facial and meridional isomer of cobalt-amino acid complexes and their characterization // *J. Sci. Res.* 2010. V. 2. № 1. P. 91.
30. *Stewart J.J.P.* Optimization of parameters for semiempirical methods I. Method // *J. Comput. Chem.* 1989. V. 10. № 2. P. 209.
31. *Stewart J.J.P.* Optimization of parameters for semiempirical methods II. Applications // *J. Comput. Chem.* 1989. V. 10. № 2. P. 221.
32. *Stewart J.J.P.* Optimization of parameters for semiempirical methods. III Extension of PM3 to Be, Mg, Zn, Ga,

- Ge, As, Se, Cd, In, Sn, Sb, Te, Hg, Tl, Pb, and Bi // *J. Comput. Chem.* 1991. V. 12. № 3. P. 320.
33. *Stewart J.J.P.* Optimization of parameters for semiempirical methods IV: Extension of MNDO, AM1, and PM3 to more main group elements // *J. Mol. Model.* 2004. V. 10. № 2. P. 155.
34. *Delley B.* An all-electron numerical method for solving the local density functional for polyatomic molecules // *J. Chem. Phys.* 1990. V. 92. P. 508.
35. *Delley B.* From molecules to solids with the DMol3 approach // *J. Chem. Phys.* 2000. V. 113. P. 7756.
36. Materials Studio Version 6.0. Accelrys Inc. San Diego. 2011.
37. *Sun H.* COMPASS: An ab initio force-field optimized for condensed-phase applications overview with details on alkane and benzene compounds // *J. Phys. Chem. B.* 1998. V. 102. № 38. P. 7338.
38. *Akkermans R.L.C., Spenley N.A., Robertson S.H.* Monte Carlo codes, tools and algorithms Monte Carlo methods in materials studio molecular simulation // *Mol. Simul.* 2013. V. 39. 2013. P. 1153.
39. *Cheng H., Chen C., Zhang S.* Electrochemical behavior and sensitive determination of L-tyrosine with a gold nanoparticles modified glassy carbon electrode // *Anal. Sci.* 2009. V. 25. № 10. P. 1221.
40. *Xuan C., Xia Q., Xu J., Wang Q., Lin X., Fu Y.* A biosensing interface based on Au@BSA nanocomposite for chiral recognition of propranolol // *Anal. Methods.* 2016. V. 8. № 17. P. 3564.
41. *Xu J., Wang Q., Xuan C., Xia Q., Lin X., Fu Y.* Chiral recognition of tryptophan enantiomers based on β -cyclodextrin-platinum nanoparticles/grapheme nanohybrids modified electrode // *Electroanalysis.* 2016. V. 28. P. 868.
42. *Gou H., He J., Mo Z., Wei X., Hu R., Wang Y., Guo R.* A highly effective electrochemical chiral sensor of tryptophan enantiomers based on covalently functionalize reduced graphene oxide with L-lysine // *J. Electrochem. Soc.* 2016. V. 163. P. B272.
43. *Dalgliesh C.E.* The optical resolution of aromatic aminoacids on paper chromatograms // *J. Chem. Soc.* 1952. V. 137. P. 3940.
44. *Басоло Ф., Джонсон Р.* Химия координационных соединений. М.: Мир, 1966. 196 с.
45. *Bard A.J., Faulkner L.R.* *Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications.* N.Y.: Wiley, 2004. 833 p.
46. *Будников Г.К., Майстренко В.Н., Вяселев М.Р.* Основы современного электрохимического анализа. М.: Мир: Бином ЛЗ, 2003. 592 с.
47. *Строев Е.А.* Биологическая химия. М.: Высшая школа, 1986. 479 с.
48. *Song J., Yang C., Ma J., Han Q., Ran P., Fu Y.* Voltammetric chiral discrimination of tryptophan using a multilayer nanocomposite with implemented amino-modified beta-cyclodextrin as recognition element // *Micromol. Acta.* 2018. V. 185. P. 230.
49. *Tao Y., Dai J., Kong Y., Sha Y.* Temperature-sensitive electrochemical recognition of tryptophan enantiomers based on beta-cyclodextrin self-assembled on poly(L-glutamic acid) // *Anal. Chem.* 2014. V. 86. P. 2633.
50. *Li Z., Mo Z., Yan P., Meng S., Wang R., Niu X., Liu N., Guo R.* Chiral electrochemical recognition of tryptophan enantiomers at a multi-walled carbon nanotube-N-carboxymethyl chitosan composite modified glassy carbon electrode // *New J. Chem.* 2018. V. 42. P. 11635.
51. *Zilberg R.A., Sidelnikov A.V., Maistrenko V.N., Yarkaeva Y.A., Khamitov E.M., Maksutova E.I., Kornilov V.M.* A voltammetric sensory system for recognition of propranolol enantiomers based on glassy carbon electrodes modified by polyarylenephthalide composites of melamine and cyanuric acid // *Electroanalysis.* 2018. V. 30. № 4. P. 619.
52. *Zilberg R.A., Maistrenko V.N., Kabirova L.R., Dubrovsky D.I.* Selective voltammetric sensors based on composites of chitosan polyelectrolyte complexes with cyclodextrins for the recognition and determination of atenolol enantiomers // *Anal. Methods.* 2018. V. 10. № 16. P. 1886.
53. *Яркаева Ю.А., Дубровский Д.И., Зильберг Р.А., Майстренко В.Н.* Вольтамперометрические сенсоры и сенсорная система на основе модифицированных полиариленфталидами золотых электродов для распознавания цистеина // *Электрохимия.* 2020. Т. 56. № 7. С. 591.
54. *Кабирова Л.Р., Дубровский Д.И., Никонова Н.А., Косихина Ю.К., Зильберг Р.А., Майстренко В.Н.* Контроль качества атенолола с помощью вольтамперометрических сенсоров на основе "умных" полимеров // *Вестник Башкирского университета.* 2018. Т. 23. № 4. С. 1088.

УДК 543.866

НАНОКЛАСТЕРЫ РЕНИЯ КАК МОДИФИКАТОРЫ ИММУНОСЕНСОРОВ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ТРИЦИКЛИЧЕСКИХ АНТИДЕПРЕССАНТОВ

© 2021 г. Э. П. Медянцева^а, *, Э. Р. Газизуллина^а, Д. В. Брусницын^а, М. А. Зиганшин^а, Ю. Г. Елистратова^б, А. Р. Мустафина^б, К. А. Брылев^с, Г. К. Будников^а

^аКазанский (Приволжский) федеральный университет, Химический институт им. А.М. Бутлерова
Кремлевская ул., 18, Казань, 420008 Россия

^бИнститут органической и физической химии им. А.Е. Арбузова, Федеральный исследовательский центр
“Казанский научный центр Российской академии наук”
ул. Академика Арбузова, 8, Казань, 420008 Россия

^сИнститут неорганической химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения Российской академии наук
просп. Академика Лаврентьева, 3, Новосибирск, 630090 Россия

*e-mail: emedyant@gmail.com

Поступила в редакцию 20.05.2021 г.

После доработки 18.06.2021 г.

Принята к публикации 21.06.2021 г.

Методами вольтамперометрии, спектроскопии электрохимического импеданса, атомно-силовой микроскопии, спектрофотометрии исследованы свойства и проведен скрининг гексарениевых халькогенидных нанокластеров ($K_4\{Re_6S_8\}(OH)_6 \cdot 8H_2O$ и $K_4\{Re_6S_8\}(CN)_6 \cdot 8H_2O$) в сочетании с углеродными наноматериалами (углеродные нанотрубки и оксид графена) для использования их как гибридных модификаторов печатных графитовых электродов в составе иммуносенсоров для улучшения аналитических характеристик. Высокий отрицательный заряд нанокластеров можно рассматривать в качестве движущей силы адсорбции кластеров при формировании модифицированных гибридных наноматериалами электродов. Установлено, что гексарениевые халькогенидные нанокластеры обладают электрохимической активностью, что впервые использовано для регистрации иммунохимических взаимодействий. Изменение сопротивления переноса электрона позволило выбрать лучшие гибридные наноматериалы. Оценены параметры шероховатости поверхности модифицированных электродов, связанные с высотными свойствами неровностей. Использование гексарениевых халькогенидных нанокластеров в сочетании с углеродными наноматериалами в качестве гибридных наномодификаторов позволило разработать высокочувствительные и селективные амперометрические и импедиметрические иммуносенсоры для определения трициклических антидепрессантов (амитриптилина, дезипрамина, имипрамина) в фармацевтических препаратах и моче. Нижняя граница определяемых содержаний на уровне $(4-7) \times 10^{-11}$ М. Относительное стандартное отклонение не превышает 0.050.

Ключевые слова: иммуносенсор, трициклические антидепрессанты, хитозан, полиэфирополиол, углеродные нанотрубки, восстановленный оксид графена, гексарениевые халькогенидные нанокластеры.

DOI: 10.31857/S0044450221120070

В настоящее время актуальной задачей является контроль качества и выявление фальсифицированной продукции, определение лекарственных веществ, в том числе и следовых количеств, в фармацевтических препаратах и в биологических жидкостях и использование полученных данных для оценки эффективности терапевтических назначений при различных заболеваниях [1–3]. Для этих целей представлены различные методики [4–7] определения трициклических антидепрессантов (ТЦА) – сильнодействующих лекарственных препаратов, используемых для эффективного лечения главным образом депрессий. В основ-

ном используют хроматографические методы, однако они требуют длительной и сложной пробоподготовки и больших объемов высокочистых и достаточно токсичных растворителей [8–10].

В качестве альтернативы перспективно применение биосенсорных устройств для доступных, экспрессных и относительно несложных вариантов анализа, не уступающих по чувствительности и селективности хроматографическим методикам [11–14]. Ранее показано, что модификация поверхности трансдьюсера как основы сенсора различными наноматериалами, в том числе углеродными (уг-

леродные нанотрубки, фуллерен, оксиды графена) и наночастицами металлов, способствует формированию и значительному усилению аналитического сигнала [12, 13]. Люминесцентные свойства гексарениевых комплексов успешно использованы для создания сенсоров и клеточных маркеров [15–17].

Для лучшей иммобилизации наномодификаторов на поверхности трансдьюсеров использовали полимерные соединения, в частности хитозан, который хорошо зарекомендовал себя в этом плане [17]. Единичные работы посвящены использованию для этих целей полиэфирополиолов [18, 19].

Цель настоящего исследования заключалась в разработке электрохимических иммуносенсоров на основе печатных графитовых электродов, модифицированных гибридными наноматериалами (углеродные нанотрубки (УНТ) или оксид графена (ГО)) в сочетании с гексарениевыми халькогенидными кластерами ($K_4[Re_6S_8(OH)_6] \cdot 8H_2O$ и $K_4[Re_6S_8(CN)_6] \cdot 8H_2O$), для использования в контроле качества лекарственных веществ в соответствующих фармацевтических препаратах и определения их остаточных количеств в моче на примере ТЦА.

Перспективность применения гексарениевых кластеров в качестве компонентов электрохимических иммуносенсоров обусловлена их электрохимической активностью [20–22] и высоким отрицательным зарядом, который в свою очередь можно рассматривать в качестве движущей силы адсорбции кластеров на УНТ и ГО при получении гибридных наноматериалов [19].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Основа иммуносенсора представляет собой печатные графитовые электроды конструкции “3 в 1”, включающие рабочий, вспомогательный (графитовые чернила; Gwent Electronic Materials, США) электроды и электрод сравнения (паста Ag/AgCl). Планарные графитовые электроды изготовлены на полимерной подложке методом печатных технологий на кафедре аналитической химии КФУ. Для электрохимических измерений использовали потенциостат/гальваностат 204N со встроенным модулем FRA32M (Autolab, Нидерланды), позволяющим работать в различных режимах вольтамперометрии и спектроскопии электрохимического импеданса. Условия получения диаграмм Найквиста: частота $0.04\text{--}10^5$ Гц, амплитуда 5 мВ. Для получения дисперсий углеродных наноматериалов применяли ультразвуковую ванну модели S30H (Elmasonic, Германия) с частотой 37 кГц. В ходе приготовления растворов лекарственных препаратов использовали центрифугу марки “MiniSpin” (Eppendorf, Германия). На атомно-силовом микроскопе (АСМ) “Titanium” [23, 24] (НТ-МДТ, Россия) регистрировали

АСМ-изображения. Измерения проводили на воздухе в полуконтактном режиме со скоростью сканирования $0.8\text{--}1$ Гц и разрешением 512 точек на линию. Использовали стандартные кремниевые кантилеверы NSG-10 с резонансной частотой 279 кГц (НТ-МДТ, Россия). Все АСМ-изображения получали при комнатной температуре. Полученные изображения обрабатывали и анализировали с помощью программы “Image Analysis” (НТ-МДТ, Россия).

Фосфатные буферные растворы (ФБ) с рН 6.0–7.5 и боратный буферный раствор с рН 8.0 готовили из препаратов х. ч. и ч. д. а. (ЗАО “Лаверна”, Россия).

Гексарениевые халькогенидные кластеры $K_4[Re_6S_8(OH)_6] \cdot 8H_2O$ и $K_4[Re_6S_8(CN)_6] \cdot 8H_2O$ синтезированы, охарактеризованы и предоставлены лабораторией “Синтеза кластерных соединений и материалов” Института неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН. Кластеры синтезировали по ранее опубликованным методикам, а именно: $(K_4[Re_6S_8(CN)_6])$ [20] и $(K_4[Re_6S_8(OH)_6])$ [21]. Использовали водные растворы кластеров (1×10^{-3} М).

В качестве компонентов модификаторов поверхности использовали УНТ и ГО (Sigma-Aldrich, США). Для более прочного закрепления на поверхности электрода углеродных модификаторов их наносили в составе аминопроизводного на платформе полиэфирополиола второй генерации ($H_{20}\text{-NH}_2$) (модифицированы на кафедре неорганической химии КФУ, Россия) и хитозана, раствор которого готовили в 2%-ной уксусной кислоте марки х. ч.

Адсорбцию кластерных анионов $[Re_6S_8(OH)_6]^{4-}$ и $[Re_6S_8(CN)_6]^{4-}$ на УНТ и ГО проводили по следующей методике. Раствор кластерных комплексов (0.035 мМ) в воде смешивали с растворами УНТ (0.04 г/л) или ГО (0.02 г/л) в хитозане. Смесь перемешивали с помощью шейкера Hei-MIX Multi Reax в течение 10 мин и обрабатывали ультразвуком в течение 10 мин с дальнейшим разделением фаз центрифугированием при 4°C (15000 об/мин), чтобы избавиться от избыточных кластерных единиц. Адсорбцию кластерных единиц из водной фазы оценивали путем сопоставления спектров люминесценции водных растворов кластера до смешивания с УНТ и ГО в хитозане и после фазового разделения. Спектры люминесценции регистрировали на флуоресцентном спектрофотометре Hitachi F-7100; образцы возбуждали при 380 нм.

Поликлональные антитела (Аг) против ТЦА (предоставлены проф. Ереминым С.А., МГУ) иммобилизовали на поверхность модифицированных электродов, используя в качестве матричного компонента $H_{20}\text{-NH}_2$. Сшивающий реагент —

1%-ный водный раствор глутарового альдегида (ICN Biomedicals Ins., США).

Объекты анализа: лекарственные вещества амитриптилин, дезипрамин, имипрамин (Sigma-Aldrich, США) и содержащие их фармацевтические препараты “Амитриптилин” (ЗиО-Здоровье, Подольск, Россия), “Петилил” (AWD, Германия), “Мелипрамин” (Фармацевтический завод “ЭГИС”, Венгрия) соответственно. Серию стандартных растворов лекарственных веществ с концентрациями в диапазоне от 10^{-10} до 10^{-5} М готовили по точной навеске.

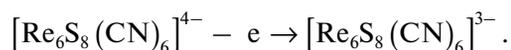
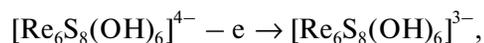
РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для разработки электрохимических иммуносенсоров на основе печатных графитовых электродов, модифицированных гибридными наноматериалами, необходимо подобрать условия применения гексарениевых халькогенидных кластеров и наиболее подходящие варианты сочетания их с углеродными наноматериалами. С этой целью изучали предполагаемые модификаторы электродной поверхности в различных комбинациях.

Характеристика гексарениевых халькогенидных кластеров. Поскольку использовали водные растворы гексарениевых халькогенидных кластеров, представляли интерес сведения о форме существования этих соединений в изучаемых условиях. Согласно данным спектрофотометрии, при длинах волн 431 и 435 нм наблюдаются полосы плазмонного поглощения, которые свидетельствуют о наличии соответственно $K_4\{Re_6S_8(OH)_6\}$ и $K_4\{Re_6S_8(CN)_6\}$ в изучаемых растворах, что согласуется с данными [25]. Кроме того, в водных растворах $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ существует в виде четырехзарядных анионов $\{Re_6S_8(CN)_6\}^{4-}$, которые не претерпевают никаких превращений в воде и водных растворах хитозана за счет высокой термодинамической и кинетической устойчивости данного кластера [20]. Образующийся при диссоциации $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ четырехзарядный анион $\{Re_6S_8(OH)_6\}^{4-}$ в водных растворах при pH 7.0 находится в равновесии с двузарядным анионом $\{Re_6S_8(OH)_4(H_2O)_2\}^{2-}$ за счет кинетической лабильности шести апикальных гидроксил-анионов, претерпевающих в нейтральной области pH частичное протонирование [16].

Модификация поверхности печатных графитовых электродов гексарениевыми халькогенидными кластерами в присутствии хитозана или полиэфирополиола H20-NH₂. На поверхность электрода послойно наносили H20-NH₂ (1 мг/мл) или хитозан (0.75%), затем $K_4\{Re_6S_8(OH)_6\}$ или $K_4\{Re_6S_8(CN)_6\}$ (1×10^{-3} М). Каждый слой высушивали. После чего регистрировали дифферен-

циально-импульсные вольтамперограммы в диапазоне потенциалов от 0.0 до 1.0 В при скорости 10 мВ/с. На фоне ФБ с pH 7.0 наблюдаются пики одноэлектронного окисления $K_4\{Re_6S_8(OH)_6\}$ и $K_4\{Re_6S_8(CN)_6\}$ при потенциалах 310 или 525 мВ (хитозан) и 305 или 575 мВ (полиэфирополиол) соответственно (табл. 1), что согласуется с экспериментальными результатами и с данными [26]:



Таким образом, матричный материал незначительно влияет на электрохимическое поведение кластеров.

Изучение влияния pH среды (значения, близкие к pH крови и мочи) на электрохимическое поведение гексарениевых халькогенидных кластеров показало, что максимальный аналитический сигнал по величине и его сдвиг в менее положительную область потенциалов наблюдаются для обоих кластеров при pH 7.0 (табл. 1).

Рассмотрено влияние на аналитический сигнал последовательности нанесения компонентов на поверхность электрода: (а) предварительное смешивание хитозана с $K_4\{Re_6S_8(OH)_6\}$ (1 : 1) с последующим нанесением смеси на поверхность трансдьюсера; (б) послойное нанесение: $K_4\{Re_6S_8(OH)_6\}$ и далее хитозан (1 : 1); (в) послойное нанесение: хитозан и затем $K_4\{Re_6S_8(OH)_6\}$ (1 : 1). Для вариантов (а) и (б) характерно уширение пика и уменьшение тока (до 0.4 мкА) в три раза в сравнении с вариантом (в) (1.3 мкА).

Максимальные значения тока окисления характерны для кластеров в составе композитов хитозан/ $K_4\{Re_6S_8(OH)_6\}$ (1 : 2), хитозан/ $K_4\{Re_6S_8(CN)_6\}$ (1 : 2), полиэфирополиол/ $K_4\{Re_6S_8(OH)_6\}$ (1 : 2), полиэфирополиол/ $K_4\{Re_6S_8(CN)_6\}$ (1 : 4) (табл. 1).

Особенности получения биочувствительной части иммуносенсоров. Для получения биочувствительной части на поверхность модифицированного наноструктурированными материалами печатного графитового электрода наносили смесь для иммобилизации, содержащую Ат (разведение 1 : 10), ФБ с pH 7.5, полиэфирополиол H20-NH₂ (1 мг/мл) и глутаровый альдегид (1%). Полученные иммуносенсоры оставляли на ночь в закрытой чашке Петри при 4°C [27]. Включение в состав смеси для иммобилизации сшивающего агента — глутарового альдегида — способствует прочному закреплению биорецептора на поверхности сенсора и снижению активности Ат [28]. Для предотвращения последнего в смесь добавляют H20-NH₂ (часть альдегида связывается с аминогруппами полиола, не инактивируя при этом активные центры рецептора).

Таблица 1. Влияние на аналитический сигнал модификатора поверхности иммуносенсора, его состава и pH раствора

<i>E</i> , мВ	<i>I</i> , мкА	Модификатор
Модификация кластерами рения в хитозане, ФБ с pH 7.0		
310	1.3	Хитозан/ $K_4[Re_6S_8](OH)_6$ (1 : 1)
305	2.4	Хитозан/ $K_4[Re_6S_8](OH)_6$ (1 : 2)
575	1.9	Хитозан/ $K_4[Re_6S_8](CN)_6$ (1 : 1)
575	2.8	Хитозан/ $K_4[Re_6S_8](CN)_6$ (1 : 2)
Модификация кластерами рения в полиэфирополиоле, ФБ с pH 7.0		
310	3.3	Полиэфирополиол/ $K_4[Re_6S_8](OH)_6$ (1 : 1)
325	11.2	Полиэфирополиол/ $K_4[Re_6S_8](OH)_6$ (1 : 2)
525	4.7	Полиэфирополиол/ $K_4[Re_6S_8](CN)_6$ (1 : 1)
534	9.2	Полиэфирополиол/ $K_4[Re_6S_8](CN)_6$ (1 : 4)
Зависимость от pH (модификатор – хитозан/ $K_4[Re_6S_8](OH)_6$)		
383	0.2	Буферный раствор pH 6.0
310	1.3	Буферный раствор pH 7.0
504	0.6	Буферный раствор pH 8.0
Зависимость от pH (модификатор – полиэфирополиол/ $K_4[Re_6S_8](CN)_6$)		
589	3.8	Буферный раствор pH 6.0
525	4.7	Буферный раствор pH 7.0
524	0.3	Буферный раствор pH 8.0

Модификация поверхности печатных графитовых электродов гибридными наноматериалами. $K_4[Re_6S_8](OH)_6$ и $K_4[Re_6S_8](CN)_6$ в присутствии углеродных нанотрубок. На поверхность электрода наносили дисперсию УНТ в полиэфирополиоле или хитозане (1 мг/мл), затем $K_4[Re_6S_8](OH)_6$ или $K_4[Re_6S_8](CN)_6$ (1×10^{-3} М). Каждый слой высушивали, после чего регистрировали дифференциально-импульсные вольтамперограммы в диапазоне потенциалов от 0.0 до 1.0 В при скорости развертки 10 мВ/с. На фоне ФБ с pH 7.0 в отсутствие или в присутствии УНТ наблюдаются пики электрохимического окисления $K_4[Re_6S_8](OH)_6$ в области потенциалов 310–320 мВ (рис. 1а) и $K_4[Re_6S_8](CN)_6$ в области потенциалов 570–600 мВ (рис. 1б). Таким образом, УНТ при послойном нанесении в присутствии хитозана способствуют увеличению тока окисления $K_4[Re_6S_8](OH)_6$ в семь раз (от 1.3 до 9.2 мкА) и $K_4[Re_6S_8](CN)_6$ в три раза (от 1.9 до 5.7 мкА) (рис. 1а и 1б, кривые 3).

Связывание отрицательно заряженных кластеров с хитозановым слоем УНТ и ГО основано на их электростатическом притяжении к аммонийным группам на поверхности хитозана. Очевидно, что такое связывание должно приводить к равновесию, при котором кластеры могут находиться как в составе коллоидной фазы на основе УНТ и ГО, так и в растворе.

Люминесцентный анализ водной фазы, основанный на соответствующих свойствах кластеров, может быть использован для оценки распределения кластеров между фазами. Спектры люминесценции водных растворов кластеров до и после смешения с коллоидной фазой и последующего фазового разделения приведены на рис. 2.

Так как оба кластера эффективно адсорбируются на УНТ, частицы, скорее всего, солибилизируются за счет инкапсуляции внутрь агрегатов, образованных молекулами хитозана, в то время как амино/аммонийные группы остаются экспонированными на поверхности, что является предпосылкой адсорбции анионных кластеров.

$K_4[Re_6S_8](OH)_6$ и $K_4[Re_6S_8](CN)_6$ в присутствии оксида графена. На поверхность электрода послойно наносили водную дисперсию ГО (1 мг/мл), затем полиэфирополиол (1 мг/мл) или хитозан (0.75%) и $K_4[Re_6S_8](OH)_6$ или $K_4[Re_6S_8](CN)_6$ (1×10^{-3} М). Каждый слой высушивали, после чего регистрировали дифференциально-импульсные вольтамперограммы в диапазоне потенциалов от 0.0 до 1.0 В при скорости развертки 10 мВ/с. На фоне ФБ с pH 7.0 в отсутствие или в присутствии ГО наблюдаются пики электрохимического окисления $K_4[Re_6S_8](OH)_6$ в области потенциалов 260–300 мВ (рис. 1в) и $K_4[Re_6S_8](CN)_6$ в области потенциалов 550–570 мВ (рис. 1г). Таким образом, ГО при послойном нане-

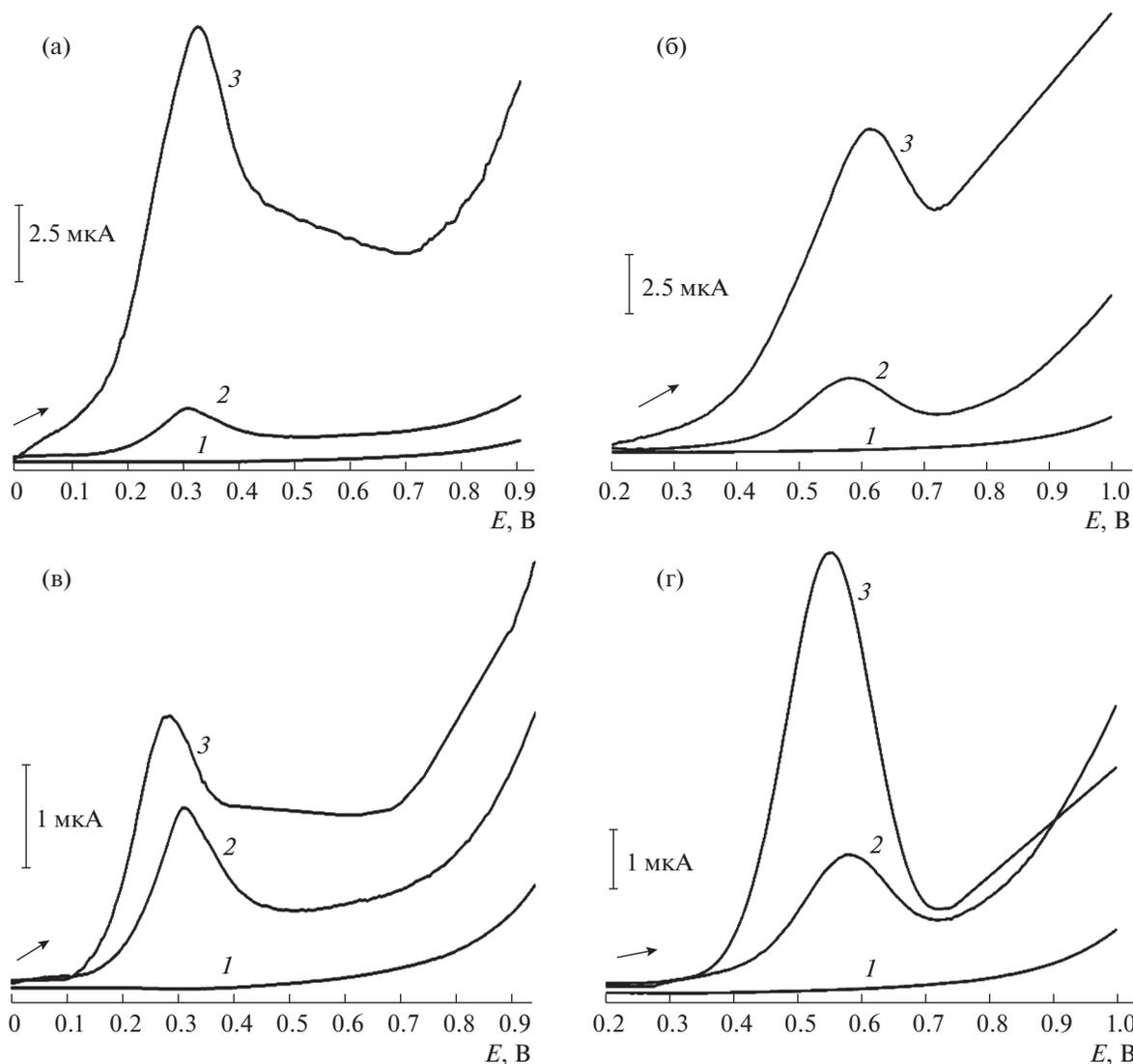


Рис. 1. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы: фосфатный буферный раствор с pH 7.0 (кривые 1) (а), (б), (в), (г); $K_4\{Re_6S_8(OH)_6\}$ и $K_4\{Re_6S_8(CN)_6\}$ (кривые 2) (а), (б), (в), (г); УНТ–хитозан/ $K_4\{Re_6S_8(OH)_6\}$ (кривая 3) (а); УНТ–хитозан/ $K_4\{Re_6S_8(CN)_6\}$ (кривая 3) (б); ГО/хитозан/ $K_4\{Re_6S_8(OH)_6\}$ (кривая 3) (в); ГО/хитозан/ $K_4\{Re_6S_8(CN)_6\}$ (кривая 3) (г).

сении в присутствии хитозана практически не изменяет величину тока окисления, однако происходит смещение потенциала окисления $K_4\{Re_6S_8(OH)_6\}$ в менее положительную область, что свидетельствует о более легком протекании электрохимической реакции. Для $K_4\{Re_6S_8(CN)_6\}$ в присутствии ГО и хитозана характерно увеличение аналитического сигнала в четыре раза (от 1.9 до 8.0 мкА).

В то время как оба кластера адсорбируются на УНТ, покрытом хитозаном, адсорбция на поверхности ГО–хитозан минимальна. Это можно объяснить различием в морфологии гибридных агрегатов УНТ–хитозан и ГО–хитозан. Следует отметить, что связывание гидрофобных УНТ с

хитозаном может происходить за счет гидрофобности последнего, обусловленной наличием глюкозаминных звеньев, что должно приводить к смешанным агрегатам с экспонированными на поверхности аммонийными группами. А гидрофильные отрицательно заряженные частицы ГО связывают молекулы хитозана прежде всего за счет электростатического взаимодействия с амино/аммонийными группами хитозана. В свою очередь, такое связывание частиц ГО с молекулами хитозана должно понижать способность амино/аммонийных групп хитозана адсорбировать анионные кластеры.

Спектроскопия электрохимического импеданса. Метод позволяет оценить сопротивление переноса электрона на границах элект-

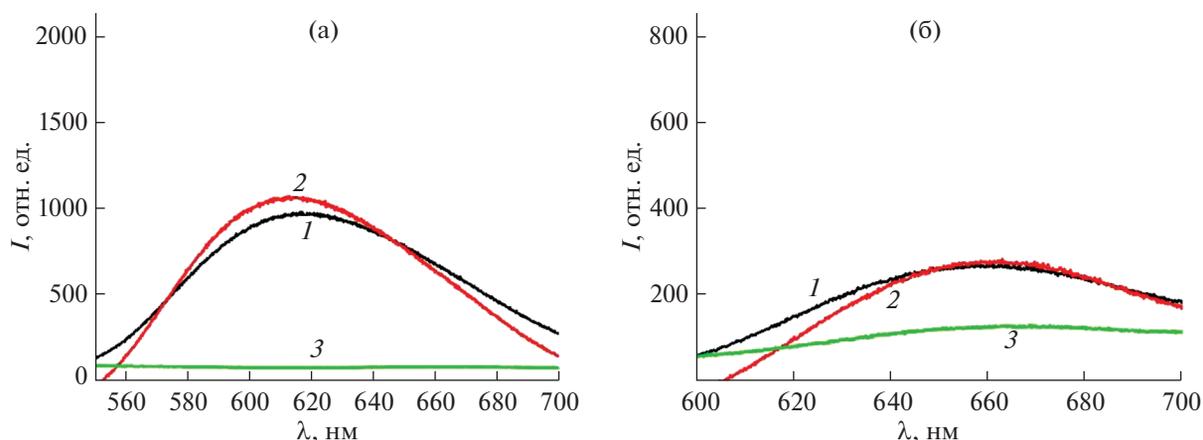


Рис. 2. Спектры люминесценции водных растворов $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ (1) (а) и $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ (1) (б) до фазового разделения и после фазового разделения $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ + ГО (2) (а), $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ + УНТ (3) (а), $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ + ГО (2) (б), $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ + УНТ (3) (б). $c_{K_4[Re_6S_8(OH)_6]}, K_4[Re_6S_8(CN)_6]} = 0.035$ мМ, $c_{ГО} = 0.02$ мг/мл, $c_{УНТ} = 0.04$ мг/мл.

трод/модификатор и электрод/раствор, что дает ценную информацию при выявлении лучшего состава гибридного покрытия для модификации поверхности электродов. Согласно диаграммам Найквиста (рис. 3) лучшими гибридными наномодификаторами с наименьшими значениями сопротивления переноса электрона являются следующие наноматериалы: УНТ–хитозан (2 мг/мл)/ $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ (или $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$), УНТ–H2O–NH₂ (2 мг/мл)/ $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ (или $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$), ГО–хитозан– $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ (или $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$) в соотношении (1 : 2 : 2) и (1 : 2 : 1) соответственно, ГО–H2O–NH₂– $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ (или $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$) в соотношении (1 : 1 : 2) и (1 : 2 : 1) соответственно.

Уменьшение концентрации УНТ способствует увеличению сопротивления переноса электрона в 1.5 раза (рис. 3а, 3б), в то время как уменьшение концентрации ГО приводит к снижению сопротивления в 1.2 раза (рис. 3в, 3г).

Атомно-силовая микроскопия. Исследование морфологии получаемых покрытий электродной поверхности методом АСМ может дать ценную информацию для выбора наилучшей основы для разрабатываемых иммуносенсоров.

Как видно из представленных изображений (рис. 4), поверхность чистого электрода является развитой. Разброс по высоте на скане 3×3 мкм составляет 240 нм. На примере $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ показано, что нанесение нанокластера приводит к его равномерному распределению на поверхности чистого электрода. Разброс по высоте на скане 3×3 мкм уменьшился до 120 нм. При этом концентрация $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ (1×10^{-3} М) явля-

ется достаточной для модификации поверхности электрода.

Особенности структуры углеродных наноматериалов (ГО–H2O–NH₂ и УНТ–H2O–NH₂) позволяют им по-разному модифицировать поверхность электрода. При использовании ГО–H2O–NH₂ на поверхности формируются относительно крупные агломераты, по форме близкие к сферическим. Разброс по высоте на скане 3×3 мкм составил 250 нм. В результате модификации электрода с помощью УНТ–H2O–NH₂ на его поверхности сформировалась складчатая структура, а разброс по высоте даже на скане 1.6×1.6 мкм составил 240 нм. Используемая концентрация углеродных наноматериалов достаточна для увеличения шероховатости поверхности и использования ее в качестве основы для дальнейшего преобразования поверхности электрода.

Нанесение на поверхность углеродных наноматериалов (ГО–H2O–NH₂ и УНТ–H2O–NH₂) $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ приводит к получению более однородной поверхности и к уменьшению разброса по высоте. В случае нанесения на поверхность УНТ $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ происходит формирование относительно более мелких агломератов, по форме близких к сферическим по сравнению с поверхностью ГО.

Сочетание углеродных наноматериалов и нанокластеров приводит к сильному перепаду высот. В свою очередь, перепад высот может способствовать прочному закреплению Аг на поверхности электрода и их доступности для взаимодействия с антигеном (Аг) и к образованию более прочного иммунного комплекса Аг–Аг.

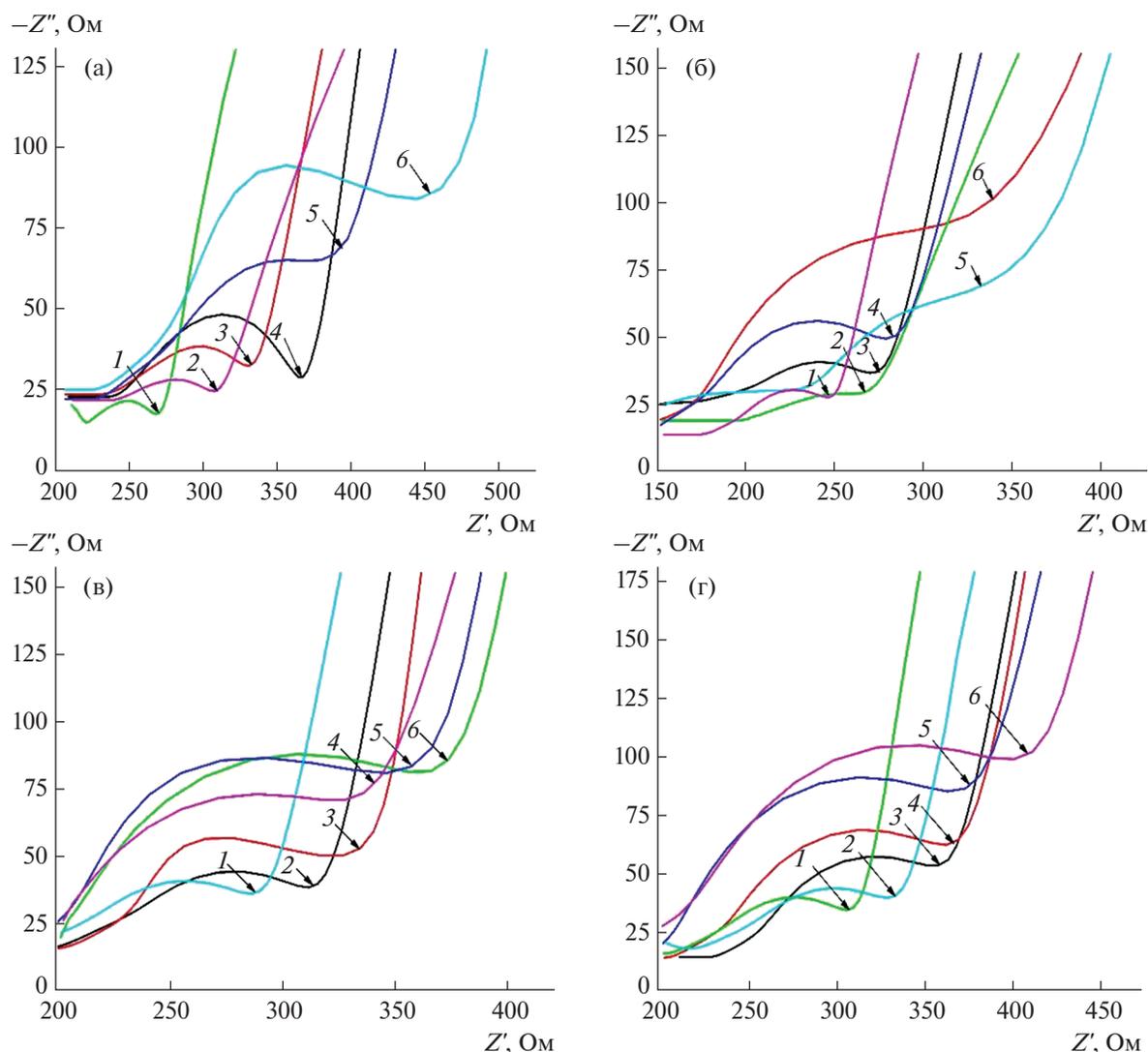


Рис. 3. Диаграммы Найквиста. (а): 1 – УНТ–Н20–NH₂ (2 мг/мл)/K₄{Re₆S₈}(OH)₆, 2 – УНТ–Н20–NH₂ (2 мг/мл)/K₄{Re₆S₈}(CN)₆, 3 – УНТ–Н20–NH₂ (1.5 мг/мл)/K₄{Re₆S₈}(OH)₆, 4 – УНТ–Н20–NH₂ (1 мг/мл)/K₄{Re₆S₈}(OH)₆, 5 – УНТ–Н20–NH₂ (1 мг/мл)/K₄{Re₆S₈}(CN)₆, 6 – УНТ–Н20–NH₂ (1.5 мг/мл)/K₄{Re₆S₈}(CN)₆; (б): 1 – УНТ–хитозан (2 мг/мл)/ K₄{Re₆S₈}(CN)₆, 2 – УНТ–хитозан (2 мг/мл)/K₄{Re₆S₈}(OH)₆, 3 – УНТ–хитозан (1 мг/мл)/ K₄{Re₆S₈}(OH)₆, 4 – УНТ–хитозан (1 мг/мл)/K₄{Re₆S₈}(CN)₆, 5 – УНТ–хитозан (1.5 мг/мл)/K₄{Re₆S₈}(OH)₆; (в): 1 – ГО–Н20–NH₂–K₄{Re₆S₈}(CN)₆ (1 : 2 : 1), 2 – ГО–Н20–NH₂–K₄{Re₆S₈}(OH)₆ (1 : 1 : 2), 3 – ГО–Н20–NH₂–K₄{Re₆S₈}(OH)₆ (1 : 2 : 1), 4 – ГО–Н20–NH₂–K₄{Re₆S₈}(CN)₆ (1 : 2 : 2), 5 – ГО–Н20–NH₂–K₄{Re₆S₈}(CN)₆ (1 : 1 : 2), 6 – ГО–Н20–NH₂–K₄{Re₆S₈}(OH)₆ (1 : 2 : 2); (г): 1 – ГО–хитозан–K₄{Re₆S₈}(OH)₆ (1 : 2 : 2), 2 – ГО–хитозан–K₄{Re₆S₈}(CN)₆ (1 : 2 : 1), 3 – ГО–хитозан–K₄{Re₆S₈}(OH)₆ (1 : 1 : 2), 4 – ГО–хитозан–K₄{Re₆S₈}(CN)₆ (1 : 1 : 2), 5 – ГО–хитозан–K₄{Re₆S₈}(OH)₆ (1 : 2 : 1), 6 – ГО–хитозан–K₄{Re₆S₈}(CN)₆ (1 : 2 : 2).

Результаты АСМ сопоставляли, используя параметры шероховатости, где под шероховатостью понимается совокупность неровностей поверхности с относительно малыми шагами выделенная с помощью базовой длины, связанные с высотными свойствами неровностей [29]: среднее квадратическое отклонение профиля в пределах базовой длины (R_q) и среднее арифметическое абсолютных значений отклонений профиля в пределах базовой длины (R_a). Из представленных

АСМ-изображений в режиме топографии (рис. 4) следует, что добавление углеродных наноматериалов (ГО–Н20–NH₂ и УНТ–Н20–NH₂) приводит к увеличению R_a с 35.4 до 49.1 и 63.52 нм соответственно. В свою очередь, добавление углеродных наноматериалов (ГО–Н20–NH₂ и УНТ–Н20–NH₂) приводит к увеличению R_q с 44.65 до 62.85 и 78.33 нм соответственно.

Природа формирования аналитического сигнала иммуносенсора. После нанесения гибридного на-

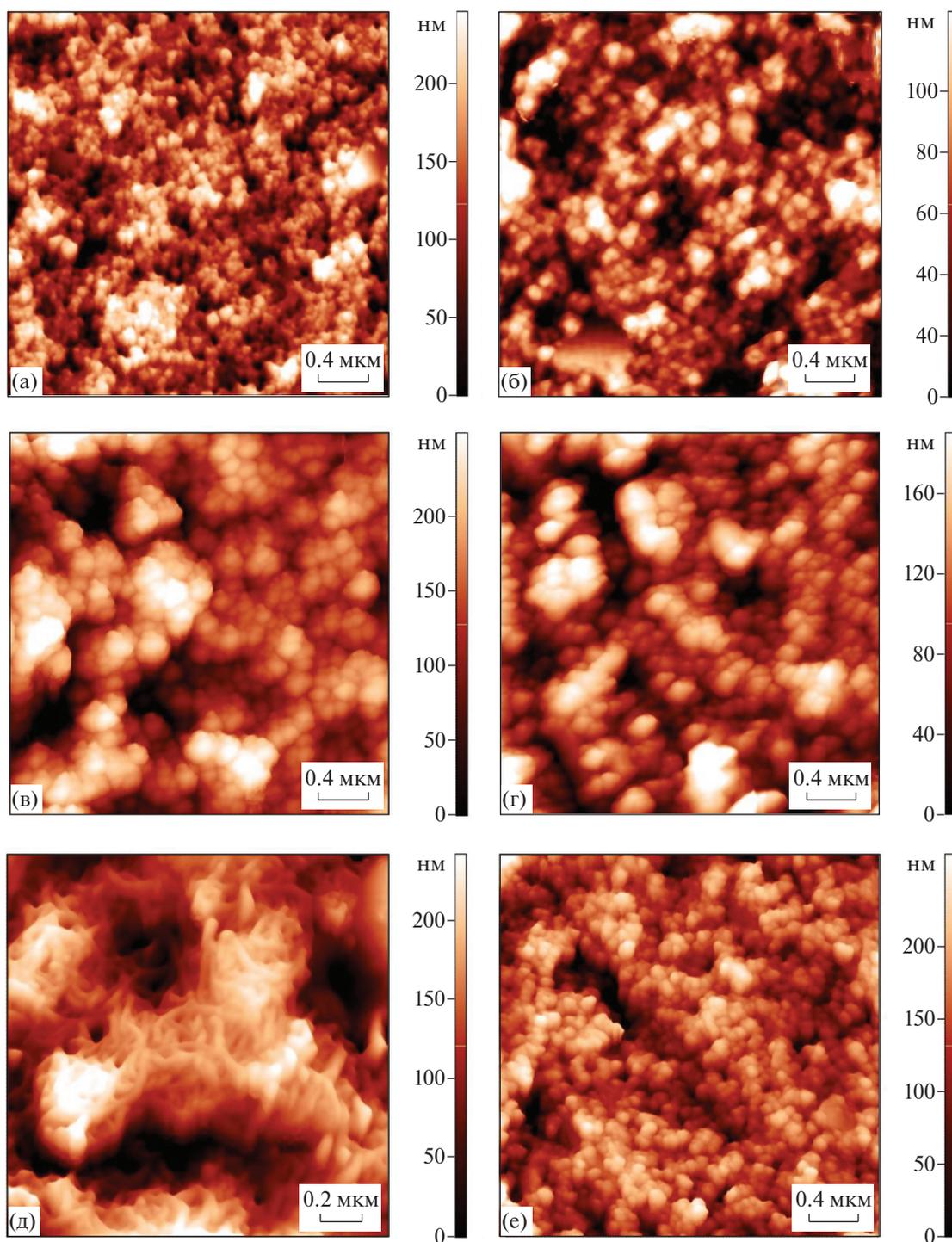


Рис. 4. АСМ-изображения в режиме топографии поверхности в 2D проекциях: (а) – чистый электрод; (б) – $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$; (в) – ГО–Н₂О–NH₂; (г) – ГО–Н₂О–NH₂– $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ (1 : 2 : 1); (д) – УНТ–Н₂О–NH₂ (2 мг/мл); (е) – УНТ–Н₂О–NH₂ (2 мг/мл)/ $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$.

номодификатора на поверхность печатного графитового электрода наносили Аг в соответствующем разведении: (1 : 10, 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200). Наличие Аг на модифицированной поверхности приводит к снижению тока окисления

$K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ и $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ (рис. 5а, кривая 2). Наименее выраженное уменьшение величины регистрируемого сигнала и наименьшее сопротивление переноса электрона обеспечивает разведение Аг 1 : 10.

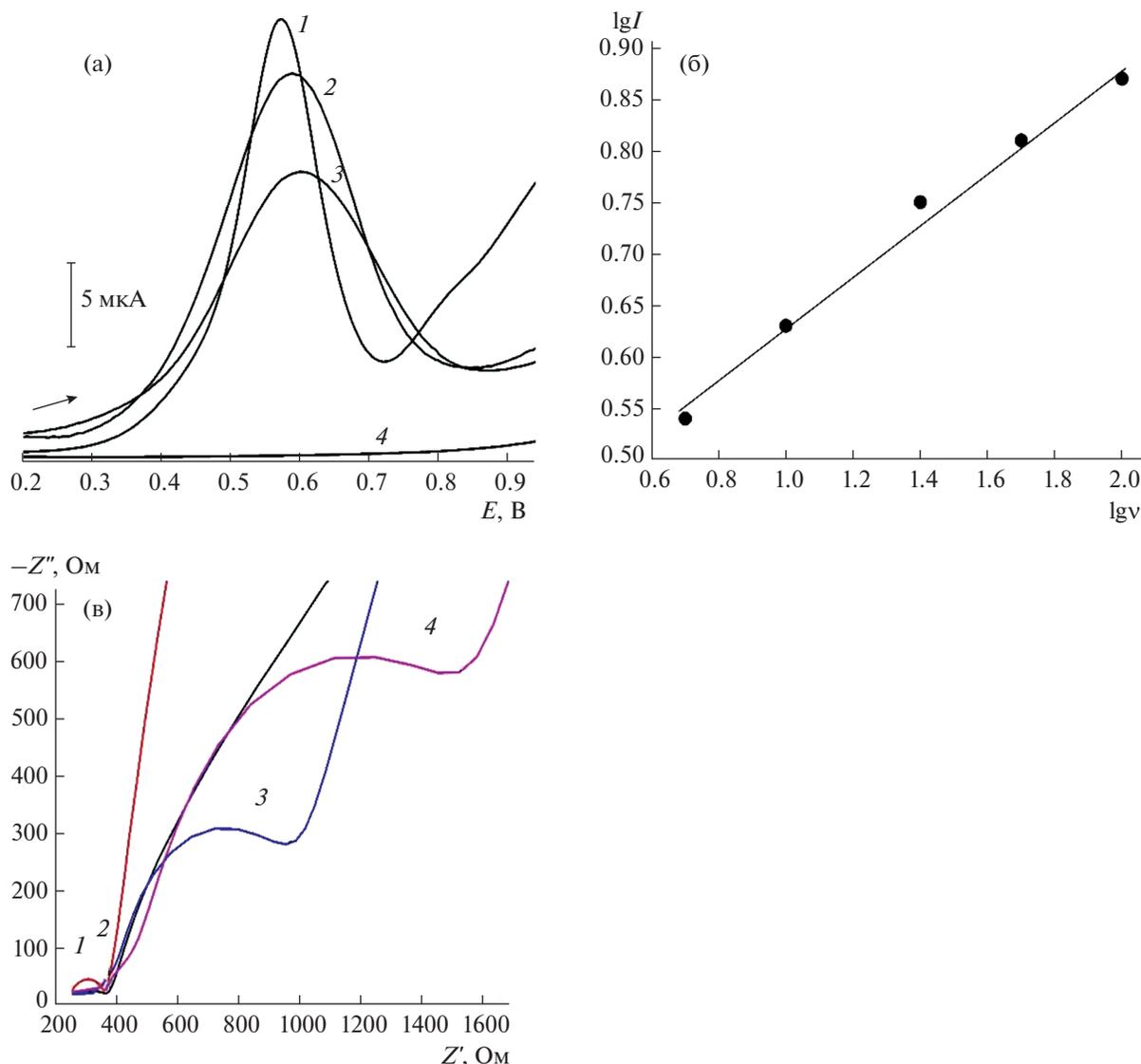


Рис. 5. (а) Дифференциально-импульсные вольтамперограммы: модификатор ГО–Н₂О–NH₂/K₄{Re₆S₈}(CN)₆] (1), модификатор в присутствии антител (2), модификатор в присутствии антител и 1 × 10^{–8} М амитриптилина (3), фосфатный буферный раствор с рН 7.5 (4). (б) Зависимость логарифма тока окисления K₄{Re₆S₈}(CN)₆] от логарифма скорости наложения потенциала. (в) Диаграммы Найквиста: модификатор УНТ–Н₂О–NH₂ (2 мг/мл)/K₄{Re₆S₈}(ОН)₆] (1), модификатор в присутствии антител (2), модификатор в присутствии антител и 1 × 10^{–9} М (3) и 1 × 10^{–8} М антигена (4).

В ходе варьирования рН (6.0–8.0) установлено, что наибольшие токи окисления K₄{Re₆S₈}(ОН)₆] и K₄{Re₆S₈}(CN)₆] регистрируются в этих условиях при рН 6.0 и 7.5. Однако смещение аналитического сигнала в более положительную область потенциалов при рН 6.0 и его уширение говорят о более затруднительном протекании электрохимической реакции в сравнении с той же реакцией при рН 7.5. Таким образом, для электроокисления кластеров в присутствии Аг наилучшим значением рН является 7.5.

Полученный иммуносенсор опускали в электрохимическую ячейку, содержащую Аг. Регистри-

ровали дифференциально-импульсные вольтамперограммы в фоновом растворе (ФБ с рН 7.5) в диапазоне потенциалов от 0.0 до 1.0 В со скоростью сканирования 10 мВ/с (рис. 5а). Взаимодействие Аг с Аг приводит к образованию иммунного комплекса Аг–Аг на поверхности электрода, что проявляется в уменьшении аналитического сигнала (рис. 5а, кривая 3) за счет увеличения сопротивления на границе электрод/раствор. Нельзя исключить и возможность возникновения стерических препятствий за счет образования иммунных комплексов на поверхности иммуносенсоров.

Таблица 2. Аналитические возможности импедиметрических иммуносенсоров при определении амитриптилина (разведение антител, 1 : 10, рН 7.5, $n = 5$, $P = 0.95$)

Лекарственное соединение	Область рабочих концентраций, М	Уравнение градуировочной зависимости $\Delta R_{et} = (A \pm \delta) + (B \pm \delta)(-lgc)$			c_H , М
		$A \pm \delta$	$B \pm \delta$	r	
Иммуносенсор 1 (УНТ–Н20–NH₂/K₄[{Re₆S₈}(OH)₆]/Аг)					
Амитриптилин	$1 \times 10^{-10} - 1 \times 10^{-5}$	1940 ± 136	–196 ± 12	0.9978	5×10^{-11}
Дезипрамин		1917 ± 131	–193 ± 11	0.9981	
Имипрамин		1953 ± 139	–197 ± 12	0.9989	
Иммуносенсор 2 (ГО–Н20–NH₂–K₄[{Re₆S₈}(OH)₆]/Аг)					
Амитриптилин	$1 \times 10^{-10} - 1 \times 10^{-6}$	1538 ± 108	–149 ± 10	0.9963	7×10^{-11}
Дезипрамин		1501 ± 104	–145 ± 9	0.9983	
Имипрамин		1525 ± 104	–148 ± 10	0.9991	

Примечание: $\Delta R_{et} = ((R_{et}(imr) - R_{et}(ims))/R_{et}(ims)) \times 100\%$, где $R_{et}(imr)$ – сопротивление переноса электрона на границе электрод/модификатор при образовании иммунного комплекса, $R_{et}(ims)$ – сопротивление переноса электрона на границе электрод/модификатор в присутствии Аг.

Для установления природы тока рассмотрена его зависимость от скорости наложения потенциала (в режиме циклической вольтамперометрии). Критерий Семерано, рассчитанный из логарифмической зависимости величины тока окисления $K_4\{Re_6S_8\}(CN)_6$ от скорости наложения потенциала ($tg = I_g/I_{gv}$), равен 0.25 (рис. 5б), что указывает на кинетическую природу наблюдаемого тока [30].

Разработанные иммуносенсоры. По результатам исследований (электрохимическое поведение, данные спектроскопии электрохимического импеданса (СЭИ)) выбраны лучшие гибридные наноматериалы для использования их в качестве модификаторов поверхности печатных графитовых электродов (ПГЭ), взятых за основу следующих иммуносенсоров:

Иммуносенсор 1: ПГЭ, модифицированный дисперсией УНТ в полиэфирополиоле (2 мг/мл) и $K_4\{Re_6S_8\}(OH)_6$ в соотношении 1 : 1 (УНТ–Н20–NH₂/K₄[{Re₆S₈}(OH)₆]/Аг).

Иммуносенсор 2: ПГЭ, модифицированный смесью дисперсии ГО в полиэфирополиоле и $K_4\{Re_6S_8\}(OH)_6$ в соотношении 1 : 1 : 2 (ГО–Н20–NH₂–K₄[{Re₆S₈}(OH)₆]/Аг).

Иммуносенсор 3: ПГЭ, модифицированный дисперсией УНТ в полиэфирополиоле (1 мг/мл) и $K_4\{Re_6S_8\}(CN)_6$ в соотношении 1 : 1 (УНТ–Н20–NH₂/K₄[{Re₆S₈}(CN)₆]/Аг).

Иммуносенсор 4: ПГЭ, модифицированный смесью дисперсии ГО в полиэфирополиоле и $K_4\{Re_6S_8\}(CN)_6$ в соотношении 1 : 2 : 1 (ГО–Н20–NH₂–K₄[{Re₆S₈}(CN)₆]/Аг).

Аналитические характеристики импедиметрического иммуносенсора. В ходе нанесения Аг против ТЦА в присутствии Аг и образовании комплекса

Аг–Аг обнаружено значительное изменение в сопротивлении переноса электрона, что использовано при разработке импедиметрического иммуносенсора (рис. 5в). Наилучшие аналитические характеристики получены в случае иммуносенсора 1, который обладает более широким диапазоном рабочих концентраций, хотя нижняя граница определяемых содержаний находится примерно на одном и том же уровне 5×10^{-11} М (табл. 2) по отношению к иммуносенсору 2 (7×10^{-11} М). Для проверки правильности полученных результатов использовали метод введено–найдено (табл. 3). Погрешность определения (s_r) не превышает 0.049.

Аналитические характеристики амперометрического иммуносенсора. Лучшими аналитическими характеристиками обладает иммуносенсор 4, характеризующийся более широким диапазоном рабочих концентраций с нижней границей определяемых содержаний на уровне 4×10^{-11} М (табл. 4) по отношению к иммуносенсору 3. Для проверки правильности полученных результатов использовали метод введено–найдено (табл. 3).

Определение лекарственного вещества в лекарственной форме. На основе полученных результатов предложена методика определения амитриптилина, дезипрамина и имипрамина в соответствующих фармацевтических препаратах.

Методика определения. Таблетку препарата растирали в ступке в порошок, растворяли в дистиллированной воде (10 мл) с добавлением этилового спирта (5 мл). После центрифугирования (15 мин, 7000 об/мин) надосадочную жидкость переносили в мерную колбу емк. 25 мл. Нерастворившийся осадок обрабатывали 10 мл дистиллированной воды и центрифугировали при тех же условиях. Раствор переносили в колбу и доводили

Таблица 3. Результаты определения трициклических антидепрессантов иммуносенсорами (рН 7.5, $n = 5$, $P = 0.95$)

Лекарственное соединение	Введено, М	Найдено, М	s_r
Импедиметрический иммуносенсор 1 (УНТ–Н20–NH ₂ /K ₄ {Re ₆ S ₈ }(OH) ₆]/Аг)			
Амитриптилин	1×10^{-8}	$(1.02 \pm 0.05) \times 10^{-8}$	0.037
	1×10^{-7}	$(1.00 \pm 0.04) \times 10^{-7}$	0.033
Дезипрамин	1×10^{-8}	$(1.03 \pm 0.05) \times 10^{-8}$	0.036
	1×10^{-7}	$(1.01 \pm 0.04) \times 10^{-7}$	0.032
Импедиметрический иммуносенсор 2 (ГО–Н20–NH ₂ –K ₄ {Re ₆ S ₈ }(OH) ₆]/Аг)			
Амитриптилин	1×10^{-8}	$(1.02 \pm 0.06) \times 10^{-8}$	0.049
	1×10^{-7}	$(1.01 \pm 0.06) \times 10^{-7}$	0.045
Имипрамин	1×10^{-8}	$(1.05 \pm 0.06) \times 10^{-8}$	0.048
	1×10^{-7}	$(1.04 \pm 0.06) \times 10^{-7}$	0.045
Амперометрический иммуносенсор 3 (УНТ–Н20–NH ₂ /K ₄ {Re ₆ S ₈ }(CN) ₆]/Аг)			
Амитриптилин	1×10^{-8}	$(1.03 \pm 0.04) \times 10^{-8}$	0.031
	1×10^{-7}	$(1.01 \pm 0.03) \times 10^{-7}$	0.027
Дезипрамин	1×10^{-8}	$(1.02 \pm 0.04) \times 10^{-8}$	0.031
	1×10^{-7}	$(1.01 \pm 0.03) \times 10^{-7}$	0.027
Амперометрический иммуносенсор 4 (ГО–Н20–NH ₂ /K ₄ {Re ₆ S ₈ }(CN) ₆]/Аг)			
Амитриптилин	1×10^{-8}	$(1.02 \pm 0.04) \times 10^{-8}$	0.029
	1×10^{-7}	$(1.00 \pm 0.03) \times 10^{-7}$	0.024
Имипрамин	1×10^{-8}	$(1.02 \pm 0.04) \times 10^{-8}$	0.029
	1×10^{-7}	$(1.01 \pm 0.03) \times 10^{-7}$	0.024

Таблица 4. Аналитические возможности амперометрических иммуносенсоров при определении трициклических антидепрессантов (рН 7.5, разведение антител 1 : 10, $n = 5$, $P = 0.95$)

Лекарственное соединение	Область рабочих концентраций, М	Уравнение градуировочной зависимости $I^* = (A \pm \delta) + (B \pm \delta)(-lgc)$			c_H , М
		$A \pm \delta$	$B \pm \delta$	r	
Иммуносенсор 3 (УНТ–Н20–NH ₂ /K ₄ {Re ₆ S ₈ }(CN) ₆]/Аг)					
Амитриптилин	$1 \times 10^{-10} - 1 \times 10^{-6}$	198 ± 10	-18.9 ± 0.8	0.9995	6×10^{-11}
Дезипрамин		197 ± 9	-18.7 ± 0.8	0.9994	
Имипрамин		198 ± 10	-18.9 ± 0.8	0.9996	
Иммуносенсор 4 (ГО–Н20–NH ₂ /K ₄ {Re ₆ S ₈ }(CN) ₆]/Аг)					
Амитриптилин	$1 \times 10^{-10} - 1 \times 10^{-5}$	204 ± 12	-20.2 ± 1.0	0.9990	4×10^{-11}
Дезипрамин		199 ± 11	-19.8 ± 1.0	0.9992	
Имипрамин		200 ± 11	-19.9 ± 1.0	0.9996	

Примечание: $I^* = ((I_{AT} - I_K)/I_{AT}) \times 100\%$, где I_{AT} – величина аналитического сигнала (ток) в присутствии Аг, I_K – величина аналитического сигнала (ток) при образовании иммунного комплекса.

Таблица 5. Аналитические возможности разработанных иммуносенсоров при определении амитриптилина в моче (рН 6.0, $n = 5$, $P = 0.95$)

Тип иммуносенсора	Область рабочих концентраций, М	Уравнение градуировочной зависимости $I^*(\Delta R_{et}) = (A \pm \delta) + (B \pm \delta) \times (-\lg c)$			c_H , М
		$A \pm \delta$	$B \pm \delta$	r	
Импедиметрический иммуносенсор 1	$1 \times 10^{-10} - 1 \times 10^{-5}$	1906 ± 131	-185 ± 12	0.9972	5×10^{-11}
Импедиметрический иммуносенсор 2	$1 \times 10^{-10} - 1 \times 10^{-6}$	1497 ± 102	-138 ± 9	0.9961	7×10^{-11}
Амперометрический иммуносенсор 3	$1 \times 10^{-10} - 1 \times 10^{-6}$	192 ± 10	-18.0 ± 0.8	0.9980	6×10^{-11}
Амперометрический иммуносенсор 4	$1 \times 10^{-10} - 1 \times 10^{-5}$	197 ± 10	-18.8 ± 1.0	0.9976	4×10^{-11}

Примечание: $I^* = ((I_{At} - I_K)/I_{At}) \times 100\%$, где I_{At} – величина аналитического сигнала (ток) в присутствии At, I_K – величина аналитического сигнала (ток) при образовании иммунного комплекса; $\Delta R_{et} = ((R_{et}(imr) - R_{et}(ims))/R_{et}(ims)) \times 100\%$, где $R_{et}(imr)$ – сопротивление переноса электрона на границе электрод/модификатор при образовании иммунного комплекса At–Ar, $R_{et}(ims)$ – сопротивление переноса электрона на границе электрод/модификатор в присутствии At.

водой до метки. 20 мкл полученного раствора переносили в ячейку объемом 2 мл, добавляя ФБ с рН 7.5 до нужного объема, и регистрировали токи окисления $K_4\{[Re_6S_8](CN)_6\}$ иммуносенсором 4. По полученным значениям I^* рассчитывали концентрацию активного компонента в лекарственном препарате (табл. 5).

Для проверки правильности полученные результаты сопоставили с данными спектрофотометрии (максимумы поглощения: амитриптилин 239 нм, имипрамин и дезипрамин 251 нм) [31]. Экспериментально полученные значения критерия Фишера ($F_{экср} = 2.24$) и коэффициента Стьюдента ($t_{экср} = 1.03$) ($n = 5$, $P = 0.95$) меньше табличных ($F_{табл} = 6.39$ и $t_{экср} = 2.78$), что указывает на равнозначность полученных результатов и незначительность систематической погрешности.

Определение лекарственного вещества в моче.

Антидепрессанты выводятся из организма с мочой, поэтому разработанные иммуносенсоры опробовали при определении амитриптилина (табл. 5) в модельном растворе мочи (рН 6.0) (рН мочи в норме от 5.0 до 6.5) состава: мочевины, NaCl, Na_2SO_3 , KCl, KH_2PO_4 , $CaCl_2$, NH_4Cl , креатинин [32].

Методика определения. В ячейку объемом 2 мл наливали модельный раствор мочи (или модельный раствор урины и гексацианоферратов калия), опускали иммуносенсор 4 (или иммуносенсор 1) и регистрировали ток окисления $K_4\{[Re_6S_8](CN)_6\}$ (или сопротивление переноса электрона). Затем добавляли 20 мкл раствора лекарственного вещества (рабочий диапазон концентраций $1 \times 10^{-10} - 1 \times 10^{-5}$ М) и регистрировали аналитический сигнал. По полученным значениям I^* и ΔR_{et} (см. табл. 5) рассчитывали концентрацию амитриптилина.

Относительное стандартное отклонение определения ТЦА в модельном растворе мочи импедиметрическими и амперометрическими имму-

носенсорами с лучшими характеристиками не превышает 0.050 и 0.034 соответственно.

Таким образом, на основании результатов дифференциальной импульсной вольтамперометрии и спектроскопии электрохимического импеданса предложены гибридные наномодификаторы на основе углеродных наноматериалов (УНТ и ГО) в H_2O-NH_2 или хитозане и гексарениевых халькогенидных нанокластеров для высокочувствительного и селективного иммунохимического определения ТЦА (амитриптилин, дезипрамин, имипрамин). Сведения об амперометрических и импедиметрических иммуносенсорах для определения ТЦА в литературе отсутствуют, поэтому предложенные иммуносенсоры перспективны для решения поставленных в работе задач. Предложенные методики определения трициклических антидепрессантов разработанными иммуносенсорами в фармацевтических препаратах и моче характеризуются значениями s_r не более 0.050.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kurbanoglu S., Unal M.A., Ozkan S.A.* Recent developments on electrochemical flow injection in pharmaceuticals and biologically important compounds // *Electrochim. Acta.* 2018. V. 287. P. 135.
2. *Frangu A., Pravcová K., Šilarová P., Arbnesi T., Šýs M.* Flow injection tyrosinase biosensor for direct determination of acetaminophen in human urine // *Anal. Bioanal. Chem.* 2019. V. 411. № 11. P. 2415.
3. *Santos A.M., Silva T.A., Vicentini F.C., Fatibello-Filho O.* Flow injection analysis system with electrochemical detection for the simultaneous determination of nanomolar levels of acetaminophen and codeine // *Arabian J. Chem.* 2020. V. 13. № 1. P. 335.
4. *Farnoudian-Habibi A., Massoumi B., Jaymand M.* A novel strategy for spectrophotometric simultaneous determination of amitriptyline and nortriptyline based

- on derivation with a quinonoid compound in serum samples // *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.* 2016. V. 168. P. 235.
5. *Safari M., Shahlaei M., Yamini Y., Shakorian M., Arkan E.* Magnetic framework composite as sorbent for magnetic solid phase extraction coupled with high performance liquid chromatography for simultaneous extraction and determination of tricyclic antidepressants // *Anal. Chim. Acta.* 2018. V. 1034. P. 204.
 6. *Rysavá L., Dvorák M., Kubán P.* The effect of membrane thickness on supported liquid membrane extractions in-line coupled to capillary electrophoresis for analyses of complex samples // *J. Chromatogr. A.* 2019. V. 1596. P. 226.
 7. *de Oliveira F.M., Scheel G.L., Augusti R., Tarley C.R.T., Nascentes C.C.* Supramolecular microextraction combined with paper spray ionization mass spectrometry for sensitive determination of tricyclic antidepressants in urine // *Anal. Chim. Acta.* 2020. V. 1106. P. 52.
 8. *Feng Y., Zheng M., Zhang X., Kang K., Kang W., Lian K., Yang J.* Analysis of four antidepressants in plasma and urine by gas chromatography-mass spectrometry combined with sensitive and selective derivatization // *J. Chromatogr. A.* 2019. V. 1600. P. 33.
 9. *Kasagic-Vujanovic I., Jancic-Stojanovic B.* Quality by design oriented development of hydrophilic interaction liquid chromatography method for the analysis of amitriptyline and its impurities // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2019. V. 173. P. 86.
 10. *Karami M., Yamini Y.* On-disc electromembrane extraction-dispersive liquid-liquid microextraction: A fast and effective method for extraction and determination of ionic target analytes from complex biofluids by GC/MS // *Anal. Chim. Acta.* 2020. V. 1105. P. 95.
 11. *Li H., Xu B., Wang D., Zhou Y., Zhang H., Xia W., Xu S., Li Y.* Immunosensor for trace penicillin G detection in milk based on supported bilayer lipid membrane modified with gold nanoparticles // *J. Biotechnol.* 2015. V. 203. P. 97.
 12. *Медянцева Э.П., Брусницын Д.В., Варламова Р.М., Медведева О.И., Кутырева М.П., Улахович Н.А., Фаттахова А.Н., Коновалова О.А., Будников Г.К.* Гиперразветвленные полиэфирополиолы в составе амперометрических моноаминоксидазных биосенсоров на основе электродов, модифицированных наноматериалами, для определения антидепрессантов // *Журн. прикл. химии.* 2017. Т. 90. № 1. С. 104. (*Medyantseva E.P., Brusnitsyn D.V., Varlamova R.M., Medvedeva O.I., Kutyreva M.P., Ulakhovich N.A., Fattakhova A.N., Konovalova O.A., Budnikov H.C.* Hyperbranched polyesterpolyols as components of amperometric monoamine oxidase biosensors based on electrodes modified with nanomaterials for determination of antidepressants // *Russ. J. Appl. Chem.* 2017. V. 90. № 1. P. 97.)
 13. *Медянцева Э.П., Брусницын Д.В., Варламова Р.М., Максимов А.А., Коновалова О.А., Будников Г.К.* Модификация поверхности электродов углеродными нанотрубками и наночастицами металлов золота и серебра в моноаминоксидазных биосенсорах для определения некоторых антидепрессантов // *Журн. аналит. химии.* 2017. Т. 72. № 4. С. 305. (*Medyantseva E.P., Brusnitsyn D.V., Varlamova R.M., Maksimov A.A., Konovalova O.A., Budnikov H.C.* Surface modification of electrodes by carbon nanotubes and gold and silver nanoparticles in monoamine oxidase biosensors for the determination of some antidepressants // *J. Anal. Chem.* 2017. V. 72. № 4. P. 362.)
 14. *Othman A.M., Wollenberger U.* Amperometric biosensor based on coupling aminated laccase to functionalized carbon nanotubes for phenolics detection // *Int. J. Biol. Macromol.* 2020. V. 153. P. 855.
 15. *Fiorani A., Merino J.P., Zanuti A., Criado A., Valenti G., Prato M., Paolucci F.* Advanced carbon nanomaterials for electrochemiluminescent biosensor applications // *Curr. Opin. Electrochem.* 2019. V. 16. P. 66.
 16. *Elistratova J.G., Mustafina A.R., Brylev K.A., Petrov K.A., Shestopalov M.A., Mironov Y.V., Babaev V.M., Rizvanov I.K., Massonc P., Sinyashina O.G.* Sensing activity of cholinesterases through a luminescence response of the hexarhenium cluster complex $[\{Re_6S_8\}(OH)_6]^{4-}$ // *Analyst.* 2016. V. 141. № 13. P. 4204.
 17. *Patel H., Rawtani D., Agrawal Y.K.* A newly emerging trend of chitosan-based sensing platform for the organophosphate pesticide detection using acetylcholinesterase – A review // *Trends Food Sci. Technol.* 2019. V. 85. P. 78.
 18. *Farias E.D., Passeggi M.C.G., Brunetti V.* Thermal transitions in hyperbranched polyester-polyol assemblies on carbon // *Eur. Polym. J.* 2018. V. 102. P. 68.
 19. *Medyantseva E.P., Brusnitsyn D.V., Varlamova (Beilinson) R.M., Konovalova O.A., Budnikov H.K.* Nanostructured composites based on graphene and cobalt nanoparticles in monoamine oxidase biosensors for determining antidepressants // *Inorg. Mater.* 2019. V. 55. № 14. P. 1390.
 20. *Krasilnikova A.A., Solovieva A.O., Ivanov A.A., Trifonova K.E., Pozmogova T.N., Tsygankova A.R., Smolentsev A.I., Kretov E.I., Sergeevichev D.S., Shestopalov M.A., Mironov Y.V., Shestopalov A.M., Poveshchenko A.F., Shestopalova L.V.* Comprehensive study of hexarhenium cluster complex $Na_4[Re_6Te_8(CN)_6]$ – In terms of a new promising luminescent and X-ray contrast agent // *Nanomedicine: NBM.* 2017. V. 13. № 2. P. 755.
 21. *Yarovoi S.S., Mironov Y.V., Naumov D.Y., Gatilov Y.V., Kozlova S.G., Kim S.J., Fedorov V.E.* Octahedral hexahydroxo rhenium cluster complexes $[Re_6Q_8(OH)_6]^{4-}$ (Q = S, Se): Synthesis, structure, and properties // *Eur. J. Inorg. Chem.* 2005. V. 19. № 19. P. 3945.
 22. *Ivanov A.A., Falaise C., Abramov P.A., Shestopalov M.A., Kirakci K., Lang K., Moussawi M.A., Sokolov M.N., Naumov N.G., Floquet S., Landy D., Haouas M., Brylev K.A., Mironov Y.V., Molard Y., Cordier S., Cadot E.* Host-guest binding hierarchy within redox- and luminescence-responsive supramolecular self-assembly based on chalcogenide clusters and γ -cyclodextrin // *Chem. Eur. J.* 2018. V. 24. № 51. P. 13467.
 23. *Ziganshin M.A., Safiullina A.S., Gerasimov A.V., Ziganshina S.A., Klimovitskii A.E., Khayarov K.R., Gorbachuk V.V.* Thermally induced self-assembly and cyclization of L-leucyl-L-leucine in solid state // *J. Phys. Chem. B.* 2017. V. 121. № 36. P. 8603.
 24. *Ziganshin M.A., Morozova A.S., Ziganshina S.A., Vorobev V.V., Suwińska K., Bukharaev A.A., Gorbachuk V.V.* Additive and antagonistic effects of substrate and vapors on self-as-

- sembly of glycyL-glycine in thin films // *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 2019. V. 690. № 1. P. 67.
25. *Brylev K.A., Mironov Y.V., Yarovoi S.S., Naumov N.G., Fedorov V.E., Kim S.J., Kitamura N., Kuwahara Y., Yamada K., Ishizaka S., Sasak Y.* A family of octahedral rhenium cluster complexes $[\text{Re}_6\text{Q}_8(\text{H}_2\text{O})_n(\text{OH})_{6-n}]^{n-4}$ (Q = S, Se; n = 0–6): Structural and pH-dependent spectroscopic studies // *Inorg. Chem.* 2007. V. 46. № 18. P. 7414.
 26. *Naumov N., Ostanina E.V., Virovets A.V., Schmidtman M., Müller A., Fedorov V.* Electron Re_6 metal clusters: Syntheses and crystal structures of $(\text{Ph}_4\text{P})_3[\text{Re}_6\text{S}_8(\text{CN})_6]$, $(\text{Ph}_4\text{P})_2(\text{H})[\text{Re}_6\text{Se}_8(\text{CN})_6] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, and $(\text{Et}_4\text{N})_2(\text{H})[\text{Re}_6\text{Te}_8(\text{CN})_6] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ // *Russ. Chem. Bull.* 2002. V. 51. № 5. P. 799.
 27. *Медянцева Э.П., Брусницын Д.В., Газизуллина Э.Р., Варламова (Бейлинсон) Р.М., Коновалова О.А., Будников Г.К.* Гибридные наноконпозиты как модификаторы электродов амперометрических иммуносенсоров при определении амитриптилина // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. № 4. С. 360. (*Medyantseva E.P., Brusnitsyn D.V., Gazizullina E.R., Varlamova (Beilinson) R.M., Konovalova O.A., Budnikov H.C.* Hybrid nanocomposites as electrode modifiers in amperometric immunosensors for the determination of amitriptyline // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 4. P. 536.)
 28. *Комарова Н.В., Андрианова М.С., Савельев М.И., Кузнецов А.Е.* Оптимизация процесса функционализации поверхности оксида кремния при создании рецепторного слоя биосенсора для детекции взрывчатых веществ // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия.* 2015. Т. 56. № 6. С. 379.
 29. ГОСТ 25142-82. Шероховатость поверхности. Термины и определения. М.: Стандартинформ, 2018. С. 8.
 30. *Будников Г.К., Майстренко В.Н., Вяселев М.Р.* Основы современного электрохимического анализа: учебник для вузов. М.: Мир, 2003. 592 с.
 31. Государственная фармакопея Российской Федерации: в 4-х тт. Т. 3. 14-е издание. М., 2018. 7019 с.
 32. *Pietrzyńska M., Voelkel A.* Stability of simulated body fluids such as blood plasma, artificial urine and artificial saliva // *Microchem. J.* 2017. V. 134. № 6. P. 197.

УДК 547-326:543.572.3:543.544.43

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ СКАНИРУЮЩАЯ КАЛОРИМЕТРИЯ КАК МЕТОД КОНТРОЛЯ ПОДЛИННОСТИ МАСЛА ДИКОРАСТУЩЕЙ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ

© 2021 г. О. Б. Рудаков^{а, *}, И. А. Саранов^{б, **}, Ш. А. Балаева^с, А. Ш. Рамазанов^с, Я. О. Рудаков^д

^аВоронежский государственный технический университет
ул. 20-летия Октября, 84, Воронеж, 394006 Россия

^бВоронежский государственный университет инженерных технологий
просп. Революции, 19, Воронеж, 394036 Россия

^сДагестанский государственный университет
ул. Гаджиева, 43-а, Махачкала, Республика Дагестан, 367000 Россия

^дВоронежский государственный университет
Университетская площадь, 1, Воронеж, 394018 Россия

*e-mail: robi57@mail.ru

**e-mail: mr.saranov@mail.ru

Поступила в редакцию 20.03.2021 г.

После доработки 02.04.2021 г.

Принята к публикации 02.04.2021 г.

Методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) изучены теплофизические свойства масла дикорастущей расторопши пятнистой (*Silybum marianum*) из разных районов Дагестана. Установлены характеристические тепловые эффекты для серии образцов масла – температуры максимумов эндотермических пиков на термограммах ДСК в пяти диапазонах: T_1 от -37.6 до -31.1°C , T_2 от -27.6 до -23.8°C , T_3 от -19.9 до -14.4°C , T_4 от -13.5 до -4.2°C и T_5 от -4.7 до -1.2°C и площади этих пиков. Максимум при T_1 отнесен к фракции триненасыщенных триацилглицеринов (UUU), имеющих самые низкие $T_{пл}$. Наиболее выраженные максимумы при T_2 и T_3 формируются смесью фракций триненасыщенных (UUU, U – unsaturated) и диненасыщенных, моносенасыщенных триацилглицеринов (UUS, S – saturated). Максимумы при T_4 и T_5 образуются при плавлении фракций моносенасыщенных и триненасыщенных триацилглицеринов (USS и SSS). Показано, что на положение максимумов эндотермических пиков и их площади оказывают влияние фенотипические факторы – совокупность условий произрастания сырья (высота над уровнем моря, содержание гумуса в почве, количество осадков и солнечных дней в течение года). Показана возможность контроля методом ДСК подлинности масла расторопши и его происхождения.

Ключевые слова: масло расторопши пятнистой, дифференциальная сканирующая калориметрия, термограммы плавления, фенотипические корреляции.

DOI: 10.31857/S0044450221100091

Расторопша пятнистая (*Silybum marianum* (L.) Gaertn) является сырьевым источником ценных биологически активных веществ, таких как флаволигнаны, флавоноиды, жирное масло, белки, углеводы, микро- и макроэлементы [1–5]. Лекарственные препараты на основе масла из плодов расторопши пятнистой (РП) используют при лечении ран, язв, пролежней и воспалительных процессов [3]. Масло РП – ценная биологически активная добавка (БАД) к пище. Наиболее ценными считаются БАД, выделенные из дикорастущего сырья. Необходимо контролировать качество таких БАД, так как их нередко фальсифицируют или разбавляют недорогими маслами, на порядок более дешевыми, чем подлинные БАД.

Одним из эффективных методов контроля качества и подлинности растительных масел и животных жиров является дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) [6–14]. В работах [6, 7] методом ДСК изучены теплофизические свойства семи типичных растительных масел, жидких при комнатной температуре. Эндотермические пики и их площади на термограммах ДСК плавления сопоставлены с жирнокислотным и триглицеридным составом, найденными хроматографическими методами, установлено наличие значимых корреляций между тепловыми эффектами и химическим составом масел. Для интерпретации кривых кристаллизации и плавления растительных масел и пищевых жиров (17 сортов)

в работе [8] в качестве подтверждающих методов также использованы хроматографические данные о жирнокислотном и триглицеридном составе рассматриваемых жиров. Для исследования масел и жиров методом ДСК часто используют кривые кристаллизации, однако они хуже воспроизводятся, чем кривые плавления [7, 9, 11]. В работах [10, 12] применяли так называемую “быструю” ДСК с градиентом температур 10–20 град/мин. Показано, что при таких скоростях нагрева пики, характеризующие тепловые эффекты, разделяются хуже, частично или полностью сливаются, что снижает информативность термограмм, в то время как снижение скорости нагрева увеличивает продолжительность термического анализа. В связи с этим наиболее часто в ДСК растительных масел рекомендуют использовать скорость нагрева или охлаждения 5 град/мин [7].

Преимуществом применения метода ДСК для контроля качества и идентификации жировой фазы является его высокая чувствительность к ее составу. Метод не требует больших затрат времени, реактивов и растворителей, дополнительного лабораторного оборудования. Как показано в работе [13], по характерному профилю термограмм ДСК можно проверить не только аутентичность образца масла, но даже географическое происхождение и сорт масличного растения, из которого оно выделено. В работе [7] предложен алгоритм идентификации растительных масел с использованием контрольных карт, визуализирующих цифровую информацию, содержащую несколько параметров термограмм.

Цель настоящей работы – изучить теплофизические свойства масла плодов дикорастущей расторопши пятнистой из различных районов Дагестана, установить взаимосвязи характеристичных тепловых эффектов, наблюдаемых на термограммах ДСК плавления, с происхождением растительного сырья, опробовать использование полученных данных для проверки подлинности масла РП.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Образцы масла РП получены в лабораторных условиях в Дагестанском государственном университете методом сверхкритической флюидной экстракции диоксидом углерода [4]. Перед получением плоды сушили в сушильном шкафу при 50°C, измельчали на лабораторной мельнице ЛМ-201 до фракции 0.1–1.0 мм, выход фракции $99.0 \pm 0.3\%$. Масло получали с помощью лабораторной экстракционной системы модели SFE 1000M1-2-FMC 50 (Waters, США). Пробу измельченных плодов РП (40 г) помещали в автоклав объемом 200 мл и обрабатывали диоксидом углерода под давлением 400 бар при 40°C и скорости потока CO₂ 50 г/мин в течение 60 мин. В табл. 1 представлена информация об образцах масла из

сырья РП, полученного в разных районах Дагестана.

Иодное число (NI) образцов масла РП определяли по стандартной методике [15]. Для проведения термического анализа использовали прибор синхронного термического анализа STA 449 F3 Jupiter® фирмы “NETZSCH” (Германия). Для анализа отбирали навески образцов масла массой 15–22 мг. Навеску с алюминиевым тиглем, накрытым алюминиевой крышкой, помещали в прибор, выполняли взвешивание. Затем температуру навески увеличивали до 60°C со скоростью 5 град/мин для полного расплавления образца и снятия “тепловой предыстории”. Теплофизические свойства измеряли в диапазоне температур от –150 до +20°C, скорость нагрева 5 град/мин. Систему охлаждали жидким азотом со скоростью охлаждения 1 град/мин для исключения рекристаллизации (холодной кристаллизации). Измерения выполняли в атмосфере гелия (расход продувочного газа 10 мл/мин, расход защитного газа 10 мл/мин). Точность измерения температуры составляла $\pm 0.3^\circ\text{C}$. Для повышения информативности термограмм, полученных методом ДСК, использовали программное разделение суперпозиции пиков тепловых эффектов, не накладывающихся друг на друга, в программе NETZSCH Peak Separation по алгоритму Gauss. Обозначения остатков жирных кислот в триацилглицеринах (ТАГ) (табл. 2): В – бегеновая, Е – эйкозеновая, L – линолевая, О – олеиновая, Р – пальмитиновая, S – стеариновая. Например, L₂O обозначает ТАГ, образованный двумя радикалами линолевой и одним радикалом олеиновой кислоты.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Триацилглицерины масла РП содержат в сумме от 75 до 90% ненасыщенных жирных кислот (ЖК) (в основном линолевой и олеиновой), 5–20% насыщенных ЖК (пальмитиновой, стеариновой, арахидиновой и бегеновой) и некоторое количество (в сумме до 5%) минорных ненасыщенных и насыщенных ЖК (табл. 2) [1–7].

По данным работ [1–7] и цитируемых в них первоисточников, мы провели корреляционный анализ, установили значимые корреляции между соотношениями некоторых ЖК, обусловленные влиянием генотипических и фенотипических факторов. Так, при увеличении в масле РП доли пальмитиновой кислоты (C16:0), доля линолевой (C18:2) асимбатно падает: $W(C18:2) = 104 - 7W(C16:0)$, $R = 0.59$, $n = 15$. Доля стеариновой кислоты при этом симбатно растет: $W(C18:0) = 1.7W(C16:0) - 9.0$, $R = 0.62$, $n = 15$. Аналогично доля арахидиновой кислоты симбатно растет при увеличении доли стеариновой кислоты: $W(C20:0) = 0.7W(C18:0) - 1.4$, $R = 0.82$. Иначе говоря, при симбатном увеличении доли насыщенных ЖК в масле РП в

Таблица 1. Характеристика условий произрастания дикорастущей расторопши пятнистой в Дагестане

Характеристика	Район (населенный пункт)				
	Кайтагский (Маджалис)	Магарамкентский (Куйсун)	Сулейман Стальский (с. Гереханово)	Левашинский (Кутиша)	Кулинский (Хосрех)
Высота, м над уровнем моря (<i>H</i>)	408	532	480	1593	2150
Тип почвы	Аллювиально-луговой	Бурый лесной	Горно-луговой	Горно-каштановый	Горно-луговой
Содержание гумуса в почве (<i>G</i>)	3.6–6.0	3.6–6.0	4–5	5–8	5–8
Средняя годовая температура в 2019 г., °С	11.5	14.6	15.3	13.0	11.6
Амплитуда температуры в 2019 г., °С	36	46	45	41	37
Сумма осадков в 2019 г., мм (<i>D</i>)	460	258	278	448	671
Количество солнечных дней в 2019 г. (<i>Q</i>)	157	101	107	116	113

первую очередь падает содержание основной ненасыщенной кислоты – линолевой (C18:2). В работе [6] показано, что между положением эндотермических максимумов кривых ДСК плавления, их площадью и содержанием основных ЖК в растительных маслах прослеживаются значимые корреляции. Таким образом, выявленные тренды должны закономерно отразиться на теплофизических свойствах жировой фазы РП, выращенной в разных условиях, так как фазовые переходы ТАГ с разным соотношением насыщенных и ненасыщенных ЖК проявляются при разных температурах [6, 7].

Жирные кислоты, характерные для масла РП, образуют около 20 разнообразных ТАГ (без учета положения остатков ЖК в структуре молекулы), которые в химической технологии подразделяют на четыре фракции по степени ненасыщенности: 1) триненасыщенные (содержат три остатка ненасыщенных ЖК) ТАГ – UUU (U – unsaturated); 2) диненасыщенные, моносенасыщенные – UUS (S – saturated); моносенасыщенные, диненасыщенные – USS; триненасыщенные ТАГ – SSS. Например, плоды РП, культивируемой в Липецкой области, содержат в масле около 60% ТАГ типа UUU и только 3% ТАГ типа SSS (табл. 3) [7].

Триацилглицерины, образованные преимущественно ненасыщенными ЖК (UUU, UUS), имеют отрицательные температуры плавления, SSS – положительные [7]. В результате взаимной растворимости ТАГ из-за наличия эвтектик, различных фа-

зовых переходов кривые ДСК плавления жиров (смесей ТАГ) имеют несколько максимумов и экстремумов, уникальных для различных жиров. Для кривых плавления масла РП можно выделить пять характерных эндотермических максимумов (рис. 1), которые характеризуют свойства не индивидуальных ТАГ, а интегральные характеристики их фракций, ТАГ в которых имеют близкие теплофизические свойства. Для определения T_i слабо выраженных термических эффектов, так называемых “плеч” на основных пиках, применяли вторые производные от ДСК по времени (рис. 1з).

В табл. 4 приведены установленные величины теплофизических характеристик исследуемых об-

Таблица 2. Состав жирных кислот масла расторопши пятнистой [1–7]

ЖК	W, %
Пальмитиновая (C16:0)	8–11
Стеариновая (C18:0)	3–11
Олеиновая (C18:1)	21–33
Линолевая (C18:2)	35–57
Леноленовая (C18:3)	0–6
Арахидиновая (C20:0)	0–7
Эйкозеновая (C20:1)	0–2
Бегеновая (C22:0)	0–4

Таблица 3. Состав триацилглицеринов образца расторопши пятнистой, культивируемой в Липецкой области [7]

Фракция ТАГ	Содержание фракции, %	ТАГ	Содержание ТАГ, %
UUU	59.1	L ₃	15.6
		L ₂ O	20.5
		O ₃	8.1
		LO ₂	11.6
		L ₂ E	1.6
		O ₂ E	1.7
		UUS	33.9
L ₂ S	7.1		
LOP	6.7		
LOS	5.8		
O ₂ P	1.7		
O ₂ S	2.0		
LOB	2.2		
USS	4.2	S ₂ O	0.9
		LPB	0.6
		LP ₂	1.8
		OPS	0.9
SSS	2.8	P ₃	1.6
		PS ₂	1.2

разцов – T_1 и площади S_i , найденные в результате компьютерного разделения накладывающихся пиков.

В работах [6–8] показано, что жидкие растительные масла, содержащие >60% UUU и >17% UUS, например оливковое, имеют на кривых плавления ДСК наиболее ярко выраженный эндотермический пик в области от –42 до +6°C, на плечах которого слева и справа проявляются как

минимум еще два–три пика. Основные тепловые эффекты в исследуемых нами образцах масла РП наблюдались в более узком диапазоне температур.

Максимум при T_1 . Как видно из табл. 4, максимум пика при T_1 слабо варьирует от –37.6 до –31.1°C. Этот пик можно отнести, прежде всего, к фракции ТАГ UUU с наименьшими температурами плавления, в частности, он формируется за счет наличия L₃ [7].

Максимум при T_2 . Второй пик с максимумом при T_2 от –27.6 до –23.8°C имеет наибольшую площадь. Его формирует смесь фракций ТАГ UUU и UUS, в которых присутствуют остатки линолевой кислоты – L₃, L₂O, LOP, при этом возрастание доли ТАГ типа LOP, LOS, как показано в работе [7], приводит к смещению максимума пика в область более высоких температур за счет включения в состав ТАГ остатков пальмитиновой, стеариновой и других насыщенных ЖК.

Максимум при T_3 смещается от –19.9 до –14.4°C, он формируется смесью, содержащей преимущественно ТАГ UUS с примесью UUU и USS. Увеличение доли олеиновой, пальмитиновой и стеариновой кислот и суммы USS смещает максимум пика в область более высоких температур [7].

Максимум при T_4 . Этот нечеткий пик, скорее всего, образуют ТАГ из фракции USS.

Максимум при T_5 от –4.7 до –1.2°C обусловлен наличием смеси ТАГ типа USS и SSS. Этот пик находится в области отрицательных температур, а значит, из-за небольшого количества ТАГ SSS, содержащих пальмитиновую, стеариновую, арахидоновую и бегеновую кислоты, на термограммах исследуемых масел РП отсутствует пик, характеризующий “чистую” фракцию SSS.

В табл. 5 представлены результаты корреляционного анализа выборки образцов масла, полученного из дикорастущей РП из разных районов Дагестана, которые отличаются климатическими условиями (табл. 1) [16].

Таблица 4. Значения температур максимумов эндотермических пиков T_i , их площадей S_i и ионного числа NI для образцов масла расторопши пятнистой

Происхождение образца масла РП	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	S_1	S_2	S_3	S_4	S_5	NI
Кулинский район, Дагестан	–32.4	–25.0	–18.3	–8.9	–1.2	23.3	15.8	29.7	15.6	15.6	112
Левашинский район, Дагестан	–31.5	–24.1	–16.4	–9.3	–3.0	20.6	26	33.0	5.3	15.1	110
Сулейман Стальский район, Дагестан	–37.0	–27.6	–19.9	–13.1	–4.4	18.6	34.3	23.8	12.2	11.1	116
Кайтагский район, Дагестан	–37.2	–26.7	–19.6	–13.5	–4.7	16.7	36.3	16.1	21.8	9.1	113
Магараметский район, Дагестан	–31.1	–23.8	–16.6	–12.1	–2.6	15.3	29.4	26.3	20.5	8.5	108
Смесь образцов со всех районов Дагестана	–35.3	–25.2	–18.2	–13.1	–3.6	19.4	30.2	23.1	19.1	8.1	111
ООО “Биокор”, Пенза	–37.6	–27.1	–19.3	–13.2	–3.6	18.2	33.9	21.4	18.2	8.3	109

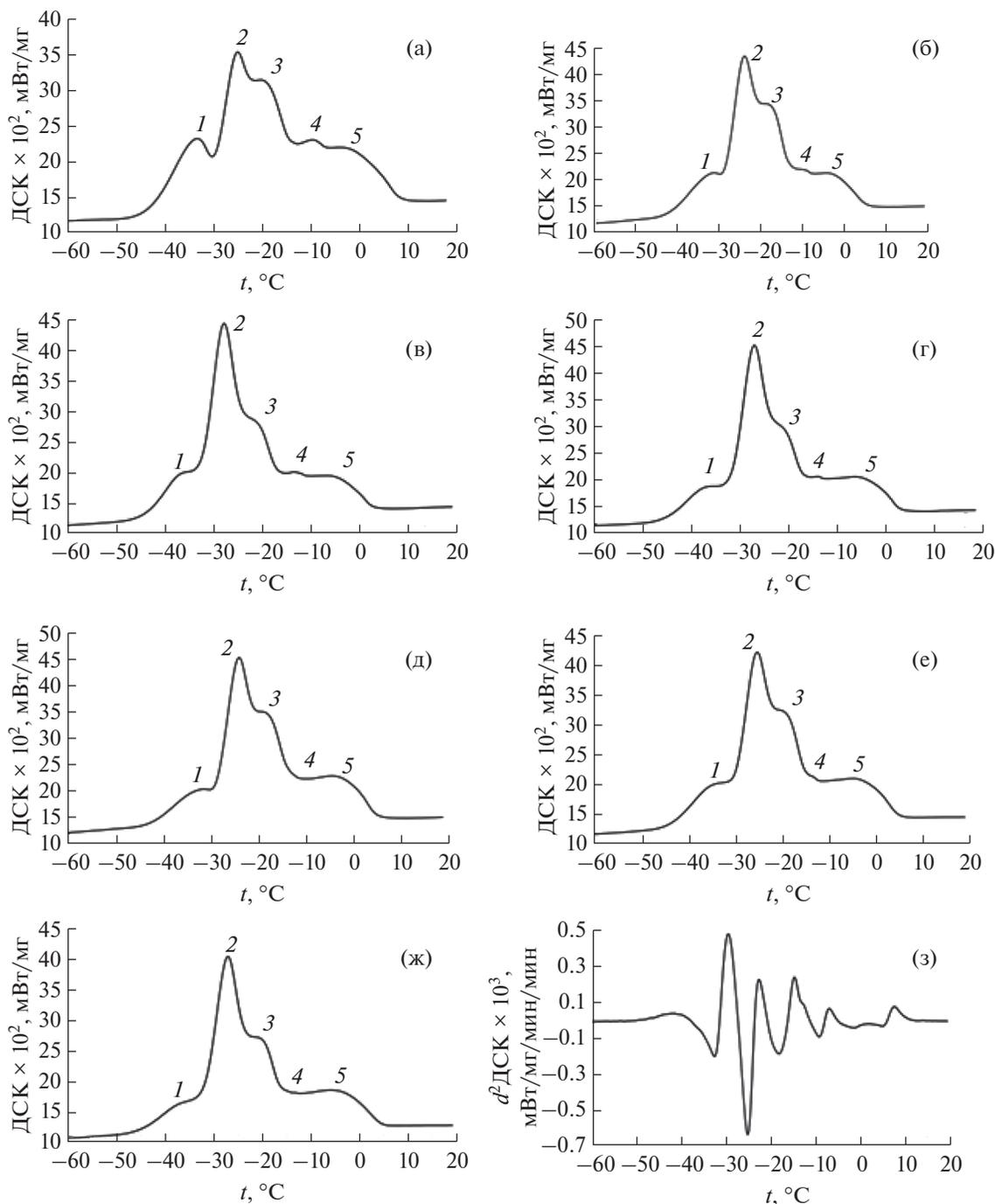


Рис. 1. Профили плавления масел рапсоропши пятнистой, полученные методом дифференциальной сканирующей калориметрии. (а) – Кулинский район; (б) – Левашинский район; (в) – Сулейман Стальский район; (г) – Кайтагский район; (д) – Магараметский район; (е) – смесь со всех районов Дагестана; (ж) – фирма “Биокор” (Пенза, Россия); (з) – вторая производная ДСК, Кулинский район; 1–5 – эндотермические максимумы.

Изучение дикорастущей РП одного региона позволяет исключить генотипические различия и оценить, как на кривые ДСК влияют фенотипические факторы. Как видно из табл. 5, для образцов масла РП характерны не только значимые (абсолютное значение коэффициента парной

корреляции $|R| > 0.50$), но и тесные корреляции ($|R| \geq 0.80$) как между температурами максимумов пиков T_i или между величинами S_i , так и между ними и отдельными климатическими условиями – высотой над уровнем моря (H), средним содержанием гумуса в почве (G), количеством солнечных

Таблица 5. Значимые линейные корреляции между максимумами температуры, площадями эндотермических пиков (T_i , S_i) кривых ДСК-плавления масла дикорастущей расторопши пятнистой при варьировании условий произрастания, Дагестан

X/Y	$Y = aX + b$	R	X/Y	$Y = aX + b$	R
T_1/T_2	$Y = 0.5X - 8.4$ (1)	0.93	T_5/H	$Y = 450X + 2580$ (24)	0.74
T_1/T_3	$Y = 0.5X - 1.6$ (2)	0.92	T_5/NI	$Y = 108.1 - 1.1X$ (25)	-0.51
T_1/T_4	$Y = 0.6X + 7.2$ (3)	0.75	T_5/G	$Y = 0.5X + 7.0$ (26)	0.71
T_1/T_5	$Y = 0.4X + 9.6$ (4)	0.81	S_1/S_2	$Y = 68.6 - 2.1X$ (27)	-0.78
T_1/H	$Y = 170X + 6770$ (5)	0.58	S_1/S_3	$Y = 1.2X + 1.2$ (28)	0.59
T_1/G	$Y = 0.2X + 12.0$ (6)	0.60	S_1/S_4	$Y = 38.3 - 1.2X$ (29)	-0.54
T_1/Q	$Y = 19.6 - 4.1X$ (7)	-0.57	S_1/S_5	$Y = 1.0X - 8.0$ (30)	0.80
T_1/NI	$Y = 84.2 - 0.8X$ (8)	-0.81	S_2/S_3	$Y = 42.7 - 0.6X$ (31)	-0.76
T_2/T_3	$Y = 1.0X + 5.9$ (9)	0.96	S_2/S_5	$Y = 21.4 - 0.4X$ (32)	-0.77
T_2/T_4	$Y = 0.8X + 8.6$ (10)	0.58	S_2/H	$Y = 5814 - 94X$ (33)	-0.88
T_2/T_5	$Y = 0.6X + 11.9$ (11)	0.69	S_2/G	$Y = 8.3 - 0.1X$ (34)	-0.84
T_2/H	$Y = 270X + 7910$ (12)	0.51	S_2/D	$Y = 845 - 15X$ (35)	-0.72
T_2/G	$Y = 0.3X + 13.9$ (13)	0.56	S_3/S_4	$Y = 35.2 - 0.8X$ (36)	-0.75
T_2/NI	$Y = 67.0 - 1.8X$ (14)	-0.95	S_3/S_5	$Y = 0.4X - 0.3$ (37)	0.76
T_3/T_4	$Y = 0.8X + 2.5$ (15)	0.56	S_3/H	$Y = 106X - 1578$ (38)	0.79
T_3/T_5	$Y = 0.5X + 5.7$ (16)	0.56	S_3/G	$Y = 0.1X + 2.5$ (39)	0.75
T_3/G	$Y = 0.3X + 11.0$ (17)	0.51	S_3/Q	$Y = 2.3X + 177.8$ (40)	0.67
T_3/NI	$Y = 80.7 - 1.7X$ (18)	-0.91	S_4/S_5	$Y = 17.6 - 0.4X$ (41)	-0.75
T_4/T_5	$Y = 0.5X + 2.8$ (19)	0.82	S_4/H	$Y = 2277 - 74X$ (42)	-0.59
T_4/H	$Y = 354X + 5240$ (20)	0.92	S_4/G	$Y = 6.6 - 0.1X$ (43)	-0.54
T_4/D	$Y = 46X + 960$ (21)	0.63	S_5/H	$Y = 199X - 1122$ (44)	0.85
T_5/D	$Y = 60X + 630$ (22)	0.54	S_5/G	$Y = 0.2X + 3.0$ (45)	0.81
T_5/Q	$Y = 93 - 8X$ (23)	-0.52	S_5/D	$Y = 28X + 105$ (46)	0.63

Примечание: $Y = aX + b$ ($n = 6$, $P = 0.95$); H – высота над уровнем моря; G – среднее содержание гумуса в почве, %; Q – количество солнечных дней в году; D – суммарное количество осадков в году; NI – иодное число.

дней (Q) и осадков (D) в году. Так, с повышением высоты над уровнем моря все значения T_i смещаются в сторону увеличения, что говорит о снижении степени ненасыщенности ТАГ в этом сырье. Об этом же говорят асимбатные корреляции между T_i и иодным числом NI . Чем сильнее наблюдаемое смещение T_i в сторону положительных температур на кривых ДСК, тем меньше иодное число образца масла. Аналогичная тенденция для T_i наблюдается с увеличением содержания гумуса в почве. Вместе с тем площади этих пиков S_i ведут себя по-разному. Так, площадь пика S_2 уменьшается, а площади S_3 и S_5 растут при смещении T_i в более положительную область, что указывает на увеличение доли ТАГ с меньшим числом двойных

связей. Величины T_4 и T_5 , обусловленные ТАГ USS и SSS, симбатно растут в масле при увеличении количества осадков. В то же время чем больше солнечных дней в зоне произрастания РП, тем более низкие значения T_1 и T_5 наблюдаются на кривых плавления, что указывает на увеличение степени ненасыщенности ТАГ, при этом заметно увеличивается площадь пика S_3 , а значит, растет содержание в масле ТАГ типа UUU и UUS. Всего установлено 46 корреляций: (1)–(46). Таким образом, проверка образцов масла РП, растущей в Дагестане, по корреляциям (1)–(46) позволяет установить условия созревания данного растительного сырья и с большой долей вероятности место произрастания.

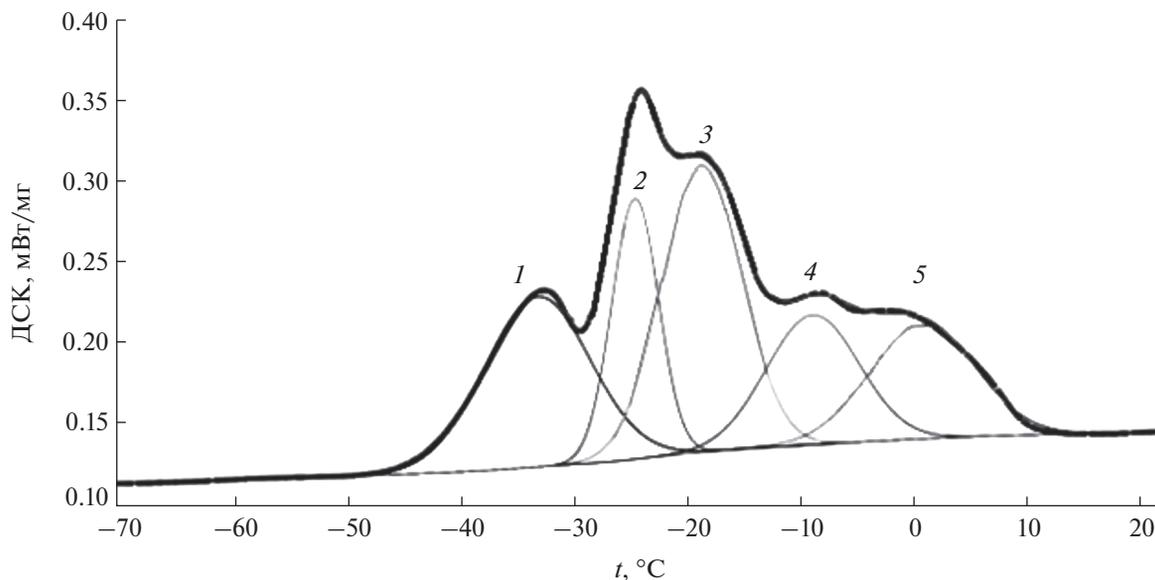


Рис. 2. Профиль плавления расторопши пятнистой с программно-разделенными пиками, полученный методом дифференциальной сканирующей калориметрии (Кулинский район): 1–5 – эндотермические максимумы.

Анализ серии образцов подлинного масла дикорастущей РП позволил экспериментально установить диапазоны варьирования его теплофизических параметров (T_i , S_i). Продемонстрируем возможности метода ДСК в контроле подлинности масла РП, сравнивая данные для дагестанских дикоросов с образцом масла, выделенного нами из плодов РП, приобретенных в аптечной сети (“Биокор”, Россия) (табл. 4), и двумя пробами масла РП, приобретенного в торговой сети “ВкусВилл”, в которые специально добавили по 10% подсолнечного и кукурузного масел, как и в работе [7]. Для визуализации и анализа данных построили контрольные карты (КК) с нормализованными параметрами T_i и S_i в виде лепестковых диаграмм (рис. 3) [17], на которых выделили установленный коридор допустимых значений от 0 до 1 (сплошные линии) и данные контроля (линии штрихом).

$$X_n = (X - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}),$$

где X_n – найденное нормализованное значение T_i или S_i , X_{\max} и X_{\min} – максимальное и минимальное значения этих параметров в выборке из табл. 4 для дагестанских дикоросов РП.

Масло РП из сырья фирмы “Биокор” только по одному показателю (T_1) незначительно вышло за пределы допустимого коридора, характерного для выборки из дагестанского региона; по теплофизическим характеристикам оно наиболее близко к маслу, полученному из РП Сулейман Стальского района (рис. 3а).

Как видно из рис. 3, в масле РП с добавкой подсолнечного масла в коридор допустимых зна-

чений от 0 до 1 не попадают по температуре в максимуме пика значения T_1 , T_2 , T_3 и T_5 , а также площадь S_5 ниже нормы. Это означает, что в образце завышена по сравнению с маслом РП доля ТАГ UUU и UUS и занижена доля SSS. В образце с добавкой кукурузного масла занижено значение T_1 , заметно завышена площадь S_3 и занижена площадь S_5 . Это указывает на изменение состава UUU, в частности, на увеличение доли L_3 [7], а также UUS, и на снижение доли SSS в искусственно приготовленных фальсификатах. Построение КК в виде нормализованных лепестковых диаграмм в оболочке MS Excel и внесение в них экспериментальных данных – удобный алгоритм идентификации подлинности растительных масел по данным ДСК.

Таким образом, получена и охарактеризована выборка данных по теплофизическим показателям масла дикорастущей РП из различных районов Дагестана с применением метода ДСК, установлен диапазон варьирования этих показателей, показан алгоритм установления подлинности масла РП по данным термического анализа. Выполненные исследования подтверждают тот факт, что фазовые переходы растительного масла взаимосвязаны с определенным фракционным составом триацилглицеринов, который варьирует при изменении фенотипических факторов в довольно широких диапазонах, но не случайным образом, а в соответствии с генотипом и природными закономерностями созревания раститель-

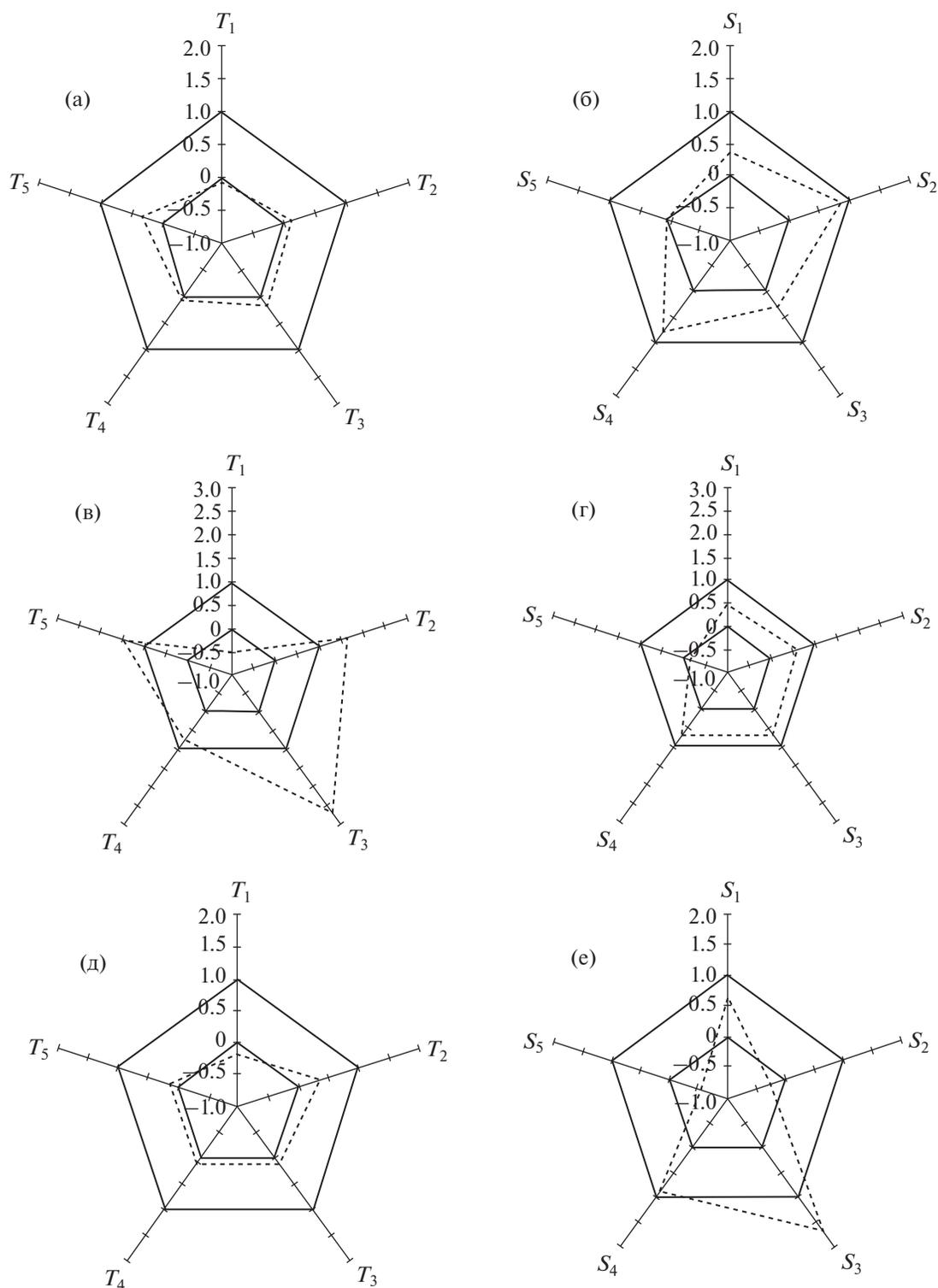


Рис. 3. Контрольные карты для масла расторопши пятнистой: нормализованные значения T_i и S_i для образца фирмы “Биокор” (а), (б); для образца торговой сети “ВкусВилл” с добавкой подсолнечного масла (9 : 1) (в), (г); для образца “ВкусВилл” с добавкой кукурузного масла (9 : 1) (д), (е).

ного сырья. Найденные корреляции между тепловыми эффектами в образцах жирного масла РП и климатическими условиями произрастания сы-

рья могут быть полезными не только с точки зрения термического анализа, но и для химии растительного сырья, биохимии и фармакогнозии.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта № МК-590.2020.8.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Авдеева Е.В., Рыжов В.М., Попова Л.Л., Грядунов П.Е. Расторопша пятнистая: монография. Самара: ГОУ ВПО "СамГМУ"; ООО "Офорт", 2010. 118 с.
2. Щекатикина А.С., Власова Т.М., Курченко В.П. Получение биологически активных веществ из семян расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.)) // Труды БГУ. 2008. Т. 3. № 1. С. 218.
3. Рамазанов А.Ш., Балаева Ш.А., Шахбанов К.Ш. Химический состав плодов и масла расторопши пятнистой, произрастающей на территории Республики Дагестан // Химия растительного сырья. 2019. № 2. С. 113.
4. Рамазанов А.Ш., Балаева Ш.А. Экстракция жирного масла из плодов расторопши пятнистой сверхкритическим диоксидом углерода // Сверхкритические флюиды. Теория и практика. 2020. Т. 15. № 4. С. 49.
5. Куркин В.А., Сазонова О.В., Росихин Д.В., Рязанова Т.К. Жирнокислотный состав масла плодов расторопши пятнистой, культивируемой в Самарской области // Химия растительного сырья. 2017. № 3. С. 101.
6. Саранов И.А., Рудаков О.Б., Ветров А.В., Полянский К.К., Клейменова Н.Л. Дифференциальная сканирующая калориметрия жидких растительных масел // Химия растительного сырья. 2020. № 4. С. 157.
7. Рудаков О.Б., Саранов И.А., Нгуен Ван Ань, Рудакова Л.В., Полянский К.К. Дифференциальная сканирующая калориметрия как метод контроля подлинности растительных масел // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 2. С. 183.
8. Tan C.P., Cheman Y.B. Differential scanning calorimetric analysis of edible oils: Comparison of thermal properties and chemical composition // J. Am. Oil Chem. Soc. 2000. V. 77. № 2. P. 143.
9. Tomaszewska-Gras J. Rapid quantitative determination of butter adulteration with palm oil using the DSC technique // Food Control. 2016. V. 60. № 2. P. 629.
10. Верещагин А.Л., Резниченко И.Ю., Бычин Н.В. Термический анализ в исследовании качества шоколада и кондитерских изделий // Техника и технология пищевых производств. 2019. Т. 49. № 2. С. 289.
11. Рудаков О.Б., Саранов И.А., Полянский К.К. Контроль содержания пальмового масла в смесях с молочным жиром методом ДСК // Аналитика и контроль. 2019. Т. 23. № 1. С. 127.
12. Van Wetten I.A., Van Herwaarden A.W., Splinter R., Boerrigter-Eenling R., Van Ruth S.M. Detection of sunflower oil in extra virgin olive oil by fast differential scanning calorimetry // Thermochim. Acta. 2015. V. 603. № SI. P. 237.
13. Chatziantoniou S.E., Triantafyllou D.J., Karayannakidis P.D., Diamantopoulos E. Traceability monitoring of Greek extra virgin olive oil by Differential Scanning Calorimetry // Thermochim. Acta. 2014. V. 576. P. 9.
14. Zhang Zhen-Shan, Li Dong, Zhang Li-Xia, Liu Yu-Lan, Wang Xue-De. Heating effect on the DSC melting curve of flaxseed oil // J. Therm. Anal. Calorim. 2014. V. 117. № 3. P. 2129.
15. Рудаков О.Б., Королькова Н.В., Полянский К.К., Рудакова Л.В., Котик О.В. Технохимический контроль в технологии жиров и жирозаменителей: учебное пособие для СПО. СПб: Лань, 2020. 576 с.
16. Акаев Б.А., Атаев Б.С., Гаджиев Б.С., Гаджиева З.Х., Ганиев М.И., Гасангусейнов М.Г. Физическая география Дагестана: учебное пособие. М.: Школа, 1996. 384 с.
17. Рудаков О.Б., Полянский К.К., Рудакова Л.В. Контрольные карты в помощь эксперту // Переработка молока. 2016. № 5(199). С. 28.

О СОЗДАНИИ ИНСТИТУТА АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ АКАДЕМИИ НАУК

© 2021 г. Ю. А. Золотов^{a, b, *, **}

^aИнститут общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова
Ленинский просп., 31, Москва, 119991 Россия

^bМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет
Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, 119991 Россия

*e-mail: zolotov@igic.ras.ru

**e-mail: zolotov@analyt.chem.msu.ru

Поступила в редакцию 12.05.2021 г.

После доработки 13.05.2021 г.

Принята к публикации 13.05.2021 г.

Рассмотрены попытки создать в Академии наук отдельный Институт аналитической химии (химического анализа). Эти попытки датируются 1932 и 1936 гг., рубежом 1970–1980-х и особенно 1986–1988 гг. Отмечена роль созданного в 1947 г. Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского.

Ключевые слова: Институт аналитической химии, Институт химического анализа, Академия наук СССР, Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского.

DOI: 10.31857/S0044450221120161

ЭТАП ПЕРВЫЙ

Вопрос о необходимости создания Института аналитической химии впервые, по-видимому, был поставлен на VI Всесоюзном Менделеевском съезде по теоретической и прикладной химии в Харькове в 1932 г. В резолюции секции контроля об этом имеется специальная запись [1]:

“Колонна¹ постановила:

а) форсировать вопрос о создании межведомственного (головного) центрального аналитического исследовательского института... Этот институт должен явиться методологическим центром в области анализа и контроля, научным центром для подготовки новых кадров и повышения квалификации старых”.

ЭТАП ВТОРОЙ

В начале 1936 г. в президиум АН СССР поступила записка председателя Аналитической комиссии Института общей и неорганической химии Бориса Григорьевича Карпова о целесообразности образования в академии Института аналитической химии. В подготовке этой записки принимал участие также докторант института И.В. Тананаев. Записка содержала обоснование целесообразности института, соображения о его

задачах, масштабе и структуре. Записка вписывалась в общее движение по расширению и укреплению Академии наук в связи с ее переводом в Москву. Президиум академии, судя по всему, склонный, в принципе, поддержать предложение, поручил Химической группе академии рассмотреть этот вопрос и подготовить проект решения президиума.

Во исполнение этого поручения 9 апреля было проведено расширенное совещание президиума Химической группы под председательством академика А.Н. Фрумкина. Из членов президиума группы, помимо самого А.Н. Фрумкина, присутствовал (судя по стенограмме выступлений [2]) по крайней мере академик Н.Д. Зелинский. Среди приглашенных было несколько сотрудников Института общей и неорганической химии АН СССР: Б.Г. Карпов, И.В. Тананаев, С.А. Погодин, Б.А. Муромцев, Ф.М. Шемякин. Из Всесоюзного института минерального сырья (ВИМС) были К.И. Висконт и И.П. Алимарин, из Института реактивов – В.В. Лонгинов, из Ломоносовского института – Ф.Я. Аносов и Лазарев. В совещании участвовали также А.М. Дымов из Московского института стали и сплавов, А.П. Кустов из Энергетического института, Я.М. Фишман из Военно-химического управления РККА. Важность совещания подчеркивается тем, что на него пригласили и иногородних: А.Ф. Комаровского из Одессы, А.И. Гундера из Харькова. Присут-

¹ Так на этом съезде называли секции.

ствовали также ученый секретарь Химической группы Ф.И. Шамрай и его заместитель А.В. Лозовой. Существенную роль в подготовке совещания сыграл один из докладчиков Клавдий Робертович Мацюлевич (1883–1938), заместитель руководителя Химической группы АН СССР, химик-органик из Ленинграда. Совещание стенографировалось, стенограмма сохранилась.

Основной доклад сделал Б.Г. Карпов (1870–1940). В начале доклада он сказал: “О целесообразности этого института нечего говорить. Это само собой понятно”. Докладчик обрисовал контур будущего института (материал готовился почти наверняка в ИОНХе). Структурировать институт Карпов предлагал по объектам анализа. К.Р. Мацюлевич во втором докладе рассмотрел главным образом аспекты, связанные с проектированием здания. Обсуждение было обстоятельным, выступали многие, некоторые по несколько раз. Много внимания было уделено как раз вопросу о том, как структурировать институт – по объектам анализа, по методам или как-то иначе, например по отраслям народного хозяйства. Большинство выступающих было за структурирование по методам, этот подход поддержал и А.Н. Фрумкин. Академик Н.Д. Зелинский высказал сомнения в целесообразности создания сразу института, он считал, что сначала надо создать сильные аналитические лаборатории при существующих химических институтах, а потом их объединить. Вот одно из его выступлений:

“Мне кажется, что успехи аналитической химии тесно связаны с развитием всех отделов химических знаний и даже чисто физических. Для того чтобы это дело стало на правильный путь, мне представляется несколько иная картина, чем та, которая рисовалась здесь многими лицами. Не было ли целесообразнее и лучше, чтобы в каждом институте химии были бы отделения аналитической химии? Мы знаем, что в физическом институте можно развивать и аналитическую химию теми методами, усовершенствованными и новыми, которые позволяют быстро и просто решать различные вопросы (...). Скажем, в Институте физической химии отделение аналитической химии, что это значит? Это значит, что этот институт следит за современным развитием аналитической химии и сам принимает участие в этом развитии (...). И мне представляется, что, может быть вместо того, чтобы создавать аналитический институт, который вмещал бы в себе ту аналитическую химию в том ее виде, о котором шла речь, не правильнее ли было бы аналитическую химию распределить, дабы она планомерно и успешно развивалась бы по отделам химии? Минеральная химия, химия комплексных соединений, физико-химические методы исследования тоже могут внести большие плюсы в развитие аналитической химии...”

Харьковский химик А.И. Гундер возразил:

“То есть оставить аналитическую химию служанкой, как она была до сих пор.”

Дальнейшее обсуждение привело к компромиссу. Так, А.П. Кустов сказал следующее:

“Мне кажется, можно принять предложение Николая Дмитриевича. Может быть, сейчас же в системе Академии наук в каждом институте организовать ячейки, которые можно было бы координировать (...). За это время, пока будет построен новый институт, выяснится, что (он) должен делать...”

Более четко промежуточную позицию сформулировал председательствующий. Реагируя на предложение Кустова, А.Н. Фрумкин отметил:

“Это предложение правильно. Мы будем рассматривать эти лаборатории как подготовительную фазу к образованию института. Это уже организационные мероприятия, не отменяющие решения о создании института в дальнейшем.”

Очевидно, большинство собрания принимает точку зрения о необходимости создания института.

Как будто бы совершенно ясно, что одной из самых важных задач института является разработка методов и, с другой стороны, что эти методы не должны висеть в воздухе, а должны быть связаны с решением конкретных задач в различных областях аналитической химии, тесно увязаны с производством. Но последнее, очевидно, не будет основой структуры института, ибо эти производственные задачи будут все время меняться – сегодня мы должны обратить особое внимание на редкие элементы или на анализ в области рассеянных элементов, а завтра это будет что-нибудь другое. В основе института должно быть разделение не по объектам, а по методам. Это здесь, мне кажется, не вызывает сомнения.

Не вызывает сомнений также то, что серьезной задачей института является разработка методов анализа и в том числе... методов анализа, которые нигде не разработаны.”

В этом же духе было принято и постановление этого совещания:

Постановление совещания по организации Института аналитической химии:

Расширенное совещание президиума Химической группы АН совместно с представителями внеакадемических научно-исследовательских учреждений, обсудив вопрос об организации в системе АН Института аналитической химии, постановило:

1. Считать постановку вопроса президиума Химической группы АН об организации в системе АН самостоятельного Института аналитической химии совершенно своевременным и отвечающим настоятельным нуждам нашего народного хозяйства.

2. В основу деятельности Института аналитической химии положить:

а) разработку теоретических основ аналитической химии;

б) разработку новых методов химического анализа, проверку и усовершенствование существующих;

в) производство арбитражных анализов в особо важных случаях;

г) внедрение в практику наиболее совершенных методов химического анализа;

д) подготовку кадров высококвалифицированных химиков-аналитиков в порядке аспирантуры и повышения квалификации лиц с производства путем прикомандирования.

3. В основу структуры института должен быть положен принцип деления по методу исследования, а не его объектов или отраслей промышленности.

4. В соответствии со сказанным выше Советские предлагает следующую схему построения Института аналитической химии (...)

5. Разрешение намеченной задачи в полном объеме немыслимо без создания значительных кадров квалифицированных аналитиков. При ограниченности этих кадров в Союзе в настоящее время вопросу создания кадров придется уделить особое внимание, в особенности в отношении овладения и освоения новейших физико-химических методов анализа.

В связи с этим Советские просит президиум Химической группы ставить перед Президиумом АН вопрос о реализации следующих мероприятий:

Организовать в ИОНХ, ИОХ, БИОГЕЛ, ИФ, МГУ, ГОИ и Институте химической физики специальные группы, лаборатории или ячейки по аналитической химии, которые послужат в дальнейшем базой для создания Института аналитической химии и смогут быть перенесены в этот институт.

В задачи лабораторий входит посильное осуществление программы, намеченной для института.

6. В случае принятия п. 5 предлагается организовать в первую очередь работы в области... (Ю.З.: указаны конкретные направления для конкретных институтов, например для Государственного оптического института — по “Раман-эффекту”).

5 июля того же 1936 г. вопрос о создании Института аналитической химии был рассмотрен на заседании президиума Академии наук СССР. Ниже приведена выписка из протокола заседания.

Выписка из протокола заседания Президиума от 5 июля 1936 г. § 7. Москва:

“ОМЕН — акад. С.И. Вавилову, Химической группе АН, т. И.В. Зубову, ГУКС т. Л.А. Ольберту, ИОНХ, ИОХ, Биогеохимической лаборатории, Физическому Ин-ту, Комитету по подготовке кадров, т. Е.А. Злотникову, МАК.

7. СЛУШАЛИ: Об организации в системе Химической группы Академии наук Института аналитической химии.

ПОСТАНОВИЛИ: 1. Считать совершенно своевременным и отвечающим настоятельным нуждам народного хозяйства СССР организацию в системе АН самостоятельного Института аналитической химии.

2. Предложить Председателю группы химии и Строительному управлению АЕ предусмотреть строительство Института аналитической химии площадью в 4.000 кв.м.

3. В основу деятельности Института аналитической химии положить:

а) разработку теоретических основ аналитической химии;

б) разработку новых методов химического анализа, проверку и усовершенствование существующих;

в) внедрение в практику наиболее совершенных методов химического анализа;

г) изготовление особо тонких научных реактивов, необходимых для нужд Академии наук;

д) подготовку кадров высококвалифицированных химиков-аналитиков в порядке аспирантуры и повышения квалификации лиц с производства путем прикомандирования.

Примечание: одновременно институт должен быть в тесной связи со всеми аналитическими группами институтов, используя их работы и содействуя, со своей стороны, дальнейшему развитию этих работ.

4. В основу структуры института положить принцип деления по методу исследования (а не по объектам или отраслям промышленности).

5. Утвердить представленную президиумом Химической группы схему построения Института аналитической химии (см. приложение).

6. Учитывая ограниченность в СССР кадров квалифицированных аналитиков, Президиум АН придает особенное значение мероприятиям по созданию их в кратчайшие сроки с тем, чтобы к окончанию постройки и оборудования института имелось бы достаточное число подготовленных к работе в институте сотрудников.

С целью создания ячеек для будущего института Президиум АН предлагает организовать в Институте общей и неорганической химии, Институте органической химии, Биогеохимической лаборатории и Физическом институте АН специальные аналитические группы, на которые должно быть возложено осуществление программы деятельности, намеченной для Института аналитической химии, а главной задачей должна явиться подготовка кадров.

Предусмотреть с 1-го января 1937 г. для организации этих групп штатные единицы научных работников:

- для ИОНХ – 3,*
- для ИОХ – 2,*
- для БИОГЕЛ – 2,*
- для Физич. ин-та – 2.*

Предложить Управлению делами предусмотреть на организацию аналитических групп в указанных институтах ассигнования в бюджете 1937 г., для чего институтам представить сметы.

7. Поручить Химической группе АН немедленно начать переговоры с МГУ, Гос. оптическим институтом и Институтом химической физики о создании в этих институтах ячеек для будущего Института аналитической химии.

Предложить Комитету по кадрам АН учесть при наборе аспирантуры потребность в создании кадров химиков-аналитиков.

8. Войти в СНК СССР с ходатайством о разрешении организации Аналитического института.

*Секретарь Академии наук
СССР Н.П. Горбунов”*

Ход выполнения этого решения проследить не удалось, но из дальнейшего изложения будет ясно, что до 1939–1940 гг. институт создан не был. Аналитические же лаборатории в химических институтах создавались.

ЭТАП ТРЕТИЙ

Следующим этапом было обсуждение вопроса об институте на Всесоюзной конференции по аналитической химии в декабре 1939 г. В решении конференции был пункт о создании Комиссии по аналитической химии АН СССР, которой вменялось в обязанности “подготовка профиля” будущего института. Это было (в несколько иной формулировке) подтверждено и Президиумом АН СССР. Вот выписка из протокола заседания Президиума № 1 за 1940 г.

“Председательствовал Вице-Президент Академии Наук СССР академик О.Ю. Шмидт. Присутствовали: Вице-Президент Академии...”

II. Об итогах работы Всесоюзной конференции по аналитической химии. Докладчик А.Н. Бах.

В обсуждении; приняли участие: академик Н.С. Курнаков, академик В.Н. Образцов, профессор А.П. Виноградов, академик Е.А. Чудаков, член-корреспондент Г.С. Ландсберг, И.Д. Рыжов, академик О.Ю. Шмидт. <...>

4. Образованию при Отделении химических наук комиссию по аналитической химии, поручив ей в первую очередь проведение решений, принятых конференцией, а также разработку предложений об организации в Академии Наук СССР научно-исследовательских работ по аналитической химии с по-

следующим представлением этих предложений на рассмотрение Президиума АН СССР.”

До начала войны эти решения реализовать не успели.

ЭТАП ЧЕТВЕРТЫЙ. ВАЖНЫЙ

Уже в первые послевоенные годы, а именно в марте 1947 г., по инициативе члена-корреспондента АН СССР А.П. Виноградова на базе Лаборатории геохимических проблем (бывшая Биогеохимическая лаборатория) был создан Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского (ГЕОХИ), сыгравший очень значительную роль в развитии аналитической химии. В нем разрабатывали новые методы, продвигали новые направления, решали важнейшие прикладные проблемы. На его базе функционировала и Комиссия по аналитической химии АН СССР, преобразованная в 1970 г. в Научный совет. Институт и комиссия созывали конференции, издавали труды, организовывали международные связи. ГЕОХИ внес большой вклад в решение атомной проблемы, прежде всего в части обеспечения химического анализа соответствующих объектов, впоследствии в космические исследования или исследование океанов. На базе института был организован и в течение многих десятилетий функционировал Московский семинар по аналитической химии. Институт был флагманом советской аналитической химии.

Соединение аналитической химии с геохимией было удобно геохимикам института, тем более что в глазах государства аналитическая часть считалась важной, и это давало институту в целом ряд льгот. Так, в 1976 г. под решение проблем аналитического отдела было построено дополнительное здание института.

Аналитическая химия, конечно, с тем же успехом могла быть соединена со многими другими науками или отраслями техники, например с биохимией, медициной или металлургией, а лучше всего, если была бы представлена отдельным институтом.

После кончины А.П. Виноградова, который был химиком по образованию, в значительной степени химиком-аналитиком по опыту своей экспериментальной работы, исследования геохимического отдела стали расширяться быстрее, чем работы аналитического. Мысли аналитиков (не столько института, сколько страны) возвращались к необходимости иметь в Академии наук отдельный Институт аналитической химии. При этом было очевидно, что создание такого института на базе аналитического отдела ГЕОХИ практически невозможно.

ЭТАП ПЯТЫЙ

Довольно наивная попытка двинуться в сторону создания такого института была предпринята в конце 1970-х или в начале 1980-х гг. автором этой статьи. Я тоже считал, что ГЕОХИ институт, конечно, замечательный, но Академии наук и стране нужен отдельный Институт аналитической химии. Руководствуясь этой мыслью, я написал письмо в Отделение общей и технической химии о том, что такой институт надо создать. Письмо прочитали и вопрос включили в повестку дня очередного заседания бюро. Меня позвали на это заседание (я уже был членом-корреспондентом АН СССР).

Надо сказать, что в моем письме кроме глубокой мысли, что “надо создать”, ничего больше не содержалось. Никаких соображений о том, где, на какой базе такой институт может быть создан, каковы его задачи, структура, масштаб, кто будет его организовывать и т.д. Нужно и все.

Председательствующий — академик-секретарь отделения академик Николай Маркович Эмануэль сообщил о моем предложении. По его реакции и реакции присутствующих членов бюро можно было понять, что вообще-то никто не против.

— А кто будет заниматься созданием института? — спросил меня Эмануэль. Вы готовы за это взяться?

— Да, нет, — говорю, — не готов.

— Ну тогда вопрос висит, — сказал академик-секретарь. — Самозарождения не бывает.

Трудно сейчас представить себе, как бы развивались события, если бы я сказал, что готов. Возможно, что удалось бы довести решение до уровня ЦК КПСС и Совета Министров. Но институт надо было бы создавать с нуля: ни опорной ячейки из энтузиастов, ни помещения (ГЕОХИ, скорее всего, ничего бы не отдал; геохимики всегда боялись самостоятельности аналитиков, а слово “разделение” вызвало бы у них бурную реакцию протеста со ссылкой на создателя института Александра Павловича Виноградова, который этот союз двух наук под одной крышей и формировал). Допустим, первую группу людей, зародыш, я бы подобрал; в этом случае надо было просить у кого-то комнатку—две в качестве исходной базы. В принципе, это, наверное, можно было бы сделать. У меня несколько лет ушло бы на организационные хлопоты и это при благоприятном ходе дела. Наверное, с точки зрения развития аналитической химии в стране это было бы оправдано. Могли возникнуть и препятствия; в частности, подобные тем, что возникли при следующем, более серьезном заходе.

ЭТАП ШЕСТОЙ — СЕРЬЕЗНЫЙ И ПОСЛЕДНИЙ

В 1986 г. я уже был готов заняться созданием института. И занялся, причем основательно, при поддержке вице-президента АН СССР Юрия Анатольевича Овчинникова. Мое предложение о создании Института химического анализа прошло ряд необходимых этапов в Академии наук, им занимался Государственный Комитет СССР по науке и технике (ГКНТ).

В 1986 г. стало известно, что начинается подготовка постановления ЦК КПСС и Совета Министров СССР о развитии химии, задача состояла в том, чтобы пункт о создании института попал в это постановление. И это удалось сделать, соответствующая запись попала в проект постановления. В Академии наук стали подбирать площадку под строительство здания; рассматривался район Балаклавского проспекта. Я стал постепенно формировать группу людей, которых новый институт мог заинтересовать; такие люди, конечно, были.

Все шло хорошо. Но в один совсем не прекрасный день меня пригласил в ГКНТ заместитель председателя комитета Кирилл Михайлович Дюмаев и сообщил, что пункт о создании Института химического анализа АН СССР действительно включен в готовящееся Постановление ЦК КПСС и Совета Министров², но с припиской — “не в Москве и не в Московской области”.

Вот этот пункт [3]:

“6. Создать Институт химического анализа Академии наук СССР с размещением его вне Москвы и Московской области.

Академии наук СССР представить в 3-х месячный срок в Государственный Комитет СССР по науке и технике предложения по размещению, структуре и численности работников указанного института.”

Приписка о локализации института резко меняла ситуацию. Ставка делалась на Москву, здесь были люди. К тому же серьезно заболел Ю.А. Овчинников.

Тем не менее я продолжил работу. Надо было искать подходящий город. Был вариант — Обнинск; я туда ездил, но профессиональных аналитиков-исследователей там не было, из Москвы туда людей вывезти трудно, из местных не на кого особенно опереться (помогал д.х.н. П.Е. Тулупов).

² Постановление было одобрено на заседании Политбюро ЦК КПСС 13 августа 1987 г. (“Известия”, № 227). Сам документ: Постановление ЦК КПСС и Совета Министров СССР “Об ускоренном развитии приоритетных направлений химической науки и технологии” № 1022 от 4 сентября 1987 г.

Я бывал в Министерстве среднего машиностроения, которому многое в Обнинске подчинялось, встречался с заместителем министра. Он положительно воспринимал идею создания в Обнинске академического института, но отказался помогать в строительстве здания (у Академии наук в Обнинске строительной базы не было).

Более продвинутым был вариант с Уралом. Я летал в Свердловск, председатель Уральского отделения Академии наук академик Геннадий Андреевич Месяц активно приветствовал идею создать институт на Урале, у него была задача сформировать научный центр в Челябинске, и он предложил делать институт там. Я полетел в Челябинск, меня встретил и опекал ректор Политехнического института член-корреспондент АН СССР Герман Платонович Вяткин. Руководство области с радостью создало бы институт, было обсуждение в обкоме партии. Мне организовали встречу с аналитиками города и окрестностей, собралось довольно много людей, но они не были исследователями; а институт надо было создавать академический. Кроме того, нужен был лидер (сам я не имел намерения переезжать в Челябинск). Предложения возглавить институт были сделаны Ю.А. Карпову, Б.Ф. Мясоедову, Н.М. Кузьмину, некоторым другим коллегам; все, подумав, отказа-

лись (несмотря на то, что руководство Уральского отделения Академии наук обещало активную поддержку директору на выборах в члены академии).

В самом Челябинске я знал только одного химика, близкого аналитической химии, — Владимира Ивановича Голованова, моего бывшего аспиранта по ГЕОХИ АН СССР. Он хороший химик; кажется, уже заведовал кафедрой в университете, но не очень тянул на директора. За неимением лучшего кандидата я предложил Володю Голованова; его пригласили в Свердловск на заседание руководства Уральского отделения; он “не показался”, вопрос завис. Другого кандидата не было видно.

А потом наступили 1990-е, когда ничего уже не создавали.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Чепелевецкий М.Л.* Колонна контроля над производством. В подборке: VI Всесоюзный Менделеевский съезд в г. Харькове (25.X–1.XI 1932 г.) // Успехи химии. 1933. Т. 2. № 1. С. 119.
2. Архив РАН. Ф. 461. Оп. 1. Д. 23.
3. www.libussr.ru (Библиотека нормативно-правовых актов Союза Советских Социалистических Республик) (10.05.2021 г.).

К ЮБИЛЕЮ Т. А. МАРЮТИНОЙ

DOI: 10.31857/S0044450221120148



19 декабря 2021 г. отмечается юбилей Татьяны Анатольевны Марютиной, доктора химических наук, главного научного сотрудника и заведующего лабораторией концентрирования Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН (ГЕОХИ).

Т.А. Марютина окончила физико-химический факультет Ленинградского технологического института им. Ленсовета, в 1986 г. под руководством Б.Я. Спивакова начала научную деятельность в лаборатории методов концентрирования ГЕОХИ, которую впоследствии возглавила.

Первым направлением исследовательской работы Татьяны Анатольевны стало разделение и концентрирование неорганических веществ методом жидкостной хроматографией со свободной неподвижной фазой (ЖХСНФ). По этой темати-

ке в 1991 г. она защитила кандидатскую диссертацию, а в 2003 г. — докторскую. Ее работы в области применения ЖХСНФ для пробоподготовки и неорганического анализа разнообразных объектов — от высокочистых материалов до геологических образцов — получили известность.

В последнее время исследования Т.А. Марютиной связаны с разработкой различных способов пробоподготовки и анализа нефти. Метод ЖХСНФ применен для выделения и концентрирования микропримесей элементов (в том числе редкоземельных) из нефти, что позволило определять ультранизкие содержания элементов. Под руководством юбиляра развиваются работы в области облагораживания высококипящих фракций; внимание уделено развитию методов разрушения водонефтяных эмульсий и снижения вязкости высоковязких нефтей. Результаты легли в основу разработки пилотной установки и технологии деасфальтизации тяжелого нефтяного сырья, используемой в ПАО «Татнефть». Развиваются экологические работы — подбор технологий рекультивации нефтезагрязненных объектов, разработка материалов для ликвидации последствий аварийных разливов нефти в морских акваториях, использование отходов производств (включая сельскохозяйственные) для получения полезной продукции.

Т.А. Марютину отличают широта кругозора и умение организовать работу большого коллектива. Под ее руководством выполнено более 50 НИР и НИОКР, включая государственные контракты и проекты международных и российских фондов. Она член Научного совета РАН по аналитической химии, ученого совета ГЕОХИ, диссертационного совета по аналитической химии, научно-технического совета Росприроднадзора. Автор более 180 научных публикаций и 11 авторских свидетельств.

Редакция «Журнала аналитической химии», друзья и коллеги поздравляют Татьяну Анатольевну с юбилеем и желают ей здоровья, счастья, удачи и успехов во всех делах и начинаниях.