\_

\_

\_

# Том 76, номер 3, 2021

## ОБЗОРЫ

-

Люминесцентные полупроводниковые квантовые точки в химическом анализе	
А. М. Абрамова, О. А. Горячева, Д. Д. Дрозд, А. С. Новикова, Т. С. Пономарева, П. Д. Строкин, И. Ю. Горячева	195
ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ	
Концентрирование углеродными сорбентами фенольных соединений и их хроматографическое определение в водных экстрактах лекарственных растений	
З. А. Темердашев, Е. А. Виницкая, В. В. Милевская, М. А. Статкус	208
Многоэлементный анализ нефти методами АЭС-ИСП и МС-ИСП с использованием микроволновой пробоподготовки	
О. Н. Гребнева-Балюк, И. В. Кубракова, О. А. Тютюнник, С. Ю. Лапшин, Д. В. Пряжников	218
Определение меламина методом спектроскопии диффузного отражения по его влиянию на формирование нанокомпозита золота и пенополиуретана	
А. И. Исаченко, А. О. Мелехин, В. В. Апяри, П. А. Волков, С. Г. Дмитриенко	227
Микроэкстракционно-цветометрическое (флуориметрическое) определение катионных и анионных поверхностно-активных веществ в пищевых продуктах	
В. Г. Амелин, З. А. Ч. Шаока, Д. С. Большаков	234
Экстракционно-хроматографическое определение суммарного содержания моноциклических аренов C <sub>6</sub> —C <sub>9</sub> в сточных водах	
В. И. Вершинин, С. В. Усова	244
Определение содержания примесей в арсине высокой чистоты методом хромато-масс-спектрометрии	
А. Ю. Созин, Т. Г. Сорочкина, О. Ю. Чернова, А. П. Котков, Н. Д. Гришнова, Д. М. Полежаев, Г. В. Пушкарев, С. В. Ермолаев	253
In situ определение аскорбиновой и щавелевой кислот в соках и фруктах методом вольтамперометрии на электроде, модифицированном биметаллической системой золото—палладий	
Л. Г. Шайдарова, И. А. Челнокова, Ю. А. Лексина, А. В. Гедмина, Г. К. Будников	261
Электрод на основе электрополимеризованного желтого "солнечного заката" для одновременного вольтамперометрического определения хлорогеновой и феруловой кислот	
Г. К. Зиятдинова, Е. В. Гусс, Е. В. Морозова, Г. К. Будников	268
Наполненные ионитами трековые мембраны с асимметричными порами для электрохимического определения ацетилхолин хлорида	
В. М. Шкинев, Л. Ю. Мартынов, Д. А. Трофимов, А. М. Долгоносов	279

УДК 543.064

## ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ ПОЛУПРОВОДНИКОВЫЕ КВАНТОВЫЕ ТОЧКИ В ХИМИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

# © 2021 г. А. М. Абрамова<sup>*a*</sup>, О. А. Горячева<sup>*a*</sup>, Д. Д. Дрозд<sup>*a*</sup>, А. С. Новикова<sup>*a*</sup>, Т. С. Пономарева<sup>*a*</sup>, П. Д. Строкин<sup>*a*</sup>, И. Ю. Горячева<sup>*a*</sup>, \*

<sup>а</sup>Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Институт химии ул. Астраханская, 83, Саратов, 410012 Россия \*e-mail: goryachevaiy@mail.ru Поступила в редакцию 29.07.2020 г.

После доработки 15.09.2020 г. Принята к публикации 25.09.2020 г.

Люминесцентные полупроводниковые квантовые точки (**KT**) – это достаточно новый тип люминесцентных меток, используемых для визуального и инструментального определения аналитов с помощью разнообразных вариантов анализа. Высокий квантовый выход, фотостабильность, узкие спектры испускания, широкий спектр возбуждения данных частиц делают их идеальными метками для анализа, позволяя разрабатывать методики одновременного определения нескольких веществ и добиваться низких пределов обнаружения. Широкое внедрение КТ в аналитическую практику ограничено многостадийностью и трудоемкостью некоторых подходов к получению КТ и реагентов на их основе, склонностью к неспецифическим взаимодействиям, вероятностью перепоглощения света при неправильном подборе концентрации КТ. В обзоре рассмотрены основные подходы к получению, модификации и использованию люминесцентных КТ в анализе. Обсуждаются подходы к повышению чувствительности и мультиплексности анализа и инструменты регулирования селективности на основе как свойств самих КТ, так и дополнительно используемых рецепторов.

Ключевые слова: квантовые точки, люминесценция, тушение люминесценции, наночастицы, анализ, иммуноанализ.

DOI: 10.31857/S0044450221030026

Квантовые точки (**KT**) – это достаточно новый тип люминесцентных меток, используемых для визуального и инструментального определения различных аналитов с помощью разнообразных вариантов анализа [1–4]. Квантовые точки представляют собой нанокристаллы неорганического полупроводника, цвет люминесценции которых зависит как от природы полупроводника, так и от размера и наличия оболочек других материалов [5, 6]. Помимо этого (не всегда оправданно), к КТ относят наночастицы и наноструктуры других материалов. В частности, в литературе встречаются упоминания углеродных [7, 8], графеновых [9, 10] КТ, КТ оксида кремния [11] и др.

Высокий квантовый выход, фотостабильность, узкие спектры испускания, широкий спектр возбуждения данных частиц делают их идеальными метками для анализа, позволяя разрабатывать методики одновременного определения нескольких веществ [12, 13] и добиваться низких пределов обнаружения [14, 15]. К основным трудностям применения КТ относятся токсичность исходных материалов, высокая вероятность перепоглощения света при неправильном подборе концентрации КТ, многостадийность и трудоемкость некоторых подходов к получению КТ.

Несмотря на значительные сложности синтеза и гидрофилизации, метки на основе полупроводниковых КТ востребованы в люминесцентном анализе и визуализации благодаря высокой устойчивости к фотообесцвечиванию и возможности одновременного возбуждения нескольких КТ практически любым источником света. Таким образом, исследования в области анализа на основе КТ представляют особый интерес, требуется детальное рассмотрение факторов, влияющих на свойства КТ, а также отдельных стадий их синтеза и особенностей использования.

Описано применение люминесцентных КТ для определения соединений различных классов: пестицидов [16], ДНК-последовательностей [17, 18], белков [19, 20], антибиотиков [21, 22] микотоксинов [23, 24], полициклических ароматических углеводородов [15], маркеров различных заболеваний [25–28] и ряда других соединений.

В обзоре рассматриваются основные подходы к получению, модификации и использованию

люминесцентных КТ в анализе. Описаны подходы к повышению чувствительности и мультиплексности анализа и инструменты регулирования селективности на основе как свойств самих КТ, так и дополнительно используемых рецепторов.

## СТРУКТУРА И СВОЙСТВА КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

Люминесцентные КТ представляют собой полупроводниковые нанокристаллы размером в несколько нанометров [29]. В строгом понимании к квантовым точкам относят нанокристаллы. размеры которых по трем измерениям меньше радиуса экситона Бора для данного материала [30, 31]. В таких нанокристаллах наблюдается размерный эффект: оптические свойства, в частности ширина запрешенной зоны и коэффициент экстинкции, зависят от размеров наночастиц и их формы [32-35]. Квантовые точки, в отличие от фрагментов полупроводников большего размера, имеют дискретные уровни энергии и в валентной зоне, и в зоне проводимости [36].

Для описания оптических свойств КТ их рассматривают в рамках квантовой теории частицы в ящике. При этом учитывают кулоновское взаимодействие между разноименными зарядами (электроном и дыркой) и предполагают сферическую форму КТ. Уравнение, выведенное в 1986 г. [37], в настоящее время считается одним из основных для описания свойств нанокристаллов, проявляющих квантовые эффекты:

$$E_{\rm g} = E_{\rm g0} + \frac{\hbar^k \pi^2}{2\mu_{\rm avc} R^2} - \frac{1.786e^2}{\varepsilon R},$$

где  $E_{\rm g}$  – энергетический зазор между высшим уровнем валентной зоны и низшим уровнем зоны проводимости КТ,  $E_{\rm g0}$  – ширина запрещенной зоны полупроводника, R – радиус нанокристалла, µ<sub>экс</sub> – приведенная эффективная масса экситона, є – диэлектрическая постоянная. Таким образом, энергия экситона КТ складывается из энергии зоны проводимости полупроводника, энергии квантовой локализации экситона в органиченном объеме КТ (второе слагаемое) и крайне незначительного вклада кулоновского взаимодействия электрона и дырки (третье слагаемое). Данное уравнение показывает, что возникновение экситона в полупроводниковом нанокристалле требует больше энергии, чем в полупроводнике того же состава. Причем чем меньше размер КТ, тем больше энергии необходимо для перехода электрона в зону проводимости. Поскольку именно энергия первого возбужденного состояния Eg определяет спектр возбуждения и испускания КТ, становится понятным большой практический интерес к КТ: изменяя размер и/или состав КТ, можно получить нанокристаллы с эмиссией в широком диапазоне оптического спектра от УФ- до ближней ИК-области. Люминесцентный центр КТ представляет собой неорганическое ядро, состоящее из нескольких сотен и тысяч атомов. Размерные ограничения приводят к сильному поглощению оптического излучения, связанному с разрешенными переходами между дискретными электронными уровнями. Электрон вследствие квантования электронных состояний может напрямую излучать фотон. Однако оборванные связи на большой площади поверхности КТ создают высокую плотность промежуточных состояний – ловушек, обусловливая высокую вероятность безызлучательной дезактивации [38].

При получении КТ с высокими интенсивностями люминесценции и квантовым выходом (КВ) безызлучательные процессы должны быть сведены к минимуму. Уменьшить безызлучательную дезактивацию и повысить КВ позволяет пассивация поверхности КТ. Чаще всего для пассивации используется подход, основанный на создании внешней оболочки (оболочек) более широкозонных полупроводников. Этот способ позволяет получить высокоэффективные, стабильные к фотоокислению немерцающие КТ [39]. Большая ширизапрещенной зоны материала оболочек на "запирает" электроны и дырки в ядре. Оболочка физически отделяет поверхность ядра от воздействия окружающей его среды. Таким образом обычно осуществляют наращивание достаточно толстой оболочки. Однако зачастую параметры кристаллической решетки ядра и оболочки значительно различаются. что сильно ограничивает возможность наращивания толщины оболочки без ухудшения люминесцентных свойств [40]. Решением является синтез КТ, содержащих оболочки из нескольких полупроводников, например CdSe/CdS/ZnS. Путем подбора материалов полупроводников и толщины оболочек можно настроить длину волны испускания в большом спектральном диапазоне и значительно улучшить оптические свойства. При этом чувствительность оптических свойств КТ к изменениям среды, прежде всего присутствию молекул кислорода или воды, в значительной степени уменьшается.

#### ОСОБЕННОСТИ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ СВОЙСТВ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

Люминесцентные полупроводниковые КТ обладают уникальными оптическими характеристиками.

Высокая фотостабильность. Квантовые точки проявляют высокую фотостабильность, что позволяет многократно увеличивать мощность возбуждаемого излучения и длительно наблюдать за поведением люминесцентной метки в режиме реального времени [30, 34]. На сегодняшний день опубликовано большое количество работ, показывающих преимущества применения КТ в качестве меток в молекулярной биологии по сравнению с флуоресцентными органическими красителями [41].

Широкий спектр поглощения. Квантовые точки обладают широким спектром поглощения с характерным максимумом в его длинноволновой части (экситонный пик). Как правило, экситонный пик сдвинут в коротковолновую область всего на 10–20 нм относительно максимума испускания. Широкие полосы поглощения позволяют использовать один источник возбуждения для наблюдения эмиссии от КТ разного цвета. Например, КТ на основе CdSe диаметром от 2.2 до 3.7 нм могут быть однове СdSe диаметром от 2.2 до 3.7 нм могут быть однов волны 400 нм (или другой), при этом длина волны эмиссии этих образцов изменяется в диапазоне 490–590 (цвет люминесценции от голубого до оранжево-красного) (рис. 1) [42].

Симметричный и узкий пик люминесценции. Пик эмиссии КТ симметричен, ширина пика на половине высоты не превышает 30 нм. Как омечено выше, положение пика люминесценции определяется размером КТ и составом; таким образом, разные цвета эмиссии можно получать, используя КТ одного состава, но разного размера, что упрощает получение разноцветных меток при сохранении близости их остальных свойств.

Высокая яркость люминесценции. Стоит отметить, что, хотя полупроводниковые КТ уступают лучшим флуоресцентным меткам по КВ (получение КТ с КВ 80% и выше описано сравнительно недавно), нанокристаллы превосходят их на несколько порядков по величинам сечения поглощения возбуждающего света. В результате яркость свечения КТ оказывается настолько высокой, что они детектируются как единичные объекты с помощью флуоресцентного микроскопа [43]. По оценкам [44] каждая КТ CdSe/ZnS примерно в 20 раз ярче и имеет фотостабильность в 200 раз выше, чем молекула родамина 6Ж.

Высокое перепоглощение испускаемого света, возникающее за счет упомянутого выше небольшого сдвига между экситонным пиком в спектре поглощения и спектром испускания, приводит к тому, что часть испускаемых фотонов может перепоглощаться КТ с такими же спектральными свойствами. Это может привести к искажению аналитического сигнала и должно учитываться при разработке аналитических методик с использованием люминесцентных КТ.

#### ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ К СИНТЕЗУ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

Существуют два основных подхода к синтезу квантовых точек: (1) высокотемпературный син-



**Рис.** 1. Спектры поглощения квантовых точек CdSe разного диаметра (спектры нормализованы на максимум экситонного пика).

тез в органических растворителях, который позволяет получать КТ с высокой интенсивностью люминесценции (КВ до 95% и выше), однако дальнейший перевод в водную фазу часто приводит к значительному снижению яркости свечения; (2) синтез в водных растворах, который позволяет получить гидрофильные КТ, однако по ряду характеристик, таких как квантовый выход люминесценции, распределение частиц по размерам и стабильность во времени, они могут уступать полупроводниковым КТ, полученным методом (1).

Высокотемпературный синтез в органических растворителях. Большинство высококачественных КТ до настоящего времени синтезируют в высококипящем координирующем органическом растворителе. В качестве стабилизирующих лигандов используют триоктилфосфиноксид, триоктилфосфин, олеиновую кислоту, олеиламин и др., что делает коллоидный раствор стабильным только в неполярных органических растворителях [45]. Использование КТ в биологических исследованиях диктует необходимость стабилизации коллоида в водных растворах при помощи гидрофильных соединений, которые зачастую содержат функциональные группы для связывания с биомолекулами [46]. В настоящее время "золотым стандартом" являются КТ на основе селенида кадмия. Несмотря на присутствие токсичных ионов кадмия и многостадийный синтез, эти КТ имеют лучший набор свойств – разнообразие цветов, узкие спектры, высокий квантовый выход и стабильность после гидрофилизации в водных растворах.

Впервые КТ CdSe в органическом растворителе были получены в 1993 г. научной группой Мюррей и др. [47]. Основной принцип синтеза – впрыскивание растворов прекурсоров металла Cd и халькогенида Se в нагретый до высоких температур растворитель – триоктилфосфин оксид (**ТОФО**). При высоких температурах прекурсоры

распадаются до мономеров, образуется пересыщенный раствор, в результате чего осаждаются кристаллы. Температура реакционной смеси падает после впрыскивания прекурсоров, так как они имеют комнатную температуру. Из-за падения температуры реакционной среды новые ядра не зарождаются, а образовавшиеся ядра растут за счет оставшихся в растворе прекурсоров. С увеличением времени синтеза происходит рост размера нанокристаллов, сопровождающийся смещением спектров поглощения и испускания в длинноволновую область. Молекулы ТОФО на поверхности КТ создают стерический барьер между отдельными нанокристаллами, препятствующий коагуляции. В дальнейшем данную методику всесторонне модифицировали (исходные соединения селена и кадмия, органические лиганды и растворители), поддерживая основную идею метода – впрыскивание холодных прекурсоров в горячий растворитель, тем самым разделяя во времени стадии зародышеобразования и роста кристаллов [48-54]. Ядра CdSe имеют невысокую яркость люминесценции – их КВ, как правило, не превышает 5% [55].

Для повышения КВ и фотостабильности люминесцирующие ядра CdSe покрывают слоем более широкозонного полупроводника с близкими структурой и составом, который не поглощает фотоны, испущенные ядром. В результате КВ и фотостабильность КТ структуры ядро-оболочка значительно увеличиваются по сравнению с исходными ядрами CdSe [48, 53, 56]. Оптимальным веществом внешней оболочки является сульфид цинка. Однако сульфид цинка, как правило, наращивают только на небольших ядрах селенида кадмия (при d(CdSe) < 3 нм). Согласно [57], наращивание оболочки ZnS на ядрах CdSe бо́льшего диаметра затруднительно из-за большой разницы в параметрах кристаллических решеток CdSe и ZnS. Для того, чтобы избежать дефектов, возникающих при наращивании ZnS непосредственно на ядрах CdSe диаметром более ~3 нм, между ядром и сульфидом цинка помещают промежуточный слой ZnSe или CdS, которые имеют промежуточные между CdSe и ZnS параметры кристаллической решетки и величину запрещенной зоны [58]. При создании подобных структур ядро-оболочка-оболочка часто используют метод послойного наращивания (Successive Ion Layer Adsorption and Reaction, SILAR). Суть метода заключается в попеременном добавлении прекурсоров металла и халькогенида в раствор KT CdSe при высоких температурах [59]. Такой подход позволяет избежать зарождения нанокристаллов материала оболочки и с высокой точностью контролировать количество нанесенных слоев. Помимо КТ на основе CdSe, высокотемпературный синтез в органическом растворителе применяют для получения КТ ядро/оболочка на основе других

полупроводниковых нанокристаллов, в частности CuInS<sub>2</sub>/ZnS [60, 61].

Для применения в большинстве аналитических методик, а так же для проведения биохимических и биомедицинских исследований КТ переводят в водные растворы одним из следующих путей: (1) модификацией лигандного слоя, покрывающего КТ; (2) с помощью полной замены исходного лигандного слоя на гидрофильные молекулы.

Модификация лигандного слоя обычно состоит во включении КТ внутрь гидрофильного образования с сохранением исходных гидрофобных лигандов и соответственно без нарушения целостности поверхности полупроводниковой наночастицы. Показано, что использование полимерных амфифильных молекул приводит к образованию стабильных во времени растворов КТ, поскольку одна полимерная молекула образует сразу много связей с одной КТ [48, 62, 63]. Важно подчеркнуть, что исходные лиганды (амины, олеиновая кислота, триоктилфосфин оксид) остаются на поверхности КТ, следовательно, изменения состояния поверхностных атомов не происходит и в процессе гидрофилизации непосредственная поверхность полупроводниковой КТ остается нетронутой. Это приводит к тому, что яркость флуоресценции сильно не падает после перевода КТ в воду. Для повышения коллоидной стабильности в широком интервале рН используют амфифильные молекулы, содержащие полиэтиленгликолевые (ПЭГ) цепи [48]. Например. показано. что КТ, покрытые модифицированным ПЭГ полимером, устойчивы в интервале рН 3-13, поскольку гидрофильность всей КТ обеспечивается наличием незаряженных полиэтиленгликолевых групп [64]. Недостатком данного подхода считается значительное увеличение гидродинамического диаметра КТ, а также возможность изменения формы амфифильного полимера при внешнем воздействии.

При использовании метода замены лигандов гидрофобные молекулы, покрывающие КТ в органических средах, замещают на гидрофильные. Как правило, лиганды связываются с атомами металлов на поверхности КТ через тиольные группы, которые имеют наибольшее сродство к поверхности КТ [65]. В 1998 г. КТ были впервые переведены в воду методом замены лигандов с помощью меркаптоуксусной кислоты [44]. Очевидным недостатком данных точек является их устойчивость только в средах с невысокой ионной силой и pH > 7, а также низкая стабильность во времени из-за легкости окисления тиольных групп до дисульфидных, которые, в свою очередь, не связываются с поверхностными атомами КТ, и нанокристаллы выпадают в осадок [66]. Тем не менее данный подход широко применяется, особенно в случае модифицированных лигандов, поскольку КТ обладают небольшим размером и соответственно эффективны, если аналитический сигнал зависит от расстояния между компонентами, как, например, при переносе энергии.

Покрытие оксидом кремния также предусматривает замену исходных гидрофобных лигандов на прекурсоры оксида кремния, такие как тетраалкоксисиланы. Растворы КТ, покрытые оксидом кремния, отличаются высокой фотостабильностью и устойчивостью при хранении [27, 66–68].

Синтез в водных растворах. К достоинствам синтеза в водных средах можно отнести увеличение выхода продукта и хорошую воспроизводимость его свойств; использование нетоксичных растворителей и реагентов; низкую стоимость; биосовместимость; отсутствие необходимости использования инертной атмосферы. Реакция обычно происходит между поверхностными лигандами и соединениями – предшественниками металлов. Нитраты или галогенилы металлов используют в качестве источников металла, тиомочевину ( $CS(NH_2)_2$ ) и сульфид натрия ( $Na_2S$ ) – в качестве источников серы благодаря возможности непосредственного растворения в воде. Как правило, синтез КТ ядро/оболочка представляет собой двухэтапный процесс, сначала осуществляют синтез ядер, а затем наращивание оболочки.

Несмотря на то, что из-за более низкой температуры проведения реакций и, следовательно, низкой кристалличности структуры по сравнению с КТ, получаемыми высокотемпературными методами в органических растворителях, КВ ниже, данный подход проще в исполнении, экологичнее и экономичнее.

Водный синтез КТ протекает при сравнительно низких температурах, ограниченных температурой кипения воды. В таких условиях формирующиеся нанокристаллы имеют большое количество дефектов как на поверхности, так и в объеме. Эти дефекты порождают безызлучательные рекомбинации и тем самым подавляют эмиссию [69]. Для стабилизации водных коллоидов используют как высокомолекулярные соединения (полиолы, белки, полиэлектролиты, полифосфаты), так и бифункциональные низкомолекулярные лиганды, такие как анионы меркаптокарбоновых кислот (меркаптоуксусная, меркапропропионовая, дигодролипоевая и т.д.) [70]. аминокарбоновых кислот [71] и фосфонокарбоновых кислот [72].

Разработаны методики водного синтеза КТ ядро/оболочка с квантовым выходом в районе 40% для КТ состава Ag–In–S/ZnS [71, 73–75], CdTe/CdS [76], CdTe [77] и др. При этом получены значения КВ, достаточные для обнаружения объектов на клеточном уровне, особенно для нетоксичных RN, излучающих в ближнем инфракрасном диапазоне [74].

## АНАЛИТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

С точки зрения принципа возникновения аналитического сигнала, методы с использованием люминесцентных КТ можно разделить (иногда весьма условно) на три основные группы: (i) методы, основанные на измерении интенсивности люминесценции КТ; (ii) методы, основанные на модуляции сигнала КТ в результате тушения либо усиления; (iii) методы, основанные на различных вариантах хемилюминесцентных реакций.

Практически более удобным оказалось разделение на методы, связанные с использованием различных "распознающих элементов". Спектр таких систем варьируется очень сильно. В самом простом случае "узнавание" аналита люминесцентной меткой регулируется зарядом молекулы. Более высокая селективность достигается использованием специально подобранных рецепторов — нуклеотидных последовательностей либо антител.

Методы без использования специфических взаимодействий. Методы, не связанные с использованием биореагентов, проще в разработке. Механизм возникновения аналитического сигнала и объяснение его селективности зачастую сложно четко обосновать, тем не менее тушение люминесценции КТ легло в основу целого ряда аналитических метолик. Тушение люминесценции КТ в присутствии катионов металлов предложено использовать для определения  $Hg^{2+}$  [78],  $Zn^{2+}$  and Cd<sup>2+</sup> [79] и ряда других катионов. В основе определения лежит либо собственно тушение испускания КТ в присутствии аналита [79], либо его усиление, если определяемое вещество "оттягивает" тушитель от поверхности КТ [80]. Так, антибиотик цефтриаксон при взаимодействии с полиэтиленимином в водном растворе предположительформирует нековалентный молекулярный HO комплекс, который при нагревании гидролизуется с образованием продуктов, приводящих к тушению флуоресценции KT CdSe/CdS/ZnS, вероятно, за счет образования свободных меркаптогрупп [80]. Показано, что определению цефтриаксона в водных растворах ( $c_{\min} = 1 \times 10^{-6}$  M) не мешают Na<sup>+</sup>, Са<sup>2+</sup>, глюкоза, мочевина, мочевая кислота, эритромицин, ципрофлоксацин и доксициклин.

Для повышения селективности определения предложено использовать тушение люминесценции нескольких эмиттеров — вариант метода "отпечатков пальцев". Методы "отпечатков пальцев" основаны на получении многомерного образа объекта, который обрабатывают методами хемометрики [81–83]. Данный подход позволяет



**Рис. 2.** Нуклеотидный зонд в виде петли, испускание люминесцентных квартовых точек потушено находящимся радом тушителем. Разворачивание нуклеотидного зонда при комплементарном связывании с целевым аналитом приводит к усилению интенсивности люминесценции квантовых точек за счет увеличения расстояния до тушителя люминесценции.

использовать как усиление, так и снижение интенсивности испускания используемых флуорофоров, в том числе КТ. Описано применение метода "отпечатков пальцев" для определения лекарственных веществ в модельных растворах [83] и в плазме крови [81].

Методы на основе распознавания нуклеотидных последовательностей. Естественная способность одноцепочечных последовательностей нуклеотидов образовывать прочные комплексы с комплементарными им последовательностями широко используют при получении реагентов для селективного определения рибонуклеиновых кислот и других соединений, играющих важную роль в живых организмах. Связывание таких реагентов с люминесцентными КТ и тушителями позволяет проводить высокоселективное определение биологически значимых соединений. Возможности синтеза олигонуклеотилных последовательностей, их связывания с метками, технологии амплификации позволяют проводить высокочувствительное селективное определение, избирательно разделяя последовательности, отличающиеся всего одним нуклеотидом. Опубликованы обзоры [17, 18, 84], посвященные применению КТ для обнаружения РНК и ДНК с использованием различных форматов анализа, в частности тест-форматов, микрочипов, гомогенного и гетерогенного флуоресцентного резонансного переноса энергии (ФРПЭ, FRET) и различных методик усиления сигнала.

Узкие полосы испускания КТ позволяют использовать их при модификации нуклеотидными последовательностями различного дизайна для одновременного определения нескольких аналитов. Например, КТ использованы в качестве люминесцентных меток для профилирования РНК [85] с пределом обнаружения 0.4 фмоль и динамическим диапазоном от 156 до 20000 пМ. Метод применен для обнаружения 11 микроРНК из листьев и корней риса.

Использование нуклеотидных последовательностей и их комплементарное взаимодействие позволяют особенно эффективно использовать детекторные системы, чувствительные к расстоянию между люминесцентной меткой и тушителем (либо усилителем) люминесценции.

Одной из популярных схем применения люминесцентных КТ является конструирование нуклеотидных зондов, которые содержат как КТ, так и тушитель люминесценции (рис. 2). Нуклеотидную структуру зонда подбирают таким образом, чтобы обеспечивать эффективное связывание целевой мишени и сделать термодинамически неблагоприятным связывание несовпадающей последовательности с зондом [86]. Испускание КТ в таких зондах потушено за счет близости с тушителем. При связывании с целевой нуклеотидной последовательностью тушитель удаляется от КТ и интенсивность испускания увеличивается. Восстановление интенсивности испускания КТ линейно зависит от концентрации аналита, например микроРНК miR124a [87].

Разработана методика одновременного обнаружения miRNA-141 и miRNA-21 на основе KT (CdSe/ZnS и CdTe) с испусканием в разных областях спектра с использованием стратегии амплификации [88]. В качестве тушителей применяли комплекс магнитных и золотых наночастиц. Чувствительные к pH KT CdTe использовали в качестве индикатора реакции гибридизации [89].

Изящное сочетание люминесцентных КТ с нуклеотидными последовательностями реализовано в ряде работ при водном синтезе КТ непосредственно в присутствии олигонуклеотидных последовательностей, играющих роль темплатов. Данный подход впервые предложен Келли и сотр. в 2009 г. [90]. В 2018 г. применение этих КТ для детектирования ДНК рассмотрено в обзоре Ванг и соавт. [91]. ДНК-КТ получают одностадийным методом с использованием молекулы ДНК в качестве матрицы для прямого роста КТ. Размер и эмиссию КТ можно варьировать, изменяя условия синтеза [92, 93]. ДНК-КТ обладают высокой биосовместимостью и низкой цитотоксичностью, что обеспечивает их применимость для биосенсинга и биовизуализации [91, 94].

Иммунохимические методы анализа. Методы с использованием распознавания на основе антител — самая большая группа аналитических систем с применением люминесцентных КТ. Конъюгирование КТ с биомолекулами открыло широ-

кие возможности для разработки различных форматов анализа [95]. Большинство методов химического анализа и биовизуализации основаны на измерении интенсивности люминесценции КТ. В данном подходе важно количество КТ в органе или органелле (в случае биовизуализации), либо в единице объема/площади, с которых происходит сбор аналитического сигнала при регистрации результатов анализа [96, 97]. Самый распространенный способ количественного определения вещества путем регистрации сигнала KT – это формирование иммунокомплексов с использованием специфических иммунореагентов [47, 60, 97]. Данный подход применяют как в классическом микропланшетном варианте [13, 22, 98, 99], так и весьма широко в разнообразных тест-методах [14, 100]. Применение КТ в иммунохроматографическом анализе впервые описано в 2010 г. для определения белковых маркеров церулоплазмина [101] и антегена сифилиса [102]. С тех пор иммунохроматографические методы с использованием КТ получили широкое распространение в медицинских исследованиях [20, 24, 26, 103] и для контроля качества продуктов питания [18, 104, 105]. Применению иммунохроматографических тестов на основе КТ для экологического анализа посвящено меньше исследований, поскольку, во-первых, данная область вызывает меньший научный интерес и, во-вторых, из-за малых концентраций определяемых токсикантов в природных объектах соответствующие тесты должны обеспечивать более низкие значения их пределов обнаружения [106, 107]. Важно отметить возможность одновременного иммунохроматографического определения нескольких аналитов, например микотоксинов [22, 23, 108], антибиотиков [12], онкомаркеров [24] и др.

Особенности спектральных характеристик КТ узкий и симметричный спектр люминесценции и широкая полоса поглошения - позволяют использовать один источник возбуждения для получения люминесценции различных цветов от КТ разного размера или состава. Это создает возможность применения КТ для одновременного определения нескольких аналитов. Кроме того, возможности спектрального разрешения позволяют определять несколько аналитов в одной тест-зоне [109, 110]. Размер КТ, сопоставимый с размером антител, позволяет использовать различную архитектуру конъюгатов [111–113]. Объединение нескольких КТ в структуру большего размера позволяет повысить интенсивность испускания каждой метки, что при правильном подборе условий дает возможность повысить чувствительность анализа [114—116].

В основе большого количества иммунохимических аналитических методов лежат процессы, связанные с переносом энергии электронного возбуждения, прежде всего ФРПЭ. Широкое распространение ФРПЭ именно в сочетании с образованием иммунокомплексов обусловлено как большим разнообразием компонентов ферстеровской пары — доноров и акцепторов, так и разработкой методик получения различных иммунореагентов.

Флуоресцентный резонансный перенос энергии – безызлучательный перенос энергии от донорного хромофора (D), изначально присутствующего в электронно-возбужденном состоянии, к акцепторному хромофору (А) в основном состоянии через безызлучательное диполь-дипольное взаимодействие без участия фотонов. ФРПЭ особенно удобно использовать для индикации взаимодействий с участием флуорофоров, конъюгированных с биомолекулами со специфическим распознаванием, такими как антитела [117]. Это позволяет применять ФРПЭ в качестве источника аналитических сигналов для качественного и количественного определения широкого круга аналитов. Основные условия для реализации ФРПЭ следующие: энергия электронно-возбужденного состояния D выше возможного уровня энергии А; спектральное перекрытие между излучением D и поглощением А; непосредственная близость А и D (расстояние 1–20 нм). Помимо энергетических характеристик донора и акцептора, эффективность ФРПЭ определяется их пространственным расположением, расстоянием между D и A, их относительной ориентацией, свойствами среды, в которой находятся D и A, относительной ориентацией дипольных моментов эмиссии и поглощения D и А [118]. Традиционные конфигурации ФРПЭ основаны на взаимодействии красителя с красителем.

Люминесцентные КТ можно считать отличными донорами ФРПЭ в сочетании с короткоживущими молекулярными флуорофорами. ФРПЭ с участием КТ был рассмотрен в обзорах [119–121]. Детальный анализ литературы показывает, что данная система является потенциально мощным инструментом обнаружения и подтверждения образования иммунокомплексов. КТ в качестве доноров энергии используют достаточно широко. Время затухания возбужденного состояния КТ больше, чем у большинства органических красителей, что повышает эффективность ФРПЭ, облегчает проектирование систем D–A, упрощает количественные измерения и позволяет реализовать мультиплексирование [122, 123].

С точки зрения стабильности и эффективности хорошо зарекомендовала себя пара КТ-наночастица золота (**AuHY**). АuHY являются отличными акцепторами благодаря их характерному плазмонному резонансу, который может спектрально перекрываться с излучением КТ, и хорошей коллоидной стабильностью [119]. Связывание КТ и наночастиц с иммунореагентами приводит к сближению пары КТ-наночастица в случае формирования иммунокомплекса, реализации ФРПЭ и тушению люминесценции КТ [124–126].

Напротив, использование КТ в качестве акцепторов ФРПЭ, например, в сочетании с органическими красителями и флуоресцентными белками, довольно ограничено [127] по следующим причинам: (i) из-за больших коэффициентов экстинкции и широких спектров поглощения КТ, приводящих к очень эффективному и неизбежному прямому возбуждению независимо от длины волны возбуждения [128]; (ii) в связи с трудностью реализации самого процесса ФРПЭ из-за очень высокой скорости излучательной дезактивации доноров энергии (для красителей время жизни люминесценции составляет от 1 до 5 нс) по сравнению со скоростью процессов переноса энергии и затухания КТ (10-20 нс); (iii) из-за трудности измерения эмиссии с временным разрешением, поскольку время жизни флуоресценции КТ больше, чем у красителей. Данные затруднения удалось легко преодолеть при использовании КТ в качестве акцепторов в сочетании с долгоживущими донорами энергии - комплексами лантаноидов, что позволило в полной мере использовать потенциал КТ, включая чрезвычайно высокое молярное поглощение (коэффициенты экстинкции более чем  $1 \times 10^{6} \,\mathrm{M}^{-1} \,\mathrm{cm}^{-1}$ . в 10–100 раз выше, чем у традиционных красителей) [129] в широком диапазоне длин волн; перекрывание поглощения КТ с несколькими эмиссионными линиями лантаноидов, что приводит к очень большим спектральным интегралам перекрытия [129]; достаточно большое ферстеровское расстояние ( $R_0 \approx 7 - 11$  нм), обусловленное упомянутыми выше высокими молярными коэффициентами поглощения и широкими спектрами поглощения КТ. Все вместе повышает эффективность ФРПЭ и улучшает чувствительность анализа [128, 130].

Способность лантаноида – донора ФРПЭ передавать энергию КТ разного цвета, а также узкие полосы испускания КТ позволяют реализовать мультиплексирование [128]. Использование пары лантаноид-КТ дает возможность выбрать лантаноид с оптимальными абсорбционными свойствами, временем жизни и энергией возбужденных состояний, КТ с оптимальными спектрами люминесценции, оптимальное отношение D к A и при этом использовать два независимых канала обнаружения (затухание люминесценции A и D) или их соотношение. В аналитических целях в качестве донора энергии чаще используют комплексы тербия благодаря высокому квантовому выходу люминесценции, чрезвычайно большому времени затухания (около миллисекунды) и нескольким спектрально разрешенным полосам излучения в спектральном диапазоне 480-630 нм. Использование в биологических системах ФРПЭ на базе лантаноидов основано, как правило, на

комплексах европия, которые представляют собой очень яркие излучатели в видимой области спектра и применяются чаще, чем комплексы тербия из-за более эффективной передачи обратной энергии комплекса лантаноида [131].

Первая аналитическая система с использованием лантаноида и КТ для отслеживания образования иммунокомплексов описана в 2007 г. [132] для обнаружения низкомолекулярного гормона эстрадиола в гомогенном анализе. Обнаружение высокомолекулярных аналитов с использованием неконкурентных многослойных структур позволяет варьировать отношение D к A, помечая одно из антител несколькими D. Изменение количества D, присоединенного к одному антителу, дает возможность оптимизировать отношение D/A в сэндвич-структуре с двумя антителами. Данный подход использован для определения альфа-фетопротеина [133], карциноэмбрионального антигена [134], простатического специфического антигена [135], рецептора эпидермального фактора роста [136].

Таким образом, в последние десятилетия интенсивно развивалось применение люминесцентных КТ в качестве меток. Можно выделить следующие преимущества КТ:

 высокий квантовый выход люминесценции и высокая устойчивость к фотообесцвечиванию;

• возможность варьировать размеры ядра, а также толщину полупроводниковых оболочек и гидрофильного слоя;

• возможность настраивать цвет свечения за счет изменения размера, состава и структуры нанокристаллов;

• большие эффективные значения Стоксова сдвига (до сотен нанометров);

• спектрально узкие и симметричные спектры испускания (полная ширина на половине максимума 25–35 нм);

• широкие спектры поглощения с большими однофотонными ( $\epsilon = 10^4 - 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ ) сечениями поглощения;

• возможность мультиплексирования;

• широкие возможности для функционализации.

Существует ряд тонкостей и технологических сложностей, которые затрудняют разработку аналитических методик на основе КТ и их широкое применение. Прежде всего, это касается неспецифических взаимодействий как с другими реагентами, так и с материалами подложки, характерных в большей степени для наночастиц, чем для низкомолекулярных веществ и макромолекул. Все биоконъюгаты должны сохранять как биологические, так и фотофизические свойства и демонстрировать близкую кинетику взаимодействия. Для одновременного определения в одной тест-зоне либо с разрешением во времени оборудование для детектирования люминесцентных сигналов должно допускать возможность спектрального либо временно́го разрешения.

По нашему мнению, логика разработки аналитических систем на основе КТ в настоящее время — это переход от оптимизации методик получения и исследования физико-химической основ функционирования КТ, основные закономерности которых ясны, как минимум, на качественном уровне, к аналитической валидации систем для широкого круга аналитов и матриц с дальнейшей разработкой коммерческих продуктов. Аналитическая валидация должна включать в себя характеризацию стабильности и воспроизводимости систем, накопление результатов для широкого спектра аналитов в различных условиях в реальных объектах при наличии мешающих соединений, а также применение различного лабораторного оборудования с разработкой дружественных для неспециалиста операционных систем.

Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки РФ (FSRR-2020-0002).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Chandan H.R., Schiffman J.D., Balakrishna, R.G. Quantum dots as fluorescent probes: Synthesis, surface chemistry, energy transfer mechanisms, and applications // Sens. Actuators B. 2018. V. 258. P. 1191.
- Chern M., Kays J.C., Bhuckory S., Allison D.M. Sensing with photoluminescent semiconductor quantum dots // Methods Appl. Fluoresc. 2019. V. 7. № 1. Article 012005.
- Petryayeva E., Russ A.W., Medint I.L. Quantum dots in bioanalysis: A review of applications across various platforms for fluorescence spectroscopy and imaging // Appl. Spectrosc. 2013. V. 76. № 3. P. 215.
- 4. *Bilan R., Nabiev I., Sukhanova A.* Quantum dot-based nanotools for bioimaging, diagnostics, and drug delivery // Chem. Bio. Chem. 2016. V. 17. № 22. P. 2103.
- Zrazhevskiy P., Mark S., Xiaohu G. Designing multifunctional quantum dots for bioimaging, detection, and drug delivery // Chem. Soc. Rev. 2010. V. 39. P. 4326.
- 6. *Brichkin S.B., Razumov V.F.* Colloidal quantum dots: Synthesis, properties and applications // Russ. Chem. Rev. 2016. V. 85. № 12. P. 1297.
- Lim S.Y., Shen W., Gao Z. Carbon quantum dots and their applications // Chem. Soc. Rev. 2015. V. 44. P. 362.
- 8. Кокорина А.А., Прихожденко Е.С., Сухоруков Г.Б., Сапелкин А.В., Горячева И.Ю. Люминесцентные углеродные наночастицы: способы получения, методы исследования, области применения // Успехи химии. 2017. Т. 86. № 11. С. 1157. (Kokorina A.A., Prikhozhdenko E.S., Sukhorukov G.B., Sapelkin A.V., Goryacheva I.Yu. Luminescent carbon nanoparticles: synthesis, study, applications // Russ. Chem. Rev. 2017. V. 86. № 11. Р. 1157.)
- 9. *Zhu S., Song Y., Zhao X., Shao J., Zhang J., Yang B.* The photoluminescence mechanism in carbon dots (graphene quantum dots, carbon nanodots, and poly-

mer dots): Current state and future perspective // Nano Res. 2015. V. 8. P. 355.

- Goryacheva I.Y., Sapelkin A.V., Sukhorukov G.B. Carbon nanodots: Mechanisms of photoluminescence and principles of application // Trends Anal. Chem. 2017. V. 80. P. 27.
- Cheng X., Lowe S.B., Reece P.J., Gooding J.J. Colloidal silicon quantum dots: From preparation to the modification of self-assembled monolayers (SAMs) for bioapplications // Chem. Soc. Rev. 2014. V. 43. P. 2680.
- Song E., Yu M., Wang Y., Hu W., Cheng D., Swihart M.T., Song Y. Multi-color quantum dot-based fluorescence immunoassay array for simultaneous visual detection of multiple antibiotic residues in milk // Biosens. Bioelectron. 2015. V. 72. P. 320.
- Taranova N.A., Berlina A.N., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. 'Traffic light' immunochromatographic test based on multicolor quantum dots for the simultaneous detec- tion of several antibiotics in milk // Biosens. Bioelec-tron. 2015. V. 63. P. 255.
- Beloglazova N.V., Shmelin P.S., Goryacheva I.Yu., De Saeger S. Liposomes loaded with quantum dots for ultrasensitive on-site determination of aflatoxin M1 in milk products // Anal. Bioanal. Chem. 2013. V. 405. № 24. P. 7795.
- 15. Beloglazova N.V., Goryacheva I.Yu., Niessner R., Knopp D. A comparison of horseradish peroxidase, gold nanoparticles and quantum dots as labels in non-instrumental gel-based immunoassay // Microchim. Acta. 2011. V. 175. № 3–4. P. 361.
- Nsibande S.A., Forbes P.B.C. Fluorescence detection of pesticides using quantum dot materials – A review // Anal. Chim. Acta. 2016. V. 945. P. 9.
- Goryacheva O.A., Mishra P.K., Goryacheva I.Y. Luminescent quantum dots for miRNA detection // Talanta. 2018. V. 179. P. 456.
- Goryacheva O.A., Novikova A.S., Drozd D.D., Pidenko P.S., Ponomaryeva T.S., Bakal A.A., Mishra P.K., Beloglazova N.V., Goryacheva I.Y. Water-dispersed luminescent quantum dots for miRNA detection // Trends Anal. Chem. 2019. V. 111. P. 197.
- Berlina A.N., Taranova N.A., Zherdev A.V., Vengerov Y.Y., Dzantiev B.B. Quantum dot-based lateral flow immunoassay for detection of chloramphenicol in milk // Anal. Bioanal. Chem. 2013. V. 405. P. 4997.
- García-Fernández J., Trapiella-Alfonso L., Costa-Fernández J.M., Pereiro R., Sanz-Medel A. Quantum dot-based immunoassay for screening of tetracyclines in bovine muscle // J. Agric. Food Chem. 2014. V. 62. № 7. P. 1733.
- Berlina A.N., Taranova N.A., Zherdev A.V., Sankov M.N., Andreev I.V., Martynov A.I., Dzantiev B.B. Quantumdot-based immunochromatographic assay for total IgE in human serum // PLoS One. 2013. V. 8. № 10. Article e77485.
- Levy M., Cater S.F., Ellington A.D. Quantum-dot aptamer beacons for the detection of proteins // Chem-BioChem. 2005. V. 6. P. 2163.
- Beloglazova N.V., Speranskaya E.S., Wu A., Wang Z., Sanders M., Goftman V., Zhang D. Goryacheva I.Yu., De Saeger S. Novel multiplex fluorescent immunoassays based on quantum dot nanolabels for mycotoxins determination // Biosens. Bioelectron. 2014. V. 62. P. 59.

- Beloglazova N.V., Sobolev A.M., Tessier M.D., Hens Z., Goryacheva I.Y., De Saeger S. Fluorescently labelled multiplex lateral flow immunoassay based on cadmiumfree quantum dots // Methods. 2017. V. 116. P. 141.
- 25. Wang C., Hou F., Ma Y. Simultaneous quantitative detection of multiple tumor markers with a rapid and sensitive multicolor quantum dots based immunochromatographic test strip // Biosens. Bioelectron. 2015. V. 68. P. 156.
- 26. *Zhang W.H., Ma W., Long Y.T.* Redox-mediated indirect fluorescence immunoassay for the detection of disease biomarkers using dopamine-functionalized quantum dots // Anal. Chem. 2016. V. 88. № 10. P. 5131.
- Sobolev A.M., Byzova N.A., Goryacheva I.Y., Zherdev A.V. Silanized quantum dots as labels in lateral flow test strips for C-reactive protein // Anal. Lett. 2019. V. 52. № 12. P. 1874.
- Liu L., Wu S., Jing F., Zhou H., Jia C., Li G., Cong H., Jin Q., Zhao J. Bead-based microarray immunoassay for lung cancer biomarkers using quantum dots as labels // Biosens. Bioelectron. 2016. V. 80. P. 300.
- Martynenko I.V., Baimuratov A.S., Osipova V.A., Kuznetsova V.A., Purcell-Milton F., Gun'Ko Y.K., Resch-Genger U., Baranov A.V. Excitation energy dependence of the photoluminescence quantum yield of core/shell CdSe/CdS quantum dots and correlation with circular dichroism // Chem. Mater. 2018. V. 30. № 2. P. 465.
- 30. Олейников В.А., Суханова А.В., Набиев И.Р. Флуоресцентные полупроводниковые кристаллы в биологии и медицине // Российские нанотехнологии. 2007. Т. 2. № 1–2. С. 160.
- Drbohlavova J., Adam V., Kizek R., Hubalek J. Quantum dots characterization, preparation and usage in biological systems // Int. J. Mol. Sci. 2009. V. 10. P. 656.
- Quantum Dots: Research, Technology and Applications / Ed. Knoss R.W. N.Y.: Nova Science Publishers, Inc., 2008. 691 p.
- 33. Yu W.W. Semiconductor quantum dots: synthesis and water-solubilization for biomedical applications // Expert Opin. Biol. Ther. 2008. V. 8. P. 1571.
- Gill R., Zayats M., Willner I. Semiconductor quantum dots for bioanalysis // Angew. Chem. Int. Ed. 2008. V. 47. P. 7602.
- Semiconductor Nanocrystal Quantum Dots: Synthesis, Assembly, Spectroscopy and Applications / Ed. Rogach A.L. New York: Springer, 2008. 365 p.
- 36. Adair J.H., Li T., Kido T., Havey K., Moon J., Mecholsky J., Morrone A., Talham D.R., Ludwig M.H., Wang L. Recent developments in the preparation and properties of nanometer-size spherical and plateletshaped particles and composite particles // Mater. Sci. Eng. R. 1998. V. 23. P. 139.
- Brus L. Electronic wave functions in semiconductor clusters: Experiment and theory // J. Phys. Chem. 1986. V. 90. P. 2555.
- Zhou H., Liu J., Zhang S. Quantum dot-based photoelectric conversion for biosensing applications // Trends Anal. Chem. 2015. V. 67. P. 56.
- 39. *Kalyuzhny G., Murray R.W.* Ligand effects on optical properties of CdSe nanocrystals // J. Phys. Chem. B. 2005. V. 109. № 15. P. 7012.

- 40. *Reid K.R., McBride J.R., Freymeyer N.J., Thal L.B., Rosenthal S.J.* Chemical structure, ensemble and single-particle spectroscopy of thick-shell InP–ZnSe quantum dots // Nano Lett. 2018. V. 18. № 2. P. 709.
- Resch-Genger U., Grabolle M., Cavaliere-Jaricot S., Nitschke R., Nann T. Quantum dots versus organic dyes as fluorescent labels // Nature Methods. 2008. V. 5. P. 763.
- 42. Chan W.C., Maxwell D.J., Gao X., Bailey R.E., Han M., Nie S. Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging // Curr. Opin. Biotechnol. 2002. V. 13. P. 40.
- Liu S.L., Zhang Z.L., Sun E.Z., Peng J., Xie M., Tian Z.Q., Lin Y., Pang D.W. Visualizing the endocytic and exocytic processes of wheat germ agglutinin by quantum dot-based single-particle tracking // Biomaterials. 2011. V. 32. P. 7616.
- Chan W.C.W., Nie S.M. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection // Science. 1998. V. 281. P. 2016.
- 45. Bilan R., Fleury F., Nabiev I., Sukhanova A. Quantum dot surface chemistry and functionalization for cell targeting and imaging // Bioconjug. Chem. 2015. V. 26. № 4. P. 609.
- Vasudevan D., Gaddam R.R., Trinchi A., Cole I. Core– shell quantum dots: Properties and applications // J. Alloys Compd. 2015. V. 636. P. 395.
- Murray C.B., Norris D.J., Bawendi M.G. Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = S, Se, Te) semiconductor nanocrystallites // J. Am. Chem. Soc. 1993. V. 115. P. 8706.
- Speranskaya E.S., Beloglazova N.V., Lenain P., De Saeger S., Wang Z., Zhang S., Hens Z., Knopp D., Potapkin D.V., Goryacheva I.Y. Polymer-coated fluorescent CdSe-based quantum dots for application in immunoassay // Biosens. Bioelectron. 2014. V. 53. P. 225.
- 49. Линьков П.А., Вохминцев К.В., Самохвалов П.С., Набиев И.Р. Квантовые точки сверхмалого размера для флуоресцентного биоимиджинга in vivo и in vitro // Оптика и спектроскопия. 2017. Т. 122. № 1. С. 12.
- 50. Rousserie G., Sukhanova A., Even-Desrumeaux K., Fleury F., Chames P., Baty D., Oleinikov V., Pluot M., Cohen J.H.M., Nabiev I. Semiconductor quantum dots for multiplexed bio-detection on solid-state microarrays // Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2010. V. 74. № 1. P. 1.
- Sukhanova A., Devy J., Venteo L., Kaplan H., Artemyev M., Oleinikov V., Klinov D., Pluot M., Cohen J.H.M., Nabiev I. Biocompatible fluorescent nanocrystals for immunolabeling of membrane proteins and cells // Anal. Biochem. 2004. V. 324. № 1. P. 60.
- Jasieniak J., Bullen C., van Embden J., Mulvaney P. Phosphine-free synthesis of CdSe nanocrystals // J. Phys. Chem. B. 2005. V. 109. № 44. P. 20665.
- 53. Сперанская Е.С., Гофтман В.В., Дмитриенко А.О., Дмитриенко В.П., Акмаева Т.А., Горячева И.Ю. Синтез гидрофобных и гидрофильных квантовых точек ядро-оболочка // Изв. Саратовского ун-та. Сер. Химия. Биология. Экология. 2012. Т. 12. № 4. С. 3.
- 54. Aleksandrova O.A., Mazing D.S., Matyushkin L.B., Moshnikov V.A., Pshchelko N.S. Features of colloidal

quantum dots synthesis in nonpolar and aqueous media // Smart Nanocomposites. 2014. T. 5. № 2. P. 61.

- Yu Z., Guo L., Du H., Krauss T., Silcox J. Shell distribution on colloidal CdSe/ZnS quantum dots // Nano Lett. 2005. V. 5. P. 565.
- Hines M.A., Guyot-Sionnest P. Synthesis and characterization of strongly luminescing ZnS–Capped CdSe nanocrystals // J. Phys. Chem. 1996. V. 100. P. 468.
- Yu Z., Guo L., Du H., Krauss T., Silcox J. Shell distribution on colloidal CdSe/ZnS quantum dots // Nano Lett. 2005. V. 5. P. 565.
- Reiss P, Protière M., Li L. Core/shell semiconductor nanocrystals // Small. 2009. V. 5. P. 154.
- 59. Blackman B., Battaglia D., Peng X. Bright and watersoluble near IR-emitting CdSe/CdTe/ZnSe type-II/type-I nanocrystals, tuning the efficiency and stability by growth // Chem. Mater. 2008. V. 20. P. 4847.
- 60. Speranskaya E.S., Beloglazova N.V., Abé S., Aubert T., Smet P., Poelman D., Goryacheva I.Yu., De Saeger S., Hens Z. Environment-friendly CuInS<sub>2</sub>/ZnS quantum dots: Hydrophilization with a PEG-containing polymer and application as fluorescent label in immunoassay // Langmuir. 2014. V. 30. № 25. P. 7567.
- 61. Speranskaya E.S., Sevrin C., De Saeger S., Hens Z., Goryacheva I.Yu., Grandfils C. Synthesis of hydrophilic CuInS<sub>2</sub>/ZnS quantum dots with different polymeric shells and study of their cytotoxicity and hemocompatibility // ACS Appl. Mater. Interfaces. 2016. V. 8. № 12. P. 7613.
- 62. Yu W.W., Chang E., Drezek R., Colvin V.L. Water-soluble quantum dots for biomedical applications // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2006. V. 348. P. 781.
- 63. Lin C.J., Sperling R.A., Li J.K., Yang T.-Y., Li P.-Y., Zanella M., Chang W.H., Parak W.J. Design of an amphiphilic polymer for nanoparticle coating and functionalization // Small. 2008. V. 4. P. 334.
- 64. Sperling R.A., Pellegrino T., Li J.K., Chang W.H., Parak W.J. Electrophoretic separation of nanoparticles with a discrete number of functional groups // Adv. Funct. Mater. 2006. V. 16. P. 943.
- 65. Zhang W., Chen G., Wang J., Ye B.C., X. Zhong. Design and synthesis of highly luminescent near-infrared-emitting water-soluble CdTe/CdSe/ZnS core/shell/sell quntum dots // Inorg. Chem. 2009. V. 48. P. 9723.
- 66. Lees E.E., Nguyen T.L., Clayton A.H.A., Mulvaney P. The preparation of colloidally stable, water-soluble, biocompatible semiconductor nanocrystals with a small hydrodynamic diameter // ACS Nano. 2009. V. 3. P. 1121.
- 67. Goftman V.V., Aubert T., Van Deun R., Beloglazova N.V., Hens Z., De Saeger S., Goryacheva I.Y. Synthesis, modification, bioconjugation of silica coated fluorescent quantum dots and their application for mycotoxin detection // Biosens. Bioelectron. 2016. V. 79. P. 476.
- Drozd D., Zhang H., Goryacheva I.Y., De Saeger S., Beloglazova N.V. Silanization of quantum dots: Challenges and perspectives // Talanta. 2019. V. 205. Article 120164.
- Omata T., Nose K., Otsuka-Yao-Matsuo S. Size dependent optical band gap of ternary I-III-VI<sub>2</sub> semiconductor nanocrystals // J. Appl. Phys. 2009. V. 105. Article 073106.
- 70. Raevskaya A.E., Stroyuk O.L., Solonenko D.I., Dzhagan V.M., Lehmann D., Kuchmiy S.Y., Plyusnin V.F.,

Zahn D.R.T. Synthesis and luminescent properties of ultrasmall colloidal CdS nanoparticles stabilized by Cd(II) complexes with ammonia and mercaptoacetate // J. Nanopart. Res. 2014. V. 16. P. 2650.

- Rivera-Gonzalez N., Chauhan S., Watson D.F. Aminoalkanoic acids as alternatives to mercaptoalkanoic acids for the linker-assisted attachment of quantum dots to TiO<sub>2</sub> // Langmuir. 2016. V. 32. P. 9206.
- 72. Calzada R., Thompson C.M., Westmoreland D.E., Edme K., Weiss E.A. Organic-to aqueous phase transfer of cadmium chalcogenide quantum dots using a sulfur-free ligand for enhanced photoluminescence and oxidative stability // Chem. Mater. 2016. V. 28. P. 6716.
- Raevskaya A.E., Ivanchenko M.V., Stroyuk O.L., Kuchmiy S. Ya., Plyusnin V.F. Luminescent Ag-doped In<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanoparticles stabilized by mercaptoacetate in water and glycerol // J. Nanopart. Res. 2015. V. 17. P. 135.
- Raevskaya A., Rozovik O., Novikova A., Selyshchev O., Stroyuk O., Dzhagan V., Goryacheva I., Gaponik N., Zahn D.R.T., Eychmuller A. Luminescence and photoelectrochemical properties of size-selected aqueous copper-doped Ag–In–S quantum dots // RSC Advances. 2018. V. 8. P. 7550.
- 75. Raevskaya A., Lesnyak V., Haubold D., Dzhagan V., Stroyuk O., Gaponik N., Zahn D.R.T., Eychmüller A. A fine size selection of brightly luminescent water-soluble Ag–In–S and Ag–In–S/ZnS quantum dots // J. Phys. Chem. C 2017. V. 121. № 16. P. 9032.
- 76. Yue D., Qian X., Zhang Z., Kan M., Ren M., Zhao Y. CdTe/CdS core/shell quantum dots cocatalyzed by sulfur tolerant [Mo<sub>3</sub>S<sub>13</sub>]<sub>2</sub>- nanoclusters for efficient visible-light-driven hydrogen evolution // ACS Sustainable Chem. Eng. 2016. V. 4. № 12. P. 6653.
- Schneider J., Dudka T., Xiong Y., Wang Z., Gaponik N., Rogach A.L. Aqueous-based cadmium telluride quantum dot/polyurethane/polyhedral oligomeric silsesquioxane composites for color enhancement in display backlights // J. Phys. Chem. C 2018. V. 122. № 25. P. 13391.
- Ke J., Li X., Zhao Q., Hou Y., Chen J. Ultrasensitive quantum dot fluorescence quenching assay for selective detection of mercury ions in drinking water // Sci. Rep. 2015. V. 4. Article E 5624.
- 79. Xu H., Miao R., Fang Z., Zhong X. Quantum dot-based "turn-on" fluorescent probe for detection of zinc and cadmium ions in aqueous media // Anal. Chim. Acta 2011. V. 687. № 1. P. 82.
- 80. Карпов В.М., Спектор Д.В., Беклемишев М.К. Определение цефтриаксона по тушению флуоресценции квантовых точек с использованием связывания с полиэтиленимином // Журн. аналит. химии. 2016. Т. 71. № 5. С. 544. (Karpov V.M., Spektor D.V., Beklemishev M.K. Determination of ceftriaxone by the fluorescence quenching of quantum dots using binding with polyethyleneimine // J. Anal. Chem. 2016. V. 71. № 5. Р. 519.)
- 81. Дивянин Н.Н., Рукосуева Е.А., Гармаш А.В., Беклемишев М.К. Распознавание смесей модельных аналитов в присутствии плазмы крови с помощью смеси флуорофоров ("флуоресцентный язык") // Журн. аналит. химии. 2018. Т. 73. № 12. С. 934. (Divyanin N.N., Rukosueva E.A., Garmash A.V., Beklemishev M.K. Recognition of model analyte mixtures in the presence of blood plasma using a mixture

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 3 2021

of fluorophores ("fluorescent tongue")) // J. Anal. Chem. 2018. V. 73. P. 1195.)

- Monakhova Yu.B., Goryacheva I.Yu. Chemometric analysis of luminescent quantum dots systems: Long way to go but first steps taken // Trends Anal. Chem. 2016. V. 82. P. 164.
- Divyanin N.N., Razina A.V., Rukosueva E.A., Garmash A.V., Beklemishev M.K. Discrimination of 2–3component mixtures of organic analytes by a "fluorescent tongue": A pilot study // Microchem. J. 2017. V. 135. P. 48.
- Russ Algar W., Massey M., Krull U.J. The application of quantum dots, gold nanoparticles and molecular switches to optical nucleic-acid diagnostics // Trends Anal. Chem. 2009. V. 28. P. 292.
- Liang R.Q., Li W., Li Y., Tan C.Y., Li J.X., Jin Y.X., Ruan K.C. An oligonucleotide microarray for microRNA expression analysis based on labeling RNA with quantum dot and nanogold probe // Nucleic Acids Res. 2005. V. 33. Article E 17.
- Wang D., Hu L., Zhou H., Abdel-Halim E.S., Zhu J.J. Molecular beacon structure mediated rolling circle amplification for ultrasensitive electrochemical detection of microRNA based on quantum dots tagging // Electrochem. Commun. 2013. V. 33. P. 80.
- Lee J., Moon S.U., Lee Y.S., Ali B.A., Al-Khedhairy A.A., Ali D., Ahmed J., Al Salem A.M., Kim S. Quantum dotbased molecular beacon to monitor intracellular microRNAs // Sensors. 2015. V. 15. P. 12872.
- Jie G., Zhao Y., Wang X., Ding C. Multiplexed fluorescence detection of microRNAs based on novel distinguishable quantum dot signal probes by cycle amplification strategy // Sens. Actuators B. 2017. V. 252. P. 1026.
- 89. Liang R.Q., Li W., Li Y., Tan C.Y., Li J.X., Jin Y.X., Ruan K.C. An oligonucleotide microarray for microRNA expression analysis based on labeling RNA with quantum dot and nanogold probe // Nucleic Acids Res. 2005. V. 33. № 2. Article E 17.
- Ma N., Sargent E.H., Kelley S.O. One-step DNA-programmed growth of luminescent and biofunctionalized nanocrystals // Nat. Nanotechnol. 2009. V. 4. P. 121.
- Wang G., Li Z., Ma N. Next-generation DNA-functionalized quantum dots as biological sensors // ACS Chem. Biol. 2018. V. 13. P. 1705.
- Tikhomirov G., Hoogland S., Lee P.E., Fischer A., Sargent E.H., Kelley S.O. DNA-based programming of quantum dot valency, self-assembly and luminescence // Nat. Nanotechnol. 2011. V. 6. P. 485.
- He X., Zeng T., Li Z., Wang G., Ma N. Catalytic molecular imaging of microRNA in livingcells by DNA-programmed nanoparticle disassembly // Angew. Chem. Int. Ed. 2016. V. 55. P. 3073.
- 94. Li Z., He X., Luo X., Wang L., Ma N. DNA-programmed quantum dot polymerization for ultrasensitive molecular imaging of cancer cells // Anal. Chem. 2016. V. 88. P. 9355.
- Medintz I., Uyeda H., Goldman E., Matoussi H. Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing // Nature Mater. 2005. V. 4. P. 435.
- Martynenko I.V., Litvin A.P., Purcell-Milton F., Baranov A.V., Fedorov A.V., Gun'ko Y.K. Application of semiconductor quantum dots in bioimaging and biosensing // J. Mater. Chem. B. 2017. V. 5. P. 6701.
- 97. Zherdev A.V., Dzantiev B.B. Ways to reach lower detection limits of lateral flow immunoassays / Rapid Test –

Advances in Design, Format and Diagnostic Applications / Ed. Anfossi L. London: IntechOpen, 2018.

- Goryacheva I.Yu., Lenain P., De Saeger S. Nanosized labels for rapid immunotests: New trends and developments // Trends Anal. Chem. 2013. V. 46. P. 30.
- 99. Suzuki M., Udaka H., Fukuda T. Quantum dot-linked immunosorbent assay (QLISA) using orientation-directed antibodies // J. Pharm. Biomed. Anal. 2017. V. 143. № 5. P. 110.
- 100. Beloglazova N.V., Speranskaya E.S., De Saeger S., Hens Z., Abé S., Goryacheva I.Yu. Quantum dot based rapid tests for zearalenone detection // Anal. Bioanal. Chem. 2012. V. 403. № 10. P. 3013.
- 101. Li Z., Wang Y., Wang J., Tang Z., Pounds J.G., Lin Y. Rapid and sensitive detection of protein biomarker using a portable fluorescence biosensor based on quantum dots and a lateral flow test strip // Anal. Chem. 2010. V. 82. № 16. P. 7008.
- 102. Yang H., Li D., He R., Guo Q., Wang K., Zhang X., Huang P., Cui D. A Novel quantum dots-based point of care test for syphilis // Nanoscale Res. Lett. 2010. V. 5. P. 875.
- 103. Shandilya R., Sobolev A.M., Bunkar N., Bhargava A., Goryacheva I.Yu., Mishra P.K. Quantum dot nanoconjugates for immuno-detection of circulating cell-free miRNAs // Talanta. 2020. V. 208. Article E 120486.
- 104. Di Nardo F, Anfossi L., Giovannoli C., Passini C., Goftman V.V., Goryacheva I.Y., Baggiani C. A fluorescent immunochromatographic strip test using quantum dots for fumonisins detection // Talanta. 2016. V. 150. P. 463.
- 105. Sheng W., Li S., Liu Y. Wang J., Zhang Y., Wang S. Visual and rapid lateral flow immunochromatographic assay for enrofloxacin using dyed polymer microspheres and quantum dots // Microchim. Acta. 2017. V. 184. P. 4313.
- 106. Peng T., Pei X., Zheng Y., Wang J., Wang Q., Li J., Xia X., Jiang H. Performance of fluorescence microspheresbased immunochromatography in simultaneous monitoring of five quinoxalines // Food Agric. Immunol. 2017. V. 28. № 6. P. 1544.
- 107. Sun J., Li Y., Pi F., Ji J., Zhang Y., Sun X. Using fluorescence immunochromatographic test strips based on quantum dots for the rapid and sensitive determination of microcystin-LR // Anal. Bioanal. Chem. 2017. V. 409. P. 2213.
- 108. Goryacheva O.A., Guhrenz C., Schneider K., Beloglazova N.V., Goryacheva I.Yu., De Saeger S., Gaponik N. Silanized luminescent quantum dots for simultaneous multicolour lateral flow immunoassay of two mycotoxins // ACS Appl. Mater. Interfaces. 2020. V. 12. № 22. P. 24575.
- 109. Goldman E.R., Clapp A.R., Anderson G.P., Uyeda H.T., Mauro J.M., Medintz I.L., Mattoussi H. Multiplexed toxin analysis using four colors of quantum dot fluororeagents // Anal. Chem. 2004. V. 76. P. 684.
- Chan W.C., Maxwell D.J., Gao X., Bailey R.E., Han M., Nie S. Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging // Curr. Opin. Biotechnol. 2002. V. 13. P. 40.
- 111. Sukhanova A., Even-Desrumeaux K., Kisserli A., Tabary T., Reveil B., Millot J.M., Chames P., Baty D., Artemyev M., Oleinikov V., Pluot M., Cohen J.H.M., Nabiev I. Oriented conjugates of single-domain antibodies and quantum dots: toward a new generation of

ultrasmall diagnostic nanoprobes // Nanomedicine. 2012. V. 8. № 4. P. 516.

- 112. Nabiev I., Rakovich A., Sukhanova A., Lukashev E., Zagidullin V., Pachenko V., Rakovich Y.P., Donegan J.F., Rubin A.B., Govorov A.O. Fluorescent quantum dots as artificial antennas for enhanced light harvesting and energy transfer to photosynthetic reaction centers // Angew. Chem. 2010. V. 49. № 40. P. 7217.
- Balalaeva I.V., Zdobnova T.A., Krutova I.V., Brilkina A.A., Lebedenko E.N., Deyev S.M. Passive and active targeting of quantum dots for whole-body fluorescence imaging of breast cancer xenografts // Biophotonics. 2012. V. 5. № 11–12 (Special Issue: Topical Problems of Biophotonics). P. 860.
- 114. Goryacheva I.Yu., Speranskaya E.S., Goftman V.V., Tang D., De Saeger S. Synthesis and bioanalytical applications of nanostructures multiloaded with quantum dots // Trends Anal. Chem. 2015. V. 66. P. 53.
- 115. Beloglazova N.V., Shmelin P.S., Speranskaya E.S., Lucas B., Helmbrecht C., Knopp D., Niessner R., De Saeger S., Goryacheva I.Yu. Quantum dot loaded liposomes as new luminescent labels for immunoassay // Anal. Chem. 2013. V. 85. № 15. P. 7197.
- 116. *Ren M., Xu H., Huang X., Kuang M., Xiong Y., Xu H., Xu Y., Chen H., Wang A.* Immunochromatographic assay for ultrasensitive detection of aflatoxin B1 in maize by highly luminescent quantum dot beads // ACS Appl. Mater. Interfaces. 2014. V. 6. № 16. P. 14215.
- 117. Lindén S., Singh M.K., Wegner K.D., Regairaz M., Dautry F., Treussart F., Hildebrandt N. Terbium-based time-gated Förster resonance energy transfer imaging for evaluating protein–protein interactions on cell membranes // Dalton Trans. 2015. V. 44. P. 4994.
- Tagit O., Annio G., Hildebrandt N. Terbium to quantum rod Förster resonance energy transfer for homogeneous bioassays with picomolar detection limits // Microchim. Acta. 2015. V. 182. P. 1693.
- 119. Dos Santos M.C., Algar W.R., Medintz I.L., Hildebrandt N. Quantum dots for Förster resonance energy transfer (FRET) // Trends Anal. Chem. 2020. V. 125. Article E 115819.
- 120. Goryacheva O.A., Beloglazova N.V., Vostrikova A.M., Pozharov M.V., Sobolev A.M., Goryacheva I.Yu. Lanthanide-to-quantum dot Förster resonance energy transfer (FRET): Application for immunoassay // Talanta. 2017. V. 164. P. 377.
- 121. *Geissler D., Hildebrandt N.* Recent developments in Förster resonance energy transfer (FRET) diagnostics using quantum dots // Anal. Bioanal. Chem. 2016. V. 408. P. 4475.
- 122. Clapp A.R., Medintz I.L., Uyeda H.T., Fisher B.R., Goldman E.R., Bawendi M.G., Mattoussi H. Quantum dot-based multiplexed fluorescence resonance energy transfer // J. Am. Chem. Soc. 2005. V. 127. P. 18212.
- Rogach A.L., Klar T.A., Lupton J.M., Meijerink A., Feldmann J. Energy transfer with semiconductor nanocrystals // J. Mater. Chem. 2009. V. 19. P. 1208.
- 124. Jiménez-López J., Rodrigues S.S.M., Ribeiro D.S.M., Ortega-Barrales P., Ruiz-Medina A., Santos J.L.M. Exploiting the fluorescence resonance energy transfer (FRET) between CdTe quantum dots and Au nanoparticles for the determination of bioactive thiols // Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc. 2019. V. 212. P. 246.

- 125. Anfossi L., Calza P., Sordello F., Giovannoli C., Di Nardo F., Passini C., Cerruti M., Goryacheva I.Yu., Speranskaya E.S., Baggiani C. Multi-analyte homogenous immunoassay based on quenching of quantum dots by functionalized grapheme // Anal. Bioanal. Chem. 2014. V. 406. № 20. P. 4841.
- 126. Anfossi L., Di Nardo F., Cavalera S., Giovannoli C., Spano G., Speranskaya E.S., Goryacheva I.Y., Baggiani C. A lateral flow immunoassay for straightforward determination of fumonisin mycotoxins based on the quenching of the fluorescence of CdSe/ZnS quantum dots by gold and silver nanoparticles // Microchim. Acta. 2018. V. 185. № 2. P. 94.
- 127. Ji X., Wang W., Mattoussi H. Controlling the spectroscopic properties of quantum dots via energy transfer and charge transfer interactions: Concepts and applications // Nanotoday. 2016. V. 11. P. 98.
- 128. Algar W.R., Massey M., Krull U.J. Semiconductor quantum dots and FRET / FRET – Förster Resonance Energy Transfer: From Theory to Applications / Eds. Medintz I., Hildebrandt N. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013. P. 475.
- 129. Geissler D., Linden S., Liermann K., Wegner K.D., Charbonnière L.J., Hildebrandt N. Lanthanides and quantum dots as Förster resonance energy, transfer agents for diagnostics and cellular imaging // Inorg. Chem. 2014. V. 53. P. 1824.
- 130. Algar W.R., Kim H., Medintz I.L., Hildebrandt N. Emerging non-traditional Forster resonance energy, transfer configurations with semiconductor quantum dots: investigations and applications // Coord. Chem. Rev. 2014. V. 263–264. P. 65.
- 131. Hildebrandt N., David Wegner K., Algar W.R. Luminescent terbium complexes: Superior Förster resonance energy transfer donors for flexible and sensitive multiplexed biosensing // Coord. Chem. Rev. 2014. V. 273–274. P. 125.
- 132. Härmä H., Soukka T., Shavel A., Gaponik N., Weller H. Luminescent energy transfer between cadmium telluride nanoparticle and lanthanide(III) chelate in competitive bioaffinity assays of biotin and estradiol // Anal. Chim. Acta. 2007. V. 604. P. 177.
- 133. Chen M.J., Wu Y.S., Lin G.F., Hou J.Y., Li M., Liu T.C. Quantum-dot-based homogeneous time-resolved fluoroimmunoassay of alpha-fetoprotein // Anal. Chim. Acta. 2012. V. 741. P. 100.
- 134. Chen Z.H., Wu Y.S., Chen M.J., Hou J.Y., Ren Z.Q., Sun D., Liu T.C. A novel homogeneous time-resolved fluoroimmunoassay for carcinoembryonic antigen based on water-soluble quantum dots // J. Fluoresc. 2013. V. 23. P. 649.
- 135. Bhuckory S., Lefebvre O., Qiu X., Wegner K.D., Hildebrandt N. Evaluating quantum dot performance in homogeneous FRET immunoassays for prostate specific antigen // Sensors. 2016. V. 16. Article E 197.
- 136. Wegner K.D., Lindén S., Jin Z.W., Jennings T.L., el Khoulati R., van Bergen en Henegouwen P.M.P., Hildebrandt N. Nanobodies and nanocrystals: Highly sensitive quantum dot-based homogeneous FRET immunoassay for serum-based EGFR detection // Small. 2014. V. 10. № 4. P. 734.

———— ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ ——

УДК 543.054

# КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ УГЛЕРОДНЫМИ СОРБЕНТАМИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ИХ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ В ВОДНЫХ ЭКСТРАКТАХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

© 2021 г. З. А. Темердашев<sup>а, \*</sup>, Е. А. Виницкая<sup>а</sup>, В. В. Милевская<sup>а</sup>, М. А. Статкус<sup>b</sup>

<sup>а</sup>Кубанский государственный университет ул. Ставропольская, 149, Краснодар, 350040 Россия <sup>b</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, 119991 Россия \*e-mail: temza@kubsu.ru

> Поступила в редакцию 21.09.2020 г. После доработки 02.10.2020 г. Принята к публикации 13.10.2020 г.

Исследована возможность применения углеродных сорбентов для извлечения, концентрирования и хроматографического определения фенольных веществ растительного происхождения. Предложен способ концентрирования биологически активных веществ из экстрактов лекарственных растений углеродными сорбентами с последующей десорбцией аналитов органическими растворителями при повышенных температуре и давлении. Изучены некоторые сорбционные характеристики углеродных материалов Supelclean ENVI-Carb и HyperSep Hypercarb по отношению к фенолкарбоновым кислотам и флавоноидам, выделенным из водных экстрактов зверобоя продырявленного *Нурегісит perforatum* L. Оптимизированы условия сорбции и десорбции аналитов различных классов. Показана возможность применения углеродных сорбентов для извлечения и концентрирования фенольных веществ из водных экстрактов различных растений на примере чабреца ползучего *Thymus serpyllum* L. и шалфея лекарственного *Salvia officinalis* L.

**Ключевые слова**: фенольные соединения, зверобой продырявленный, твердофазная экстракция, углеродный сорбент, ВЭЖХ.

DOI: 10.31857/S0044450221030142

Лекарственные растения привлекают исследователей и практиков благодаря многообразию фитотерапевтических свойств, обусловленных содержанием в них макро- и микроколичеств биологически активных веществ. Для определения минорных компонентов в лекарственном растительном сырье (ЛРС) приходится использовать методы концентрирования, поэтому поиск новых схем эффективного извлечения и концентрирования малых количеств веществ в таких объектах остается актуальной задачей. Первой стадией анализа ЛРС чаще всего является извлечение компонентов твердого сырья с помощью подходящего жидкого экстрагента. В ряде случаев возможен дальнейший прямой анализ жидкого экстракта, однако нередко для повышения чувствительности и селективности анализа требуется концентрирование компонентов экстракта. Твердофазная экстракция (ТФЭ) сочетает в себе возможности очистки экстрактов от мешающих компонентов, извлечения и концентрирования минорных соединений. Одним из преимуществ ТФЭ является

тов, а также использование меньшего количества растворителей при десорбции соединений по сравнению с жидкостно-жидкостной экстракцией. Применение различных сорбционных материалов позволяет объединить очистку экстракта от сложной растительной матрицы и концентрирование целевых соединений. Для извлечения фенольных соединений из экстрактов ЛРС в основном применяют такие

vниверсальность. широкий выбор типов сорбен-

экстрактов ЛРС в основном применяют такие сорбенты, как октадецилсиликагель (Диапак С18, С18 LiChrolut, Strata C18 и т.д.) [1–4] и полимерные материалы различной природы (Bond Elut Plexa, Oasis HLB, Strata X и др.) [5–8]. Меньшее распространение для этих целей получили углеродные материалы [9]. С другой стороны, учитывая структуру и свойства углеродных сорбентов [10, 11], несомненный интерес представляет оценка возможности концентрирования аналитов фенольного происхождения с использованием этих материалов. Перспективными сорбентами в данном случае мы считаем непористый графитированный углерод (Supelclean ENVI-Carb), графитированную сажу и углеродные нанотрубки, обеспечивающие высокую степень извлечения некоторых гидрофильных соединений [12, 13]. Авторы работ [12, 14] использовали эти материалы в качестве сорбентов для извлечения полициклических ароматических углеводородов и пестицидов из объектов окружающей среды. Стеклоуглеродные электроды, модифицированные многослойными углеродными нанотрубками, применяли для вольтамперометрического определения кверцетина в экстрактах ЛРС [15]. Отмечена сложность элюирования определенных групп соединений и возможность необратимой адсорбции компонентов при использовании материалов данного типа [16].

Важным аспектом работы с сорбентами для ТФЭ является установление их характеристик для концентрирования аналитов на стадиях сорбции (таких как "объем до проскока" и "динамическая емкость") и десорбции (коэффициент концентрирования и степень извлечения). Эти показатели позволяют установить оптимальные объемы экстрактов ЛРС, а также объем растворителя для десорбции, обеспечивающий эффективное извлечение компонентов из фазы сорбента [17]. Одним из определяющих факторов эффективного элюирования аналитов с сорбента является подбор растворителя для десорбции. Для этой цели обычно используют полярные органические растворители: ацетонитрил, спирты, а также водно-спиртовые смеси различного состава.

Цель данной работы — исследование и оптимизация условий ТФЭ фенольных соединений из экстрактов ЛРС с использованием некоторых углеродных материалов на примере сорбентов Supelclean ENVI-Carb и HyperSep Hypercarb.

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Растительный материал. В качестве объектов исследования использовали зверобой продырявленный (*Hypericum perforatum* L.), шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.), чабрец ползучий (*Thymus serpyllum* L.) (компания "Травы Кавказа", Краснодарский край, г. Горячий Ключ). При исследовании этих растительных материалов учитывали рекомендации Фармакопейных статей, и сырье предварительно измельчали до размера частиц 0.5–1.0 мкм [18].

Сорбционные углеродные материалы. Использовали углеродные материалы Supelclean ENVI-Carb (Supelco, США), масса сорбента в патроне составляла 500 мг, размер частиц 37–125 мкм и НурегSep Hypercarb (Thermo, США), масса сорбента в патроне составляла 500 мг, размер частиц 30 мкм.

Реактивы и стандартные образцы. Использовали деионизованную воду с удельным сопротивлением 18.2 МОм/см (25°С), полученную с помощью установки Milli-Q-UV (Millipore, Франция), ацетонитрил (HPLC-S, Biosolve BV, Нидерланды), муравьиную кислоту (85%, ЛенРеактив, Россия), изопропиловый, этиловый и метиловый спирты х. ч. (Вектон, Россия). Аналиты идентифицировали с применением стандартных образцов 3,4-дигидроксибензойной, неохлорогеновой, хлорогеновой, кофейной и розмариновой кислот, (–)-эпикатехина, рутина, гиперозида, изокверцитрина и кверцитрина (Sigma-Aldrich, Германия).

Оборудование и условия определения фенольных соединений методом ВЭЖХ. Для хроматографического определения фенольных соединений (ФС) использовали хроматограф LC 20 Prominence (Shimadzu, Япония), включающий дегазатор DGU-20А<sub>5</sub>, насос LC20AD, автоматический дозатор SIL-20A, термостат колонок СТО-20AC, спектрофотометрический детектор с диодной матрицей SPD-M20А и квадрупольный масс-детектор LCMS2010EV. Разделение компонентов осуществляли на колонке Luna C18 100Å, 250 × 2.0 мм, 5 мкм (Phenomenex, США) с предколонкой С18  $4 \times 2.0$  мм, 5 мкм (Phenomenex, США), температура термостатирования колонки 40°С, диапазон сканирования диодной матрицы 190-800 нм. диапазон сканирования масс 120-650 m/z. В качестве подвижной фазы для разделения компонентов использовали ацетонитрил и воду с добавкой 0.1% муравьиной кислоты. Подробные методики определения ФС предложены нами ранее и подробно описаны в работе [19]. Данные обрабатывали в программной среде LCMS Solution (Shimadzu, Япония).

Сорбцию фенольных веществ на углеродных сорбентах изучали путем получения и обработки выходных динамических кривых сорбции (ВДКС) фенольных кислот и флавоноидов [17]. Для построения этих зависимостей водные экстракты ЛРС. полученные на микроволновой установке ETHOS (Milestone, Италия) по методике, подробно изложенной в работе [19], пропускали через патроны с сорбентом, отбирая фракции пропущенного раствора в виалы. Содержание аналитов в каждой фракции определяли методом ВЭЖХ. Устанавливали зависимость отношения текущей и входной концентраций каждого аналита  $(c/c_0)$  от объема прошедшего раствора (И). Полученные с помощью сорбентов Supelclean ENVI-Carb и HyperSep Нурегсагь ВДКС фенолкарбоновых кислот, флавоноидов и их гликозидов из водных экстрактов зверобоя продырявленного представлены на рис. 1. При обработке ВДКС фенольных соединений использовали формулы [17]:

$$\Delta \mathbf{E} = \frac{c_0 V_{\rm B}}{m \times 1000},\tag{1}$$



**Рис. 1.** Выходные динамические кривые сорбции фенолкарбоновых кислот, флавоноидов и их гликозидов из водных экстрактов зверобоя продырявленного на сорбентах Supelclean ENVI-Carb (a), (б) и HyperSep Hypercarb (в), (г).

где ДЕ – динамическая емкость сорбента, моль/г;  $c_0$  – концентрация аналита в исходном растворе (экстракте), М;  $V_{\rm B}$  – "объем до проскока" аналита, мл; *m* – масса сухого сорбента, г.

$$\sigma_V = V_R - V_{0.159},$$
 (2)

$$\sigma_{V^*} = V_{0.841} - V_R, \tag{3}$$

$$V_{\rm B} = V_R - 2\sigma_V, \tag{4}$$

$$V_{\rm E} = V_R + 2\sigma_{V^*},\tag{5}$$

где  $\sigma_V$  и  $\sigma_{V*}$  – стандартные отклонения производной кривой, определяемые графически,  $V_R$  – объем удерживания,  $V_B$  – объем "до проскока",  $V_E$  – равновесный объем.

Десорбция фенольных соединений с углеродных материалов в условиях повышенных температуры и давления. Для извлечения фенольных соединений с сорбента при повышенных температуре и давлении использовали экспериментальную установку, состоящую из термостата с трубчатым электронагревателем [19]. Контроль и регулировку температуры в системе осуществляли с помощью электронного блока ТРМ-101 и термоэлектрического преобразователя. Растворитель для десорбции подавали насосом жидкостного хроматографа LC20AD (Shimadzu, Япония), в качестве ячейки-экстрактора использовали стальной корпус хроматографической колонки размером 150 × 4.6 мм, которую подключали к установке с помощью двух стальных капилляров. В ячейку-экстрактор помещали иссле-

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 3 2021



Рис. 1. Окончание

дуемый углеродный сорбент. Для предотвращения закипания растворителя и поддержания требуемого давления в системе использовали ограничитель противодавления P-455 (Upchurch Scientific, США). На выходе из системы фракции элюента собирали в хроматографические виалы.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из рис. 1 видно, что выходные динамические кривые сорбции флавоноидов имеют S-образную форму, в то время как для фенолкарбоновых кислот и (–)-эпикатехина на кривых имеется "подъем" выше значения  $c/c_0 = 1$ , по-видимому, связанный с вытеснением слабоудерживаемых аналитов более сильно удерживаемыми компонентами об-

разца. Выходные динамические кривые сорбции фенольных соединений на обоих углеродных сорбентах схожи между собой, что позволяет предположить одинаковый механизм сорбции аналитов. Исходя из этого, условия десорбции фенольных соединений в данной работе оптимизировали на основе данных, полученных с использованием сорбента Supelclean ENVI-Carb.

S-образная форма ВДКС компонентов водного экстракта зверобоя позволила рассчитать некоторые характеристики сорбции (объем удерживания, объем "до проскока", равновесный объем) для углеродных сорбентов по отношению к фенольным соединениям, а также динамическую емкость сорбционных материалов. Результаты расчетов сорбционных характеристик представ-

		Supelclean ENVI-Carb				HyperSep Hypercarb						
Соединение	$V_R$ ,	$V_{\rm B},$	σ <sub>ν</sub> ,	σ <sub><i>V</i>*</sub> ,	$V_{\rm E}$ ,	ДE × 10 <sup>-6</sup>	$V_R$ ,	$V_{\rm B},$	σ <sub>V</sub> ,	$\sigma_{V^*},$	$V_{\rm E}$ ,	ДE × 10 <sup>-6</sup>
	МЛ	МЛ	МЛ	МЛ	МЛ	моль/г	МЛ	МЛ	МЛ	МЛ	МЛ	моль/г
3,4-Дигидроксибензойная кислота	25	15	5	5	26	1.0	22	14	4	2	26	0.9
Неохлорогеновая кислота	29	20	4	5	31	4.1	30	20	5	4	38	4.0
Хлорогеновая кислота	28	21	3	4	32	1.8	28	18	5	6	40	1.8
(–)-Эпикатехин	39	18	10	7	49	1.6	47	17	15	11	69	1.3
Рутин	95	60	18	19	121	35	98	62	18	30	158	39
Гиперозид	95	64	32	41	215	23	136	58	39	36	208	24
Изокверцитрин	124	70	27	49	218	9.0	138	58	40	32	202	7.7

**Таблица 1.** Основные сорбционные характеристики сорбентов по отношению к фенольным соединениям водного экстракта зверобоя (n = 3,  $S_r \le 0.3$ )

лены в табл. 1. "Проскок" фенольных кислот и флавоноидов на уровне 10% наблюдается после пропускания через сорбент 15-21 и 18-70 мл водного экстракта зверобоя соответственно (табл. 1). Динамические емкости обоих сорбентов по отношению к фенольным соединениям водного экстракта зверобоя, рассчитанные по формуле (1), коррелируют между собой. Расчетные данные для сорбента Supelclean ENVI-Carb составили, моль/г:  $(1.0 \pm 0.2) \times 10^{-6}$  для 3,4-дигидроксибензойной кислоты,  $(4.1 \pm 0.4) \times 10^{-6}$  для неохлорогеновой кислоты.  $(1.8 \pm 0.3) \times 10^{-6}$  для хлорогеновой кислоты,  $(1.6 \pm 0.2) \times 10^{-6}$  для (-)-эпикатехина,  $(35 \pm 4) \times 10^{-6}$ ; для рутина,  $(23 \pm 2) \times 10^{-6}$  для гиперозида и  $(9.0 \pm 1.3) \times 10^{-6}$  для изокверцитрина.

Интерпретация данных по сорбции кверцетина углеродным материалом вызывает затруднения, поскольку его ВДКС из водного экстракта зверобоя не имеет характерной для других аналитов сигмоидальной формы и характеризуется малыми значениями отношения  $c/c_0$ , что, вероятно, свидетельствует о низкой скорости массопереноса этого аналита в системе [20]. Полученную ВДКС математически сложно описать с помощью приведенных выше формул, а обсуждение сорбционных характеристик сорбента Supelclean ENVI-Carb по отношению к кверцетину требует отдельного исследования.

Десорбция фенольных компонентов с углеродных сорбентов. Основываясь на данных табл. 1, при изучении десорбции с непористого графитированного сорбента Supelclean ENVI-Carb фенольные соединения разбили на две группы: 1) фенолкарбоновые кислоты и (–)-эпикатехин; 2) флавоноиды. Такое разделение позволило минимизировать и/или исключить проскок аналитов каждой группы при пропускании водных экстрактов зверобоя через сорбент. С учетом разделения ФС на группы установили оптимальные пропускаемые объемы водных экстрактов зверобоя для исследования процесса десорбции, которые составили: для фенолкарбоновых кислот и (–)-эпикатехина – 15 мл, для флавоноидов – 60 мл.

Кривые десорбции ацетонитрилом аналитов (рис. 2) после установления сорбционного равновесия на стадии сорбции свидетельствуют о возможности десорбции подавляющей части соединений с сорбента, что, в свою очередь, подтверждает возможность разработки процедуры концентрирования аналитов с высоким коэффициентом концентрирования.

Для десорбции аналитов применяли метанол, ацетонитрил, а также их смесь с добавлением изопропилового спирта (90:5:5, по объему) (такой элюент далее обозначили как смесь МАИ). При десорбции ацетонитрилом и метанолом степень извлечения флавоноидов оказалась невысокой, а при использовании смеси МАИ данный показатель незначительно увеличивается. Для фенолкарбоновых кислот при десорбции компонентов с сорбента смесью МАИ извлекаются 7 и 22% неохлорогеновой и хлорогеновой кислот соответственно. В случае 3,4-дигидроксибензойной кислоты на хроматограмме наблюдается соэлюирование, возможно, с близким по природе, но не установленным соединением с m/z = 315 a. е. м., что может приводить к завышению степени десорбции этого аналита. Степени извлечения фенолкарбоновых кислот и флавоноидов различными растворителями с сорбента Supelclean ENVI-Carb приведены в табл. 2.

По данным [21–23] выявлено, что при использовании углеродных материалов в качестве сорбентов в хроматографических колонках на эффективность процесса элюирования компонентов заметно влияет повышение температуры и давления в экстракционной системе. Для изучения и оптимизации условий десорбции компонентов использовали экспериментальную установку для субкритической экстракции ФС из ЛРС, описанную в работе [19].



**Рис. 2.** Кривые десорбции фенольных соединений зверобоя ацетонитрилом с углеродных сорбентов Supelclean ENVI-Carb (а) и HyperSep Hypercarb (б).

Влияние давления на десорбцию фенольных веществ смесью МАИ с сорбента (на примере флавоноидов) изучали в стальной колонке. Установили, что увеличение в системе давления (9.4– 9.5 МПа) не повышает эффективность десорбции компонентов с сорбентов. Степени извлечения рутина, гиперозида, изокверцитрина и кверцетина не превысили 6%, а кверцитрина – 17%.

С другой стороны, при повышенных температурах возможно ослабление ван-дер-ваальсовых, диполь-дипольных взаимодействий и водородных связей между аналитом и материалом сорбента [24], а также снижение вязкости элюента, которое улучшает массоперенос компонентов в системе сорбент-растворитель; все это может приводить к повышению степеней извлечения целевых соединений.

С учетом полученных ранее результатов [19], подтверждающих влияние температуры на процесс десорбции соединений фенольной природы с углеродного сорбента, изучили десорбцию аналитов при 120°С метанолом, ацетонитрилом и смесью МАИ. Полученные результаты представлены в виде диаграммы на рис. 3. Как видно, степени извлечения целевых соединений метанолом и смесью МАИ с материала сорбента близки, эти

#### ТЕМЕРДАШЕВ и др.

Соединение	Ацетонитрил	Метанол	МАИ
3,4-Дигидроксибензойная кислота	$22 \pm 1$	$62 \pm 3$	86 ± 4
Неохлорогеновая кислота	$0.56\pm0.03$	$3.3\pm0.2$	$7 \pm 1$
Хлорогеновая кислота	$5.3 \pm 0.3$	$15.7 \pm 0.8$	$22 \pm 1$
(–)-Эпикатехин	$6.4 \pm 0.3$	$9.7\pm0.5$	$10.8 \pm 0.5$
Рутин	$0.67\pm0.03$	$1.13\pm0.06$	$2.42\pm0.12$
Гиперозид	$0.39\pm0.02$	$0.264\pm0.013$	$2.41\pm0.12$
Изокверцитрин	$0.239\pm0.012$	$0.53\pm0.03$	$2.60\pm0.13$
Кверцитрин	$7.4 \pm 0.4$	$7.7\pm0.4$	$25\pm 6$

Таблица 2. Степени извлечения (%) фенолкарбоновых кислот и флавоноидов различными растворителями с сорбента Supelclean ENVI-Carb

элюенты обеспечили десорбцию 35–72% аналитов. Можно предположить, что при десорбции смесью МАИ в условиях повышенных температур и давления степени извлечения фенольных компонентов из водных экстрактов ЛРС увеличиваются, а также расширяется список идентифицируемых компонентов.

Температурный режим десорбции компонентов оптимизировали в диапазоне  $90-180^{\circ}$ С для флавоноидов и  $90-150^{\circ}$ С для фенолкарбоновых кислот с шагом в  $30^{\circ}$ С. По полученным данным строили зависимости степени извлечения фенольных соединений, содержащихся в экстракте зверобоя, от температуры десорбции для флавоноидов (рис. 4a), фенолкарбоновых кислот и (—)-эпикатехина (рис. 4б) при концентрировании данных групп соединений в шесть раз.

При повышении температуры десорбции с 90 до 120°С увеличиваются степени извлечения фла-

воноидов (рис. 4а). Дальнейшее увеличение температуры десорбции не вызывает повышения эффективности извлечения данной группы соединений. Напротив, для (—)-эпикатехина и представителей фенолкарбоновых кислот при температурах десорбции выше 120°С эффективность извлечения компонентов с материала сорбента снижается (рис. 4б).

На основании полученных результатов предположили, что оптимальными условиями извлечения фенолкарбоновых кислот и флавоноидов с углеродного сорбента Supelclean ENVI-Carb является десорбция смесью МАИ при повышенном давлении и температуре 120°С.

Возможность расширения круга идентифицируемых соединений. Структура и свойства углеродных сорбентов [10, 11] позволяют предположить, что круг идентифицируемых соединений можно расширить за счет их концентрирования с ис-



**Рис. 3.** Зависимость степени извлечения флавоноидов с сорбента Supelclean ENVI-Carb от состава растворителя при 120°С.



**Рис. 4.** Зависимость степени извлечения флавоноидов (а), (–)-эпикатехина и фенолкарбоновых кислот (б) с сорбента Supelclean ENVI-Carb от температуры десорбции.

пользованием сорбента Supelclean ENVI-Carb. При изучении хроматограмм элюатов, полученных при десорбции компонентов зверобоя смесью МАИ в условиях повышенных температуры и давления, обнаружили незарегистрированные ранее в экстрактах и элюатах с других сорбентов хроматографические пики (рис. 5). Предположительно, соединение A с  $t_{\rm R} = 11$  мин и m/z = 337 a. е. м. можно отнести к 5-о, п-кумароилхинной или к 3-о, п-кумароилхинной кислотам [25-28], а соединение Б с  $t_{\rm R} = 17.5$  мин и m/z = 515 а. е. м. – изомеру дикофеилхинной кислоты [25, 29]. Данное отнесение соединений основано на сопоставлении с литературными данными, имеет предположительный характер и требует дальнейшего изучения и подтверждения.

Апробация схемы твердофазного извлечения фенольных соединений с помощью сорбента Supelclean ENVI-Carb на различных растительных объектах. С учетом полученных закономерностей отработанная схема апробирована при извлечении фенольных кислот из растительного сырья семейства Яснотковых, а именно чабреца ползучего (*Thymus serpyllum* L.) и шалфея лекарственного (Salvia officinalis L.). Получены водные экстракты этих ЛРС, которые затем использовали для сорбции аналитов на концентрирующий патрон. Десорбцию целевых соединений проводили в оптимизированных условиях. Содержание аналитов в экстракте и элюатах определяли хроматографически. Коэффициент концентрирования аналитов при этом составил 2. В табл. 3 приведены значения степеней извлечения целевых соединений



**Рис. 5.** TIC-хроматограммы исходного водного экстракта *Hypericum perforatum* L. (1) и элюата смесью метанол—ацетонитрил—изопропиловый спирт (90:5:5, по объему) с сорбента Supelclean ENVI-Carb (2).

Таблица З.	Степени извлечения (%) фенольных кислот из водных экстрактов лекарственных растений сем	ейства
Яснотковы	e(K=2)	

Соединение	Чабрец ползучий (Thymus serpyllum L.)	Шалфей лекарственный (Salvia officinalis L.)
Кофейная кислота	99 ± 10	$89 \pm 4$
Розмариновая кислота	$62\pm 6$	$71 \pm 3$
Хлорогеновая кислота	$74\pm 6$	н.о.*
Неохлорогеновая кислота	$80 \pm 4$	Н.О.

\*н.о. – соединение не обнаружено.

из водных экстрактов чабреца ползучего и шалфея лекарственного. Степень извлечения этих компонентов достаточна высока и составила для кофейной кислоты 89–99%, для розмариновой кислоты 62–71% в зависимости от растения, а также 74 и 80% для содержащихся в чабреце хлорогеновой и неохлорогеновой кислот соответственно.

Как видно из табл. 3, несмотря на различную растительную матрицу, степени извлечения фенольных соединений шалфея и чабреца достаточно близки.

Таким образом, можно сделать вывод, что углеродные сорбенты могут быть использованы для извлечения фенольных соединений из различных водных экстрактов ЛРС.

Исследования проводили при финансовой поддержке РФФИ (проект № 20-33-90045) с использованием научного оборудования ЦКП "Эколого-аналитический центр" Кубанского госуниверситета.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Zgorka G., Hajnos A. The application of solid-phase extraction and reversed phase high-performance liquid chromatography for simultaneous isolation and determination of plant flavonoids and phenolic acids // Chromatographia. 2003. V. 57. P. 77.
- Zeng H., Liu Z., Zhao S., Shu Y., Song Z., Wang C., Dong Y., Ning Z., He D., Wang M., Lu C., Liu Y., Lu A. Preparation and quantification of the total phenolic products in Citrus fruit using solid-phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography with diode array and UV detection // J. Sep. Sci. 2016. V. 39. P. 3806.
- Oniszczuka A., Podgorski R., Oniszczuk T., Zukiewicz-Sobczak W., Nowak R., Waksmundzka-Hajnos M. Extraction methods for the determination of phenolic compounds from Equisetum arvense L. herb // Ind. Crops Prod. 2014. V. 61. P. 377.
- Skrzypczak-Pietraszek E., Pietraszek J. Chemical profile and seasonal variation of phenolic acid content in bastard balm (*Melittis melissophyllum* L., Lamiaceae) // J. Pharm. Biomed. Anal. 2012. V. 66. P. 154.

- Koseoglu Yılmaz P., Kolak U. Determination of phenolic acids in *Atriplex hortensis* L. by novel solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography // Anal. Lett. 2016. V. 49. P. 2157.
- Stephen Inbaraj B., Lu H., Kao T., Chen B. Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in Lycium barbarum Linnaeus by HPLC–DAD–ESI-MS // J. Pharm. Biomed. Anal. 2010. V. 51. P. 549.
- Dvorackova E., Snoblova M., Hrdlicka P. Content of phenolic compounds in herbs used in the Czech Republic // Int. Food Res. J. 2014. V. 21. P. 1495.
- Ziakova A., Brandsteterova E. Application of different preparation techiques for extraction of phenolic antioxidants from Lemon Balm (*Melissa officinalis*) before HPLC analysis // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 2002. V. 25. P. 3017.
- Подолина Е.А., Ханина М.А., Мухин В.М., Лежнина М.Г., Кузнецова Ю.А., Небольсин А.Е. Сорбция коричной и гидроксикоричных (кофейной и хлорогеновой) кислот, таксифолина и умбеллиферона на активном угле БАУ-А // Сорбционные и хроматографические процессы. 2020. Т. 20. № 2. С. 240.
- Pereira L. Porous graphitic carbon as a stationary phase in HPLC: Theory and applications // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 2008. V. 31. P. 1687.
- 11. *Hennion M.-C.* Graphitized carbons for solid-phase extraction // J. Chromatogr. A. 2000. V. 885. P. 73.
- 12. Fontanals N., Marce R., Borrull F. Materials for solidphase extraction of organic compounds // Separations. 2019. V. 6. № 4. P. 1.
- Cserhati T. Carbon-based sorbents in chromatography. New achievements // Biomed. Chromatogr. 2009. V. 23. № 2. P. 111.
- Alothman Z.A., Wabaidur S.M. Application of carbon nanotubes in extraction and chromatographic analysis: A review // Arab. J. Chem. 2019. V. 12. № 5. P. 633.
- Ziyatdinova G., Kozlova E., Budnikov H. Poly(gallic acid)/MWNT-modified electrode for the selective and sensitive voltammetric determination of quercetin in medicinal herbs // J. Electroanal. Chem. 2018. V. 821. P. 73.
- 16. *Palma M., Pineiro Z., Barroso C.G.* In-line pressurized-fluid extraction-solid-phase extraction for determining phenolic compounds in grapes // J. Chromatogr. A. 2002. V. 968. № 1–2. P. 1.
- 17. *Bielicka-Daszkiewicz K., Voelkel A.* Theoretical and experimental methods of determination of the break-through volume of SPE sorbents // Talanta. 2009. V. 80. P. 614.
- Государственная Фармакопея Российской Федерации. М., 2018. Изд. 14. Т. 4. С. 6074.
- Милевская В.В., Статкус М.А., Темердашев З.А., Киселева Н.В., Бутыльская Т.С., Шилько Е.А. Экстракция и определение биологически активных компонентов зверобоя и препаратов на его основе //

Журн. аналит. химии. 2016. Т. 71. № 7. С. 768. (*Mi-levskaya V.V., Statkus M.A., Temerdashev Z.A., Kisele-va N.V., Butyl'skaya T.S., Shil'ko E.A.* Extraction and determination of biologically active components of st. John's wort and its pharmaceutical preparations // J. Anal. Chem. 2016. V. 71. № 7. Р. 741.)

- Шилько Е.А., Милевская В.В., Темердашев З.А., Киселева Н.В. Твердофазное концентрирование фенольных веществ из водных экстрактов лекарственного растительного сырья на примере зверобоя (*Hypericum perforatum* L.) // Аналитика и контроль. 2018. Т. 22. № 3. С. 303.
- Vial J., Hennion M.-C., Fernandez-Alba A., Aguera A. Use of porous graphitic carbon coupled with mass detection for the analysis of polar phenolic compounds by liquid chromatography // J. Chromatogr. A. 2001. V. 937. P. 21.
- Hennion M.-C., Coquart V., Guenu S., Sella C. Retention behavior of polar compounds using porous graphitic carbon with water-rich mobile phases // J. Chromatogr. A. 1995. V. 712. P. 287.
- 23. *Mockel H., Braedikow A., Melzer H., Aced G.* A comparison of the retention of homologous series and other test solutes on an ODS column and a Hypercarb carbon column // J. Liq. Chromatogr. 1991. V. 14. № 13. P. 2477.
- Richter B., Jones B., Ezzell J., Porter N. Accelerated solvent extraction: A technique for sample preparation // Anal. Chem. 1996. V. 68. P. 1033.
- Gouveia S., Castilho P. Characterisation of phenolic acid derivatives and flavonoids from different morphological parts of *Helichrysum obconicum* by a RP-HPLC– DAD-(-)-ESI-MS method // Food Chem. 2011. V. 129. P. 333.
- 26. Brolis M., Gabetta B., Fuzzati N., Pace R., Panzeri F., Peterlongo F. Identification by high-performance liquid chromatography-diode array detection-mass spectrometry and quantification by high-performance liquid chromatography-UV absorbance detection of active constituents of Hypericum perforatum // J. Chromatogr. A. 1998. V. 825. № 1. P. 9.
- Tatsis E., Boeren S., Exarchou V., Troganis A., Vervoort J., Gerothanassis I. Identification of the major constituents of Hypericum perforatum by LC/SPE/NMR and/or LC/MS // Phytochemistry. 2007. V. 68. № 3. P. 383.
- Tusevski O., Petreska Stanoeva J., Stefova M., Pavokovic D., Gadzovska Simic S. Identification and quantification of phenolic compounds in *Hypericum perforatum* L. transgenic shoots // Acta Physiol. Plant. 2014. V. 36. № 10. P. 2555.
- 29. Chandrasekara A., Shahidi F. Determination of antioxidant activity in free and hydrolyzed fractions of millet grains and characterization of their phenolic profiles by HPLC-DAD-ESI-MSn // J. Funct. Foods. 2011. V. 3. № 3. P. 144.

УДК 543.42

# МНОГОЭЛЕМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ НЕФТИ МЕТОДАМИ АЭС-ИСП И МС-ИСП С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОВОЛНОВОЙ ПРОБОПОДГОТОВКИ

# © 2021 г. О. Н. Гребнева-Балюк<sup>а, \*</sup>, И. В. Кубракова<sup>а</sup>, О. А. Тютюнник<sup>а</sup>, С. Ю. Лапшин<sup>а</sup>, Д. В. Пряжников<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук ул. Косыгина, 19, Москва, 119991 Россия

\*e-mail: grebneva@geokhi.ru Поступила в редакцию 02.03.2020 г. После доработки 02.09.2020 г. Принята к публикации 20.09.2020 г.

С целью получения детальной информации об элементном составе нефти разработаны методики АЭС-ИСП- и МС-ИСП-определения широкого круга элементов в нефти после микроволнового разложения образцов. Установлена возможность и выбраны условия микроволнового разложения образцов легкой и сверхвязкой нефти массой до 1000 мг. Исследовано влияние остаточной кислотности и остаточного углерода на формирование аналитического сигнала в АЭС-ИСП и МС-ИСП (высокое разрешение). Показана возможность АЭС-ИСП-определения 20 элементов на уровне  $n \times 10^{-2}$ — $m \times 10^2$  мкг/г и МС-ИСП-определения 42 элементов на уровне  $n \times 10^{-2}$ — $m \times 10^2$  нг/г.

**Ключевые слова**: элементный состав нефти, микроволновая пробоподготовка, атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, масс-спектрометрия (с высоким разрешением) с индуктивно связанной плазмой.

DOI: 10.31857/S004445022103004X

Данные об элементном составе природных углеводородных систем важны для фундаментальных геохимических исследований, в том числе для понимания механизмов глубинных геохимических процессов, путей переноса и накопления металлов и условий рудообразования [1]. Углеводородные системы играют важную роль в транспорте рудного вещества и формировании рудных залежей: нафтеновые, парафиновые и ароматические углеводороды, входящие в состав мантийных флюидов, устойчивы на больших глубинах (свыше 300 км) в условиях высоких температур и давлений (7000 МПа, 1000°С) и могут участвовать в совместном переносе металлов и органического вещества при минералообразовании [2]. Об этом свидетельствуют находки тяжелых углеводородов в составе газовой фазы из расплавных включений в минералах, а также выявленная пространственная сближенность и закономерная зональность в размещении нефтяных и рудных месторождений [1]. Элементный и изотопный состав углеводородных систем не менее важен для выяснения механизмов биогенного и абиогенного нефтеобразования с целью решения важнейшей геохимической проблемы происхождения нефти и газа [3].

Элементный состав нефти, в первую очередь содержание никеля и ванадия [3–5], характеризует возраст и происхождение нефти, исходные регионы и пути миграции углеводородов; эти данные используются при поиске месторождений нефти [6]. Содержание других элементов позволяет учесть важные прикладные аспекты, связанные с использованием нефти как энергетического ресурса (экологические риски при ее добыче и переработке, эффективность использования в качестве топлива), предопределяет технологию переработки, а также характер добавок, улучшающих свойства нефтепродуктов при транспортировке [7]. Таким образом, желательно, чтобы информация о составе нефти была максимально полной.

В обзорах [7, 8] отмечено, что основными методами определения следовых элементов в природных углеводородных системах являются атомно-абсорбционная спектрометрия с электротермической атомизацией, пламенная атомно-абсорбционная спектрометрия, атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) и масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП).

Перечисленные методы ориентированы на анализ жидких сред, которые могут быть получе-



**Рис. 1.** Зависимости температуры (1) и подаваемой мощности (2) от времени при разложении сверхвязкой нефти СВН (масса пробы 0.5 г).

ны путем разбавления исходного материала органическими растворителями [9–11], а также за счет образования микроэмульсий, стабилизированных поверхностно-активными веществами [12–14], или окислительным разложением органической матрицы [15]. В последнем случае применяют озоление или разложение кислотами [7]. Однако длительность всех этих операций, а также возможные потери или загрязнения, характерные для открытых систем, приводят к необходимости использования закрытых сосудов, обеспечивающих достаточно быстрое протекание процессов, например автоклавов с резистивным нагревом [16] или микроволновых (**MB**) систем.

Микроволновую пробоподготовку используют для минерализации различных углеродсодержащих объектов, включая нефти различного состава. Обычно разлагают образцы массой 100-250 мг, что обусловлено значительным давлением, которое возникает в закрытой системе при окислении органических веществ, ограничивающим возможности метода. Добавление к азотной кислоте других окислителей (пероксида водорода) может способствовать разложению, но приводит к дополнительному росту давления на начальном этапе [17-19]. Тем не менее поиск возможностей увеличения массы пробы, обеспечивающего снижение пределов определения и расширение круга аналитов, продолжается. Недавно появились работы [20, 21], в которых сообщается об увеличении массы образца нефти до 1000 мг, что позволило определить редкоземельные элементы (РЗЭ). При этом авторы использовали сложную и дорогостоящую МВсистему, состоящую из реакционной камеры с пятью негерметичными кварцевыми сосудами объемом 40 мл, давление в которой (до 40 атм) создается напуском аргона. Количественный анализ проводили с использованием квадрупольного масс-спектрометра, дооснащенного ультразвуковым распылителем. Кроме группы РЗЭ, другие элементы не определяли [21].

Снижение пределов определения при анализе нефтепродуктов возможно также за счет концентрирования [22], однако введение дополнительной стадии существенно усложняет анализ и увеличивает его продолжительность.

Цель данной работы — на основе использования новых технических возможностей серийных лабораторных MB-систем разработать условия пробоподготовки, обеспечивающие определение широкого круга элементов в различных видах нефти многоэлементными спектральными методами с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП и MC-ИСП с высоким разрешением).

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование, материалы. Бидистиллированную воду и конц. HNO<sub>3</sub> ос. ч. (Химмед, Россия) дополнительно очищали с помощью системы перегонки без кипения BSB-939-IR (Berghof, Германия).

Для MB-разложения проб использовали лабораторную систему MARS6 (СЕМ Согр., США) (максимальная выходная мощность 1800 Вт, частота 2.45 ГГц) с сосудами iPrep (объем сосуда 110 мл, максимальная температура 280°С). На рис. 1 приведены полученные нами экспериментальные данные об изменении контролируемых параметров процесса – температуры (T), мощности (P) и времени (t).

По данным производителя (www.cem.com), применение сосудов нового типа iPrep обеспечивает возможность увеличения массы проб с органической матрицей и повышает полноту окисления органики. Температуру реакционной смеси в каждом сосуде контролировали с помощью системы iWave (дистанционный температурный датчик TempGuard — Light emitting technology), которая обеспечивает контроль температурных условий в каждом сосуде, создает условия и обеспечивает полноту разложения, одинаковые для всех сосудов (стабильность заданной температуры в сосудах подтверждена экспериментально, рис. 2), а также исключает необходимость подсоединения датчиков к сосудам. Это не только удобно для организации рутинного анализа, но и позволяет в ряде случаев снизить его продолжительность при сохранении качества результатов.

Для определения элементов использовали АЭС-ИСП-спектрометр IRIS Intrepid II DUO (Thermo Electron Corp., США) с полупроводниковым CID-детектором. Спектральный диапазон прибора 165—1050 нм. Рабочие параметры, элементы и их спектральные линии приведены в табл. 1.

МС-ИСП-измерения (элементы и условия их определения приведены в табл. 2) выполняли на спектрометре высокого разрешения с двойной фокусировкой ELEMENT XR (Finnigan MAT., Германия).

Для градуировки спектрометров использовали рабочие растворы (0.1, 1.0 и 10 ppm для АЭС-ИСП и 0.1, 1.0 и 10 ppb для МС-ИСП), приготовленные из многоэлементных стандартных растворов с содержанием 100 ppm каждого элемента (High-Purity Standards, США). Рабочие растворы готовили последовательным разбавлением из стандартных растворов путем взвешивания с точностью 0.0001 г.

Остаточную кислотность конечного раствора определяли титрованием 1 М раствором NaOH в присутствии индикатора "метиловый оранжевый".

Эффективность разложения определяли по остаточной концентрации углерода в растворе методом АЭС-ИСП (С193.0 и С247.8 нм). Для градуировки спектрометра и исследования влияния углерода использовали растворы лимонной кислоты х. ч. (ЛенРеактив, Россия).

Влияние углерода на формирование аналитических сигналов при АЭС-ИСП-определении элементов исследовали на примере модельных растворов с содержанием 0.1 мкг/мл аналитов (Al, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Sn, Sr, Ti, V, Zn) и 10, 100 и 900 мкг/мл углерода; при МС-ИСП-определении – на примере растворов с содержанием 1 нг/мл аналитов (As, Be,



**Рис. 2.** Воспроизводимость температурных условий при микроволновом разложении нескольких образцов (система iWave).

Bi, Ce, Cd, Co, Cs, Dy, Fe, Ga, Ge, Gd, Eu, Er, Hf, Ho, In, K, La, Li, Lu, Mg, Mn, Nb, Nd, Ni, Pr, Rb, Sc, Se, Si, Sm, Sr, Ta, Tb, Th, Tl, Tm, U, V, W, Y, Yb, Zr) и 10, 100 и 900 мкг/мл углерода.

Внутренние стандарты не использовали, так как анализировали не более 10 растворов за один экспериментальный сеанс. Дрейф масс-спектрометра контролировали с помощью дополнительного анализа рабочих стандартных растворов до и после анализа проб.

В качестве исследуемых образцов выбрали нефти месторождений Татарстана с различной вязкостью (легкая — образец (1), сверхвязкая — образец (2)).

Для контроля правильности выбранных условий анализа использовали стандартный образец состава (**COC**) Conostan S-21 (SPC Science, Канада) с содержанием 100 мкг/г аналитов (Ag, Al, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Si, Sn, Ti, V, Zn). Для получения АЭС-ИСП-результатов методом стандартных добавок к исследуемым образцам нефти перед MB-разложением путем взвешивания делали добавки 0.03  $\pm$  0.01 или 0.25  $\pm$  0.05 г Conostan-21 с таким расчетом, чтобы общая масса навески не превышала 0.750 г.

Таблица 1. Рабочие условия АЭС-ИСП-спектрометра IRIS Intrepid II DUO

Параметр	Значение		
Мощность генератора, Вт	1150		
Скорости плазмообразующего вспомогательного и распылительного потоков соответственно, л/мин	15, 0.5 и 0.73		
Обзор плазмы	DUO (аксиальный + радиальный)		
Число параллельных измерении Длины волн определяемых элементов, нм	Al 396.1, Ba 455.4, Ca 317.9, Cd 228.8, Cr 357.8, Cu 324.7, Fe 259.9, K 766.4, Mg 285.2, Mn 257.6, Mo 202.0, Na 818.3, Ni 221.6, Ni 231.6, P 214.9, S 182.0, Sn 283.9, Sr 407.7, Ti 334.9, V 292.4, Zn 213.8		

2021

**Таблица 2.** Рабочие условия МС-ИСП-спектрометра ELEMENT XR

Параметр	Значение			
Мощность генератора, Вт	1200			
Скорости плазмообразующего вспомо-	16, 0.9 и 1.010			
гательного и распылительного потоков				
соответственно, л/мин				
Число параллельных измерений	3			
Изотопы:				
Режим "низкое разрешение" ( $R = 300$ ): <sup>7</sup> Li, <sup>9</sup> Be, <sup>45</sup> Sc				
<sup>69</sup> Ga, <sup>74</sup> Ge, <sup>77</sup> Se, <sup>85</sup> Rb, <sup>88</sup> Sr, <sup>89</sup> Y, <sup>90</sup> Zr, <sup>93</sup> Nb, <sup>114</sup> Cd, <sup>115</sup> In				
<sup>121</sup> Sb <sup>139</sup> La <sup>140</sup> Ce <sup>141</sup> Pr <sup>143</sup> Nd <sup>147</sup> Sm <sup>15</sup>	<sup>51</sup> Fu <sup>157</sup> Gd			

<sup>121</sup>Sb, <sup>139</sup>La, <sup>140</sup>Ce, <sup>141</sup>Pr, <sup>143</sup>Nd, <sup>147</sup>Sm, <sup>151</sup>Eu, <sup>157</sup>Gd,
 <sup>159</sup>Tb, <sup>161</sup>Dy, <sup>165</sup>Ho, <sup>166</sup>Er, <sup>169</sup>Tm, <sup>172</sup>Yb, <sup>175</sup>Lu, <sup>180</sup>Hf, <sup>181</sup>Ta,
 <sup>184</sup>W, <sup>208</sup>Pb, <sup>209</sup>Bi, <sup>232</sup>Th, <sup>238</sup>U

Режим "среднее разрешение" (*R* = 4000): <sup>7</sup>Li, <sup>24</sup>Mg, <sup>28</sup>Si, <sup>45</sup>Sc, <sup>51</sup>V, <sup>59</sup>Co, <sup>60</sup>Ni, <sup>63</sup>Cu, <sup>66</sup>Zn, <sup>69</sup>Ga, <sup>74</sup>Ge, <sup>75</sup>As, <sup>78</sup>Se, <sup>90</sup>Zr, <sup>93</sup>Nb, <sup>105</sup>Pd, <sup>110</sup>Cd, <sup>115</sup>In, <sup>121</sup>Sb, <sup>133</sup>Cs, <sup>180</sup>Hf, <sup>184</sup>W, <sup>205</sup>Tl, <sup>208</sup>Pb, <sup>209</sup>Bi, <sup>238</sup>U

Режим "высокое разрешение" (R = 10000): <sup>39</sup>K, <sup>75</sup>As

Выбор условий микроволнового разложения проб. Разложение проб проводили как минимум для двух одинаковых навесок анализируемых образцов. Одновременно можно выполнять разложение до 12 образцов. Перед отбором пробы образцы нагревали на водяной бане при  $\approx 80^{\circ}$ С в течение 30 мин для гомогенизации проб. Далее пробы взвешивали на аналитических весах (с точностью до 0.0001 г) непосредственно в реакционных сосудах.

В сосуд помещали 200—1000 мг образца, добавляли 10 мл конц. HNO<sub>3</sub>. Полученную смесь выдерживали в вытяжном шкафу в течение 10—15 мин во избежание резкого подъема давления в сосуде на начальной стадии разложения. После этого сосуды собирали и устанавливали в опорный модуль. Модуль размещали на поворотной карусели микроволновой печи.

Температурная программа пробоподготовки описана в табл. 3. В процессе нагрева подаваемая мощность регулируется автоматически: для 1–2 одновременно разлагаемых образцов – 400 Вт, для 3–5 образцов – 800 Вт, для 6 и более образцов – 1600 Вт (тип и количество сосудов распознаются

лабораторной системой MARS6 автоматически). Реакционные сосуды открывали по окончании программы после охлаждения до 80°С (для минимизации давления). Полученный в ходе минерализации раствор количественно переводили в объем 25–100 мл бидистиллированной водой.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами исследованы некоторые технические решения, эффективные для МВ-подготовки сложных природных объектов. В частности, изучены возможности применения сосудов EasyPrep (с частичным удалением газовой фазы) в сочетании с системой контроля температуры, включающей несколько датчиков (DuoTemp) и обеспечивающей измерение температуры одновременно во всех реакционных сосудах [23]. Показана перспективность таких систем для разложения трудновскрываемых минеральных веществ ( $T > 260^{\circ}$ C), подготовки проб к определению компонентов в виде летучих соединений, разложения в условиях частичного удаления газообразных продуктов реакции, а также одновременного разложения различных по составу и массе проб. На примере определения элементов, образующих летучие соединения (Hg, As, Se и др.), в объектах с органической матрицей установлено, что частичное удаление газовой фазы при сохранении избыточного давления в сосуде не приводит к потерям аналитов [23, 24].

Дальнейшее совершенствование MB-систем привело к появлению сосудов iPrep, предназначенных в первую очередь для разложения наиболее сложных материалов органической природы, и новой системы контроля температуры во всех сосудах iWave. Эти технические решения апробированы в данной работе на примере подготовки к ИСП-анализу различных видов нефти. С целью расширения круга определяемых элементов, в первую очередь для получения результатов по РЗЭ, которые могут служить маркерами протекания различных природных процессов, применяли метод МС-ИСП с высоким разрешением.

Выбор условий микроволнового разложения проб. Основная задача стадии подготовки пробы — обеспечить условия наиболее эффективного инструментального определения, т.е. приемлемую концентрацию определяемых элементов на фоне минимального количества мешающих компонентов.

Таблица З.	Программа	пробоподготовки
------------	-----------	-----------------

Стадия	Температура, °С	Продолжительность, мин
Набор температуры	20-240	25-35
Выдержка при заданной температуре	210, 220, 230, 240	10-20
Охлаждение	<80	15



**Рис. 3.** Зависимость остаточной кислотности от навески образца (2). T = 220°C.

Современные спектральные методы анализа, в частности АЭС-ИСП и МС-ИСП, предъявляют жесткие требования к составу вводимой пробы (содержанию солей, кислотности раствора и наличию органических соединений). Поэтому при выборе условий пробоподготовки исследовали возможность увеличения массы анализируемой пробы и контролировали параметры, которые напрямую влияют на формирование аналитического сигнала: остаточную кислотность и остаточный углерод.

При выборе параметров МВ-разложения варьировали массу образца, температуру и время МВ-нагрева на примере разложения сверхвязкой нефти как наиболее сложного объекта.

С увеличением навески образца расход кислоты увеличивается и, следовательно, остаточная кислотность снижается (рис. 3) до уровня 0.3 М при разложении 1 г, что дает возможность анализировать получаемый раствор методом АЭС-ИСП с минимальным разбавлением. Для АЭС-ИСП-определения раствор после разложения переводили в колбу емк. 25 мл. При использовании МС-ИСПспектрометра с высоким разрешением, обеспечивающего существенно более низкие пределы обнаружения элементов, можно применять гораздо бо́льшую кратность разбавления: в настоящей работе растворы после разложения разбавляли бидистиллированной водой в 50 раз.

Другим важным параметром является содержание в получаемых растворах остаточного углерода (отношение содержаний углерода до и после разложения). Результаты, полученные при температуре разложения 220°С, показывают, что с увеличением навески увеличивается содержание остаточного углерода (рис. 4). Увеличение температуры с 220 до 240°С приводит к снижению концентрации остаточного углерода.

Экспериментально показано, что образец нефти любого состава массой до 1000 мг разлагается полностью. Этому способствуют геометрия сосуда и выбранные условия МВ-разложения. Установлено, что увеличение времени подъема температуры с 25 до 35 мин и времени удерживания температуры с 10 до 20 мин практически не влияет на полноту разложения образцов легкой и сверхвязкой нефти.

В качестве "рабочей" выбрали массу нефти 500  $\pm$  100 мг, которая достаточна для определения большинства элементов; в то же время "мягкие" условия разложения (220–230°С) позволяют увеличить срок службы реакционных сосудов.

АЭС-ИСП- и МС-ИСП-определение элементов. Результаты, полученные при выборе условий МВ-разложения для последующего определения элементов в нефти с применением ИСП, показали, что в растворах после разложения нефти присутствует остаточный углерод, который может влиять на формирование аналитического сигна-



Рис. 4. Зависимость содержания остаточного углерода от навески образца (2).

Элемент, длина волны, нм	Предел определения, (ПО)*	Нефть 2	Нефть 1
Al 396.1	0.4	$8.8 \pm 0.3$	$6.5 \pm 0.2$
Ba 455.4	0.2	<ПО	<ПО
Ca 317.9	0.04	$7.8\pm0.2$	$7.1\pm0.2$
Cd 228.8	0.02	$1.10\pm0.05$	<ПО
Cr 357.8	0.04	$0.30\pm0.05$	$0.30\pm0.05$
Cu 324.7	0.02	$0.16\pm0.01$	<ПО
Fe 259.9	0.4	$9.3 \pm 0.3$	$1.6 \pm 0.1$
K 766.4	0.2	<ПО	$2.9\pm0.1$
Mg 285.2	0.02	$0.18\pm0.01$	<ПО
Mn 257.6	0.04	$0.20\pm0.02$	<ПО
Mo 202.0	0.05	$0.50\pm0.05$	<ПО
Na 818.3	1.0	$4.5\pm0.1$	<ПО
Ni 231.6	0.06	$39.0\pm0.5$	$22.8\pm0.7$
P 214.9	1.0	<ПО	<ПО
S 182.0	4.0	$40\pm1$ мг/г	$20.7\pm0.6$ мг/г
Sn 283.9	0.6	<ПО	<ПО
Sr 407.7	0.4	<ПО	<ПО
Ti 334.9	0.2	<ПО	<ПО
V 292.4	0.2	$190 \pm 5$	$65.5\pm0.5$
Zn 213.8	0.1	<по	<ПО

Таблица 4. Результаты (мкг/г) АЭС-ИСП-определение содержания следов элементов в образцах нефти методом АЭС-ИСП (*n* = 3, *P* = 0.95)

\* За предел определения в табл. 4 и 5 принимали наименьшую концентрацию на градуировочном графике, измеренную в выбранных инструментальных условиях с учетом чистоты реактивов [26].

ла, в особенности при МС-ИСП-анализе [7, 25]. Наличие органических соединений в плазме ухудшает ее характеристики, влияющие на точность результатов. В методах с применением ИСП помехи можно разделить на две группы: спектральные и неспектральные. При анализе органических растворов спектральные помехи появляются, как правило, из-за образования побочных продуктов пиролиза матрицы. Неспектральные помехи связаны, во-первых, со спецификой образования аэрозоля, содержащего органические вещества, во-вторых, с процессами транспортировки аналита в плазму (изменение количества), в-третьих, с явлениями, изменяющими тепловые характеристики плазмы.

Влияние остаточного углерода на формирование аналитического сигнала при анализе методами АЭС-ИСП и МС-ИСП изучено на модельных растворах с разными концентрациями лимонной кислоты (10, 100 и 900 мкг/мл в пересчете на углерод). Выбор лимонной кислоты основан на данных [25] об отсутствии существенных различий в отношении матричных эффектов разных углеродсодержащих матриц (глицерин, лимонная кислота, карбонат аммония). При сканировании спектрального диапазона вблизи аналитических линий определяемых элементов показано, что при АЭС-ИСП-определении присутствие углерода (в исследованных концентрациях) не влияет на базовую линию лля наиболее важных микроэлементов нефти – Ni, Fe, V. В случаях флуктуации базовой линии использовали коррекцию фона. Присутствие углерода в растворах влияет на формирование аналитического сигнала при АЭС-ИСП-определении некоторых элементов. В частности. наблюдали подавление аналитического сигнала для аналитической линии Ni 221.6 нм (примерно в 5 раз). Объяснений данному экспериментальному факту пока нет. В связи с этим аналитическую линию Ni 221.6 нм не использовали для получения количественных результатов анализа.

В табл. 4 приведены результаты АЭС-ИСПопределения элементов, в том числе полученные методом стандартных добавок с использованием COC Conostan S-21 (добавки  $0.03 \pm 0.01$  и  $0.25 \pm \pm 0.05$  г). Таким образом, показано, что метод АЭС-ИСП в сочетании с МВ-пробоподготовкой позволяет определять в нефти целевые аналиты, в первую очередь, Ni, V и Fe.

Влияние углерода на формирование аналитического сигнала при МС-ИСП-определении изу-



**Рис. 5.** Влияние углерода на интенсивность аналитического сигнала изотопов  ${}^{24}Mg^+$ ,  ${}^{60}Ni^+$ ,  ${}^{63}Cu^+$ ,  ${}^{39}K^+$  и  ${}^{66}Zn^+$  (концентрация аналитов 1 нг/мл).

чали на модельных растворах с содержанием по 1 нг/мл аналитов и 10, 100 и 900 мкг/мл углерода. Показано, что, в отличие от АЭС-ИСП, при МС-ИСП-определении наличие углерода может существенно влиять на аналитические сигналы ряда изотопов. Так, например, для  ${}^{63}$ Cu<sup>+</sup> наблюдали увеличение сигнала на 20%, для  ${}^{60}$ Ni<sup>+</sup> и  ${}^{66}$ Zn<sup>+</sup> – на 30%, для  ${}^{24}$ Mg<sup>+</sup> и  ${}^{39}$ K<sup>+</sup> – на 50% (рис. 5). Очевидно, что содержание остаточного углерода в растворах будет варьироваться при переходе от одного типа нефти к другому, а также при изменении условий разложения. В связи с этим для минимизации случайной погрешности изотопы всех элементов, для которых зафиксировано влияние углерода на формирование аналитического сигнала (подавление или увеличение) более чем на 5%, исключили из количественного анализа.

Важно отметить, что углерод практически не влияет на формирование аналитических сигналов РЗЭ — важнейших маркеров, характеризующих происхождение нефти. Это позволяет определять всю группу РЗЭ на уровне низких концентраций без предварительного концентрирования. Результаты МС-ИСП-определения элементов приведены в табл. 5.



Рис. 6. Распределение содержаний РЗЭ в образцах (1) и (2), нормализованных на хондрит С1.

	Предел					
Изотоп	определения, нг/г	Нефть 2	Нефть І			
Режим "низкое разрешение"						
<sup>9</sup> Be <sup>+</sup>	0.4	$7.5 \pm 0.5$	$5.2\pm0.5$			
<sup>69</sup> Ga <sup>+</sup>	0.2	$60 \pm 2$	$21 \pm 1$			
<sup>74</sup> Ge <sup>+</sup>	0.1	$5.3\pm0.5$	$3.1\pm0.3$			
<sup>77</sup> Se <sup>+</sup>	5.0	$55 \pm 1$	$17 \pm 1$			
<sup>85</sup> Rb <sup>+</sup>	0.4	$3.3\pm0.3$	<ПО			
$^{88}{ m Sr}^{+}$	0.04	$30 \pm 5$	$10 \pm 1$			
<sup>89</sup> Y <sup>+</sup>	0.05	$2.3\pm0.1$	$1.19\pm0.04$			
$^{90}Zr^{+}$	0.3	$20 \pm 1$	$3.3 \pm 0.1$			
<sup>93</sup> Nb <sup>+</sup>	0.4	<ПО	<ПО			
$^{115}In^{+}$	0.08	$3.9\pm0.1$	$4.33\pm0.03$			
$^{121}{\rm Sb}^{+}$	0.5	$1.50\pm0.05$	$5.3 \pm 0.5$			
<sup>139</sup> La <sup>+</sup>	0.06	$2.3\pm0.2$	$1.50\pm0.05$			
$^{140}Ce^{+}$	0.06	$2.0\pm0.1$	$1.30\pm0.01$			
$^{141}Pr^{+}$	0.02	$0.50\pm0.05$	$0.40\pm0.04$			
$^{143}\mathrm{Nd}^{+}$	0.06	$0.90\pm0.05$	$0.40\pm0.03$			
$^{147}Sm^{+}$	0.006	$0.80\pm0.05$	$0.30\pm0.05$			
<sup>151</sup> Eu <sup>+</sup>	0.005	$0.30\pm0.05$	$0.20\pm0.03$			
$^{157}Gd^+$	0.01	$0.50\pm0.05$	$0.45\pm0.05$			
<sup>159</sup> Tb <sup>+</sup>	0.002	$0.10\pm0.01$	$0.070 \pm 0.005$			
$^{161}Dy^{+}$	0.006	$0.50\pm0.03$	$0.40\pm0.01$			
<sup>165</sup> Ho <sup>+</sup>	0.002	$0.080 \pm 0.005$	$0.050 \pm 0.005$			
<sup>166</sup> Er <sup>+</sup>	0.006	$0.26\pm0.03$	<ПО			
<sup>169</sup> Tm <sup>+</sup>	0.002	<ПО	<ПО			
$^{172}Yb^{+}$	0.008	$0.20\pm0.02$	$0.10\pm0.01$			
<sup>175</sup> Lu <sup>+</sup>	0.004	$0.050 \pm 0.005$	$0.030 \pm 0.005$			
$^{180}\mathrm{Hf}^{+}$	1.0	<ПО	<ПО			
<sup>181</sup> Ta <sup>+</sup>	2.0	<ПО	<ПО			
$^{184}W^+$	8.0	<ПО	<ПО			
<sup>209</sup> Bi <sup>+</sup>	0.6	<ПО	<ПО			
$^{232}Th^{+}$	0.6	<ПО	<ПО			
$^{238}U^{+}$	0.04	$0.90\pm0.05$	$0.20\pm0.02$			
	Режим "средне	ее разрешение	"			
<sup>7</sup> Li <sup>+</sup>	9.0	<ПО	<ПО			
$^{24}Mg^+$	0.8	$10 \pm 1$	$2.5 \pm 0.2$			
$^{45}$ Sc <sup>+</sup>	0.04	$0.95 \pm 0.05$	$0.60 \pm 0.05$			
$^{55}Mn^+$	8.0	$250 \pm 10$	$85 \pm 5$			
<sup>59</sup> Co <sup>+</sup>	0.2	$28.2\pm0.7$	$28.4\pm0.2$			
$^{63}Cu^+$	1.0	$40 \pm 1$	$12 \pm 1$			
$^{66}Zn^+$	4.0	<ПО	<ПО			
$^{110}Cd^+$	0.6	$1100 \pm 100$	$3.0 \pm 0.2$			
$^{133}Cs^{+}$	0.6	<ПО	<ПО			
$^{205}Tl^{+}$	0.04	<ПО	$0.7\pm0.5$			
	Режим "высоко	ре разрешение	e"			
$^{75}As^{+}$	6.0	$70 \pm 5$	<ПО			

**Таблица 5.** Результаты (нг/г) МС-ИСП-определения ультраследов элементов в образцах нефти (*n* = 3, *P* = 0.95)

Важной геохимической характеристикой нефти является вид распределения содержаний элементов, отнесенных к их содержаниям в хондрите C1. Получаемая картина отражает не только условия формирования и особенности геологического материала, но и корректность полученных аналитических данных. Спектры распределения нормализованных к хондриту (с использованием данных работы [27]) содержаний РЗЭ для анализируемых образцов нефти представлены на рис. 6. Видно, что полученные кривые схожи с зависимостями, полученными для нефти в работах [28, 29].

Работа выполнена в рамках темы 0137-2019-0011 при поддержке РФФИ (грант 18-29-06044 мк).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Tissot B.P., Welte D.H. Petroleum Formation and Occurrence. Second Revised and Enlareed Edition. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo: Springer – Verlag, 1984. 720 p.
- 2. Буслаева Е.Ю., Новгородова М.И. Элементоорганические соединения в проблеме миграции рудного вещества. М.: Наука, 1989. 152 с.
- Пунанова С.А. Микроэлементы нафтидов в процессе онтогенеза углеводородов в связи с нефтегазоностностью. Дис. ... докт. геол.-минерал. наук. М.: Институт проблем нефти и газа РАН, 2017. 288 с.
- 4. *Barwise A.J.G.* Role of nickel and vanadium in petroleum classification // Energy Fuels. 1990. V. 4. № 6. P. 647.
- Galarraga F, Reategui K., Martinez A., Martínez M., Llamas J.F., Márquez G. V/Ni ratio as a parameter in palaeoenvironmental characterization of nonmature medium-crude oils from several Latin American basins // J. Pet. Sci. Eng. 2008. V. 61. № 4. P. 9.
- 6. *Lewan M.D.* Factors controlling the proportionality of vanadium to nickel in crude oils // Geochim. Cosmochim. Acta. 1984. V. 48. № 11. P. 2231.
- 7. Sánchez R., Todolí J.L., Lienemann C.P., Mermet J.M. Determination of trace elements in petroleum products by inductively coupled plasma techniques: A critical review // Spectrochim. Acta B. 2013. V. 88. № 1. P. 104.
- 8. *Kishore Nadkarni R.A.* Spectroscopic Analysis of Petroleum Products and Lubricants. West Conshohocken, PA, USA: ASTM Int., 2011. 640 p.
- Mora J., Todolí J.L., Sempere F.J., Canals A., Hernandis V. Determination of metals in lubricating oils by flame atomic absorption spectrometry using a single-bore high-pressure pneumatic nebulizer // Analyst. 2000. V. 125. P. 2344.
- Caumette G., Lienemann C.-P., Merdrignac I., Paucot H., Bouyssiere B., Lobinski R. Sensitivity improvement in ICP MS analysis of fuel and light petroleum matrices using a microflow nebulizer and heated spray chamber sample introduction // Talanta. 2009. V. 80. P. 1039.
- ГОСТ 34242-2017. Нефть и нефтепродукты. Определение никеля, ванадия и железа методом АЭС-ИСП. М.: Стандартинформ, 2017. 20 с.
- 12. Souza R.M.S., Meliande A.L.S., da Silveira C.L.P., Aucélio R.Q. Determination of Mo, Zn, Cd, Ti, Ni, V, Fe, Mn, Cr and Co in crude oil using inductively cou-

pled plasma optical emission spectrometry and sample introduction as detergentless microemulsions // Mi-crochem. J. 2006. V. 82. P. 137.

- 13. Santelli R.E., Oliveira E.P., de Carvalho M.F.B., Bezerra M.A., Freire A.S. Total sulfur determination in gasoline, kerosene and diesel fuel using inductively coupled plasma optical emission spectrometry after direct sample introduction as detergent emulsions // Spectrochim. Acta B. 2008. V. 63. P. 800.
- Santelli R.E., Bezerra M.A., Freire A.S., Oliveira E.P., de Carvalho M.F.B. Non-volatile vanadium determination in petroleum condensate, diesel and gasoline prepared as detergent emulsion using GF AAS // Fuel. 2008. V. 87. P. 1617.
- 15. Sugiyama I., Williams-Jones A.E. An approach to determining nickel, vanadium and other metal concentrations in crude oil // Anal. Chim. Acta. 2018. V. 1002. P. 18.
- 16. Седых Э.М., Банных Л.Н., Коробейник Г.С., Старшинова Н.П. Определение никеля и ванадия в сырых нефтях методами ЭТААС и АЭС-ИСП после автоклавной минерализации // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2010. Т. 76. № 4. С. 4.
- 17. dos Anjos S.L., Alves J.C., Rocha Soares S.A., Araujo R.G.O., de Oliveira O.M.C., Queiroz A.F.S., Ferreira S.L.C. Multivariate optimization of a procedure employing microwave-assisted digestion for the determination of nickel and vanadium in crude oil by ICP-OES // Talanta. 2018. V. 178. P. 842.
- Pereira J.S.F., Moraes D.P., Antes F.G., Diegl L.O., Santos M.F.P., Guimaraes R.C.L., Fonseca T.C.O., Dressler V.L., Flores E.M.M. Determination of metals and metalloids in light and heavy crude oil by ICP-MS after digestion by microwave-induced combustion // Microchem. J. 2010. V. 96. P. 4.
- Yang W., Casey J.F., Gao Y. A new sample preparation method for crude or fuel oils by mineralization utilizing single reaction chamber microwave for broader multielement analysis by ICP techniques // Fuel. 2017. V. 206. P. 64.
- 20. Druzian G.T., Pereira L.S.F., Mello P.A., Mesko M.F., Duarte F.A., Flores E.M.M. Rare earth element determi-

nation in heavy crude oil by USN-ICP-MS after using a microwave-assisted single reaction chamber // J. Anal. At. Spectrom. 2016. V. 31. № 6. P. 1185.

- Pereira J.S.F., Pereira L.S.F., Mello P.A., Guimarzes R.C.L., Guarnieri R.A., Fonseca T.C.O., Flores E.M.M. Microwave-induced combustion of crude oil for further rare earth elements determination by USN–ICP-MS // Anal. Chim. Acta. 2014. V. 844. P. 8.
- 22. *Марютина Т.А., Федотов П.С.* Жидкостная хроматография со свободной неподвижной фазой в элементном анализе: от нефти до особочистых веществ // Журн. аналит. химии. 2019. № 3. С. 201.
- 23. Киселева М.С., Тютюнник О.А., Никулин А.Н., Кубракова И.В. Микроволновая подготовка природных объектов с использованием новых технических решений // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2014. Т. 80. № 6. С. 7.
- 24. Тютюнник О.А., Гецина М.Л., Торопченова Е.С., Кубракова И.В. Микроволновая пробоподготовка природных объектов к атомно-абсорбционному определению ртути и других токсичных элементов // Журн. аналит. химии. 2013. Т. 68. № 5. С. 420.
- Grindlay G., Mora J., de Loos-Vollebregt M., Vanhaecke F. A Systematic study on the influence of carbon on the behavior of hard-to-ionize elements in inductively coupled plasma-mass spectrometry // Spectrochim. Acta B. 2013. V. 86. P. 42.
- 26. CITAC/EURACHEM Guide. Guide to Quality in Analytical Chemistry: An Aid to Accreditation, 2002.
- Wasson J.T., Kallemeyn G.W. Composition of chondrites // Philos. Trans. Royal Soc. A. 1988. V. 325(1587). P. 535.
- Биглов К.Ш., Иванов К.С. Геохимия нефти Зюзеевского месторождения Татарстана / Ежегодник-2008: Тр. ИГГ УрО РАН. 2009. Вып. 156. С. 12.
- Калинин Е.П. Геохимическая специфика нефти и ее природа. Обзор // Вестник института геологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. 2009. № 1. С. 6.

УДК 543.422;543.8

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕЛАМИНА МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ ДИФФУЗНОГО ОТРАЖЕНИЯ ПО ЕГО ВЛИЯНИЮ НА ФОРМИРОВАНИЕ НАНОКОМПОЗИТА ЗОЛОТА И ПЕНОПОЛИУРЕТАНА

© 2021 г. А. И. Исаченко<sup>*a*</sup>, А. О. Мелехин<sup>*a*</sup>, В. В. Апяри<sup>*a*</sup>, \*, П. А. Волков<sup>*b*</sup>, С. Г. Дмитриенко<sup>*a*</sup>

<sup>а</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет Ленинские горы, 1/3, Москва, 119991 Россия <sup>b</sup>Институт химических реактивов и особо чистых химических веществ Национального исследовательского центра "Курчатовский институт" ул. Богородский вал, 3, Москва, 107076 Россия \*e-mail: apyari@mail.ru

Поступила в редакцию 25.12.2019 г. После доработки 14.09.2020 г. Принята к публикации 21.09.2020 г.

Предложен химический способ получения нанокомпозита на основе наночастиц золота (AuHY) и пенополиуретана (ППУ). Он включает сорбцию восстановителя – борогидрида натрия на ППУ из раствора, содержащего гидроксид натрия в качестве стабилизатора и бромид цетилтриметиламмония в роли ион-парного реагента, и последующее взаимодействие модифицированного полимера с золотохлористоводородной кислотой, приводящее к образованию окрашенного нанокомпозита. Оценена возможность использования процесса формирования нанокомпозита на основе AuHY и ППУ для определения меламина в сухом молоке и заменителе сухого молока методом спектроскопии диффузного отражения. Установлено, что меламин оказывает влияние на образование данного нанокомпозита, вызывая уменьшение интенсивности полосы поверхностного плазмонного резонанса наночастиц золота в составе материала. Этот эффект предложено использовать для определения меламина методом спектроскопии диффузного отражения. Исследовано влияние времени взаимодействия, рН раствора и концентрации золотохлористоводородной кислоты на аналитический сигнал, а также мешающее влияние аминокислот при определении меламина. В выбранных условиях предел обнаружения меламина составил 0.2 мг/л.

**Ключевые слова**: наночастицы золота, пенополиуретан, нанокомпозит, меламин, спектроскопия диффузного отражения, поверхностный плазмонный резонанс. **DOI:** 10.31857/S0044450221030063

Меламин (2,4,6-триамино-1,3,5-триазин) используют в промышленном органическом синтезе для производства смол, дубителей, красителей и гербицидов. В последние годы меламин привлек к себе внимание благодаря серии широко освещаемых инцидентов, связанных с безопасностью пищевых продуктов [1, 2]. Обнаружено, что недобросовестные производители добавляли меламин, содержащий 66% азота, в продукты питания и корма для животных, чтобы имитировать высокое содержание белка — одного из важнейших показателей качества продукции, определяющих ее пищевую ценность.

Меламин не метаболизируется в организме человека и образует нерастворимые комплексы с циануровой кислотой, что приводит к образованию нерастворимых кристаллов цианурата меламина в почках [3]. Загрязнение меламином молока, молочных смесей для детского питания, яиц и других продуктов привело к появлению камней в почках у тысяч новорожденных в 2008 г. в Китае, было зарегистрировано шесть летальных случаев [4]. Выявление этой проблемы вызвало необходимость строгого контроля содержания меламина в продуктах питания. В большинстве стран, включая Россию, утверждены предельно допустимые концентрации меламина в продуктах питания, которые составляют менее 1 мг/кг [5].

Проблеме определения меламина в продуктах питания посвящен ряд обзоров [6–10] и оригинальных публикаций [11–15]. Основными методами определения меламина в продуктах питания являются газовая хроматография [11], высокоэффективная жидкостная хроматография [12, 13], в том числе с масс-спектрометрическим детектированием [6, 14], спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния [15]. Несмотря на очевидные достоинства перечисленных методов, они в большинстве случаев требуют дорогостоящего оборудования, высококвалифицированного персонала, а зачастую и сложной предварительной подготовки образца. Разработка простых, экспрессных и чувствительных методов определения меламина, не требующих применения дорогих и сложных приборов, остается актуальной задачей.

В последние годы наночастицы золота (**AuHY**) находят применение в качестве колориметрических зондов для обнаружения и определения различных веществ. Их применение в спектрофотометрии обусловлено наблюдаемым для них эффектом поверхностного плазмонного резонанса, вызывающим возникновение интенсивной полосы поглощения около 520 нм [16, 17]. С использованием AuHY разработано множество простых и чувствительных методик определения неорганических ионов и органических соединений [18, 19], включая меламин [20–30].

Для стабилизации и улучшения эксплуатационных характеристик наночастиц золота их можно иммобилизовать на различных твердых матрицах. Полученные данным способом нанокомпозиты могут выгодно отличаться по своим химикоаналитическим характеристикам от классических твердофазных хромогенных реагентов и других оптических сенсорных систем. Среди всего многообразия матриц стоит выделить пенополиуретаны (ППУ), обладающие рядом достоинств: хорошая сорбционная способность, малая плотность (0.015-0.045 г/см<sup>3</sup>), монолитность, устойчивость к термоокислительной деструкции, химическая инертность по отношению ко многим соединениям [31]. Описано использование таких нанокомпозитов для определения цистеина и других тиосоединений [32, 33]. При использовании этих твердофазных реагентов регистрация аналитического сигнала, в частности, может быть легко осуществлена с помощью таких компактных и дешевых устройств, как мини-спектрофотометры — калибраторы мониторов, сканеры, цифровые фотокамеры и т.д. [34, 35].

Цель данной работы — изучение возможности определения меламина методом спектроскопии диффузного отражения по его влиянию на формирование нанокомпозитов AuHЧ и ППУ, проявляющемуся в изменении интенсивности полосы поверхностного плазмонного резонанса AuHЧ.

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты, материалы и оборудование. Использовали меламин (99%, Acros Organics, Бельгия), борогидрид натрия (99%, Acros Organics, Бельгия), золотохлористоводородную кислоту х. ч., цетилтриметиламмония бромид (ЦТМА) х. ч., NaOH ч. д. a, HCl х. ч., трихлоруксусную кислоту ч. д. a., этанол ч. д. a., цистеин ч. д. a., тирозин ч. д. a., аланин ч. д. a., серин ч. д. a., фенилаланин ч. д. а., изолейцин ч. д. а., метионин ч. д. а., фосфорную кислоту ч. д. а., дигидрофосфат калия ч. д. а. Растворы реагентов готовили в деионизованной воде. Таблетки ППУ диаметром 16 мм, толщиной 4 мм и массой 20  $\pm$  2 мг выбивали металлическим пробойником из промышленного листа полимера. Для очистки от примесей таблетки ППУ помещали в ацетон и встряхивали в течение 10 мин, процедуру повторяли дважды, после чего их высушивали под струей воздуха. Таблетки хранили в защищенном от света месте.

Спектры диффузного отражения в видимой области регистрировали на мини-спектрофотометре – калибраторе мониторов Eye-OnePro 2 (X-Rite, США). Значения pH контролировали на иономере Эксперт 001 (ЭкониксЭксперт, Россия). Электронно-микроскопические исследования проводили с использованием сканирующего электронного микроскопа JSM 7100 F (Jeol, Япония). Деионизованную воду получали с использованием системы очистки Simplicity (Millipore, США). Использовали механический шейкер.

Техника эксперимента. Для изучения влияния меламина на образование АиНЧ на поверхности ППУ эксперимент проводили в 2 этапа (рис. 1). На первом этапе сорбшионным способом получали ППУ. модифицированный борогидридом натрия. Сорбцию осуществляли в статическом режиме. Таблетки ППУ помещали в 5 мл водного раствора, содержащего 0.01 М борогидрид натрия, 0.01 М гидроксид натрия и 0.0001 М ЦТМА, прожимали их стеклянной палочкой для удаления воздуха из пор и встряхивали на шейкере 15 мин. После этого таблетки извлекали и высушивали фильтровальной бумагой. На втором этапе свежеприготовленные таблетки ППУ, модифицированного борогидридом, помещали в 5 мл раствора золотохлористоводородной кислоты с концентрацией 20 мкг/мл по золоту, содержащего меламин. Затем таблетки тшательно прожимали стеклянной палочкой и перемешивали с раствором путем встряхивания на шейкере в течение получаса. Таблетки извлекали и высушивали фильтровальной бумагой. После этого снимали их спектры диффузного отражения и строили зависимость в координатах функция Кубелки-Мунка (F)-длина волны (нм):

$$F = \frac{\left(1-R\right)^2}{2R} = \frac{2.3c\varepsilon}{S},$$

где R — диффузное отражение при данной длине волны;  $\varepsilon$  — молярный коэффициент поглощения сорбата,  $M^{-1}$  см<sup>-1</sup>; c — его концентрация, M; S коэффициент рассеивания, см<sup>-1</sup>. О содержании AuHЧ в фазе ППУ судили по значению F при длине волны, соответствующей максимуму поглощения AuHЧ ( $\lambda_{max}$  530—540 нм).


Рис. 1. Общая схема эксперимента.

Электронная микрофотография (сканирующая электронная микроскопия) нанокомпозитов, полученных в отсутствие меламина, их спектр диффузного отражения и гистограмма распределения по размерам AuHЧ на поверхности ППУ приведены на рис. 2.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние меламина на образование нанокомпозитов наночастиц золота и пенополиуретана. В предварительных экспериментах установлено, что присутствие меламина в растворе для синтеза нанокомпозитов (на второй стадии эксперимента) приводит к уменьшению полосы поверхностного плазмонного резонанса АиНЧ (рис. 3). Меламин, вероятно, стабилизирует AuHЧ за счет координации поверхностных атомов золота наночастиц и аминогрупп меламина, что влечет за собой уменьшение степени их сорбшии на поверхности ППУ. Появление стабилизированных НЧ в растворе проявляется в возникновении слабой розовой окраски и появлении характерной полосы поглощения в спектре поглощения раствора. При увеличении концентрации меламина их доля в растворе увеличивается и одновременно уменьшается интенсивность окрашивания таблетки нанокомпозита.

Уменьшение функции Кубелки–Мунка при 540 нм ( $\Delta F$ ) связано с концентрацией меламина и может быть рассмотрено в роли аналитического сигнала при его определении методом спектроскопии диффузного отражения.

Выбор условий определения меламина. Исследовали влияние pH, времени контакта фаз и концентрации золотохлористоводородной кислоты при определении меламина по его влиянию на формирование нанокомпозитов AuHЧ и ППУ (рис. 4). Максимальный аналитический сигнал наблюдается при pH 3.5–3.7. Для поддержания заданного значения pH использован фосфатный буферный раствор на основе фосфорной кислоты и дигидрофосфата калия. Максимальный аналитический сигнал наблюдается при концентрации золотохлористоводородной кислоты 10 мкг/мл по золоту (50 мкМ) и времени контакта фаз 5–10 мин.

Оценка аналитических характеристик способа. Оценены аналитические характеристики определения меламина методом спектроскопии диффузного отражения с использованием миниспектрофотометра — калибратора мониторов. Градуировочный график в координатах  $\Delta F = f(c_{\text{меламина}}, \text{мкM})$  описывается уравнением  $\Delta F = 0.072c$  (r = 0.98,  $S_{\text{ад}}^2 = 0.015$ ) и линеен в диапазо-



**Рис. 2.** СЭМ-изображение (а), спектр диффузного отражения нанокомпозита наночастиц золота с пенополиуретаном (б) и гистограмма распределения по размерам наночастиц золота на поверхности пенополиуретана (в). Стадия 1: 0.01 M NaBH<sub>4</sub>, 0.01 M NaOH, 100 мкМ ЦТМА, t = 15 мин; стадия 2: 100 мкМ HAuCl<sub>4</sub>, t = 30 мин.

не 3-20 мкМ. Предел обнаружения составил 1.5 мкМ (0.2 мг/л).

Изучено влияние аминокислот на определение меламина предложенным способом (рис. 5). Как известно, меламин определяют в молоке и молочных продуктах, поэтому важна селективность его определения относительно соединений этого класса. Установлено, что при мольном соотношении 1 : 10 аланин, изолейцин, фенилаланин, серин и тирозин не мешают определению 15 мкМ меламина; при соотношении 1 : 100 влияние этих аминокислот существенное. Серосодержащие аминокислоты метионин и цистеин оказывают мешающее влияние уже при соотношении 1 : 10, что связано с возможностью образования прочной связи серы с золотом.

Разработанный способ апробирован при анализе сухого молока и заменителя сухого молока (табл. 1). Правильность оценивали методом введено—найдено. Сухое молоко и заменитель сухого молока растворяли в деонизованной воде, затем удаляли матричные компоненты добавлением 2.6%-ного раствора трихлоруксусной кислоты и центрифугированием. В полученный декантат добавляли фосфатный буферный раствор и использовали смесь для определения по предлагаемой схеме. Полученные результаты указывают на то, что разработанная методика характеризуется хорошей правильностью. Относительное стандартное отклонение не превышает 0.12.

\* \* \*

Таким образом, показана возможность определения меламина методом спектроскопии диф-

Объект анализа	Введено, мкМ	Найдено, мкМ (г/кг*)	Степень выделения (мера правильности), %	s <sub>r</sub>
Сухое молоко	20	$21 \pm 3$	105	0.04
Заменитель сухого молока	10	$(50 \pm 7)$ 10 ± 3 (25 ± 8)	100	0.12

**Таблица 1.** Результаты определения меламина в молоке (n = 3, P = 0.95)

\* В пересчете на массу сухого анализируемого образца.



**Рис. 3.** Спектры диффузного отражения и фотографии нанокомпозита, полученного при концентрации меламина 0 (*1*), 3 (*2*), 10 (*3*) и 20 мкМ (*4*). Стадия 1: 0.01 М NaBH<sub>4</sub>, 0.01 М NaOH, 100 мкМ ЦТМА, *t* = 15 мин; стадия 2: 50 мкМ HAuCl<sub>4</sub>, *t* = 30 мин, pH 3.7.



**Рис. 4.** Зависимость аналитического сигнала от концентрации HAuCl<sub>4</sub> (a), времени контакта фаз (б) и pH (в). Стадия 1: 0.01 M NaBH<sub>4</sub>, 0.01 M NaOH, 100 мкМ ЦТМА. Стадия 2: 15 мкМ меламин; 540 нм; 50 мкМ HAuCl<sub>4</sub> (б), (в); t = 30 мин (а), (в); pH 3.7 (а), (б).

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 3 2021



**Рис. 5.** Влияние аминокислот на определение 15 мкМ меламина. Стадия 1: 0.01 М NaBH<sub>4</sub>, 0.01 М NaOH, 100 мкМ ЦТ-МА, *t* = 15 мин; стадия 2: 15 мкМ меламин, 540 нм, 50 мкМ HAuCl<sub>4</sub>, *t* = 30 мин, pH 3.7.

фузного отражения по его влиянию на формирование нанокомпозитов AuHЧ и ППУ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 18-73-10001).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Wei Y., Liu.D. Review of melamine scandal: still a long way ahead // Toxicol. Ind. Health. 2012. V. 28. № 7. P. 579.
- Золотов. Ю.А. Детективная история о меламине // Журн. аналит. химии. 2010. Т. 65. С. 1125.
- 3. *Puschner B., Poppenga R.H., Lowenstine L.J., Filigenzi M.S., Pesavento P.A.* Assessment of melamine and cyanuric acid toxicity in cats // J. Vet. Diagn. Invest. 2007. V. 19. № 6. P. 616.
- Zhang L., Wu L.L., Wang, Y.P., Liu A.M., Zou C.C., Zhao Z.Y. Melamine contaminated milk products induced urinary tract calculi in children // World J. Pediatr. 2009. V. 5. № 1. P. 31.
- Определение меламина в молоке и молочных продуктах: Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. 16 с.
- Lin M. A review of traditional and novel detection techniques for melamine and its analogues in foods and animal feed // Front. Chem. Eng. China. 2009. V. 3. № 4. P. 427.
- Chu P.W.S., Chan K.M., Cheung S.T.C., Wong Y.-C. Review of analytical techniques used in proficiencytesting programs for melamine in animal feed and milk // Trends Anal. Chem. 2010. V. 29. № 9. P. 1014.

- 8. *Rovina K., Siddiquee S.* A review of recent advances in melamine detection techniques // J. Food Compos. Anal. 2015. V. 43. P. 25.
- Wu Y., Zhang Y. Analytical chemistry, toxicology, epidemiology and health impact assessment of melamine in infant formula: Recent progress and developments // Food Chem. Toxicol. 2013. V. 56. P. 325.
- 10. *Tittlemier S.A.* Methods for the analysis of melamine and related compounds in foods: A review // Food Addit. Contam. 2010. V. 27. № 2. P. 129.
- Lim J., Kim G., Mo C., Kim M.S., Chao K., Qin J., Fu X., Baek I., Cho B.-K. Detection of melamine in milk powders using near-infrared hyperspectral imaging combined with regression coefficient of partial least square regression model // Talanta. 2016. V. 151. P. 183.
- Faraji M., Adeli M. Sensitive determination of melamine in milk and powdered infant formula samples by high-performance liquid chromatography using dabsyl chloride derivatization followed by dispersive liquid—liquid microextraction // Food Chem. 2017. V. 221. P. 139.
- Chutrtong J., Chutrtong W. Simple method for monitoring melamine in food by ion pair chromatography // Procedia Manufacturing. 2019. V. 32. P. 1000.
- 14. *Zhao Z., Chen L., Bai B., Zhao X., Zhou C.* Liquid chromatography-mass spectrometry method for evaluating the dissipation dynamics of cyromazine and its metabolite in Agaricus bisporus and dietary risk assessment // Environ. Sci. Pollut. R. 2018. V. 25. № 3. P. 2285.
- 15. Lin M., He L., Awika J., Yang L., Ledoux D.R., Li H. Detection of melamine in gluten, chicken feed, and processed foods using surface enhanced Raman spectroscopy and HPLC // J. Food Sci. 2008. V. 73. № 8. P. 129.

16. Amendola V., Pilot R., Frasconi M., Maragò O.M., Iatì M.A. Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: A review // J. Phys.: Condens. Matter. 2017. V. 29. № 20. Article 203002.

https://doi.org/10.1088/1361-648X/aa60f3

- 17. Ghosh S.K. Pal T. Interparticle coupling effect on the surface plasmon resonance of gold nanoparticles: from theory to applications // Chem. Rev. 2007. V. 107. № 11. P. 4797.
- 18. Апяри В.В., Архипова В.В., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. Применение наночастиц золота в спектрофотометрии // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69. № 1. C. 4. (Apyari V.V., Arkhipova V.V., Dmitrienko S.G., Zolotov Yu.A. Using gold nanoparticles in spectrophotometry // J. Anal. Chem. 2014. V. 69. № 1. P. 1.)
- 19. Апяри В.В., Дмитриенко С.Г., Горбунова М.В., Фурлетов А.А., Золотов Ю.А. Наночастицы золота и серебра в методах оптической молекулярной абсорбционной спектроскопии // Журн. аналит. химии. 2019. T. 74. № 1. C. 26. (Apyari V.V., Dmitrienko S.G., Gorbunova M.V., Furletov A.A., Zolotov Y.A. Gold and silver nanoparticles in optical molecular absorption spectroscopy // J. Anal. Chem. 2019. V. 74. № 1. P. 21.)
- 20. Ai K.L., Liu Y.L., Lu L.H. Hydrogen-bonding recognition-induced color change of gold nanoparticles for visual detection of melamine in raw milk and infant formula // J. Am. Chem. Soc. 2009. V. 131. № 27. P. 9496.
- 21. Kuang H., Chen W., Yan W.J., Xu L.G., Zhu Y.Y., Liu L.Q. Crown ether assembly of gold nanoparticles: Melamine sensor // Biosens. Bioelectron. 2011. V. 26. № 5. P. 2032.
- 22. Ping H., Zhang M., Li H., Li S., Chen Q., Sun C., Zhang T. Visual detection of melamine in raw milk by label-free silver nanoparticles // Food Control. 2012. V. 23. № 1. P. 191.
- 23. Cao Q.A., Zhao H., He Y. J., Li X.J., Zeng L.X., Ding N. Hydrogen-bonding-induced colorimetric detection of melamine by nonaggregation-based Au-NPs as a probe // Biosens. Bioelectron. 2010. V. 25. № 12. P. 2680.
- 24. Wu Z., Zhao H., Xue Y., Cao Q., Yang J., He Y., Li X., Yuan Z. Colorimetric detection of melamine during the formation of gold nanoparticles // Biosens. Bioelectron. 2011. V. 26. № 5. P. 2574.
- 25. Chi H., Liu B.H., Guan G.J., Zhang Z.P., Han M.Y. A simple, reliable and sensitive colorimetric visualization of melamine in milk by unmodified gold nanoparticles // Analyst. 2010. V. 135. № 5. P. 1070.

- 26. Kumar N., Seth R., Kumar H. Colorimetric detection of melamine in milk by citrate-stabilized gold nanoparticles // Anal. Biochem. 2014. V.45. № 1. P. 643.
- 27. Qi W.J., Wu D., Ling J., Huang C.Z. Visual and light scattering spectrometric detections of melamine with polythymine-stabilized gold nanoparticles through specific triple hydrogen-bonding recognition // Chem. Commun. 2010. V. 46. № 27. P. 4893.
- 28. Roy B., Saha A., Nandi A.K. Melamine sensing through riboflavin stabilized gold nanoparticles // Analyst. 2011. V. 136. № 1. P. 67.
- 29. Nie B., Luo Y., Shi J., Gao L., Duan G. Bowl-like pore array made of hollow Au/Ag alloy nanoparticles for SERS detection of melamine in solid milk powder // Sens. Actuators B. 2019. V. 301. Article 127087. https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127087
- 30. Chen X.-Y., Ha W., Shi Y.-P. Sensitive colorimetric detection of melamine in processed raw milk using asymmetrically PEGylated gold nanoparticles // Talanta. 2019. V. 194. P. 475.
- 31. Дмитриенко С.Г., Апяри В.В. Пенополиуретаны. Сорбционные свойства и применение в химическом анализе. М.: Красанд, 2010. 264 с.
- 32. Apvari V.V., Arkhipova V.V., Isachenko A.I., Volkov P.A., Dmitrienko S.G., Torocheshnikova I.I. Label-free gold nanoparticle-based sensing of cysteine: new peculiarities and prospects // Sens. Actuators B. 2018. V. 260. P. 953.
- 33. Apyari V.V., Arkhipova V.V., Gorbunova M.V., Volkov P.A., Isachenko A.I., Dmitrienko S.G., Zolotov Yu.A. Towards the development of solid-state platform optical sensors: Aggregation of gold nanoparticles on polyurethane foam // Talanta. 2016. V. 161. P. 780.
- 34. Апяри В.В., Горбунова М.В., Исаченко А.И., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. Использование бытовых цветорегистрирующих устройств в количественном химическом анализе // Журн. аналит. химии. 2017. T. 72. № 11. C. 963. (Apyari V.V., Gorbunova M.V., Isachenko A.I., Dmitrienko S.G., Zolotov Y.A. Use of household color-recording devices in quantitative chemical analysis // J. Anal. Chem.. 2017. V. 72. № 11. P. 1127.)
- 35. Моногарова О.В., Осколок К.В., Апяри В.В. Цветометрия в химическом анализе // Журн. аналит. химии. 2018. Т. 73. № 11. С. 857. (Monogarova O.V., Oskolok K.V., Apyari V.V. Colorimetry in chemical analysis // J. Anal. Chem. 2018. V. 73. № 11. P. 1076.)

#### — ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ —

УДК 543.42.062:543.422.7:675.043.42

# МИКРОЭКСТРАКЦИОННО-ЦВЕТОМЕТРИЧЕСКОЕ (ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОЕ) ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАТИОННЫХ И АНИОННЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

© 2021 г. В. Г. Амелин<sup>а, b, \*</sup>, З. А. Ч. Шаока<sup>а</sup>, Д. С. Большаков<sup>b</sup>

<sup>а</sup> Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых

ул. Горького, 87, Владимир, 600000 Россия <sup>b</sup>Федеральный центр охраны здоровья животных мкр. Юрьевец, Владимир, 600901 Россия \*e-mail: amelinvg@mail.ru Поступила в редакцию 30.07.2020 г. После доработки 21.08.2020 г. Принята к публикации 01.09.2020 г.

Предложен способ определения катионных и анионных поверхностно-активных веществ (ПАВ) в пищевых продуктах, основанный на применении дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции ассоциатов ПАВ с органическими реагентами (эозин и акридиновый желтый) и измерении цветометрических параметров флуоресценции экстрактов с помощью смартфона. При облучении ультрафиолетовым светом (365 нм) экстрактов ассоциатов анионное ПАВ–акридиновый желтый и катионное ПАВ–эозин наблюдается зеленая и желтая флуоресценция соответственно. В качестве аналитического сигнала (*A*<sub>r</sub>) использовали значения цветометрических параметров в си-

стеме RGB:  $A_r = \sqrt{(R_0 - R_x)^3 + (G_0 - G_x)^2 + (B_0 - B_x)^2}$ . Разработаны методики определения суммарного содержания ПАВ в пищевых продуктах (молоко, овощи и фрукты, мясо, питьевая вода) на примере хлоридов цетилпиридиния, миристалкония, бензалкония, дидецилдиметиламмония, алкилдиметил(этилбензил)аммония, додецилсульфата и алкилбензолсульфоната натрия. Пределы обнаружения и определения находятся в диапазонах 0.005–0.05 и 0.01–0.1 мг/л соответственно. Градуировочные графики линейны в диапазоне концентраций 0.01–1 мг/л с коэффициентами достоверности аппроксимации ≥0.99. Продолжительность анализа 20–30 мин, относительное стандартное отклонение рузультатов анализа не превышает 0.24.

Ключевые слова: цифровая цветометрия, флуориметрия, смартфон, RGB, дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция, катионные и анионные ПАВ, пищевые продукты. DOI: 10.31857/S0044450221030038

В аналитической химии пищевых продуктов значительное внимание уделяется хроматографическим методам анализа с различными вариантами детектирования. Это можно объяснить универсальностью данных методов, точностью, эффективностью разделения многокомпонентных смесей и стабильностью работы оборудования. С другой стороны, существует острая необходимость развития экспрессных и доступных методов, реализация которых не требует наличия дорогостоящего оборудования. Здесь следует выделить цветометрические методы анализа. Существенный интерес к цифровой цветометрии обусловлен возможностью использования в качестве цветорегистрирующей техники бытовых цифровых оптических устройств. которые не относятся к специализированным средствам измерения [1-4]. Техническая простота, экспрессность, достаточно высокие чувствительность и точность в значительной степени определили тенденции развития данного направления в целях оценки качества и безопасности продуктов питания.

Особое место в пищевом анализе занимает проблема определения поверхностно-активных веществ, которые могут попасть в продукты питания различными способами. Анионные поверхностно-активные вещества (АПАВ) могут оказаться в молоке в результате нетщательного отмывания доильных аппаратов и тары для перевозки молока от моющих средств. В качестве моющих средств применяют многокомпонентные растворы, большинство из которых содержит додецилсульфат и алкилбензолсульфонаты натрия. При производстве некоторых видов молочной продукции длительных сроков хранения, а также заменителей молочных продуктов АПАВ используют с целью фальсификации, в качестве стабилизаторов эмульсий для сохранения консистенции, обеспечения требуемой вязкости и полноты вкуса [5].

Способность ПАВ проявлять влагопоглощающие свойства объясняет их присутствие в мясной продукции и птице. В основном они попадают туда на стадии упаковки при поверхностной обработке продукта влагоудерживающими компонентами и эмульсиями антиоксидантов. Фрукты и овощи, особенно импортируемые, при хранении и перевозке многократно обрабатываются распыляемыми эмульсиями, стабилизированными ПАВ, с целью гарантированной защиты от увядания и усыхания, предотвращения поражений грибковыми заболеваниями и повреждения товарного вида насекомыми. Хлориды цетилпиридиния, миристалкония, бензалкония, дидецилдиметиламмония, алкилдиметил(этилбензил)аммония обладают бактерицидными свойствами и используются для обработки овощей, фруктов и мяса [6].

Для определения катионных и анионных ПАВ в пищевых продуктах используют в основном три группы методов: хромато-масс-спектрометрию, спектрофотометрию и цветометрию. Первый метод применяют для определения и идентификации конкретных ПАВ, второй и третий — для определения суммарного содержания ПАВ.

В работе [7] описано определение линейного додецилбензолсульфоната натрия в молоке методом ультра высокоэффективной жидкостной хроматографии (УВЭЖХ) с квадруполь-времяпролетным масс-спектрометрическим (МС) детектированием в диапазоне концентраций 24-240 мкг/л. Идентификация АПАВ проведена методом "отпечатков пальцев" по масс-хроматограммам экстракта молока с добавкой и без добавки АПАВ. Хлориды бензалкония (С10, С12, С14, С16), дидецилдиметиламмония, бензэтония в апельсинах и огурцах предложено определять с использованием экстракции QuEChERS и последующего анализа методом УВЭЖХ-МС/МС [8]. Диапазон определяемых содержаний составил 0.01-0.15 мг/кг. В работе [9] с использованием пробоподготовки QuEChERS определяли хлориды бензалкония (С12, С14, С16), дидецилдиметиламмония и додецилтриметиламмония в диапазоне концентраций 0.2-50 мкг/л методом УВЭЖХ-МС/МС. Хлориды бензалкония (С8,10,12,14,16) и диалкилдиметиламмония (С10,12,14,16,18) определяли в козьем молоке в диапазоне 5-150 мкг/кг методом ВЭЖХ-МС/МС [10]. Экстрагировали ПАВ из пробы во всех случаях ацетонитрилом, очистку экстракта проводили насыпными сорбентами

PSA (смесь первичных и вторичных аминов) и сульфатом магния [7–10].

Для определения остаточных количеств хлорида цетилпиридиния в мясе кур и продуктах его переработки разработана методика [6], основанная на использовании метода ВЭЖХ с ультрафиолетовым детектированием при длине волны 260 нм после водно-спиртовой экстракции аналита из анализируемых проб и обезжиривания экстракта гексаном. Диапазон определяемых содержаний катинного ПАВ (КПАВ) составил 0.08— 5 мг/кг.

Спектрофотометрический и цветометрический методы определения ПАВ основаны на образовании ионных ассоциатов ПАВ—анионный (катионный) краситель, экстракции нейтральной ионной пары и последующем определении спектрофотометрических (флуориметрических [11]) и цветометрических (флуориметрических [11]) и цветометрических характеристик экстракта. В качестве красителей используют акридиновый желтый, эозин, азур А, патентованный голубой V, метиленовый синий [11—15]. Методы применены для определения ПАВ в питьевой воде и молоке.

Для количественной оценки содержания КПАВ и АПАВ в питьевой и природной водах установлен ряд стандартизованных методик [11]. Для извлечения соответствующих ионных ассоциатов ПАВ с органическими красителями используют жидкостно-жидкостную экстракцию хлороформом. В случае применения спектрофотометрического метода для определения АПАВ с метиленовым синим экстракты дополнительно обрабатывают кислотой для устранения мешающего влияния компонентов матрицы.

Среди недостатков хроматографических, спектрофотометрических и флуориметрических методов определения ПАВ в воде и пищевых продуктах следует выделить не только значительную стоимость аппаратурного обеспечения, но и необходимость использования больших количеств высокочистых и, как правило, токсичных веществ и растворителей.

Совершенствование экологичных подходов к определению ПАВ в практике испытательных и контрольных лабораторий возможно с внедрением методов жидкостной микроэкстракции и определения цветометрических характеристик экстракта с помощью смартфона [14, 15]. Для определения додецилсульфата в питьевой воде в диапазоне 10— 70 мкг/л предложена дисперсионная жидкостножидкостная микроэкстракция (ДЖЖМЭ) 250 мкл смеси хлороформ—ацетонитрил (2 : 3, по объему) ионного ассоциата с метиленовым синим. Предел обнаружения составил 2.6 мкг/л [14]. При опреде-



**Рис. 1.** Установка для измерения цветометрических (флуориметрических) характеристик экстрактов: *1* – источник УФ-излучения, *2* – пробирка с экстрактом, *3* – смартфон, *4* – бокс из полипропилена (10 × 10 × 10 см).

лении додецилсульфата натрия (ДДС) в синтетическом молоке для экстракции ассоциата ПАВ с метиленовым синим использовали 150 мкл хлороформа [15]. Диапазон линейности градуировочного графика 10–50 мг/л, предел обнаружения ДДС 2.2 мг/л.

Цель настоящей работы состояла в разработке способа микроэкстракционно-цветометрического (флуориметрического) определения катионных и анионных поверхностно-активных веществ в пищевых продуктах после извлечения и концентрирования аналитов в виде ассоциатов с органическими красителями путем дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции и последующей регистрации цветометрических характеристик люминесценции с помощью смартфона.

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Аппаратура и материалы. Для изучения оптических и цветометрических характеристик подготовленных экстрактов в качестве цветорегистрирующего устройства использовали смартфон iPhone X (Apple, США), оснащенный специализированным программным продуктом RGBer. Возбуждение флуоресценции проводили с помощью источника монохроматического излучения с длиной волны 365 нм Jialitte F114 5W 365NM UV (Shenzhen Jialite Technology Co., Китай).

В работе применяли аналитические весы Ріоneer PA 214С специального класса точности с пределом взвешивания 0.1 мг (Ohaus Corporation, USA), лабораторную настольную центрифугу Jouan BBVV (Thermo Scientific, Франция), дозаторы Proline Biohit 1-канальные механические переменного объема 10–100, 100–1000, 1000–5000 мкл (Віоhit, Финляндия), микрошприцы объемом 10, 100 и 500 мкл (Hamilton Company, Япония), политетрафторэтиленовые мембранные фильтры 25 мм диаметром пор 0.45 мкм (Pall Corporation, США), пробирки полипропиленовые емк. 15 мл (SPL Life Sciences Co., Корея), пробирки типа "Эппендорф" емк. 2.0 мл (GenFollower Biotech Co., Китай).

Реактивы. Использовали стандартные образцы хлоридов цетилпиридиния (ЦП), миристалкония, бензалкония, дидецилдиметиламмония, алкилдиметил(этилбензил)аммония, додецилсульфата натрия и сульфонола (98–100%, Sigma-Aldrich, США). Основные стандартные растворы с концентрацией 1 мг/мл готовили растворением точной навески препарата в деионизированной воде (не менее 18 МОм · см, ОСТ 11 029.003-80). Рабочие стандартные растворы готовили последовательным разбавлением основных стандартных растворов деионизированной водой.

Использовали ацетонитрил (99.9%, Scharlab S.L., Испания), метанол (PA-ACS-ISO, Panreac, EC), этилендиаминтетраацетат натрия (ЭДТА) (99%, ХИММЕД, Россия), трихлорметан (99.85%, Компонент-Реактив, Россия), этиловый спирт (х. ч., ХИММЕД, Россия), ацетон (99%, WarChem, Польша), хлорид натрия (х. ч., ХИММЕД, Россия), акридиновый желтый (ч. д. а., Союзхимпром, Россия), эозин (ч. д. а., Ленреактив, Россия), соляную кислоту (стандарт-титр, НПИИП Уралхиминвест), тетраборат натрия (99.5%, Sigma-Aldrich, США).

Схема установки. Для измерения цветометрических характеристик экстрактов ассоциатов использовали установку, представленную на рис. 1. Пробирку с экстрактом после микроэкстракционного концентрирования помещали в штатив, облучали ультрафиолетовым излучением (365 нм). С помощью смартфона iPhone X наводили фокус на экстракт, делали снимок и с применением программного продукта RGBer определяли цветометрические характеристики экстракта.

Аналитический сигнал  $(A_r)$  в системе RGB рассчитывали по формуле:

$$A_{\rm r} = \sqrt{(R_0 - R_x)^2 + (G_0 - G_x)^2 + (B_0 - B_x)^2},$$

где  $R_0$ ,  $G_0$ ,  $B_0$ ,  $R_x$ ,  $G_x$ ,  $B_x$  – цифровые значения интенсивностей красного, зеленого, синего цветов холостой и анализируемой пробы соответственно.

Пробоподготовка. Твердые продукты (мясо, фрукты), молоко. Навеску пробы массой 1.00 г помещали в пробирку емк. 15 мл, добавляли 1 мл этилового спирта, 9 мл деионизированной воды, встряхивали в течение 5 мин и центрифугировали 5 мин при 5000 об/мин. Отбирали 1 мл полученного экстракта в пробирку емк. 15 мл, добавляли 100 мкл 0.05%-ного раствора красителя, 100 мкл 2%-ного раствора тетрабората натрия (для системы хлорид цетилпиридиния—эозин) или 1 М HCl (для системы додецилсульфат натрия-акридиновый желтый), 100 мкл 10%-ного раствора NaCl (для системы хлорид цетилпиридиния-эозин), 100 мкл раствора ЭДТА (10 мг/л). Смесь перемешивали, объем доводили до 10 мл деионизированной водой. С помощью шприца в подготовленную пробу впрыскивали 500 мкл экстрагирующей смеси. Смесь тщательно встряхивали, затем центрифугировали в течение 5 мин при 5000 об/мин.

Вода. Профильтрованную через мембранный фильтр пробу воды объемом 10 мл помещали в пробирку емк. 15 мл, приливали 100 мкл 0.05%-ного раствора красителя, 100 мкл 2%-ного раствора тетрабората натрия (для системы цетилпиридинийэозин) или 1 M HCl (для системы додецилсульфат-акридиновый желтый), 100 мкл 10%-ного раствора NaCl (для системы цетилпиридинийэозин), 100 мкл ЭДТА (10 мг/л). Смесь перемешивали, затем с помощью шприца в подготовленную пробу впрыскивали 500 мкл экстрагирующей смеси. Смесь тщательно встряхивали, затем центрифугировали в течение 5 мин при 5000 об/мин. С помощью смартфона измеряли цветометрические характеристики экстрактов. Концентрацию определяли методом градуировочного графика.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор условий дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции. Выбор экстрагента. В

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 3 2021

качестве экстрагирующего растворителя в работе опробовали хлороформ, четыреххлористый углерод и хлористый метилен. Диспергирование проводили ацетонитрилом. Установлено, что проведение микроэкстракции различными растворителями обеспечивает близкие значения сигнала флуоресценции ассоциатов ДДС—акридиновый желтый и ЦП—эозин (рис. 2а). В дальнейших исследованиях использовали систему хлороформ ацетонитрил как наиболее часто встречающуюся.

Выбор объема экстрагента. Для оптимизации объема экстрагирующего растворителя в качестве смеси для проведения дисперсионной микроэкстракции использовали комбинацию экстрагента СНСl<sub>3</sub> и диспергирующего растворителя СН<sub>3</sub>СN. Для приготовления рабочих смесей в пробирку типа "Эппендорф" дозатором вносили 100, 200, 400 и 600 мкл хлороформа, объем до 1000 мкл доводили ацетонитрилом, затем смесь тшательно перемешивали. Полученные растворы объемом 500 мкл вводили с помощью шприца в рабочие пробы природной воды объемом 10 мл. содержащие 0 и 0.5 мг/л ПАВ. Затем измеряли цветометрические параметры экстрактов ассоциатов с помощью смартфона и рассчитывали аналитический сигнал  $A_{\rm r}$ . Как показано на рис. 26, максимальное значение аналитического сигнала флуоресценции можно наблюдать при проведении микроэкстракционного концентрирования в присутствии 100 мкл экстрагента CHCl<sub>3</sub>.

Выбор диспергирующего растворителя. В качестве диспергирующего растворителя испытали этанол, ацетонитрил, ацетон и метанол. Для этого в пробирки емк. 15 мл вносили 800 мкл этанола, ацетона, метанола и ацетонитрила, добавляли в каждую из них 200 мкл хлороформа, смесь тщательно перемешивали. Полученные растворы объемом 500 мкл вводили с помощью шприца в рабочие пробы природной воды объемом 10 мл, содержащие 0 и 0.5 мг/л ПАВ. Лучшие результаты (близкие значения аналитического сигнала флуоресценции) получены для метанола и ацетонитрила (рис. 2в). Учитывая меньшую токсичность ацетонитрила, дальнейшие исследования проводили с этим диспергирующим растворителем.

Выбор объема диспергирующего растворителя. В пробирки типа "Эппендорф" вносили 100 мкл CHCl<sub>3</sub> и 200, 400, 600, 800 мкл CH<sub>3</sub>CN. Полученные растворы вводили с помощью шприца в рабочие пробы природной воды объемом 10 мл, содержащие 0 и 0.5 мг/л ПАВ. Установлено, что при объеме CH<sub>3</sub>CN 600 и 800 мкл не происходит разделение смеси и выполнить измерения при данном объеме диспергирующего растворителя невозможно ( $A_r < 5$ ). Максимальное значение аналитического сигнала достигнуто в случае проведения ДЖЖМЭ при объеме диспергирующего растворителя





**Рис. 2.** Выбор условий дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции ассоциатов ДДС–акридиновый желтый (черный), ЦП–эозин (серый): экстрагента (а), объема экстрагента (б), диспергирующего растворителя (в), объема диспергирующего растворителя (г), ионной силы раствора (д), объемов 1 М HCl (черный) и 2%-ного раствора тетрабората натрия (серый) (е).

CH<sub>3</sub>CN 400 мкл и экстрагирующего растворителя CHCl<sub>3</sub> 100 мкл (рис. 2г).

Влияние ионной силы исследовали добавлением 1–10% (мас./об.) NaCl к анализируемой пробе. Для системы ДДС–акридиновый желтый установлено, что внесение хлорида натрия в анализируемый раствор не изменяет значение аналитического сигнала. Для системы ЦП–эозин максимальное значение флуоресценции экстракта наблюдали при внесении в анализируемую систему 2% (мас./об.) раствора хлорида натрия (рис. 2д).

Влияние кислоты и тетрабората натрия. Образование ассоциатов ДДС–акридиновый желтый протекает в кислой среде, ЦП–эозин – в щелочной. Максимальное значение  $A_r$  наблюдали при добавлении в 10 мл раствора пробы 100 мкл 1 М НСІ или 2%-ного раствора тетрабората натрия (рис. 2е). Влияние концентрации красителя. При малой концентрации красителя ассоциаты с ПАВ практически не образуются, и аналитический сигнал равен нулю, а при высокой концентрации красителя наблюдается тушение люминесценции и иные отклонения от линейности. В данной работе оптимизировали концентрацию используемых красителей, которая при выбранных параметрах ДЖЖМЭ составила 100 мкл 0.05%-ного раствора.

Таким образом, оптимальные условия ДЖЖМЭ: экстрагирующая смесь 500 мкл смеси хлороформ—ацетонитрил (1 : 4, по объему), 100 мкл 0.05%-ного раствора красителя и 100 мкл 1 М HCl (для системы ДДС—акридиновый желтый) или 100 мкл 2%-ного раствора тетрабората натрия, 100 мкл 10%-ного раствора хлорида натрия (для системы ЦП—эозин).

Определение анионных ПАВ. Сущность предлагаемого в работе подхода заключается в образовании ионных ассоциатов катионного красителя акридинового желтого с АПАВ, последующей микроэкстракции полученных ассоциатов хлороформом (при диспергировании ацетонитрилом). установлении флуориметрических характеристик полученного экстракта с помощью смартфона и определении концентрации АПАВ по градуировочному графику. При образовании ассоциата анионы додецилсульфата или другого АПАВ взаимодействуют с протонированными в кислой среде аминогруппами акридинового желтого (схема 1). Полученный таким образом нейтральный ассоциат экстрагируется в процессе ДДЖМЭ хлороформом. При облучении ультрафиолетовым светом (365 нм) экстракт ассоциата флуоресцирует зеленым пветом.



Схема 1. Образование ионного ассоциата аниона додецилсульфата и протонированной формы акридиного желтого.

Для построения градуировочного графика готовили ряд стандартных растворов с концентрацией додецилсульфата натрия от 0.05 до 0.8 мг/л. Проводили микроэкстракционное концентрирование и измеряли цветометрические (флуориметрические) характеристики полученных экстрактов в системе RGB с УФ-облучением и без него. Канал G при использовании УФ-излучения не учитывали, так как при данных концентрациях наблюдали его максимальное значение (255). Градуировочные графики в выбранном диапазоне концентраций нелинейны и аппроксимируются логарифмической зависимостью (рис. 3). Установлено, что чувствительность определения повышается в несколько раз при измерении флуоресценции и градуировочный график линеен в диапазоне 0.01–0.20 мг/л (табл. 1).

Определение катионных ПАВ. Определение основано на образовании ионных ассоциатов анионного красителя эозина с КПАВ. При образовании ассоциата катион цетилпиридиния взаимодействует с окси- и карбоксигруппами эозина (схема 2). Нейтральный ассоциат экстрагируется хлороформом в результате ДЖЖМЭ. При УФоблучении (365 нм) экстракт флуоресцирует желтым цветом.



Схема 2. Образование ионного ассоциата катиона цетилпиридия и эозина.



**Рис. 3.** Градуировочный график для микроэкстракционно-цветометрического (флуориметрического) определения додецилсульфата натрия с УФ-облучением (*1*) и без облучения (*2*).

Для построения градуировочного графика готовили ряд стандартных растворов хлорида цетилпиридиния в диапазоне концентраций от 0.05 до 1 мг/л. Проводили микроэкстракционное концентрирование и измеряли флуориметрические характеристики полученных экстрактов в системе RGB (табл. 1).

Аналитические характеристики определения ПАВ. В табл. 1 представлены аналитические характеристики методики определения катионных и анионных ПАВ. Пределы обнаружения ( $c_{\text{мин}}$ ) и определения ( $c_{\text{н}}$ ) оценивали как концентрацию ПАВ, при которой значение аналитического сиг-

нала превышает фоновый (для дистиллированной воды  $A_r = 1$ ) в 2 и 5 раз соответственно. Предлагаемая методика характеризуется наибольшей чувствительностью по отношению к додецилсульфату натрия ( $c_{\text{мин}} = 0.005 \text{ мг/л}$ ), хлориду цетилпиридиния и сульфонолу ( $c_{\text{мин}} = 0.01 \text{ мг/л}$ ). Градуировочные графики линейны с коэффициентами достоверности аппроксимации  $\geq 0.99$ .

Определение ПАВ в продуктах питания. Разработанную методику использовали для определения ПАВ в овощах, фруктах, мясе птице и молочной продукции. Ионы металлов, присутствующие в продуктах, могут мешать определению ПАВ. Для

ПАВ	Реагент	с <sub>мин</sub> , мг/л	с <sub>н</sub> , мг/л	ДОС, мг/л	Уравнение градуировочного графика	$R^2$
Додецисульфат натрия	Акридиновый желтый	0.005	0.01	0.01-0.8	$A_{\rm r} = 321.68c + 2.76$	0.9907
Сульфонол	Акридиновый желтый	0.01	0.05	0.05-0.4	$A_{\rm r} = 180.17c + 13.21$	0.9937
Цетилпиридиния хлорид	Эозин	0.01	0.05	0.05-1	$A_{\rm r} = 79.18c - 1.64$	0.9900
Миристалкония хлорид	Эозин	0.02	0.06	0.06-1	$A_{\rm r} = 1.59c + 14.86$	0.9914
Бензалкония хлорид	Эозин	0.05	0.1	0.1-1	$A_{\rm r} = 9.36c + 2.85$	0.9953
Дидецилдиметиламмо- ния хлорид	Эозин	0.02	0.05	0.05-1	$A_{\rm r} = 121.52c - 1.04$	0.9855
Алкилдиметил (этилбен- зил)аммония хлорид	Эозин	0.02	0.1	0.1-0.8	$A_{\rm r} = 70.80c - 0.92$	0.9913

Таблица 1. Аналитические характеристики микроэкстракционно-флуориметрического определения ПАВ

	Введено,	Цветом	етрические пај	раметры	4	Найдено*,	_
Образец	мг/л	$R\left(R_0-R_x\right)$	$G (G_0 - G_x)$	$\mathbf{B}\left(\boldsymbol{B}_{0}-\boldsymbol{B}_{x}\right)$	A <sub>r</sub>	мг/л	s <sub>r</sub>
Напиток	H <sub>2</sub> O	216	230	182	_		
"Nemoloko"	_	174(42)	255(-25)	98(84)	97	$28 \pm 2$	0.07
	_	172(44)	255(-25)	98(84)	98		
	_	170(46)	255(-25)	95(87)	102		
	_	220(-4)	255(-25)	100(82)	86		
	_	228(-12)	255(-25)	95(87)	92		
	_	223(-7)	255(-25)	101(81)	85		
Молоко	H <sub>2</sub> O	197	228	192	_		
"Домик в деревне, 3.2%"	_	197(0)	237(-9)	188(4)	8	<c<sub>н</c<sub>	_
	_	200(-3)	235(-7)	189(3)	8		
	_	193(4)	233(-5)	184(8)	6		
Молоко "Доб-	H <sub>2</sub> O	197	228	192	_		
рая буренка, 4%"	—	207(-10)	240(-12)	200(-8)	8	<c<sub>н</c<sub>	_
	_	194(3)	234(-6)	186(6)	9		
	_	202(-5)	238(-10)	185(7)	7		
Вода водопро-	H <sub>2</sub> O	197	228	192	_		
водная	—	198(-1)	219(9)	186(6)	11	$0.03\pm0.01$	0.24
	—	200(-3)	222(6)	186(6)	9		
	—	198(-1)	224(4)	182(10)	11		
	0.2	189(8)	255(-27)	126(66)	72	$0.21\pm0.04$	0.07
	0.2	194(3)	255(-27)	128(64)	70		
	0.2	207(-13)	255(-27)	134(58)	65		

**Таблица 2.** Результаты микроэкстракционно-флуориметрического определения анионных ПАВ в продуктах питания (*n* = 3, *P* = 0.95)

\* Приведены результаты оценки добавленного количества ПАВ (мг/л) за вычетом исходного содержания в образце.

устранения мешающего влияния в анализируемый экстракт добавлялиу ЭДТА. Мешающее влияние белков устраняли их осаждением этанолом.

Следует отметить, что с использованием данного подхода в продукции определяли суммарное содержание ПАВ. В качестве стандарта при определении катионных ПАВ использовали хлорид цетилпиридиния, анионных ПАВ – додецилсульфат натрия. В табл. 2 и 3 представлены результаты анализа готовой продукции и водопроводной воды. Анионные ПАВ в количестве  $28 \pm 2$  мг/л обнаружены только в напитке на основе овса "Nemoloko". Молоко "Домик в деревне, 3.2%" и "Добрая буренка, 4%" содержат АПАВ в количествах, лежащих ниже предела обнаружения данной методики. Содержание АПАВ в водопроводной воде составило  $0.03 \pm 0.01$  мг/л. Содержание катионных ПАВ в исследуемых продуктах находилось в диапазоне от 1.6 до 2.5 мг/кг. Наибольшее содержание обнаружено в яблоках, наименьшее — в питахайе. В водопроводной воде найдено

#### АМЕЛИН и др.

05	Введено,	Цветом	етрические пар	аметры		Найдено*,	
Образец	мг/кг	$R\left(R_0-R_x\right)$	$G (G_0 - G_x)$	$\mathbf{B}\left(B_{0}-B_{x}\right)$	$A_{\rm r}$	мг/кг	s <sub>r</sub>
Куриная	H <sub>2</sub> O	229	210	205		_	
грудка	_	214(15)	204(6)	202(3)	16	$2.20\pm0.08$	0.03
	_	214(15)	204(6)	202(3)	16		
	_	221(8)	199(11)	199(6)	15		
	10	243(-14)	156(54)	178(27)	62	$8.5\pm0.2$	0.10
	10	255(-26)	147(63)	177(28)	74		
	10	252(-22)	157(53)	181(24)	62		
Томат	H <sub>2</sub> O	203	197	201		_	
	_	213(-10)	205(-8)	198(3)	13	$2.0 \pm 0.5$	0.11
	_	211(-8)	198(-1)	189(12)	14		
	_	215(-12)	198(-1)	190(11)	16		
	5	238(-35)	204(-7)	189(12)	38	$5.0 \pm 0.1$	0.02
	5	237(-34)	195(2)	186(15)	37		
	5	238(-35)	196(1)	186(15)	38		
Яблоко	H <sub>2</sub> O	203	197	201		_	
	_	218(-15)	208(-11)	194(7)	20	$2.5\pm0.7$	0.10
	_	217(-14)	207(-10)	192(9)	19		
	_	214(-11)	202(-5)	191(10)	16		
	5	235(-32)	211(-14)	193(8)	36	$4.7\pm0.3$	0.04
	5	216(-13)	196(1)	171(30)	33		
	5	217(-14)	199(-2)	170(31)	34		
Питахайя	H <sub>2</sub> O	203	197	201		_	
	_	209(-6)	198(-1)	192(9)	11	$1.6 \pm 0.3$	0.06
	_	209(-6)	200(-3)	193(8)	10		
	_	215(-15)	197(0)	201(0)	12		
	5	232(-29)	206(-9)	203(-2)	35	$4.6 \pm 1.2$	0.17
	5	228(-25)	202(-5)	197(4)	26		
	5	237(-34)	207(-10)	203(-2)	36		
Вода водопро-	H <sub>2</sub> O	210	205	202		-	
водная	_	213(-3)	204(1)	212(-10)	11	$0.16\pm0.01$	0.04
	_	218(-8)	206(-1)	207(-5)	10		
	—	219(-9)	203(2)	208(-6)	11		
	0.5	237(-27)	153(52)	182(20)	62	$0.52\pm0.05$	0.02
	0.5	234(-24)	154(51)	178(24)	61		
	0.5	234(-24)	157(48)	182(20)	57		

**Таблица 3.** Результаты экстрационно-флуориметрического определения катионных ПАВ в продуктах питания (*n* = 3, *P* = 0.95)

\* Приведены результаты оценки добавленного количества ПАВ (мг/кг) за вычетом исходного содержания в образце.

0.16 ± 0.01 мг/л КПАВ. Правильность анализа проверяли методом "введено—найдено". Относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 0.24. Продолжительность анализа 20–30 мин.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иванов В.М., Кузнецова О.В. Химическая цветометрия: возможности метода, области применения и перспективы // Успехи химии. 2001. Т. 70. № 5. С. 411.

- 2. Моногарова О.В., Осколок К.В., Апяри В.В. Цветометрия в химическом анализе // Журн. аналит. химии. 2018. Т. 73. № 11. С. 857.
- 3. Апяри В.В., Горбунова М.В., Исаченко А.И., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. Использование бытовых цветорегистрирующих устройств в количественном химическом анализе // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. № 11. С. 963.
- McCracken K.E., Yoon J.-Y. Recent approaches for optical smartphone sensing in resource-limited setting: A brief review // Anal. Methods. 2016. V. 8. P. 6591.
- 5. Nascimento C.F., Santos P.M., Pereira-Filho E.R., Rocha F.R.P. Recent advances on determination of milk adulterants // Food Chem. 2017. V. 221. P. 1232.
- МУК 4.1.2009-05. Определение остаточных количеств цетилпиридиний хлорида в мясе кур и продуктах его переработки. Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний. МУК 4.1.2009-4.1.2021-05. М.: Роспотребнадзор, 2009.
- Tay M., Fang G., Chia P. L., Li S.F.Y. Rapid screening for detection and differentiation of detergent powder adulteration in infant milk formula by LC-MS // Forensic Sci. Int. 2013. V. 232. P. 32.
- Arrebola-Liébanas F.J., Abdo M.A., Moreno J.L., Martínez-Vidal J.L., Frenich A.G. Determination of quaternary ammonium compounds in oranges and cucumbers using QuEChERS extraction and ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry // J. AOAC Int. 2014. V. 97. P. 1021.
- 9. Xian Y., Dong H., Wu Y., Guo X., Hou X., Wang B. QuEChERS-based purification method coupled to ul-

trahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) to determine six quaternary ammonium compounds (QACs) in dairy products // Food Chem. 2016. V.212 P. 96.

- Slimani K., Féret A., Pirotais Y., Maris P., Abjean J.P., Hurtaud-Pessel D. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry multiresidue method for the analysis of quaternary ammonium compounds in cheese and milk products: Development and validation using the total error approach. // J. Chromatogr. A. 2017. V. 1517. P. 86.
- ГОСТ 31857-2012. Вода питьевая. Методы определения содержания поверхностно-активных веществ. М.: Стандартинформ, 2014. 21 с.
- 12. *Barui A.K., Sharma R., Rajput Y.S.* Detection of nondairy fatin milk based on quantitative assay of azure A dye // Int. Dairy J. 2012. V. 24. P. 44.
- Chennamsetty R., Kanchi S., Bisetty K., Nuthalapati V.N. Monitoring of cetylpyridinium chloride levels in surface waters: Patent blue-V as selective ligand for spectrophotometric determination // Asian J. Chem. 2016. V. 28. № 5. P.1039.
- 14. *Lima M.J.A., Nascimento C.F., Rocha F.R.P.* Feasible photometric measurements in liquid-liquid extraction by exploiting smartphone-based digital images // Anal. Methods. 2017. V. 9. № 14. P. 2220.
- Acevedo M.S.F., Lima M.J.A., Nascimento C.F., Rocha F.R.P. A green and cost-effective procedure or determination of anionic surfactants in milk with liquid-liquid microextraction and smartphone-based photometric detection // Microchem. J. 2018. V. 143. P. 259.

УДК 543.39+543.272.75

# ЭКСТРАКЦИОННО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММАРНОГО СОДЕРЖАНИЯ МОНОЦИКЛИЧЕСКИХ АРЕНОВ С<sub>6</sub>-С<sub>9</sub> В СТОЧНЫХ ВОДАХ

#### © 2021 г. В. И. Вершинин<sup>а, \*</sup>, С. В. Усова<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского, химический факультет просп. Мира, 55-А, Омск, 644077 Россия \*E-mail: vyvershinin@yandex.ru Поступила в редакцию 20.05.2020 г. После доработки 04.07.2020 г.

Принята к публикации 21.07.2020 г.

Для контроля техногенного загрязнения водоемов предложено определять суммарное содержание  $(c_{Ar}, mr/n)$  наиболее токсичных и наиболее водорастворимых углеводородов — моноциклических аренов  $C_6-C_9$ . В отличие от широко используемого показателя "нефтепродукты", величина  $c_{Ar}$  непосредственно характеризует токсичность изучаемой воды. Разработана методика экстракционно-хроматографического определения  $c_{Ar}$  в сточных водах, не требующая упаривания экстракта и препаративного отделения аренов от других углеводородов. Значения  $c_{Ar}$  рассчитывали по суммарной площади пиков аренов, опознанных на хроматограмме очищенного гексанового экстракта. Чтобы учесть потери аренов в ходе пробоподготовки, градуировочную зависимость строили с помощью многокомпонентных водных растворов с известными значениями  $c_{Ar}$  (имитатов), проводя их через те же операции, что и пробы исследуемой воды. Нижняя граница определяемых значений  $c_{Ar} - 0.1 mr/n$ , погрешности определения  $c_{Ar}$  не превышают 15 отн. %, продолжительность анализа единичной пробы – 2 ч. Методика апробирована в анализе сточных вод разного типа, проверена и запатентована.

**Ключевые слова**: техногенное загрязнение водоемов, анализ сточных вод, моноциклические ароматические углеводороды (арены), суммарное содержание аренов, экстракция, газожидкостная хроматография.

DOI: 10.31857/S0044450221010151

Природоохранные организации и промышленные предприятия контролируют техногенное загрязнение водоемов, систематически определяя суммарное содержание всех углеводородов (УВ) и выражая его в виде интегрального показателя "нефтепродукты" или других показателей того же типа (TPH, hydrocarbon index, oil and grease) [1-3]. Суммарное содержание УВ (сув, мг/л) в природных и сточных водах определяют, прежде всего, ввиду токсичности УВ. Однако опасными токсикантами являются далеко не все УВ; характеристики токсичности, растворимости и скорости биодеградации индивидуальных УВ сильно различаются, как и коэффициенты чувствительности при их определении. Различия свойств алканов, аренов и других УВ при неизвестном и непредсказуемом соотношении их концентраций ведут к неточной оценке  $c_{\rm VB}$  [4] и затрудняют токсикологическую интерпретацию этого показателя [5]. По этой причине специалисты рекомендуют в дополнение к сув определять в исследуемых водах содержания наиболее токсичных УВ [2, 6].

Судя по значениям ПДК, ими являются моноциклические ароматические УВ, молекулы которых содержат от 6 до 9 атомов углерода (далее арены). В группу аренов обычно включают 10-11 соединений [6, 7], а именно бензол, толуол, три ксилола, этилбензол, мезитилен, кумол, псевдокумол, стирол и α-метилстирол. Именно эти УВ определяют (по отдельности) в водах, загрязненных нефтью или нефтепродуктами. В единичной пробе обычно находят не менее пяти аренов; их набор и соотношение концентраций зависят от источника загрязнения. Другие арены С<sub>6</sub>-С<sub>9</sub> (кроме перечисленных выше) в таких водах отсутствуют или не опознаются. Еще более опасными токсикантами являются многие полиарены (например, бенз[а]пирен), которые также присутствуют в сточных водах. Но, в отличие от аренов, полиарены практически не растворимы в воде и после попадания в водоемы быстро переходят в донные отложения [8]. Ввиду намного большей токсичности и значительно меньшей раствори-

Название	Формула	Температура кипения, °С [9]	Растворимость в воде при 25°С, мг/л [10]	Степень извлечения, <i>R</i> , % [11, 12]*	ПДК <sub>р</sub> , мг/л [13]
Бензол	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	80	1790	27	0.5
Толуол	$C_7H_8$	111	526	37	0.5
Стирол	$C_8H_8$	145	125	?	0.1
о-Ксилол	$C_8H_{10}$	144	178	63	0.05
Кумол	$C_{9}H_{12}$	152	61	81	0.1
Псевдокумол	$C_{9}H_{12}$	169	57	77	0.5
Мезитилен	$C_{9}H_{12}$	165	48	79	0.5

Таблица 1. Свойства некоторых индивидуальных аренов

\* *R*, % – степень извлечения при однократной экстракции арена *н*-гексаном при объемном соотношении фаз 1 : 10.

мости полиарены следует определять не совместно с аренами  $C_6-C_9$ , а отдельно.

Свойства индивидуальных аренов  $C_6-C_9$  весьма близки (табл. 1), но сильно отличаются от свойств других УВ. Так, растворимость аренов в воде при 25°С выше 40 мг/л, а растворимость алканов с тем же числом атомов углерода ниже 10 мг/л [10].

По организационным и экономическим причинам природоохранные лаборатории РФ не ведут систематический контроль загрязнения водоемов аренами, хотя методики определения индивидуальных аренов в водах известны и применяются в научных исследованиях [6, 7, 11]. Намного проще контролировать суммарное содержание аренов С6-С9 (далее  $c_{Ar}$ , мг/л). Показатель  $c_{Ar}$  приблизительно пропорционален токсичности исследуемой воды и может быть применен для контроля сточных вод любого происхождения, независимо от того, какие именно арены доминируют в пробе. Разумеется, различия значений ПДК индивидуальных аренов приведут к погрешностям при обобщенной оценке токсичности исследуемой воды по показателю c<sub>Ar</sub>, однако для довольно узкой группы аренов С<sub>6</sub>-С<sub>9</sub> эти различия менее выражены, чем для других групп совместно определяемых аналитов (фенолы, нефтепродукты, белки и др.). В этом отношении показатель с<sub>Аг</sub> превосходит известные интегральные показатели "фенольный индекс", "углеводородный индекс" и "общий белок". С другой стороны, токсичность сточных вод нельзя оценивать только по величине  $c_{\rm Ar}$ , следует учитывать и другие группы токсикантов: тяжелые металлы, фенолы, летучие органические соединения (ЛОС) и т.п.

Раздельное определение аренов необходимо при решении другой задачи — выявлении конкретного источника выброса токсикантов, когда сопоставляют "хроматографические профили" проб разного происхождения [6]. Таким образом, методики оценки суммарного содержания аренов и методики раздельного определения индивидуальных аренов не заменяют, а дополняют друг друга, как и обобщенные показатели  $c_{\rm Ar}$  и  $c_{\rm yB}$ . Определение  $c_{\rm Ar}$  важно в токсикологическом (санитарно-гигиеническом) аспекте, а результаты определения  $c_{\rm yB}$  важны в экологическом и технологическом отношениях. Следует отметить, что величина  $c_{\rm Ar}$  должна определяться точнее, чем  $c_{\rm yB}$ , поскольку широкая группа "углеводороды" внутренне неоднородна. Это приводит к внутригрупповой селективности аналитических сигналов и соответственно к большим систематическим погрешностям при измерении  $c_{\rm yB}$  [4, 5].

Для оценки техногенного загрязнения водоемов показатель  $c_{Ar}$  ранее не использовали, а методики определения этого показателя, насколько нам известно, никто не разрабатывал. Сумму аренов определяют лишь в технических нефтепродуктах, но эти методики (например, [14, 15]) нельзя использовать в анализе сточных вод, где содержания аренов на несколько порядков ниже.

Мы считаем, что определение показателя  $c_{Ar}$  в сточных (а также природных) водах должно включать следующие этапы: а) экстракцию аренов и других УВ, б) сорбционную очистку экстракта от полярных компонентов, в) измерение обобщенно-го сигнала аренов методами газожидкостной хроматографии или УФ-спектрометрии; г) расчет  $c_{Ar}$  по предварительно построенной градуировочной зависимости. На первых двух этапах анализ можно проводить так же, как при определении  $c_{VB}$ .

Цель настоящей работы — создание методики экстракционно-хроматографического определения суммарного содержания аренов в сточных водах.

Так как для суммы аренов нормативные значения ПДК не установлены, при разработке соответствующих методик группового анализа следует принимать во внимание ПДК индивидуальных аренов. Для природных вод рыбохозяйственного назначения они установлены на уровне 0.01–0.5 мг/л (табл. 1). Чтобы обеспечить возможность анализа природных и очищенных сточных вод на этом концентрационном уровне, можно экстрагировать сумму аренов вместе с другими УВ доступным и малотоксичным н-гексаном. Без последующего упаривания экстракта этот прием обеспечивает концентрирование УВ в 10-20 раз [12, 16, 17]. *н*-Гексан применяют при хроматографическом определении индивидуальных аренов, так как его пик не накладывается на пики аналитов [11]. Потери аренов в ходе их экстракции н-гексаном хорошо воспроизводимы [12]; их можно учесть, применяя для построения градуировочной зависимости многокомпонентные водные растворы с известными значениями c<sub>Ar</sub> и проводя их через те же операции, что и пробы сточных вод. Традиционное упаривание экстрактов позволяет дополнительно сконцентрировать арены, но ведет к большим и плохо воспроизводимым потерям этих соединений [11], поэтому в ходе данного исследования экстракты не упаривали.

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Модельные смеси. В качестве основных модельных веществ использовали бензол (Б), толуол (T), *о*-ксилол (OK), *м*-ксилол (MK), *п*-ксилол (ПК), кумол (К) и этилбензол (ЭБ). Другие арены  $C_6-C_9$  применяли лишь в качестве эталонов при опознании пиков на хроматограммах. Растворы индивидуальных аренов готовили по точным навескам реактивов х. ч., доводя объем растворов до 25.0 мл *н*-гексаном. Так же готовили смеси, одновременно содержащие от 3 до 6 аренов. Полученные растворы перед использованием разбавляли *н*-гексаном еще в 10 или 100 раз. Содержания разных аренов ( $c_i^*$ ) в единичной смеси различались

ных аренов  $(c_i^*)$  в единичной смеси различались не более чем в 10 раз, а их суммарное содержание

 $\binom{*}{c_{Ar}}$  находилось в диапазоне от 0.5 до 500 мг/л. Этот диапазон соответствует суммарным содержаниям аренов в гексановых экстрактах из сточных вод или из их имитатов. Примеры таких смесей приведены в табл. 2 (№ 1, 2, 5 и 7). Концентрации УВ в гексановых растворах (в том числе в экстрактах) здесь и далее обозначены символами со звездочкой; концентрации УВ в водных растворах и в сточных водах — символами без звездочки. Аналогичным образом готовили смеси, содержащие, кроме аренов, циклоалканы и/или нормальные алканы: циклогексан, гептан, октан, нонан, декан и додекан. Примеры — смеси 3, 4 и 6 в табл. 2. Суммарные содержания неароматических УВ ( $c_{Alk}^*$ ) без учета растворителя имели тот же порядок величины, что и  $c_{Arr}^*$ . Избыток индивиду-

порядок величины, что и  $c_{Ar}^*$ . Избыток индивидуальных алканов по сравнению с аренами (ближайшими к ним по времени удерживания в хроматографической колонке) не превышал 20 : 1, поскольку

**Таблица 2.** Состав (мг/л) модельных смесей углеводородов (многокомпонентные растворы аренов и алканов в *н*-гексане)

N⁰			$c_i^*$			.*	.*	.*
смеси	Б	Т	MK	OK	ПК	$c_{Alk}$	$c_{\rm Ar}$	$c_{\Sigma}$
1	3.2	3.1	9.1	2.3	3.9	0	21.6	21.6
2	15.3	27.1	9.7	6.9	8.6	0	67.6	67.6
3	41.3	0	0	30.2	0	61.4	71.5	132.9
4	52.3	19.3	0	83.0	7.1	82.9	161.7	244.6
5	58.3	21.0	55.8	24.5	33.4	0	193.0	193.0
6	79.7	70.0	60.0	6.8	15.0	62.7	231.5	294.2
7	87.5	104.7	94.0	82.0	95.0	0	463.2	463.2

большие избытки алканов в реальных пробах маловероятны. Всего было приготовлено и проанализировано более 100 модельных смесей.

Имитаты сточных вод. К 10.0 мл многокомпонентного гексанового раствора с известным суммарным содержанием аренов добавляли 900 мл дистиллированной воды, подкисляли серной кислотой до рН 2.0 [17, 18], тщательно перемешивали и доводили объем до 1000 мл. Для имитации состава очищенных сточных вод полученный раствор в день его использования разбавляли водой еще в 10 раз. Суммарное содержание аренов в многокомпонентных водных растворах (имитатах) находилось в диапазоне 0.05-10 мг/л, что ниже растворимости аренов в воде. Содержание н-гексана в имитатах превышало его растворимость в воде, однако при хранении в холодильнике в плотно закрытой посуде имитаты (эмульсии н-гексана в воде) устойчивы в течение нескольких дней. Отметим, что сточные воды многих промышленных предприятий также являются не истинными растворами, а углеводородными эмульсиями.

Сточные воды. Пробы очищенных и неочищенных сточных вод (объем 1.5 л) отбирали на промышленных предприятиях разного профиля. Пробоотбор и первичную пробоподготовку осуществляли сотрудники заводских контрольноаналитических лабораторий в соответствии с нормативными документами по определению показателя "нефтепродукты" [17, 18]. Это позволяло определять  $c_{\rm Ar}$  и  $c_{\rm YB}$  из одной пробы. При невозможности анализа проб в день отбора, их консервировали и хранили в холодильнике. Было проанализировано 12 проб сточной воды, а также несколько проб речной воды.

Получение и очистка экстрактов. 250 мл сточной воды или ее имитата помещали в делительную воронку емк. 1000 мл, добавляли 10 г хлорида натрия и 25 мл *н*-гексана. Делительную воронку интенсивно встряхивали в течение 5 мин и оставляли на 10 мин для разделения фаз. Отделяли экстракт и переносили его в коническую колбу, куда добавляли 1.25 г сульфата натрия. Повторную обработку пробы *н*-гексаном не проводили, так как степень извлечения индивидуальных аренов не достигает 100% даже после трех повторных экстракций [12]. Через 20 мин обезвоженный экстракт фильтровали через стекловату и переносили в колонку с оксидом алюминия. После пропускания экстракта через колонку ее промывали чистым *н*-гексаном и доводили объем объединенного элюата до 25.0 мл.

Хроматографический анализ. Модельные гексановые растворы и экстракты из имитатов или сточных вод анализировали, используя хроматограф Хромос ГХ-1000 с пламенно-ионизационным детектором (ПИЛ). Капиллярная колонка BP-1 (длина 30 м, диаметр 0.25 мм) содержала универсальную неполярную неподвижную фазу  $(H \oplus \Phi)$  – диметилполисилоксан. Толщина слоя НЖФ – 0.53 мкм. Газ-носитель – водород. Температура испарителя – 250°С, давление газа-носителя – 0.2 кг/см<sup>2</sup>. Как правило, использовали следующий режим: выдержка при 40°С в течение 20 мин, затем линейное повышение температуры колонки до 200°С со скоростью 10 град/мин. Обычно в хроматограф вводили 1.0 мкл модельной смеси или экстракта. Хроматограммы регистрировали и обрабатывали с помощью стандартного программного обеспечения Chromos; площади всех пиков рассчитывались автоматически. Наличие пиков 11 аренов, перечисленных выше, проверяли с учетом их времен удерживания. Суммируя площади пиков опознанных аренов и вводя поправку на холостой опыт, вычисляли обобщенный аналитический сигнал аренов ( $S_{\Sigma}$ ). При использовании ПИД массовые поправочные коэффициенты ( $K_{B(i)}$ ) для аренов очень близки [19]. Так, для бензола коэффициент К<sub>В(i)</sub> равен 1.000, для толуола — 1.011, для кумола и мезитилена — 1.026. В связи с этим поправки на разную чувствительность ПИД к индивидуальным аренам не вводили. Так как различия мольных поправочных коэффициентов (K<sub>M(i)</sub>) намного выше, рассчитать показатель c<sub>Ar</sub>, выражая его в моль/л, было бы гораздо сложнее.

Каждую хроматограмму регистрировали трижды. Значения  $S_{\Sigma}$  усредняли, если их различия не превышали 15% от среднего арифметического. Суммарная площадь пиков хорошо воспроизводилась,  $s_r < 0.05$ . Суммарные содержания аренов в модельных смесях находили по градуировочной

зависимости вида  $S_{\Sigma} = k^* c_{Ar}^*$ , построенной с помощью 10 многокомпонентных гексановых раство-

ров с известными значениями  $c_{Ar}^*$  (рис. 1а). Суммарные содержания аренов в имитатах и сточных водах находили по градуировочной зависимости вида  $S_{\Sigma} = kc_{Ar}$ , построенной с помощью 15 многокомпонентных водных растворов (имитатов) с известными значениями с<sub>Аг</sub> (рис. 16). Содержания отдельных аренов, как и значения  $c_{Ar}^*$ , в ходе анализа сточных вод не рассчитывали. Статистическую обработку результатов анализа (n = 3, P = 0.95) проводили по традиционному алгоритму, предполагающему нормальное распределение случайных погрешностей. При расчете погрешностей результатом анализа считали среднее арифметическое из значений сАг, полученных при трехкратном хроматографировании одного и того же экстракта. Правильность результатов анализа сточных вод проверяли, используя метод стандартных добавок.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор условий хроматографического разделения смесей углеводородов. Возможны разные подходы к хроматографическому определению аренов в присутствии других УВ. В анализе бензинов обычно применяют высокоселективные НЖФ [14]. В этом случае выход аренов из колонки задерживается, и их пики оказываются в той области хроматограммы, где нет пиков алканов и циклоалканов. Это повышает надежность опознания аренов и точность их количественного определения. Однако механически переносить методики анализа бензинов в гидрохимический анализ не следует: при хроматографировании экстрактов из сточных вод в "ароматическую" область хроматограммы могут попасть пики тяжелых алканов, которых в бензинах нет.

При определении индивидуальных аренов в водах часто проводят предварительное фракционирование углеводородных смесей (см. обзор [20]). Арены отделяют от других групп УВ, применяя тонкослойную или колоночную жидкостную хроматографию. Эти методики требуют больших затрат времени и труда, причем в ходе фракционирования углеводородных смесей возможны значительные потери аренов.

Наш подход к хроматографическому определению суммы аренов в водах не предполагает ни фракционирования углеводородных смесей, присутствующих в очищенном экстракте, ни применения высокоселективных НЖФ. Предварительные опыты на модельных смесях показали, что исключить наложения пиков алканов и циклоалканов на пики аренов  $C_6-C_9$  можно, если оптимизировать режим разделения смеси УВ в капиллярной колонке, содержащей неселективную НЖФ (диметилполисилоксан) [21]. В ходе экспериментов варьировали давление газа-носителя, объем вводимого в хроматограф гексанового раствора (экстракта) и режим программирования



**Рис. 1.** Градуировочные зависимости для хроматографического определения суммарного содержания аренов в модельных смесях (а) и в сточных водах (б).

температуры. В ходе оптимизации добивались увеличения коэффициентов разрешения ( $K_p$ ) всех соседних хроматографических пиков. В частности, значения K<sub>p</sub> контролировали для пар *н*-гексан-бензол, н-гептан-толуол, м-ксилол-п-ксилол, н-октан-*п*-ксилол и др. Отметим, что, используя неселективные колонки с диметилполисилоксаном, можно добиться полного разделения еще более сложных смесей (от С8 до С40) [17]. Имеет значение и выбор газа-носителя. Лучшие значения  $K_p$  получены нами при использовании водорода, что соответствует рекомендациям [11]. Другие преимущества водорода: увеличение линейной скорости потока, что ускоряет анализ; разделение УВ при более низких температурах; увеличение срока службы колонки. Разумеется, при определении  $c_{\rm Ar}$  можно применять и другие газы-носители.

Методика хроматографического разделения углеводородных смесей описана выше. При ее использовании коэффициенты разрешения соседних пиков превышали 1.5 даже в тех случаях, когда алкан (или циклоалкан) вводили в 20-кратном избытке по сравнению с ареном. Искажения и наложения хроматографических пиков не были выявлены и на хроматограммах очищенных экстрактов. При этом пики аренов были симметричны, а фон практически отсутствовал.

**Результаты анализа модельных смесей.** При использовании описанной выше методики площади пиков были прямо пропорциональны абсолютным содержаниям аренов, а пределы обнаружения аренов — ниже 0.1 мг/л. Погрешности определения суммарного содержания аренов (δ*c*, %) с помощью градуировки А не превышали 10 отн. % (по модулю) даже в присутствии избытка неароматических УВ; нижняя граница определяемых содержаний (**НГОС**) ≈ 1 мг/л.

Результаты анализа имитатов. Анализ водных растворов с известными значениями c<sub>Ar</sub> с помощью градуировки А приводил к прецизионным, но заниженным на 40-50% результатам (табл. 3), что объясняется потерями аренов в ходе их экстракционного концентрирования и сорбционной очистки экстракта. Исключение этих потерь требует усложнения методики и увеличения продолжительности анализа [12], что мы считаем неприемлемым. Поскольку значения δс хорошо воспроизводятся, т.е. имеют преимущественно систематический характер, их можно уменьшить, рассчитывая суммарное содержание аренов по градуировке Б, построенной с помощью водных растворов с известными суммарными содержаниями аренов. Эти растворы проводили через те же операции экстракционного концентрирования и сорбционной очистки, что и анализируемые пробы. Весьма важно, что, несмотря на разный качественный состав градуировочных растворов, градуировка Б оказалась прямолинейной (коэффициенты линейной корреляции для обеих градуировок превышают 0.99). Это означает, что использование градуировки, построенной с

	Ввелено с. мг/л	Результат ана	лиза, <i>с</i> <sub>Аг</sub> , мг/л	Погрешност	ть, δ <i>с</i> , отн. %
	bledeno, c <sub>Ar</sub> , wi/m	А	Б	А	Б
1	0.30	$0.20\pm0.12$	$0.35\pm0.04$	-33	17
2	5.2	$3.1\pm0.7$	$4.9\pm0.4$	-40	-5.8
3	23.6	$9.8 \pm 1.7$	$22.8\pm1.0$	-58	-3.4
4	39.8	$21.0\pm1.3$	$44.2\pm2.3$	—47	11
5	52.5	$29.7\pm1.6$	$54.2\pm0.4$	-43	3.2
6	62.2	$35 \pm 3$	$63.1\pm1.7$	-44	1.5

Таблица 3. Результаты экстракционно-хроматографического анализа водных растворов с известным суммарным содержанием аренов по градуировкам А и Б

Таблица 4	<ul> <li>Проверка правильности результа</li> </ul>	гов (мг/л	<ol> <li>анализа сточных вод по методу добав-</li> </ol>	οк
-----------	--	-----------	--	----

№ пробы	Найдено без добавки с <sub>Σ</sub>	Введено	Найдено с добавкой	Найдено в добавке	Погрешность, бс, отн. %
4-1	$1.98 \pm 0.23$	0.49	$2.42 \pm 0.18$	$0.44 \pm 0.10$	-10.2
4-2	$1.22 \pm 0.19$	0.50	$1.79 \pm 0.12$	$0.56 \pm 0.12$	12.0

помощью разных смесей аренов, позволяет устранить влияние различий в степени извлечения индивидуальных аренов. Как видно из табл. 3, с помощью градуировки Б получали не менее прецизионные, но значительно более правильные результаты анализа, чем с помощью градуировки А. Значения  $\delta c$  не превышали 12 отн. %, кроме растворов, содержащих арены на уровне их ПДК ( $c_{\rm Ar} < 0.5 \, {\rm мг/л}$ ), в этих случаях погрешности достигали 20 отн. %.

Описанный выше способ снижения погрешностей нельзя считать абсолютно новым, он отвечает общеметрологическому принципу релятивизации систематических погрешностей [22]. С другой стороны, построение градуировок с помощью многокомпонентных растворов разного качественного состава также способствует снижению систематических погрешностей (принцип рандомизации). Такой способ построения градуировочных зависимостей ранее не применялся [23]; он особенно важен в тех случаях, когда потери при экстракции и/или коэффициенты чувствительности детектора для разных аренов существенно различаются.

**Результаты анализа сточных вод.** Градуировку Б в дальнейшем использовали для анализа сточных и сильно загрязненных природных вод. С учетом экстракционного концентрирования аренов, их количественное определение в водах возможно, начиная с  $c_{\rm Ar} \approx 0.1$  мг/л. Для сильно загрязненных вод относительное стандартное отклонение  $s_{\rm r}$  ниже 0.10. Для слабо загрязненных вод ( $c_{\rm Ar} < 0.5$  мг/л)  $s_{\rm r}$  не превышает 0.20.

Проверить правильность результатов анализа сточных вод при определении *с*<sub>Ar</sub> довольно труд-

но: стандартные образцы водных растворов с аттестованным содержанием аренов не выпускаются. Нет и стандартных методик определения показателя  $c_{\rm Ar}$ . В связи с этим для проверки правильности результатов анализа использовали способ добавок (табл. 4). В качестве добавок вводили многокомпонентные водные растворы с известным  $c_{\rm Ar}$ . Оказалось, что суммарное содержание аренов в добавке определяется с погрешностью, не превышающей 15 отн. % (по модулю).

Результаты анализа разных сточных вод приведены в табл. 5. Как и следовало ожидать, особенно много аренов оказалось в сточных водах нефтеперерабатывающего предприятия (даже очищенных). Для очищенных сточных вод других предприятий значения c<sub>Ar</sub> несколько ниже, но и они превышают ПДК<sub>р</sub> индивидуальных аренов. Найденные значения с<sub>Аг</sub> являлись величинами того же порядка, что и определенные в заводских лабораториях значения сув. В данной работе значения  $c_{\rm VB}$  не приводятся, так как эта информация имеет закрытый характер. Однако из совокупности полученных нами данных можно сделать вывод, что относительные содержания аренов в общей массе УВ, присутствующих в разных сточных водах, существенно различаются. Это может быть связано не только с разным составом сточных вод, но и с применением на разных предприятиях разных методик оценки сув. В этой области нужны дополнительные исследования.

Суммарные содержания аренов в сточных водах, отобранных в одном месте, но в разное время (с интервалом в несколько месяцев), были довольно близки. Как видно из табл. 5, разработан-

№ пробы	Тип сточной воды	Производство	Период пробоотбора	Результат анализа, <i>с</i> <sub>Аг</sub> , мг/л
1-1	Неочищенная	Машиностроение	Весна 2017	$2.4 \pm 0.3$
1-2	Неочищенная	Машиностроение	Осень 2017	$2.7\pm0.4$
1-3	Очищенная	Машиностроение	Осень 2018	$0.5\pm0.2$
2-1	Очищенная	Нефтепереработка	Весна 2017	$3.6\pm0.3$
2-2	Очищенная	Нефтепереработка	Весна 2017	$3.6\pm0.1$
2-3	Очищенная	Нефтепереработка	Осень 2017	$2.4\pm0.2$
2-4	Очищенная	Нефтепереработка	Зима 2018	$2.7\pm0.2$
3-1	Неочищенная	Энергетика	Лето 2018	$0.8\pm0.2$
3-2	Очищенная	Энергетика	Лето 2018	$0.12\pm0.02$
3-3	Очищенная	Энергетика	Лето 2018	$0.10\pm0.04$
4-1	Неочищенная	Машиностроение	Весна 2017	$2.0\pm0.2$
4-2	Неочищенная	Машиностроение	Весна 2017	$1.2\pm0.2$

Таблица 5. Результаты анализа сточных вод

ная методика позволяет анализировать как очищенные, так и неочищенные сточные воды, что важно для оценки эффективности очистки. Сопоставление значений  $c_{\rm Ar}$  для очищенных и неочищенных вод показывает, что эффект очистки сточных вод от аренов статистически достоверен.

Заключение. Систематический контроль техногенного загрязнения водоемов аренами в настоящее время не проводится. Мы полагаем, что такой контроль необходим и является важной задачей природоохранных организаций, а представленная в данной статье методика определения суммарного содержания аренов  $C_6-C_9$  может способствовать решению этой задачи. Следует указать на ряд методических проблем, связанных с разработкой и применением новой методики.

1. При разработке методики определения  $c_{\rm Ar}$  мы не учитывали солевой фон и другие особенности анализируемой воды. Такой подход характерен для всех методик определения УВ, включающих экстракцию [1–3, 11, 16, 24]. Дело в том, что степень экстракционного извлечения УВ (в том числе аренов) очень слабо зависит от состава водной матрицы, включая природу и содержание высаливателей [12]. Разработанная методика пригодна для анализа любых сточных вод с суммарным содержанием аренов C<sub>6</sub>–C<sub>9</sub> от 0.1 до 500 мг/л. Сильно загрязненные сточные воды требуют предварительного разбавления пробы в 10 раз дистиллированной водой.

2. Анализ единичной пробы по разработанной методике занимает 2 ч (без учета времени на построение градуировки типа Б). Измерение светопоглощения экстракта в УФ-области вместо его хроматографирования позволяет сократить продолжительность анализа [25]. Методика экстракционно-спектрометрического определения  $c_{\rm Ar}$  в водах будет изложена в нашем следующем сообщении.

3. Использовать описанную выше методику для анализа природных вод удается только в случае их сильного загрязнения нефтью или техническими нефтепродуктами. Для слабо загрязненных природных вод найденные по предложенной методике значения  $c_{\rm Ar}$  оказались ниже НГОС. Для надежного определения суммы аренов в природных водах необходимо снизить НГОС еще на 1-2 порядка. Перспективными представляются следующие приемы: увеличение объема экстракта, вводимого в хроматограф; использование более чувствительных детекторов; переход к более эффективным способам концентрирования. В частности, одним из способов снижения НГОС является замена экстракционного выделения аренов применением метода анализа равновесного пара (АРП). Этот способ успешно применяют при определении индивидуальных летучих аренов даже в тех случаях, когда их содержание в воде ниже ПДК [7]. Еще более перспективным способом выделения аренов и других УВ является твердофазная микроэкстракция (ТФМЭ) [26, 27] с последующим хромато-масс-спектрометрическим анализом полученной смеси. Примером может быть раздельное определение бензола, толуола, этилбензола и ксилолов в речной воде на уровне 0.001 мг/л [28]. Отметим, что для определения суммарного содержания аренов в природных водах ни метод АРП, ни метод ТФМЭ ранее не применяли.

4. Организация контроля загрязненности водоемов по показателю "суммарное содержание аренов" требует дополнительных исследований. Следует проверить полноту отделения неуглеводородных ЛОС в ходе сорбционной очистки гексановых экстрактов и возможность наложения хроматографических пиков неотделенных ЛОС на пики аренов  $C_6-C_9$ . Необходимо выявить источники загрязнения водоемов аренами (они могут не совпадать с источниками поступления других УВ) и изучить динамику изменения  $c_{Ar}$  после попадания аренов в водоемы. Эти исследования необходимы для обоснования и последующего утверждения предельно допустимых значений показателя  $c_{Ar}$  применительно к водам разного типа. Важно также сравнить информативность показателя  $c_{Ar}$  с другими показателями, характеризующими техногенное загрязнение водоемов нефтепродуктами [2, 29].

Исследования проведены при финансовой поддержке РФФИ (грант 16-03-550479). Авторы благодарят д. х. н. С.Н. Яшкина, д. х. н. И.В. Власову и к. х. н. Т.В. Антонову за ценные замечания, а студентов А.В. Мамонтову и К.И. Исаева за участие в выполнении эксперимента.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Леоненко И.И., Антонович В.П., Андрианов А.М., Безлуцкая И.В., Цымбалюк К.К. Методы определения нефтепродуктов в водах и других объектах окружающей среды // Методы и объекты хим. анализа. 2010. Т. 5. № 2. С. 58.
- 2. Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Environmental Media. Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series. V. 1 / Ed. Weisman W. Amherst, Mass, USA: Amherst Sci. Publ., 1998. 98 p.
- ASTM D7678–11. Standard test method for total petroleum hydrocarbons (TPH) in water and wastewater with solvent extraction using mid-IR laser spectroscopy. http://www.astm.org/Standards/D7678.htm (03.04.2020 г.)
- 4. Кленкин А.А., Павленко Л.Ф., Темердашев З.А. Некоторые методические особенности определения уровня нефтяного загрязнения водных экосистем // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2007. Т. 73. № 2. С. 31.
- Вершинин В.И. Формирование групп и выбор стандартных веществ при определении суммарных содержаний однотипных соединений в виде интегральных показателей // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. № 9. С. 816. (Vershinin VI. Group formation and choice of standard substances in the determination of total concentrations of similar compounds as total indices // J. Analyt. Chem. 2017. V. 72. № 9. Р. 947.)
- Другов Ю.С., Родин А.А. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктах. СПб: Анатолия, 2000. 250 с.
- РД.52.24.473-2012. Массовая концентрация летучих ароматических углеводородов в водах. Методика измерений газохроматографическим методом с использованием анализа равновесного пара. Ростов-на-Дону: ООО Вираж, 2012. 30 с.
- 8. *Adeniji A.O., Okoh O.O., Okoh A.I.* Analytical methods for polycyclic aromatic hydro-carbons and global trend of distribution in water and sediment / Recent Insights in Petroleum Science and Engineering / Ed. El-Sayed

Abdul-Raouf. M., 2018.

https://doi.org/10.5772/intechopen.71163 (03.04.2020 г.).

- 9. Лебедев Н.Н. Химия и технология основного органического и нефтехимического синтеза. М.: Химия, 1971. С. 79.
- Ming Yang. Measurement of oil in produced water / Produced Water: Environmental Risks and Advances in Mitigation Technologies / Eds. Lee K., Neff J. N.Y.: Springer, 2011. P. 61.
- Desideri P.G., Lepri L., Heimler D., Oianessi S., Checchini L. Concentration, separation and determination of hydrocarbons in sea water // J. Chromatogr. 1984. V. 284. № 10. P. 167.
- 12. Антонова Т.В., Усова С.В. Потери моноциклических ароматических углеводородов при экстракционном извлечении из водной фазы // Аналитика и контроль. 2017. № 4. С. 307.
- Нормативы качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения Приказ Минсельхоза РФ № 552 от 13.12.2016. М., 2017. 153 с.
- 14. ГОСТ 29040-91. Бензины. Метод определения бензола и суммарного содержания ароматических углеводородов. М.: Издательство стандартов, 1992. 8 с.
- 15. Mohammed A., Hankish K. Determination of aromatic hydrocarbons in petroleum fractions by infrared spectroscopy // Analyst. 1985. V. 110. № 12. P. 1477.
- 16. Коренман Я.И., Жилинская К.И., Фокин В.Н. Хроматографическое определение нефтепродуктов в природных и минеральных водах // Химия и технология воды. 2005. Т. 27. № 2. С. 163.
- 17. ГОСТ 31953-2012. Вода. Определение нефтепродуктов методом газовой хроматографии. М.: Стандартинформ, 2013. 19 с.
- ГОСТ 51797-2001. Вода питьевая. Метод определения содержания нефтепродуктов / Контроль качества воды. Сб. ГОСТов. М.: Стандартинформ, 2010. 15 с.
- Руководство по газовой хроматографии. В 2-х ч. / Под ред. Лейбница Э., Штруппе Х.Г. М.: Мир, 1988. Ч. 2. 510 с.
- 20. Холова А.Р., Вождаева М.Ю., Кантор Л.И., Мельницкий И.А., Труханова Н.В., Кантор Е.А. Обзор хроматографических методов анализа, используемых для определения (контроля) нефтепродуктов в воде // Вода: химия и экология. 2011. № 10. С. 34.
- Усова С.В., Вершинин В.И., Мамонтова А.В. Хроматографическое определение суммарного содержания ароматических углеводородов: анализ модельных смесей // Вестник Омского университета. 2017. № 1. С. 59.
- 22. Гармаш А.В., Сорокина Н.М. Метрологические основы аналитической химии. М.: МГУ, 2017. С. 29.
- 23. Усова С.В., Вершинин В.И., Мамонтова А.В. Способ определения суммарного содержания моноциклических ароматических углеводородов в водах. Патент РФ № 2669405. Заявка 2017109544/15 от 21.03.2017; опубл.11.10.2018.
- 24. *Vershinin V.I., Petrov S.V.* The estimation of total petroleum hydrocarbons in waste waters by multiwave IR spectrometry with multivariate calibrations // Talanta.

2016. V. 148. P. 163. http://dx.doi.org/0039-9140 https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.10.076

- 25. Бурюкина П.А., Власова И.В., Миргалеева Р.Р. Оценка суммарного содержания аренов в технических водах методом спектрофотометрии в сочетании с алгоритмом множественной линейной регрессии // Вестник Омского университета. 2016. № 3. С. 54.
- 26. Зайцев В.Н., Зуй М.Ф. Твердофазное микроэкстракционное концентрирование // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69. № 8. С. 787. (Zaitsev V.N., Zui M.F. Preconcentration by solid-phase microextraction // J. Analyt. Chem. 2014. V. 69. № 9. Р. 715.)
- Федотов П.С., Малофеева Г.И., Савонина Е.Ю., Спиваков Б.Я. Твердофазная экстракция органических веществ: нетрадиционные методы и подходы // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 3. С. 163. (Fed-

otov P.S., Malofeeva G.I., Savonina E.Y., Spivakov B.Y. Solid-phase extraction of organic substances: Unconventional methods and approaches // J. Analyt. Chem. 2019. V. 74. № 3. P. 205.)

- Bianchin J.N., Nardini G., Merib J., Dias A.N., Martendal E., Carasek E. Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and benzene, toluene, ethylbenzene and xylene in water samples using a new sampling strategy combining different extraction modes and temperatures in a single extraction solid phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry procedure // J. Chromatogr. A. 2012. V. 1233. P. 22.
- Майстренко В.Н., Клюев Н.А. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. 323 с.

———— ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ ——

УДК 546.19:543.544.3

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПРИМЕСЕЙ В АРСИНЕ ВЫСОКОЙ ЧИСТОТЫ МЕТОДОМ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

# © 2021 г. А. Ю. Созин<sup>*a*, \*</sup>, Т. Г. Сорочкина<sup>*a*</sup>, О. Ю. Чернова<sup>*a*</sup>, А. П. Котков<sup>*b*</sup>, Н. Д. Гришнова<sup>*b*</sup>, Д. М. Полежаев<sup>*b*</sup>, Г. В. Пушкарев<sup>*b*</sup>, С. В. Ермолаев<sup>*b*</sup>

<sup>а</sup>Институт химии высокочистых веществ им. Г.Г. Девятых Российской академии наук ул. Тропинина, 49, Нижний Новгород, 603950 Россия <sup>b</sup>AO НПП "Салют" ул. Ларина, 7, Нижний Новгород, 603950 Россия \*e-mail: Sozin@ihps-nnov.ru Поступила в редакцию 11.03.2020 г. После доработки 19.04.2020 г.

Принята к публикации 23.10.2020 г.

Методом хромато-масс-спектрометрии исследован примесный состав арсина. Определены примеси постоянных газов, диоксида углерода, гидридов, предельных, непредельных, ароматических углеводородов  $C_1-C_6$ , галогенсодержащих углеводородов, соединений серы, алкилпроизводных арсина и диарсина. Содержание примесей в высокочистом арсине находится на уровне  $10^{-6}-10^{-5}$  об. %. В арсине после синтеза и во фракциях, выделенных в процессе его ректификационной очистки, концентрации примесей достаточно высоки и лежат в интервале  $10^{-6}-0.1$  об. %. Пределы обнаружения примесей составили  $2 \times 10^{-7}-2 \times 10^{-4}$  об. %.

Ключевые слова: арсин, хромато-масс-спектрометрия, примеси, предел обнаружения, правильность.

DOI: 10.31857/S0044450221030130

Высокочистый арсин находит широкое применение для получения полупроводниковых материалов (арсенидов галлия, индия, алюминия), применяющихся в микроэлектронике, лазерной технике, оптоэлектронике гелиоэнергетике, для производства мощных сверхвысокочастотных приборов [1–3], халькогенидных стекол для волоконной оптики [4].

Физико-химические свойства полупроводниковых и оптических материалов существенно зависят от чистоты исходных вешеств. Согласно современным требованиям, уровень чистоты арсина, применяемого в микроэлектронике, должен составлять не ниже 99.99994% (ТУ 2114-001-07611801-2010), а содержание в нем примесей, в первую очередь электрически активных, - не выше  $10^{-6} - 10^{-5}$  об. %. Работ, посвященных исследованию примесного состава арсина, в литературе немного. В значительной степени это связано с его высокой токсичностью и в связи с этим предпочтительным анализом получаемых из арсина конечных менее токсичных материалов. Наибольшими аналитическими возможностями определения примесей в арсине обладают методы масс-спектрометрии, ИК-спектроскопии, газовой хроматографии и хромато-масс-спектрометрии [5]. В работах [6, 7] методом масс-спектрометрии в арсине определили примеси толуола, фреонов, ксилола, фосфина с пределом обнаружения  $1 \times 10^{-5}$  об. %. Описано [8, 9] ИК-спектроскопическое исследование содержания воды в арсине с пределом обнаружения 7  $\times$  10<sup>-5</sup> об. %. Основными методами анализа арсина, позволяющими определять широкий круг молекулярных примесей с низкими пределами обнаружения, являются газовая хроматография и хромато-массспектрометрия [5]. С использованием метода газовой хроматографии определены постоянные газы и диоксид углерода с пределами обнаружения  $2 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-5}$  об. % [10, 11], летучие неорганические гидриды элементов 3-6 групп периодической системы с пределами обнаружения 2 × ×  $10^{-7}$ —1 ×  $10^{-4}$  об. % [12—14], углеводороды C<sub>1</sub>—C<sub>4</sub> с пределами обнаружения  $2 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-56}$  об. % [13–15]. Во всех работах по газохроматографическому анализу арсина примеси определяли с использованием насадочных колонок и различных селективных детекторов, позволяющих регистрировать с высокой чувствительностью только ограниченный набор примесей. Во многих случаях низкие пределы обнаружения достигнуты за счет концентрирования и использования проб большого объема, что не всегда приемлемо в случае анализа высокочистых веществ.

Метод хромато-масс-спектрометрии использовали в основном для идентификации примесей. В работах [16, 17] в арсине установлены постоянные газы, некоторые углеводороды  $C_4-C_6$ , дихлорметан, хлороформ, 1,2-дихлорэтан, гидриды. Пределы их обнаружения составили  $2 \times 10^{-7}-2 \times 10^{-5}$  об. %. В работе [18] этим методом с применением капиллярных адсорбционных колонок идентифицировали более 50 примесных веществ, среди которых постоянные газы, летучие неорганические гидриды, углеводороды  $C_1-C_6$ , хлор- и кислородсодержащие углеводороды, триметил-фторсилан, диметилсульфид, карбонилсульфид, толуол, хлорбензол, алкилпроизводные арсина и диарсина.

Хромато-масс-спектрометрический метод является наиболее перспективным для определения примесей в арсине. Его применение в сочетании с капиллярными колонками с различной селективностью даст возможность добиться высокоэффективного хроматографического разделения примесей с близкими свойствами и обеспечить их надежное высокочувствительное определение. Сведения по количественному определению в арсине большинства обнаруженных примесей в литературе отсутствуют.

Цель настоящей работы — разработка методики количественного хромато-масс-спектрометрического определения примесей в арсине высокой чистоты с использованием капиллярных адсорбционных колонок.

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследовали примесный состав арсина, полученного электрохимическим восстановлением мышьяковой кислоты, синтезированной из мышьяксодержащего сырья [19]. Анализировали образцы арсина после синтеза, очищенные низкотемпературной ректификацией, и фракции, выделенные в процессе его очистки.

Для анализа арсина использовали хроматомасс-спектрометр Agilent 6890/MSD 5973N с квадрупольным масс-анализатором. Разработали специальную вакуумную систему дозирования арсина в хромато-масс-спектрометр, предусматривающую возможность применения независимых газовых линий для дозирования арсина разной степени чистоты. Схема установки приведена и подробно описана в работе [18].

Для разделения примесей с невысокими относительно арсина температурами кипения и молекулярными массами использовали капиллярную адсорбционную колонку GS-GasPro 60 м × 0.32 мм с сорбентом модифицированным силикагелем (Agilent Technologies, Inc., США). Для разделения менее летучих примесей использовали колонку с сорбентом политриметилсилилпропином 25 м ×  $\times 0.26$  мм,  $d_f = 0.25$  мкм [20]. Условия проведения анализа и разделения примесей, их идентификация описаны в работе [18].

Количественное определение примесей проводили методом внешнего стандарта по площадям хроматографических пиков в режиме селективного ионного детектирования (SIM) по регистрации их единичных ионов, характеризующихся максимальным соотношением сигнал/шум. Значения m/z этих ионов приведены в табл. 1.

В качестве образцов сравнения использовали аттестованные газовые смеси постоянных газов и углеводородов  $C_1-C_6$  (соответствуют ТУ 6-16-2956-92). В случае гидридов и ряда хлорсодержащих веществ аттестованные газовые смеси отсутствовали, поэтому соответствующие образцы сравнения готовили самостоятельно [29] статическим разбавлением индивидуальных веществ. Газом-разбавителем служил гелий марки 60 (ТУ 0271-011-45905715-02). Градуировочные смеси готовили в диапазоне парциальных давлений  $10^{-7}-10^{-3}$  атм ( $10^{-5}-0.1$  об. %). Погрешность их приготовления не превышала 15%.

Концентрацию примеси  $i(c_i)$  в образцах арсина находили по уравнению:

$$c_i = p_i / P_{\text{FWADD}} \times 100\%, \tag{1}$$

где  $p_i$  — установленное парциальное давление примеси,  $P_{\text{гидр}}$  — давление пробы арсина.

Концентрации веществ, для которых отсутствовали образцы сравнения (алкилпроизводные арсина, диарсин, серосодержащие вещества, некоторые хлорсодержащие углеводороды, ряд изомеров углеводородов  $C_4-C_6$ ), определяли с использованием коэффициентов чувствительности детектирования, установленных с использованием их полных сечений ионизации [30–33].

Контрольный опыт проводили дозированием в колонку промывочного газа системы напуска гелия марки 7.0 (ТУ 0271-001-45905715-02).

Пределы обнаружения примесей по парциальному давлению *p*<sub>min</sub> рассчитывали для режима SIM по утроенному стандартному отклонению сигнала контрольного опыта [34]:

$$p_{\min} = 3s/A,\tag{2}$$

где s (ед. счета) — стандартное отклонение аналитического сигнала контрольного опыта, A (ед. счета/атм) — коэффициент чувствительности детектора к определяемому веществу.

Стандартное отклонение сигнала контрольного опыта рассчитывали по колебаниям площади пи-ка, относящегося к времени выхода определяемой примеси:

in	
а с <sub>п</sub>	
ни	
уже	
Iap'	
обн	
IBI (	
цел	
пре	
И	
<u>u/z</u> )	
a ( <i>n</i>	
Ю	
1H a	
Bbl(	
000	
мас	
ble	
'eM	
иру	
Idro	
гис	
k pe	
, И)	
IHa	
bcı	
ax a	
3Ц2	
бра	
X O	
НЫ	
ьиі	
<b>)</b> a3J	
l B [	
сей	
IMe	
Иdг	
ИИ	
ац	
нтр	
Шe	
КΟН	
ľ.	
ua 1	
шц	
Ta6	

		Концентр	ация, об. %				c <sub>min</sub> , oб. %
Примесь	"исходный"	"легкая" фракция	"тяжелая" фракция	"ректификат"	<i>z/m</i>	наши данные	литературные данные
N <sub>2</sub> (азот)	$(9 \pm 1) \times 10^{-4}$	$(2.3 \pm 0.2) \times 10^{-5}$	$(2.6 \pm 0.3) \times 10^{-2}$	$(1.2 \pm 0.2) \times 10^{-5}$	28	$5 \times 10^{-6}$	$5 \times 10^{-6}$ [21, 22]
О <sub>2</sub> (кислород)	$< 2 \times 10^{-5}$	$(1.3 \pm 0.1) \times 10^{-4}$	$<2 \times 10^{-5}$	$(1.0 \pm 0.2) \times 10^{-5}$	32	$5 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-6}$ [21] $2 \times 10^{-6}$ [21]
							$2.5 \times 10^{-6}$ [22]
Ar (apron)	$(1.0 \pm 0.1) \times 10^{-2}$	$(3.0\pm0.3) imes 10^{-5}$	$(3.0 \pm 0.3) \times 10^{-4}$	$(2.0 \pm 0.9) \times 10^{-6}$	40	$9 \times 10^{-7}$	$2 \times 10^{-6} [24]$
СО (угарный газ)	$<2 \times 10^{-4}$	$< 2 \times 10^{-4}$	$<2 \times 10^{-4}$	$<2 \times 10^{-4}$	12	$2 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-6} [24]$
							$5 \times 10^{-6}$ [22, 25]
							$1 \times 10^{-6}$ [21]
CO <sub>2</sub> (углекислый газ)	$(2.7 \pm 0.2) \times 10^{-2}$	2.14	$(8.8 \pm 0.9) \times 10^{-4}$	$(8 \pm 2) \times 10^{-6}$	44	$1 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-6}$ [24]
							$5 \times 10^{-6}$ [23]
							$1 \times 10^{-6}$ [21]
							$2.5 \times 10^{-6}$ [22]
N <sub>2</sub> O (оксид азота(I))	$(1.0 \pm 0.2) \times 10^{-5}$	$(2.1 \pm 0.3) \times 10^{-3}$	$<2 \times 10^{-6}$	$< 2 \times 10^{-6}$	44	$2 \times 10^{-6}$	$2 \times 10^{-6}$ [21]
СН4 (метан)	$<1 \times 10^{-5}$	$(2.7 \pm 0.3) \times 10^{-4}$	$<1 \times 10^{-5}$	$<1 \times 10^{-5}$	15	$1 \times 10^{-5}$	$5.5 \times 10^{-4}$ [24]
							$5 \times 10^{-6}$ [22, 25]
							$1 \times 10^{-5}$ [26]
$C_2H_2$ (ацетилен)	$(1.0 \pm 0.1) \times 10^{-5}$	$(5.7 \pm 0.6) \times 10^{-4}$	$<1 \times 10^{-6}$	$< 1 \times 10^{-6}$	26	$1 \times 10^{-6}$	**
$C_2H_4$ (этилен)	$(7.3 \pm 0.7) \times 10^{-1}$	10.9	$(2.8 \pm 0.3) \times 10^{-3}$	$<1 \times 10^{-5}$	27	$1 \times 10^{-5}$	$3 \times 10^{-6} [24]$
							$2 \times 10^{-5}$ [26]
							$4 \times 10^{-6}$ [14]
С <sub>2</sub> Н <sub>6</sub> (этан)	$(7.7 \pm 0.8) \times 10^{-4}$	$(2.1\pm 0.2)  imes 10^{-1}$	$(8.0 \pm 0.8) \times 10^{-5}$	$<2 \times 10^{-6}$	27	$1 \times 10^{-6}$	$5 \times 10^{-6}$ [22, 27]
							$2.5 \times 10^{-5}$ [26]
							$7 \times 10^{-6}$ [14]
С <sub>3</sub> Н <sub>6</sub> (пропилен)	$(1.2 \pm 0.1) \times 10^{-2}$	$(7.0 \pm 0.7) \times 10^{-5}$	$(6.3 \pm 0.6) \times 10^{-1}$	$(1.5 \pm 0.2) \times 10^{-5}$	41	$2 \times 10^{-6}$	$5 \times 10^{-6}$ [24]
							$5 \times 10^{-5}$ [26]
С <sub>3</sub> Н <sub>8</sub> (пропан)	$(4.0 \pm 0.4) \times 10^{-5}$	$<2 \times 10^{-6}$	$(3.3 \pm 0.3) \times 10^{-3}$	$<2 \times 10^{-6}$	29	$2 \times 10^{-6}$	$2 \times 10^{-6}$ [24]
							$5 \times 10^{-5}$ [26]
							$3 \times 10^{-6}$ [14]
С <sub>4</sub> Н <sub>6</sub> * (бутадиен-1,3)	$(9 \pm 3) \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	$(5 \pm 2) \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	54	$1 \times 10^{-6}$	I
С <sub>4</sub> Н <sub>8</sub> * (2-метилпропен-1)	$(9 \pm 3) \times 10^{-5}$	$< 3 \times 10^{-6}$	$(9 \pm 2) \times 10^{-2}$	$< 3 \times 10^{-6}$	41	$3 \times 10^{-6}$	I

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПРИМЕСЕЙ В АРСИНЕ ВЫСОКОЙ ЧИСТОТЫ

255

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 3 2021

			Концентр	ация, об. %				c <sub>min</sub> , oб. %
	Примесь	"исходный"	"легкая" фракция	"тяжелая" фракция	"ректификат"	2/m	наши данные	литературные данные
	<i>изо</i> -С <sub>4</sub> Н <sub>10</sub> (изобутан)	$(1.0 \pm 0.1) \times 10^{-4}$	$(1.0 \pm 0.1) \times 10^{-5}$	$(8.0\pm0.8) imes10^{-5}$	$< 3 \times 10^{-6}$	43	$3 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-6}$ [24]
								$2 \times 10^{-6}$ [14]
	<i>н</i> -С <sub>4</sub> Н <sub>10</sub> ( <i>н</i> -бутан)	$(1.0\pm0.1) imes 10^{-4}$	$(1.0 \pm 0.1) \times 10^{-5}$	$(2.3 \pm 0.2) \times 10^{-4}$	$< 2 \times 10^{-6}$	43	$2 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-6}$ [24]
								$4 \times 10^{-5}$ [26]
								$2 \times 10^{-6}$ [14]
	<i>н</i> -С <sub>5</sub> Н <sub>12</sub> ( <i>н</i> -пентан)	$(1.9 \pm 0.5) \times 10^{-5}$	$<2 \times 10^{-6}$	$<2 \times 10^{-6}$	$< 2 \times 10^{-6}$	43	$2 \times 10^{-6}$	I
	С <sub>5</sub> Н <sub>12</sub> * (2-метилбутан)	$< 2 \times 10^{-6}$	$< 2 \times 10^{-6}$	$(1.0 \pm 0.3) \times 10^{-5}$	$< 2 \times 10^{-6}$	43	$2 \times 10^{-6}$	I
	$C_6 H_{12}^*$ (2-метиллентен-1)	$< 3 \times 10^{-6}$	$< 3 \times 10^{-6}$	$(9 \pm 3) \times 10^{-6}$	$< 3 \times 10^{-6}$	56	$3 \times 10^{-6}$	I
	С <sub>6</sub> Н <sub>14</sub> * (2-метилпентан)	$< 3 \times 10^{-6}$	$< 3 \times 10^{-6}$	$(9 \pm 3) \times 10^{-6}$	$< 3 \times 10^{-6}$	43	$3 \times 10^{-6}$	I
	<i>n</i> -С <sub>6</sub> Н <sub>14</sub> ( <i>н</i> -гексан)	$< 3 \times 10^{-6}$	$< 3 \times 10^{-6}$	$(1.0 \pm 0.2) \times 10^{-5}$	$< 3 \times 10^{-6}$	57	$3 \times 10^{-6}$	Ι
2	С <sub>7</sub> Н <sub>16</sub> * (триметилгексан)	$< 4 \times 10^{-6}$	$< 4 \times 10^{-6}$	$(3 \pm 1) \times 10^{-5}$	$<4 \times 10^{-6}$	43	$4 \times 10^{-6}$	Ι
жу	С <sub>6</sub> Н <sub>6</sub> (бензол)	$< 1 \times 10^{-6}$	$< 1 \times 10^{-6}$	$(9 \pm 3) \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	78	$1 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-5}$ [24]
PH/	$C_7 H_8$ (ToriyoJI)	$< 3 \times 10^{-6}$	$< 3 \times 10^{-6}$	$(1.7 \pm 0.5) \times 10^{-5}$	$< 3 \times 10^{-6}$	91	$3 \times 10^{-6}$	$2 \times 10^{-5}$ [24]
АЛ Д	SiH <sub>4</sub> (силан)	$<1 \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	30	$1 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-4}$ [14, 24]
AH/								$1 \times 10^{-6}$ [22, 28]
٩ЛИ	GeH <sub>4</sub> (repman)	$(1.0 \pm 0.1) \times 10^{-5}$	$(7.0\pm 0.7)  imes 10^{-4}$	$<5 \times 10^{-7}$	$< 5 \times 10^{-7}$	76	$5 \times 10^{-7}$	$1 \times 10^{-4}$ [14, 24]
1T <i>V</i>								$1 \times 10^{-6}$ [22, 28]
14E	РН <sub>3</sub> (фосфин)	$<1 \times 10^{-5}$	$<1 \times 10^{-5}$	$(7 \pm 2) \times 10^{-5}$	$<1 \times 10^{-5}$	34	$1 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-7}$ [24]
СК								$1 \times 10^{-4}$ [23]
ОЙ								$1 \times 10^{-5}$ [22]
XI								$2.5 \times 10^{-6}$ [21]
1M								$1 \times 10^{-6} [14]$
ии	H <sub>2</sub> S (сероводород)	$(4.0\pm0.4) imes10^{-5}$	$(1.0 \pm 0.3) \times 10^{-5}$	$(4.0 \pm 0.4) \times 10^{-5}$	$< 5 \times 10^{-6}$	36	$5 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-5}$ [24]
								$5 \times 10^{-6}$ [22, 28]
том	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (метиленхлорид)	$(5\pm2) imes10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	$(1.5\pm 0.5)  imes 10^{-1}$	$<1 \times 10^{-6}$	49	$1 \times 10^{-6}$	$6 \times 10^{-5}$ [24]
t 76	CCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> * (дифтордихлорметан)	$<7 \times 10^{-7}$	$<7 \times 10^{-7}$	$(6 \pm 2) \times 10^{-6}$	$<7 \times 10^{-7}$	85	$7 \times 10^{-7}$	I
	CH <sub>3</sub> Cl (хлорметан)	$(1.1 \pm 0.3) \times 10^{-4}$	$<1 \times 10^{-6}$	$(1.7 \pm 0.5)  imes 10^{-2}$	$<1 \times 10^{-6}$	50	$1 \times 10^{-6}$	I
N⁰	CHCl <sub>3</sub> (xropoфopm)	$(2.3 \pm 0.7) \times 10^{-5}$	$< 8 \times 10^{-7}$	$(8 \pm 2) \times 10^{-2}$	$< 8 \times 10^{-7}$	83	$8 \times 10^{-7}$	$3 \times 10^{-5}$ [24]
3	С <sub>2</sub> H <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ( <i>транс</i> -1,2-дихлорэтилен)	$<4 \times 10^{-7}$	$< 4 \times 10^{-7}$	$(1.5\pm0.5) imes 10^{-6}$	$< 4 \times 10^{-7}$	61	$4 \times 10^{-7}$	I
202	С <sub>2</sub> HCl <sub>3</sub> (трихлорэтилен)	$(1.0 \pm 0.3) \times 10^{-6}$	$< 4 \times 10^{-7}$	$(4\pm1) imes10^{-1}$	$< 4 \times 10^{-7}$	130	$4 \times 10^{-7}$	I
21	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (цис-1,2-дихлорэтилен)	$<4 \times 10^{-7}$	$<4 \times 10^{-7}$	$(1.0 \pm 0.3) \times 10^{-6}$	$<4 \times 10^{-7}$	61	$4 \times 10^{-7}$	I

256

Таблица 1. Продолжение

СОЗИН и др.

		Концентр	ация, об. %				c <sub>min</sub> , oб. %
Примесь	"исходный"	"легкая" фракция	"тяжелая" фракция	"ректификат"	2/m	наши данные	литературные данные
С <sub>2</sub> H <sub>3</sub> Cl (хлорэтилен)	$(3.0 \pm 0.9) \times 10^{-5}$	$< 6 \times 10^{-7}$	$(7.1 \pm 2.1) \times 10^{-3}$	$< 6 \times 10^{-7}$	62	$6 \times 10^{-7}$	I
$C_2H_4Cl_2$ (1,2-дихлорэтан)	$< 3 \times 10^{-7}$	$< 3 \times 10^{-7}$	$(3 \pm 1) \times 10^{-6}$	$< 3 \times 10^{-7}$	62	$3 \times 10^{-7}$	$1 \times 10^{-5} [24]$
С <sub>2</sub> Н <sub>5</sub> СІ (хлорэтан)	$<1 \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	$(9 \pm 2) \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	64	$1 \times 10^{-6}$	I
$C_2H_3Cl_3$ (1,1,2-трихлорэтан)	$<2 \times 10^{-6}$	$< 2 \times 10^{-6}$	$(1.0 \pm 0.3) \times 10^{-5}$	$< 2 \times 10^{-6}$	97	$2 \times 10^{-6}$	I
$C_2 Cl_4$ (тетрахлорэтилен)	$<2 \times 10^{-7}$	$< 2 \times 10^{-7}$	$(3 \pm 1) \times 10^{-6}$	$<2 \times 10^{-7}$	166	$2 \times 10^{-7}$	I
C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> Cl* (3-хлорпропен-1)	$(4 \pm 2) \times 10^{-6}$	$< 1 \times 10^{-6}$	$(4 \pm 2) \times 10^{-2}$	$<1 \times 10^{-6}$	41	$1 \times 10^{-6}$	I
$C_3H_7Cl^*$ (2-хлорпропан)	$<1 \times 10^{-6}$	$< 1 \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	$< 1 \times 10^{-6}$	43	$1 \times 10^{-6}$	I
С <sub>6</sub> Н <sub>5</sub> СІ (хлорбензол)	$< 6 \times 10^{-7}$	$< 6 \times 10^{-7}$	$(7 \pm 2) \times 10^{-6}$	$< 6 \times 10^{-7}$	112	$6 \times 10^{-7}$	I
СН <sub>3</sub> СНО (ацетальдегид)	$(1.0 \pm 0.3) \times 10^{-4}$	$<1 \times 10^{-6}$	$(2.6\pm0.8) imes10^{-2}$	$<1 \times 10^{-6}$	29	$1 \times 10^{-6}$	I
(СН <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> О (ацетон)	$(8 \pm 2) \times 10^{-4}$	$< 8 \times 10^{-6}$	$(8 \pm 2) \times 10^{-1}$	$< 8 \times 10^{-6}$	43	$8 \times 10^{-6}$	I
С <sub>4</sub> Н <sub>8</sub> О* (2-бутанон)	$< 8 \times 10^{-6}$	$< 8 \times 10^{-6}$	$(3 \pm 1) \times 10^{-5}$	$< 8 \times 10^{-6}$	43	$8 \times 10^{-6}$	I
СН <sub>3</sub> АsH <sub>2</sub> * (метиларсин)	$(2.3 \pm 0.7) \times 10^{-2}$	$< 5 \times 10^{-7}$	$47 \pm 15$	$<5 \times 10^{-7}$	90	$5 \times 10^{-7}$	I
$C_2H_3AsH_2^*$	$(3 \pm 1) \times 10^{-4}$	$< 1 \times 10^{-6}$	$1.2 \pm 0.3$	$< 1 \times 10^{-6}$	102	$1 \times 10^{-6}$	I
(СН <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> AsH* (диметиларсин)	$(6 \pm 2) \times 10^{-5}$	$<1 \times 10^{-6}$	$(3 \pm 1) \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	90	$1 \times 10^{-6}$	I
$C_2H_5AsH_2^*$ (этиларсин)	$(2.8 \pm 0.8) \times 10^{-3}$	$< 6 \times 10^{-7}$	$14 \pm 4$	$< 6 \times 10^{-7}$	106	$6 \times 10^{-7}$	I
$C_3H_5AsH_2^*$ (пропенарсин)	$< 8 \times 10^{-7}$	$< 8 \times 10^{-7}$	$(2.0 \pm 0.6) \times 10^{-5}$	$< 8 \times 10^{-7}$	90	$8 \times 10^{-7}$	I
$C_3H_7AsH_2^*$ (пропиларсин)	$(5 \pm 1) \times 10^{-5}$	$< 8 \times 10^{-7}$	$(1.1 \pm 0.3) \times 10^{-1}$	$< 8 \times 10^{-7}$	120	$8 \times 10^{-7}$	I
$CH_3AsHC_2H_3*$	$(1.3 \pm 0.4) \times 10^{-5}$	$<1 \times 10^{-6}$	$(9 \pm 2) \times 10^{-2}$	$< 1 \times 10^{-6}$	90	$1 \times 10^{-6}$	I
CH <sub>3</sub> AsHC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> *	$(6 \pm 2) \times 10^{-5}$	$<1 \times 10^{-6}$	$(3 \pm 1) \times 10^{-1}$	$<1 \times 10^{-6}$	90	$1 \times 10^{-6}$	I
As <sub>2</sub> H <sub>4</sub> * (диарсин)	$(1.5 \pm 0.5) \times 10^{-4}$	$< 8 \times 10^{-7}$	$(2.2 \pm 0.7) \times 10^{-5}$	$(3 \pm 1) \times 10^{-5}$	150	$8 \times 10^{-7}$	I
$CH_3As_2H_3^*$ (метилдиарсин)	$(1.7 \pm 0.5) \times 10^{-5}$	$<9 \times 10^{-7}$	$(3 \pm 1) \times 10^{-2}$	$<9 \times 10^{-7}$	150	$9 \times 10^{-7}$	I
С <sub>2</sub> Н <sub>5</sub> Аs <sub>2</sub> H <sub>3</sub> * (этилдиарсин)	$<1 \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	$(9 \pm 3) \times 10^{-5}$	$<1 \times 10^{-6}$	103	$1 \times 10^{-6}$	I
$(CH_3)_2SiF_2^*$ (диметилдифторсилан)	$(1.4 \pm 0.4) \times 10^{-4}$	$<7 \times 10^{-7}$	$(4 \pm 1) \times 10^{-4}$	$<7 \times 10^{-7}$	81	$7 \times 10^{-7}$	I
(СН <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> SiF * (триметилфторсилан)	$<1 \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	77	$1 \times 10^{-6}$	I
CH <sub>3</sub> SH* (метантиол)	$<1 \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	$(7 \pm 2) \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	47	$1 \times 10^{-6}$	I
COS* (серооксид углерода)	$(8 \pm 1) \times 10^{-7}$	$<5 \times 10^{-7}$	$(4.0 \pm 1.2) \times 10^{-5}$	$(1.0 \pm 0.3) \times 10^{-6}$	60	$5 \times 10^{-7}$	$2.5 \times 10^{-6}$ [21]
							$5 \times 10^{-6}$ [22]
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> S* (диметилсульфид)	$< 3 \times 10^{-6}$	$< 3 \times 10^{-6}$	$(2.0 \pm 0.7) \times 10^{-5}$	$< 3 \times 10^{-6}$	62	$3 \times 10^{-6}$	I
С <sub>4</sub> Н <sub>4</sub> S* (тиофен)	$<1 \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	$(9 \pm 3) \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-6}$	84	$1 \times 10^{-6}$	Ι
*Рассчитаны через полные сечения ис	онизации [30-33], **	данные не обнаружен	lbl.				

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 3 2021

Таблица 1. Окончание



Рис. 1. Зависимость логарифма площади хроматографического пика *B* (ед. счета) от логарифма парциального давления  $p_i$  (атм) примеси:  $C_2H_3Cl(1)$ ,  $GeH_4(2)$ ,  $h-C_6H_{14}(3)$ ,  $CH_2Cl_2(4)$ . Уравнения регрессии: (1)  $lgB = 0.998 lgp_i + 11.840$ ,  $R^2 = 0.991$ ; (2)  $lgB = 1.011 lgp_i + 11.237$ ,  $R^2 = 0.999$ ; (3)  $lgB = 1.010 lgp_i + 10.977$ ,  $R^2 = 0.999$ ; (4)  $lgB = 0.992 lgp_i + 10.272$ ,  $R^2 = 0.999$ .

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} \left(B_i - \overline{B}\right)^2}{n-1}},$$
(3)

где  $B_i$  (ед. счета) — единичное значение площади пика примеси,  $\overline{B}$  (ед. счета) — среднее значение площади пика примеси; n — число измерений.

Коэффициенты чувствительности детектирования *А* определяли экспериментально с применением образцов сравнения, а также рассчитывали с использованием полных сечений ионизации.

Пределы обнаружения примесей  $c_{\min}$  рассчитывали из соотношения  $P_{\min}$  и максимального давления анализируемого газа в системе дозирования  $P_{\max} = 1.0$  атм:

$$c_{\min} = \frac{P_{\min}}{P_{\max}} \times 100\%.$$
 (4)

Пределы обнаружения примесей рассчитывали в режиме SIM по ионам, выбранным из их массспектров, для которых значение сигнал/шум является максимальным (табл. 1).

Правильность результатов определения подтверждали способом варьирования величины пробы. Для этого сравнивали модуль разности средних значений результатов определения концентраций  $|\overline{c_1} - \overline{c_2}|$  с максимальной погрешностью этой разности є [35]. Максимальную погрешность разницы результатов є рассчитывали по формуле:

$$\varepsilon = t_{P_{f}} s_{{}_{\mathrm{B3B}}} \sqrt{\frac{1}{n_{1}} + \frac{1}{n_{2}}},$$
 (5)

где  $t_{Pf}$  — коэффициент Стьюдента для доверительной вероятности P = 0.95 и числа степеней свободы  $f = n_1 + n_2 - 2$ .

Средневзвешенное стандартных отклонений *s*<sub>взв</sub> рассчитывали по формуле:

$$s_{\rm B3B} = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}.(6)$$

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 приведены примеры градуировочных зависимостей для ряда примесных веществ. Видно, что полученные зависимости линейны в исследованной области парциальных давлений примесей.

В табл. 1 приведены концентрации примесей в некоторых исследованных образцах арсина, которые в работе [18] отнесены к следующим группам: "исходные" после синтеза, "легкая" и "тяжелая" фракции, отобранные в верхней и нижней частях ректификационной колонны, а также очищенный образец – "ректификат". Как видно, в исходном образце концентрации примесей находятся на уровне  $10^{-6}$ —0.1 об. %. В ходе очистки в "легкой" фракции концентрируются примеси предельных и непредельных углеводородов C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, оксида азота(I), германа, сероводорода. Их концентрации могут отличаться до трех порядков величины по сравнению с "исходным" образцом. В "тяжелой" фракции концентрируются примеси с более высокими температурами кипения, чем у арсина - предельные, непредельные, ароматические углеводороды С<sub>3</sub>-С<sub>7</sub>, хлорсодержащие углеводороды, алкилпроизводные арсина и диарсина. Содержание последних достаточно велико и достигает единиц процентов.

Во всех образцах установлены примеси постоянных газов. Их присутствие во многом связано с возможностью проникновения в систему очистки и перегрузки арсина через полимерные уплотняющие материалы за счет диффузии [36]. Аргон и азот, кроме того, являлись промывочными газами технологического оборудования. Диоксид углерода в ходе очистки концентрируется в "легкой" фракции, несмотря на то, что в соответствии с его температурой кипения он должен переходить в "тяжелую" фракцию. Такое нетипичное поведение этой примеси, вероятно, связано с тем, что при давлении, при котором ведется ректификация, диоксид углерода не сжижается.

Присутствие примесей остальных веществ связано с их поступлением из исходного мышьяксодержащего сырья. Алкилпроизводные арсина и диарсина, а также диарсин могут образовываться в процессе синтеза арсина с участием углеводородов, содержание которых в получаемом арсине велико и достигает 0.1 об. %.

		Давление і	тробы, атм				
Примесь	1.	.0	0.	.5	S <sub>B3B</sub>	$ c_1 - \overline{c}_2 $	3
	$\overline{c_1}$	<i>s</i> <sub>1</sub>	$\overline{c}_2$	<i>s</i> <sub>2</sub>			
N <sub>2</sub>	$6.2 \times 10^{-5}$	$0.5 \times 10^{-5}$	$5.7 \times 10^{-5}$	$0.4 \times 10^{-5}$	$0.4 \times 10^{-5}$	$0.5 \times 10^{-5}$	$9.1 \times 10^{-6}$
Ar	$7.4 \times 10^{-6}$	$0.8 \times 10^{-6}$	$8.3 \times 10^{-6}$	$0.9 \times 10^{-6}$	$0.9 \times 10^{-6}$	$0.9 \times 10^{-6}$	$1.3 \times 10^{-6}$
CO <sub>2</sub>	$1.9 \times 10^{-5}$	$0.3 \times 10^{-5}$	$1.7 \times 10^{-5}$	$0.3 \times 10^{-5}$	$0.3 \times 10^{-5}$	$0.3 \times 10^{-5}$	$0.5 \times 10^{-5}$
COS	$5.6 \times 10^{-6}$	$0.7 \times 10^{-6}$	$6.2 \times 10^{-6}$	$0.7 \times 10^{-6}$	$0.7 \times 10^{-6}$	$0.6 \times 10^{-6}$	$1.0 \times 10^{-6}$
$H_2S$	$1.5 \times 10^{-5}$	$0.2 \times 10^{-5}$	$1.7 \times 10^{-5}$	$0.2 \times 10^{-5}$	$0.2 \times 10^{-5}$	$0.2 \times 10^{-5}$	$0.3 \times 10^{-5}$
$C_3H_6$	$2.5 \times 10^{-5}$	$0.4 \times 10^{-5}$	$2.2 \times 10^{-5}$	$0.3 \times 10^{-5}$	$0.4 \times 10^{-5}$	$0.3 \times 10^{-5}$	$0.6 \times 10^{-5}$
CH <sub>3</sub> AsH <sub>2</sub>	$5.0 \times 10^{-5}$	$1.0 \times 10^{-5}$	$6.1 \times 10^{-5}$	$1.2 \times 10^{-5}$	$1.1 \times 10^{-5}$	$1.1 \times 10^{-5}$	$5.6 \times 10^{-5}$
$As_2H_4$	$5.7 \times 10^{-5}$	$0.4 \times 10^{-5}$	$6.2 \times 10^{-5}$	$0.5 \times 10^{-5}$	$0.4 \times 10^{-5}$	$0.5 \times 10^{-5}$	$9.1 \times 10^{-5}$

**Таблица 2.** Подтверждение правильности результатов (об. %) анализа арсина методом варьирования величины пробы ( $n_1 = n_2 = 5$ , P = 0.95)

В очищенном образце установлены примеси постоянных газов, серооксида углерода, пропилена, диарсина. Концентрации их не превышают  $10^{-5}$  об. %. Содержания остальных веществ не превышают пределов обнаружения.

В табл. 1 приведены достигнутые пределы обнаружения примесей. Они рассчитаны для максимального давления пробы арсина 1.0 атм и составили  $2 \times 10^{-7} - 2 \times 10^{-4}$  об. %. Из табл. 1 видно. что пределы обнаружения находятся на уровне наиболее низких, известных из литературы, а для примесей GeH<sub>4</sub>,  $C_2H_6$ ,  $C_3H_6$ ,  $N_2O$ , COS,  $H_2S$ , CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, СНСl<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>, C<sub>7</sub>H<sub>8</sub> они ниже в 2–100 раз. Для ряда углеводородов C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>, галогенсодержащих углеводородов, алкилпроизводных арсина и диарсина пределы обнаружения определены впервые. Достаточно высокие их значения для некоторых кислородсодержащих веществ объясняются размыванием хроматографических пиков, как это показано в работе [18]. Пределы обнаружения этилена и фосфина также достаточно высоки. Это связано с их определением из пробы в 10 раз ниже по величине, чем для остальных веществ, для исключения наложения пика основного компонента [18].

Правильность анализа арсина оценивали методом варьирования величины пробы на примере ряда примесей (табл. 2). Как видно из табл. 2, изменение давления арсина в системе дозирования в 2 раза не приводит к статистически значимым различиям определения концентраций примесей. Различие в результатах определения не превышает максимальной погрешности этой разницы є [34, 37]. Косвенным подтверждением правильности полученных результатов является соответствие направления концентрирования веществ их летучести при ректификационной очистке арсина.

#### \* \* \*

Таким образом, методом хромато-масс-спектрометрии исследован примесный состав арсина, в том числе высокочистого. Установлены и определены содержания примесей постоянных газов, диоксида углерода, гидридов, предельных, непредельных, ароматических углеводородов  $C_1-C_6$ , галогенсодержащих углеводородов, соединений серы, алкилпроизводных арсина и диарсина. Достигнутые пределы обнаружения примесей составляют  $2 \times 10^{-7}-2 \times 10^{-4}$  об. %. Большинство из них в настоящее время является наиболее низкими. Установлено, что концентрации примесей в высокочистом арсине не превышают  $10^{-7}-10^{-5}$  об. %. В неочищенных образцах они достаточно высоки и лежат в интервале  $10^{-6}-0.1$  об. %.

Работа выполнена в соответствии с Программой фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2019—2021 годы, № темы 0095-2019-0001.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Бузынин Ю.Н., Гусев С.А., Данильцев В.М., Дроздов М.Н., Дроздов Ю.Н., Мурель А.В., Хрыкин О.И., Шашкин В.И. Монокристаллические слои GaAs, AlGaAs и InGaAs, полученные методом газофазной эпитаксии их металлоорганических соединений арсенида галлия // Письма в журн. техн. физики. 2000. Т. 26. № 7. С. 64.
- Черняев В.Н., Кожитов Л.В. Технология эпитаксиальных слоев арсенида галлия и приборы на их основе. М.: Энергия, 1974. 231 с.
- 3. *Бланк Т.В., Гольдберг Ю.А.* Полупроводниковые фотоэлектропреобразователи для ультрафиолетовой области спектра // Физика и техника полупроводников. 2003. Т. 37. № 9. С. 1025.

- Чурбанов М.Ф., Карпов Ю.А., Зломанов П.В., Федоров В.А. Высокочистые вещества. М.: Научный мир, 2018. 994 с.
- Крылов В.А. Анализ высокочистых летучих веществ // Журн. аналит. химии. 2002. Т. 57. № 8. С. 790.
- 6. Зайков А.А., Зырянов С.М., Пульников И.И., Скорынин Г.М., Власов В.А. Определение содержания газообразных примесей в высокочистом арсине при его очистке на газовых центрифугах // Изв. Томского политехн. ун-та. 2006. Т. 309. № 3. С. 81.
- 7. Зайков А.А., Зырянов С.М., Кулинич Ю.А., Пульников И.И., Скорынин Г.М., Власов В.А. Исследование загрязнений, вносимых резиновыми уплотнителями, в очищаемый на газовых центрифугах арсин // Изв. Томского политехн. ун-та. 2007. Т. 310. № 1. С. 137.
- Радугин Д.А., Сенников П.Г., Шкрунин В.Е., Яньков С.В. Молекулярное состояние и растворимость воды в арсине // Высокочистые вещества. 1993. № 1. С. 67.
- 9. Девятых Г.Г., Сенников П.Г. Спектроскопическое определение и изучение молекулярного состояния примеси воды в высокочистых летучих неорганических веществах // Успехи химии. 1995. Т. 64. № 9. С. 872.
- 10. Иванова Н.Т., Вислых Н.А., Воеводина В.В. Аналитический контроль производства гидридов As, P, Si и смесей на их основе // Высокочистые вещества. 1989. № 6. С. 102.
- 11. Крылов В.А., Красотский С.Г., Малышев В.М., Салганский Ю.М. Криогенный метод концентрирования примесей водорода, аргона, кислорода и азота при их газохроматографическом определении в летучих неорганических гидридах // Журн. аналит. химии. 2001. Т. 56. № 9. С. 1137.
- Ежелева А.Е., Снопатин Г.Е., Малыгина Л.С. Применение пламенно-фотометрического детектора при хроматографическом анализе летучих неорганических гидридов особой чистоты // /Журн. аналит. химии. 1979. Т. 34. № 7. С. 2308.
- Ежелева А.Е., Малыгина Л.С., Крылов В.А. Применение фотоионизационного детектора при газохроматографическом определении летучих неорганических гидридов и некоторых органических веществ // Высокочистые вещества. 1987. № 3. С. 214.
- Воротынцев В.М., Балабанов В.В., Абдрахманов Р.Р., Малыгина Л.С. Электрохимический синтез особо чистого арсина // Высокочистые вещества. 1993. № 5. С. 22.
- Крылов В.А., Чернова О.Ю., Салганский Ю.М., Малыгина Л.С., Котков А.П. Высокочувствительное определение примесей углеводородов в арсине методом реакционной газовой хроматографии /// Журн. аналит. химии. 2003. Т. 58. № 8. С. 841.
- Иванова Н.Т., Вислых Н.А., Воеводина В.В. Источник примесей при получении арсина и фосфина // Высокочистые вещества. 1990. № 5. С. 198.
- 17. *Крылов В.А., Чернова О.Ю., Созин А.Ю., Котков А.П.* Хромато-масс-спектрометрический анализ арсина высокой чистоты // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2010. Т. 76. № 3. С. 13.
- Созин А.Ю., Чернова О.Ю., Сорочкина Т.Г., Котков А.П., Гришнова Н.Д., Полежаев Д.М., Пушкарев Г.В., Буланова А.А. Идентификация примесей в высокочистом арсине методом хромато-массспектрометрии // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 5. С. 422.

- Турыгин В.В., Смирнов М.К., Березкин М.Ю., Сохадзе Л.А., Степнова Н.П., Томилов А.П., Федоров В.А., Потолоков Н.А. Физико-химические основы получения высокочистых соединений мышьяка из продуктов детоксикации люизита // Неорганические материалы. 2017. Т. 53. № 4. С. 392.
- Березкин В.Г., Королев А.А., Хотимский В.С. Политриметилсилилпропин как адсорбент в капиллярной газовой хроматографии // Доклады АН. 2000. Т. 370. С. 200.
- 21. http://www.mathesongas.com. (27.02.2020)
- 22. https://www.versummaterials.com (27.02.2020)
- 23. https://www.praxair.com (27.02.2020)
- Девятых Г.Г., Карпов Ю.А., Осипова Л.И. Выставкаколлекция веществ особой чистоты. М.: Наука, 2003. 236 с.
- Девятых Г.Г. Гидридный метод получения элементов особой чистоты. Получение и анализ веществ особой чистоты. Горький: ИХ АН СССР, 1974. С. 15.
- 26. Девятых Г.Г., Зорин А.Д. Летучие неорганические гидриды особой чистоты. М.: Наука, 1974. 206 с.
- 27. *Жигач А.Ф., Стасиневич Д.С.* Химия гидридов. Л.: Химия, 1969. 676 с.
- Девятых Г.Г. О гидридном методе получения элементов особой чистоты // Труды по химии и химической технологии ИХ АН СССР. 1962. Вып. 2. С. 221.
- 29. Крылов В.А., Чернова О.Ю., Созин А.Ю. Высокочувствительное хромато-масс-спектрометрическое определение примесей в моногермане высокой чистоты с применением адсорбционной капиллярной колонки с углеродным сорбентом // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2016. Т. 82. № 2. С. 23.
- Крылов В.А., Созин А.Ю., Зорин В.А., Березкин В.Г., Крылов А.В. Хроматомасс – спектрометрическое определение примесей в изотопно-обогащенном силане высокой чистоты // Масс-спектрометрия. 2008. Т. 4. С. 225.
- Fitch W.L. Calculation of relative electron impact total ionization cross sections for organic molecules // Anal. Chem. 1983. V. 55. P. 832.
- Mann J. B. Ionization cross sections of the elements calculated from mean-square radii of atomic orbitals // J. Chem. Phys. 1967. V. 46. P. 1646.
- Beran J. A., Kevan L. Molecular electron ionization cross sections at 70 eV // J. Phys. Chem. 1959. V. 73. P. 3866.
- 34. Золотов Ю.А. Основы аналитической химии. Изд. 2-е.: в 2-х тт. М.: Высшая школа, 2000. Т. 1. 351 с.
- Чарыков А.К. Математическая обработка результатов химического анализа. Методы обнаружения и оценки ошибок. Л.: Химия, 1984. 168 с.
- 36. Девятых Г.Г., Крылов В.А., Красотский С.Г., Саркисов А.В., Батурина Н.М., Колесников А.Н., Яньков С.В. Влияние газопроницаемости политетрафторэтилена на правильность газохроматографического определения постоянных газов в высокочистых летучих веществах // Высокочистые вещества. 1988. № 6. С. 173.
- ГОСТ Р 8.736-2011 Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения. М.: Стандартинформ, 2013. 20 с.

——— ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ ——

УДК 543.253:541.128.13

# *IN SITU* ОПРЕДЕЛЕНИЕ АСКОРБИНОВОЙ И ЩАВЕЛЕВОЙ КИСЛОТ В СОКАХ И ФРУКТАХ МЕТОДОМ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ НА ЭЛЕКТРОДЕ, МОДИФИЦИРОВАННОМ БИМЕТАЛЛИЧЕСКОЙ СИСТЕМОЙ ЗОЛОТО–ПАЛЛАДИЙ

© 2021 г. Л. Г. Шайдарова<sup>а, \*</sup>, И. А. Челнокова<sup>а</sup>, Ю. А. Лексина<sup>а</sup>, А. В. Гедмина<sup>а</sup>, Г. К. Будников<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Казанский федеральный университет, Химический институт им. А.М. Бутлерова ул. Кремлевская, 18, Казань, 420008 Россия \*e-mail: larisashaidarova@mail.ru Поступила в редакцию 22.07.2020 г. После доработки 03.09.2020 г. Принята к публикации 18.09.2020 г.

Разработан способ селективного и чувствительного вольтамперометрического определения аскорбиновой и щавелевой кислот. В качестве детектора использовали планарный электрод, модифицированный биметаллической системой золото—палладий и проявляющий каталитическую активность при электроокислении рассматриваемых органических кислот. Разность потенциалов пиков окисления этих соединений составляет 400—500 мВ. Предложенный способ позволяет проводить *in situ*-определение методом вольтамперометрии аскорбиновой и щавелевой кислот в цитрусах и апельсиновых соках без пробоподготовки образца. Результаты вольтамперометрического определения сопоставимы с данными иодометрического и перманганатометрического титрования — рекомендованных методов анализа фруктовых соков.

**Ключевые слова**: химически модифицированные электроды, биметаллическая система золото-палладий, планарный электрод, вольтамперометрическое определение аскорбиновой и щавелевой кислот, анализ *in situ*.

DOI: 10.31857/S0044450221030087

Производство фруктовых соков является одной из самой быстрорастущих отраслей мировой индустрии напитков. Широко потребляемые фруктовые соки — важная часть рациона человека; они стали очень популярными благодаря их полезным свойствам [1]. В связи с высоким спросом на фруктовые соки растет вероятность фальсификации этого продукта, что негативно влияет на потребителя и производителя.

На сегодняшний день наиболее часто используемые методы выявления случаев фальсификации фруктовых соков основаны на количественном определении ряда соединений. Так, в качестве маркеров для установления подлинности фруктовых соков используют аскорбиновую и щавелевую кислоты [2].

Аскорбиновая кислота (**AK**) — один из основных антиоксидантов, широко используется в фармацевтической, химической, косметической и пищевой отраслях [3, 4]. Аскорбиновая кислота играет важную роль в биосинтезе коллагена, абсорбции железа, активации иммунного ответа и участвует в заживлении ран и остеогенезе [5]. Тем не менее избыток АК может вызвать раздражение

желудочно-кишечного тракта [6]. В некоторых случаях чрезмерное количество АК может привести к торможению естественных процессов, происходящих в пищевых продуктах и способствовать ухудшению вкуса. Аскорбиновая кислота — неустойчивое вещество, она легко разлагается ферментами и кислородом воздуха. Ее окисление может быть ускорено за счет нагрева, присутствия катионов легких и тяжелых металлов [7]. Именно поэтому содержание АК в продуктах питания и напитках представляет собой показатель их качества, который необходимо тщательно контролировать в процессе производства и при хранении фруктовых напитков.

Щавелевая кислота (ЩК) является метаболитом окисления АК, фенола и других ароматических соединений — пестицидов, гербицидов и фунгицидов. Потребление большого количества растворимого оксалата может увеличить риск развития камней в почках у восприимчивых людей, поэтому важно выявлять продукты с высоким содержанием оксалатов и, по возможности, снижать его путем предварительной обработки [8].

Для количественного определения АК и ШК используют титриметрические [9, 10], спектральные [11, 12] и хроматографические методы [13, 14]. Недостаток титриметрии и спектрофотометрии низкие чувствительность и селективность, а хроматографические методы являются сложными в исполнении, длительными и дорогостоящими. Разработка простого, экспрессного метода определения АК и ШК остается актуальной задачей. Альтернативным методом определения органических соединений является вольтамперометрия с использованием химически модифицированных электродов. Для этого метода характерны высокая чувствительность, экспрессность, невысокая стоимость оборудования и простота в его эксплуатации.

Анализ фруктовых соков осложняется тем, что они содержат большое число компонентов, которые могут мешать идентификации. Требование современной пищевой промышленности к методам анализа напитков и продуктов питания — возможность проводить анализ в одну стадию без привлечения пробоподготовки и дополнительных методов. Однако *in situ* определение АК и ЩК титриметрическими и спектрометрическими методами включает сложную пробоподготовку отделение пробы от исходной матрицы с последующим разбавлением и применением антиоксидантных агентов (например, метафосфорной кислоты). Использование вольтамперометрии с химически модифицированными электродами (ХМЭ) для этих целей позволяет исключить указанный недостаток. Например, предложен [4] сенсор на основе углеродного планарного электрода, покрытого нановолокнистой мембраной из нейлона-6, для *in situ* определения АК в разных видах фруктов.

В настоящей работе оценена возможность использования каталитического отклика электрода, модифицированного биметаллической системой золото—палладий (Au—Pd), для вольтамперометрического определения в режиме *in situ* AK и ЩК в цитрусах и апельсиновых соках.

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Циклические вольтамперограммы (**ЦВА**) регистрировали с помощью бипотенциостата Drop-Sens  $\mu$ STAT400 (Испания) с электрохимической ячейкой объемом 10 мл, содержащей планарный электрод (**ПЭ**) фирмы "DropSens" (Испания), на поверхности которого размещены один или два рабочих электрода с площадью поверхности 0.1 см<sup>2</sup>, вспомогательный электрод из углеродной пасты и электрод сравнения из серебряной пасты. Вольтамперограммы регистрировали при скорости наложения потенциала (v) 10–100 мB/с.

Поверхность рабочих электродов модифицировали электроосажденными частицами золота, паллалия и биметаллической системой на их основе (Au-Pd). Потенциостатическое электроосаждение частиц металлов и биметаллов проводили путем варьирования потенциала электролиза ( $E_2$ ) и времени электролиза  $(t_2)$ . Электроосаждение металлов на поверхности планарных электродов проводили из растворов, содержащих тетрахлорозолотую кислоту (HAuCI<sub>4</sub>) х. ч. (Aldrich, Германия) и хлорид палладия (PdCl<sub>2</sub>) х. ч. (Экофарм, Россия), электроосажление биметаллической системы - из раствора, содержащего тетрахлорозолотую кислоту и хлорид палладия в равных соотношениях. Растворы этих соединений готовили растворением их точных навесок.

Растворы АК и ЩК готовили по точным навескам реактивов х. ч. (Экофарм, Россия). Растворы меньших концентраций получали разбавлением исходного раствора непосредственно перед измерениями. В качестве фонового электролита использовали 0.1 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Электроокисление аскорбиновой и щавелевой кислот на немодифицированном планарном углеродном электроде. При окислении ЩК на ПЭ на фоне 0.1 М  $H_2SO_4$  максимумы тока не наблюдаются в рассматриваемой области потенциалов от 0.00 до 1.20 В, в то время как стандартный потенциал для редокс-системы  $2CO_2 + 2H^+/H_2C_2O_4$  равен –0.49 В [15]. Аскорбиновая кислота окисляется на углеродных электродах необратимо при  $E_{\pi}$  0.75 В с потерей двух электронов и двух протонов и превращается в дегидроаскорбиновую кислоту. Схему электрохимической реакции обычно представляют следующим образом [16]:



Схема 1. Электроокисление аскорбиновой кислоты.

Зависимость анодного тока от концентрации АК линейна в интервале  $1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-3}$  М. Модификация поверхности электрода является одним из способов повышения чувствительности и селективности вольтамперометрического определения органических соединений.

Электрокаталитическое окисление аскорбиновой и щавелевой кислот на планарных электродах, модифицированных частицами Au, Pd и системой Au–Pd. Золото и платиновые металлы являются наиболее распространенными катализаторами многих электрохимических реакций. Ранее установлена возможность чувствительного вольтамперометрического определения АК [17] и ЩК [18] на стеклоуглеродном электроде, модифицированном частицами палладия. В связи с этим золото и палладий выбрали в качестве модификаторов ПЭ.

При нанесении частиц палладия и золота на поверхность ПЭ также проявляются их каталитические свойства по отношению к рассматриваемым органическим кислотам. Например, на анодных ветвях ЦВА, полученных при окислении АК (рис. 1a) или ЩК (рис. 1в) на Pd–ПЭ, наблюдается один пик при  $E_{\rm n}\,0.20$  и 0.70 В соответственно. Высота пиков в несколько раз превышает высоту пика окисления модификатора и растет с увеличением концентрации аналитов (рис. 1в, 1г). По значению углового коэффициента  $tg\beta = \Delta lgI/\Delta lgv$ (коэффициент Семерано) установили, что электрохимический процесс осложнен химической реакцией (tg  $\beta$  = 0.31 для АК и 0.37 для ЩК) [19]. Таким образом, электроокисление АК и ШК на этом ХМЭ является каталитическим процессом, который проявляется в уменьшении перенапряжения и увеличении тока окисления субстрата (табл. 1).

При использовании электрода Au–ПЭ также установлено уменьшение перенапряжения и увеличение тока окисления AK и ЩK. Вольт-амперные характеристики электроокисления AK и ЩK на XMЭ представлены в табл. 1. По разности формальных потенциалов окисления органического соединения на XMЭ ( $E_{\rm kar}$ ) и стеклоуглеродном электроде ( $E_{\rm S}$ ) оценивали катализ по потенциалу. Отношение каталитического тока окисления органического соединения на XMЭ ( $I_{\rm kar}$ ) к току окисления модификатора ( $I_{\rm Mod}$ )  $I_{\rm kar}/I_{\rm Mod}$  использовали для оценки каталитической активности модификатора.

Осаждение благородных металлов в виде биметаллических систем часто приводит к улучшению их каталитических свойств [20]. Установлено, что при электроокислении АК и ЩК в кислой среде на ХМЭ с бинарной системой Au—Pd каталитические токи выше, чем на ХМЭ с осадками индивидуальных металлов, а в случае ЩК наблюдается значительный рост каталитического эффекта (табл. 1).

По сравнению с немодифицированными электродами достигнуто значительное уменьшение потенциала окисления органических соединений (табл. 1). При этом окисление АК и ЩК на электроде с частицами Au регистрируется при E0.10 и 0.50 B, с частицами Pd — при E 0.30 и 0.80 B, а на электроде с биметаллической системой Au—Pd при E 0.10 и 0.50 B соответственно (рис. 2). Разность потенциалов пиков окисления AK и ЩК при их совместном присутствии составляет 400— 500 мB, что указывает на возможность их селек-



Рис. 1. Циклические вольтамперограммы, полученные на планарном электроде с частицами палладия в отсутствие (1) и в присутствии (2) аскорбиновой (а) и щавелевой кислоты (в) ( $c = 5 \times 10^{-3}$  M) на фоне 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; на вставках – зависимости I от *c* для аскорбиновой (б) и щавелевой кислоты (г).

тивного определения с высокой чувствительностью по одной вольтамперограмме.

Вольтамперометрическое определение АК и ЩК на планарных электродах, модифицированных бинарной системой Au–Pd. Разработаны способы вольтамперометрического определения АК и ЩК на рассматриваемых модифицированных электродах. Концентрацию определяемых органических соединений находили по градуировочным графикам. Интервалы линейных зависимостей каталитического тока от концентрации аналитов и уравнения регрессии для этих зависимостей приведены в табл. 2. Как видно, зависимости регистрируемого на ХМЭ тока от концентрации аналитов линейны в широких диапазонах. Полученные результаты показывают, что использование ХМЭ с электрока-

**Таблица 1.** Вольт-амперные характеристики электроокисления аскорбиновой и щавелевой кислот ( $c = 5 \times 10^{-3}$  M) на химически модифицированных электродах

Модификатор	$E_{\rm мод},  { m B}$	$E_{\text{KAT}}, \mathbf{B}$	$I_{\rm кат}$ , мкА	$I_{\rm kat}/I_{\rm mod}$					
Аскор	биновая в	кислота,	$E_{\rm S} = 0.75$	В					
Pd	0.30	0.30	32	10					
Au	0.10	0.10	69	23					
Au–Pd	0.10	0.10	75	24					
Щавелевая кислота, $E_{\rm S}$ > 1.20 В									
Pd	0.70	0.80	58	4					
Au	0.50	0.50	33	3					
Au-Pd	0.50	0.50	62	21					

талическими свойствами приводит к снижению нижней границы определяемых содержаний ( $c_{\rm H}$ ) на один—три порядка (табл. 2) по сравнению с немодифицированным электродом, для которого, как отмечалось выше для AK,  $c_{\rm H} = 1 \times 10^{-5}$  M.

Установлено, что для ХМЭ на основе биметаллической системы Au–Pd характерна высокая воспроизводимость аналитического сигнала. Рассчитанные значения  $s_r$  для токов окисления AK и ЩК не превышают 5.0% (n = 20,  $c = 5 \times 10^{-3}$  M). Стабильность каталитического отклика этого ХМЭ сохраняется в течение двух недель.



**Рис. 2.** Вольтамперограммы, полученные в растворе, содержащем АК и ЩК ( $c = 5 \times 10^{-3}$  M), на планарном электроде с электроосажденными частицами Au, Pd и биметаллической системой Au–Pd на фоне 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Разработанный электрод с биметаллической системой Au—Pd отличается простотой изготовления и характеризуется достаточно высокой чувствительностью в широком диапазоне концентраций по сравнению с описанными ранее электродами (табл. 3), поэтому его выбрали для определения АК и ЩК в реальных образцах.

Определение АК и ЩК на планарных электродах, модифицированных бинарной системой Au-Pd, в реальных образцах. Установлено, что использование планарного модифицированного Au-Pd-электрода позволяет проводить in situ вольтамперометрческое определение АК и ШК непосредственно в апельсинах, мандаринах и соках. Предварительно в кожуре фруктов делали срез ножом глубиной ~2 см, электрод вводили в плод и регистрировали вольтамперограмму (рис. 3). Свежевыжатые соки анализировали без пробоподготовки. погружая электрод непосредственно в сок. При анализе коммерческих соков, которые содержат фруктовую мякоть, предварительно проводили центрифугирование для получения прозрачных растворов. Концентрацию АК и ШК находили по градуировочному графику. Присутствующие другие органические кислоты (аконитовая, адипиновая, бензойная, лимонная, малоновая, янтарная, винная, яблочная, хинная, хлорогеновая) электрохимически не активны в рассматриваемых условиях, поэтому не мешают определению.

Результаты вольтамперометрического определения АК и ЩК сопоставили с данными иодометрического и перманганатометрического титрования. Полученные результаты представлены в табл. 4 и 5. Анализ результатов по *F*- и *t*-критериям показал, что методы равноточны ( $F_{\text{pacy}} < F_{\text{табл}}$ ), а расхождение между средними результатами незначимо ( $t_{\text{pacy}} < t_{\text{табл}}$ ), т.е. предлагаемый метод является правильным.

\* \* \*

Таким образом, разработанный вольтамперометрический способ позволяет определять АК и ЩК во фруктах и прозрачных соках с высокими чувствительностью и селективностью, не требует пробоподготовки образца, применения сложного дорогостоящего оборудования, участия высококвалифицированного персонала, больших затрат труда и времени. Использование модифицированного электрода позволяет проводить анализ в режиме *in situ*, что обеспечивает экспрессность, сокращает расход реагентов, так как не используется фоновый электролит. Предлагаемый химический сенсор может быть встроен в технологическую линию для контроля и регулирования качественных показателей фруктовых соков.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Ка-
265

**Таблица 2.** Аналитические характеристики вольтамперометрического определения аскорбиновой и щавелевой кислот на планарном электроде с электроосажденными частицами Au, Pd и биметаллической системой Au–Pd на фоне 0.1 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Электрод	Аналит	Диапазон концентраций М	Уравнение регрессии $\lg I = a + b \lg c (I, MKA; c, M)$		R
		Kondentpudini, M	а	b	
Аи–ДПЭ	Аскорбиновая кислота	$5.0 \times 10^{-7} - 5.0 \times 10^{-3}$	$3.89\pm0.09$	$0.85\pm0.02$	0.995
	Щавелевая кислота	$5.0 \times 10^{-7} - 5.0 \times 10^{-3}$	$2.70\pm0.07$	$0.48\pm0.02$	0.996
Рd-ДПЭ	Аскорбиновая кислота	$5.0 \times 10^{-6} - 5.0 \times 10^{-3}$	$3.81\pm0.09$	$0.84\pm0.03$	0.998
	Щавелевая кислота	$5.0 \times 10^{-7} - 5.0 \times 10^{-3}$	$2.87\pm0.08$	$0.46\pm0.02$	0.998
Аи-Рd-ДПЭ	Аскорбиновая кислота	$1.0 \times 10^{-8} - 5.0 \times 10^{-3}$	$2.43\pm0.02$	$0.37\pm0.01$	0.998
	Щавелевая кислота	$5.0 \times 10^{-8} - 5.0 \times 10^{-3}$	$2.48\pm0.02$	$0.30\pm0.01$	0.998

Таблица 3. Аналитические характеристики различных электродов по отношению к аскорбиновой и щавелевой кислотам при вольтамперометрическом и амперометрическом определении

Аналит	Электрод	Метод	Диапазон линейности, М	Литература
AK	Pt	BA	$8.3 \times 10^{-2} - 1.67 \times 10^{-3}$	[7]
	<i>р</i> -Фенилендиамин-СУЭ	АМП	$5.0 \times 10^{-6} - 4.5 \times 10^{-5}$	[21]
	Нановолокна Нейлон-6–ПЭ	АМП	$5.68 \times 10^{-5} - 7.39 \times 10^{-3}$	[4]
	Au—Pd–ПЭ	BA	$1.0 \times 10^{-8} - 5.0 \times 10^{-3}$	Данная работа
ЩК	Pd-композит из углеродных нановолокон	BA	$2 \times 10^{-4} - 1.3 \times 10^{-2},$ $1.3 \times 10^{-2} - 4.5 \times 10^{-2}$	[22]
	МУНТ-СУЭ	BA	$5.0 \times 10^{-5} - 1.5 \times 10^{-2}$	[23]
	Pt	АМП	$\begin{array}{l} 1.14 \times 10^{-6} - 3.43 \times 10^{-4}, \\ 3.43 \times 10^{-4} - 5.49 \times 10^{-4} \end{array}$	[24]
	Au—Pd–ПЭ	BA	$5.0 \times 10^{-8} - 5.0 \times 10^{-3}$	Данная работа

*Обозначения:* ВА – вольтамперометрия, АМП – амперометрия. МУНТ – многостенные углеродные нанотрубки, СУЭ – стеклоуглеродный электрод.

Таблица	4. Результаты	і (мг/л) <b>с</b>	определения	аскорб	биновой	кислоты	в апельс	иновых	соках и	цитрусах	методами
иодометр	оического тит	рования	и вольтампер	ометр	ии на Аг	ı–Pd план	нарном э	лектрод	e		

Объект анализа	Метод І*	Метод II*	F <sub>pacy</sub>	t <sub>расч</sub>
Апельсиновый сок "Фруктовый сад"	337 ± 14	343 ± 13	0.98	0.77
Апельсиновый сок "Добрый"	$354 \pm 18$	$350 \pm 14$	1.60	0.43
Апельсиновый сок "Global Village"	$330\pm 8$	$337 \pm 8$	0.87	1.39
Апельсины	$558 \pm 28$	$573 \pm 23$	1.48	1.01
Мандарины	224 ± 13	$209 \pm 8$	2.59	2.32
Свежевыжатый сок апельсина	$560 \pm 29$	$570 \pm 21$	1.50	1.03
Свежевыжатый сок мандарина	$230 \pm 15$	$220 \pm 7$	2.48	2.21

\* Метод I – вольтамперометрия на электроде Au-Pd-ПЭ в условиях ЦВА; метод II – йодометрическое титрование.



**Рис.** 3. *In situ* определение аскорбиновой кислоты методом вольтамперометрии в апельсине (а) и свежевыжатом апельсиновом соке (б).

**Таблица 5.** Результаты (мг/л) определения щавелевой кислоты в апельсиновых соках методами перманганатометрического титрования и вольтамперометрии на электроде Au–Pd–ПЭ в условиях циклической вольтамперометрии ( $n = 6, P = 0.95, t_{\text{табл}} = 2.57, F_{\text{табл}} = 5.05$ )

Объект анализа	Аналит	Метод I*	Метод III*	$F_{\rm pacy}$	t <sub>pacy</sub>
Апельсиновый сок "Фруктовый сад"	ЩК	$2.8\pm0.2$	$3.1\pm0.2$	1.23	2.27
Апельсиновый сок "Добрый"	ЩК	$2.2\pm0.2$	$2.3\pm0.2$	1.74	0.34
Апельсиновый сок "Global Village"	ЩК	$2.5\pm0.2$	$2.7\pm0.2$	0.60	1.14

\* Метод I — вольтамперометрия на электроде Au-Pd-ПЭ в условиях ЦВА; метод III — перманганатометрическое титрование.

занского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Jandric Z., Roberts D., Rathor M.N., Abrahim A., Islam M., Cannavan A. Assessment of fruit juice authenticity using UPLC–QToF MS: A metabolomics approach // Food Chem. 2014. V. 148. P. 7.
- 2. *Ehling S., Cole S.* Analysis of organic acids in fruit juices by liquid chromatography-mass spectrometry: an enhanced tool for authenticity testing // J. Agric. Food Chem. 2011. V. 59. P. 2229.
- 3. Sorice A., Guerriero E., Capone F., Colonna G., Castello G., Costantini S. Ascorbic acid: its role in immune system and chronic inflammation diseases // Mini-Rev. Med. Chem. 2014. V. 14. № 5. P. 444.
- Fuenmayor C.A., Benedetti S., Pellicanò A., Cosio M.S., Mannino S. Direct in situ determination of ascorbic acid in fruits by screen-printed carbon electrodes modified with nylon-6 nanofibers // Electroanalysis. 2014. V. 26. № 4. P. 704.
- Raoof J.B., Ojani R., Beitollahi H. Electrocatalytic determination of ascorbic acid at chemically modified carbon paste electrode with 2, 7-bis (ferrocenyl ethynyl)

fluoren-9-one // Int. J. Electrochem. Sci. 2007. V. 2. N $_{2}$  7. P. 534.

- 6. *Tomita I.N., Manzoli A., Fertonani F.L., Yamanaka H.* Amperometric biosensor for ascorbic acid // Ecletica Quimica. 2005. V. 30. № 2. P. 37.
- Pisoschi A.M., Danet A.F., Kalinowski S. Ascorbic acid determination in commercial fruit juice samples by cyclic voltammetry // J. Autom. Methods Manag. Chem. 2008. V. 2008. P. 1.
- Savage G.P., Vanhanen L., Mason S.M., Ross A.B. Effect of cooking on the soluble and insoluble oxalate content of some New Zealand foods // J. Food Compos. Anal. 2000. V. 13 P. 201.
- Silva T.L., Aguiar-Oliveira E., Mazalli M.R., Kamimura E.S., Maldonado R.R. Comparison between titrimetric and spectrophotometric methods for quantification of vitamin C // Food Chem. 2017. V. 224. P. 92.
- 10. *Naik V.V., Patil N.S., Aparadh V.T., Karadge B.A.* Methodology in determination of oxalic acid in plant tissue: a comparative approach // J. Global Trends Pharm. Sci. 2014. V. 5. № 2. P. 1662.
- 11. *Bazel Y., Riabukhina T., Tirpák J.* Spectrophotometric determination of ascorbic acid in foods with the use of vortex-assisted liquid-liquid microextraction // Micro-chem. J. 2018. V. 143. P. 160.

- Zhai Q.-Z. Determination of trace amount of oxalic acid withzirconium (IV)–(DBS-arsenazo) by spectrophotometry // Spectrochim. Acta A. 2008. V. 71. P. 332.
- Alam P., Kamal Y.T., Alqasoumi S I., Foudah A.I., Alqarni M.H., Yusufoglu H.S. HPTLC method for simultaneous determination of ascorbic acid and gallic acid biomarker from freeze dry pomegranate juice and herbal formulation // Saudi Pharm. J. 2019. V. 27. № 7. P. 975.
- Schriewer A., Brink M., Gianmoena K., Cadenas C., Hayen H. Oxalic acid quantification in mouse urine and primary mouse hepatocyte cell culture samples by ion exclusion chromatography–mass spectrometry // J. Chromatogr. B. 2017. V. 1068–1069. P. 239.
- Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. М.: Химия, 1971. 274 с.
- 16. *Matos R.C., Augelli M.A., Lago C.L., Angnes L.* Flow injection analysis-amperometric determination of ascorbic and uric acids in urine using arrays of gold microelectrode modified by electrodeposition of palladium // Anal. Chim. Acta. 2000. V. 404. № 1. P. 151.
- 17. Шайдарова Л.Г., Гедмина А.В., Челнокова И.А., Будников Г.К. Электрокаталитическое окисление и проточно-инжекционное определение аскорбиновой кислоты на графитовом электроде, модифицированном полианилиновой пленкой с электроосажденным палладием // Журн. аналит. химии. 2006. Т. 61. № 6. С. 651.

- Шайдарова Л.Г., Челнокова И.А., Гедмина А.В., Будников Г.К., Зиганшина С.А., Можанова А.А., Бухараев А.А. Электроокисление щавелевой кислоты на угольно-пастовом электроде с осажденными наночастицами палладия // Журн. аналит. химии. 2006. Т. 61. № 4. С. 409.
- Будников Г.К., Майстренко В.Н., Вяселев М.Р. Основы современного электрохимического анализа. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. С. 592.
- 20. Багоцкий В.С. Основы электрохимии. М.: Химия, 1998. 400 с.
- Olana B.N., Kitte S.A., Soreta T.R. Electrochemical determination of ascorbic acid at p-phenylenediamine film-holes modified glassy carbon electrodes // J. Serb. Chem. Soc. 2015. V. 80. № 9. P. 1161.
- 22. Liu Y., Huang J., Wang D., Hou H., You T. Electrochemical determination of oxalic acid using palladium nanoparticle-loaded carbon nanofiber modified electrode // Anal. Methods. 2010. V. 2. № 7. P. 855.
- Zheng Y., Yang C., Pu W., Zhang J. Determination of oxalic acid in spinach with carbon nanotubes-modified electrode // Food Chem. 2009. V. 114. P. 1523.
- 24. *Ma L., Zeng Q., Zhang Min, Wang L., Cheng F.* Direct determination of oxalic acid by a bare platinum electrode contrasting a platinum nanoparticles-modified glassy carbon electrode // J. Exp. Nanosci. 2016. 11. № 16. P. 1242.

———— ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ ——

УДК 543.25:543.8

# ЭЛЕКТРОД НА ОСНОВЕ ЭЛЕКТРОПОЛИМЕРИЗОВАННОГО ЖЕЛТОГО "СОЛНЕЧНОГО ЗАКАТА" ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОГО ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХЛОРОГЕНОВОЙ И ФЕРУЛОВОЙ КИСЛОТ

© 2021 г. Г. К. Зиятдинова<sup>а, \*</sup>, Е. В. Гусс<sup>а</sup>, Е. В. Морозова<sup>а</sup>, Г. К. Будников<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Казанский федеральный университет, Химический институт им. А.М. Бутлерова ул. Кремлевская, 18, Казань, 420008 Россия \*e-mail: Ziyatdinovag@mail.ru Поступила в редакцию 07.07.2020 г. После доработки 10.09.2020 г. Принята к публикации 14.09.2020 г.

Разработан электрод на основе многостенных углеродных нанотрубок и электрополимеризованного желтого "солнечного заката" для одновременного вольтамперометрического определения хлорогеновой и феруловой кислот. Поли(желтый "солнечный закат") получали потенциостатически в условиях хроноамперометрии. Варьирование рН фонового электролита, концентрации мономера и условий электролиза показало, что максимальная разность потенциалов окисления фенольных кислот (190 мВ) и высокие токи достигаются на покрытии, полученном в щелочной среде из 50 мкМ раствора мономера при потенциале 1.1 В в течение 30 с. Поли(желтый "солнечный закат") состоит из сферических частиц и их агрегатов диаметром 26-75 нм, что приводит к увеличению эффективной плошали поверхности электрода (44.0  $\pm$  0.6 мм<sup>2</sup> по сравнению с 26.1  $\pm$  0.6 мм<sup>2</sup> для стеклоуглеродного электрода, модифицированного углеродными нанотрубками). Данные спектроскопии электрохимического импеданса свидетельствуют об увеличении скорости переноса электрона на модифицированных электродах. На основе данных циклической вольтамперометрии установлено, что электроокисление фенольных кислот на модифицированном полимером электроде контролируется диффузией и протекает с участием двух электронов и двух протонов с образованием соответствующих о-хинонов. Диапазон определяемых содержаний составляет 0.10-4.0 мкМ для хлорогеновой кислоты и 0.5-4.0 мкМ для феруловой кислоты с пределами обнаружения 0.076 и 0.098 мкМ соответственно. Предложенный способ применен для определения кислот в кофе.

**Ключевые слова**: вольтамперометрия, химически модифицированные электроды, электрополимеризация, определение структурно родственных соединений, фенольные кислоты. **DOI:** 10.31857/S0044450221030166

Фенольные кислоты – природные фенольные соединения, главными представителями которых являются гидроксибензойные и гидроксикоричные кислоты [1]. Они широко распространены в продуктах питания растительного происхождения. Так, гидроксикоричные кислоты являются основными фенольными кислотами кофе, яблок, голубики, винограда, а также зерновых продуктов (пшеничной, рисовой, овсяной муки) [1–3]. Исследования показывают, что употребление продуктов, богатых гидроксикоричными кислотами, благотворно влияет на здоровье человека, главным образом за счет проявляемых этими соединениями антиоксидантных и антибактериальных свойств [4, 5].

Среди гидроксикоричных кислот можно выделить хлорогеновую (5-кофеилхинную) и феруловую (3-метокси-4-гидроксикоричную) кислоты – основные фенольные антиоксиданты кофе [6]. Их количественное определение при совместном присутствии имеет значение для оценки антиоксидантных свойств кофе и поэтому представляет практический интерес.

Для одновременного определения гидроксикоричных кислот обычно применяют высокоэффективную жидкостную хроматографию с УФдетектированием [7–9], в том числе в сочетании с предварительной твердофазной [10, 11] и жидкостной экстракцией [9], а также жидкостно-жидкостной микроэкстракцией [12]. Присутствие электроактивных групп в структуре хлорогеновой и феруловой кислот обусловливает их способность к окислению на электродной поверхности. Это позволило разработать ряд вольтамперометриче-

Электрод	Метод	ПрО, мкМ	Диапазон определяемых содержаний, мкМ	Лите- ратура
Хлорогенова	я кислота			
Стержневой графитовый электрод	див	0.0714	0.1-500	[13]
СУЭ	див	1.2	5-50	[14]
Допированный бором алмазный электрод	АдКВВ	0.14	0.71-11.3	[15]
Активированный при —1.7 В допированный бором алмазный электрод	АдКВВ	0.40	2.8-180	[16]
МУНТ–додецилсульфат натрия/СУЭ	див	0.21	1.0-1060	[6]
МУНТ–карбоксиметилцеллюлоза/СУЭ	ЦВА	0.043	0.40–194	[17]
МУНТ/Печатный электрод	див	0.34	0.48-44.6	[18]
Графен/СУЭ	АдКВВ	0.0044	0.014-0.71	[19]
1-Бутил-3-метилимидазолий гексафторфосфат-мезопо- ристый углерод-УПЭ	KBB	0.010	0.020-2.5	[20]
Поли(аминосульфоновая кислота)/СУЭ	ЦВА	0.040	0.40-12	[21]
Силоксан с молекулярными отпечатками/ МУНТ–винилтриметоксисилан/СУЭ	див	0.032	0.08-500	[22]
Лигнин/МУНТ–наночастицы CuO/СУЭ	див	0.0125	5-50	[23]
Лакказа/ГО <sub>восс</sub> /наночастицы Pt/угольный печатный электрод	XA	2.67	2.91-26.47	[24]
Полифенолоксидаза-наночастицы Ir-1-бутил-3-мети- лимидазолий гексафторфосфат-УПЭ	KBB	0.915	3.48-49.5	[25]
Феруловая	кислота	1		I
Угольный электрод на бумажной основе	див	5.0	25-720	[26]
МУНТ-додецилсульфат натрия/СУЭ	див	0.32	5.3-530	[6]
ГО электровосстановленный/СУЭ	див	0.0206	0.0849-38.9	[27]
Графен/СУЭ	див	0.2	0.5-50	[28]
Хитозан/графитоподобный С <sub>3</sub> N <sub>4</sub> /СУЭ	див	25.6	25.7-154	[29]
Полидиаллилдиметиламмоний хлорид–графен/СУЭ	див	0.0442	0.0895-52.9	[30]
Полипиррол-МУНТ/СУЭ	АдКВВ	1.17	3.32-25.9	[31]
Дидодецилдиметиламмоний бромид—Нафион—УПЭ	ЦВА	0.39	2.0-120	[32]
<i>н</i> -Метил-3-бутилимидазолий бромид—NiO—OУHT—УПЭ	KBB	0.020	0.060-900	[33]
Композит MgO/OУНТ–1-бутил-3-метилимидазолий бис(трифторметилсульфонил)имид–УПЭ	див	0.003	0.009-450	[34]

Таблица 1. Вольтамперометрические способы определения хлорогеновой и феруловой кислот и их аналитические характеристики

Обозначения: ПрО – предел обнаружения, СУЭ – стеклоуглеродный электрод, ГО – графен оксид, УПЭ – угольно-пастовый электрод, ДИВ – дифференциально-импульсная вольтамперометрия, ЦВА – циклическая вольтамперометрия, КВВ – квадратно-волновая вольтамперометрия, МУНТ – многостенные углеродные нанотрубки, ХА – хроноамперометрия, АдКВВ – адсорбционная квадратно-волновая вольтамперометрия, ОУНТ – одностенные углеродные нанотрубки.

ских способов индивидуального определения этих кислот как на традиционных углеродсодержащих, так и химически модифицированных электродах, включая биосенсоры (табл. 1). В литературе, однако, не описано одновременное вольтамперометрическое определение хлорогеновой и феруловой кислот.

В современной органической вольтамперометрии в качестве модификаторов электродной поверхности хорошо зарекомендовали себя электрополимеризованные покрытия на основе красителей различной природы [35, 36], в том числе в сочетании с углеродными наноматериалами. Такие покрытия обеспечивают высокую чувствительность и селективность определения целевых аналитов, включая структурно родственные антиоксиданты фенольного типа [37–40].

В настоящей работе для одновременного определения хлорогеновой и феруловой кислот предложен стеклоуглеродный электрод (СУЭ), модифицированный послойно многостенными углеродными нанотрубками (МУНТ) и электрополимеризованным синтетическим красителем желтым "солнечным закатом".

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты и растворы. Использовали желтый "солнечный закат", кверцетин (95%, Sigma, Германия) и рутина тригидрат (97%, Alfa Aesar, Великобритания), стандартные 10.0 мМ растворы которых готовили по точной навеске растворением в 5.0 мл метанола х. ч. Для оценки мешающего влияния использовали аскорбиновую (99%), галловую (99%) и кофейную (98%) кислоты от Sigma (Германия). Их стандартные 1.0 мМ растворы готовили по точной навеске растворением в метаноле (для аскорбиновой кислоты в дистиллированной воде). Остальные реактивы были марки х. ч.

Модифицирование электрода. Использовали МУНТ (внешний диаметр 40–60 нм, внутренний диаметр 5–10 нм и длина 0.5–500 мкм) (Aldrich, Германия), гомогенную 0.5 мг/мл суспензию которых получали ультразвуковым диспергированием в 1%-ном растворе додецилсульфата натрия (Panreac, Испания) в течение 30 мин. На поверхность СУЭ наносили 4 мкл суспензии методом капельного испарения. Перед модификацией рабочую поверхность СУЭ обновляли механически, полируя оксидом алюминия с размером частиц 0.05 мкм. Затем электрод ополаскивали ацетоном и дистиллированной водой.

Электрополимеризацию желтого "солнечного заката" проводили хроноамперометрически после предварительного пятикратного сканирования фонового электролита. Условия получения полимерного покрытия (концентрация мономера, потенциал и время электролиза) варьировали.

Вольтамперометрические и хроноамперометрические измерения проводили на потенциостате/гальваностате Autolab PGSTAT 12 (Eco Chemie B.V., Нидерланды) с программным обеспечением NOVA 1.10.1.9 в трехэлектродной электрохимической ячейке объемом 10.0 мл. Использовали рабочий СУЭ (CH Instruments, Inc., США, площадь поверхности 7.07 мм<sup>2</sup>), СУЭ, модифицированный многостенными углеродными трубками (МУНТ/СУЭ) или СУЭ, модифицированный многостенными углеродными трубками и поли(желтым "солнечным закатом") (поли(желтый "солнечный закат")/МУНТ/СУЭ), насыщенный хлоридсеребряный электрод сравнения и вспомогательный платиновый электрод. Для расчетов в вольтамперометрии применяли коррекцию базовой линии по программе NOVA 1.10.1.9., что позволило точнее измерять параметры пиков. В электрохимическую ячейку вносили фоновый электролит и аликвоты растворов хлорогеновой и феруловой кислот (общий объем раствора в ячейке 5.0 мл) и регистрировали циклические вольтамперограммы в диапазоне от -0.4 до 0.9 В для хлорогеновой и от -0.2 до 1.1 В для феруловой кислот, а также дифференциально-импульсные вольтамперограммы в диапазоне от 0.0 до 0.8 В. Параметры импульса варьировали.

Для определения pH фонового электролита использовали pH-метр Эксперт-001 (ООО "Эконикс-Эксперт", Россия).

Электрохимический импеданс измеряли на потенциостате/гальваностате Autolab PGSTAT 302N с модулем FRA32M (Eco Chemie B.V., Нидерланды) в присутствии 1.0 мМ  $K_4$ [Fe(CN)<sub>6</sub>]/ $K_3$ [Fe(CN)<sub>6</sub>] на фоне 0.1 М раствора KCl в диапазоне частот 10 кГц–0.04 Гц с амплитудой 5 мВ при потенциале поляризации 0.22 В. Потенциал рассчитывали как полусумму пиков окисления и восстановления редокс-пары [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-/4-</sup>.

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ). Поверхность электродов характеризовали с помощью полевого эмиссионного электронного микроскопа высокого разрешения Merlin<sup>™</sup> (Carl Zeiss, Германия) при ускоряющем напряжении 5 кВ и токе эмиссии 300 пА.

Пробоподготовка образцов. Кофе готовили по стандартной методике [6]. Растворимый кофе (2.000 ± 0.001 г) заливали 150 мл горячей воды. Кофе эспрессо готовили в кофемашине (10 г молотых кофейных зерен на 40 мл воды). Для вольтамперометрического определения фенольных кислот в электрохимическую ячейку вносили 5 мкл образца (10 мкл разбавленного в 5 раз эспрессо), фоновый электролит и регистрировали дифференциально-импульсные вольтамперограммы в диапазоне от 0.0 до 0.8 В при амплитуде импульса 50 мВ и времени импульса 50 мс и скорости изменения потенциала 10 мВ/с.



**Рис. 1.** Дифференциально-импульсные вольтамперограммы с коррекцией базовой линии 10 мкМ смеси хлорогеновой и феруловой кислот на МУНТ/СУЭ (*1*) и поли(желтый "солнечный закат")МУНТ/СУЭ (*2*) на фоне фосфатного буферного раствора с рН 7.0. Амплитуда импульса 50 мВ, время импульса 50 мс, скорость изменения потенциала 10 мВ/с.

Статистическую обработку результатов проводили для 5 измерений при доверительной вероятности 0.95. Результаты представляли как  $X \pm \Delta X$ , где X – среднее значение и  $\Delta X$  – доверительный интервал. Случайную погрешность определения оценивали по величине относительного стандартного отклонения (*s*<sub>r</sub>). Регрессионный анализ проводили в программе OriginPro 8.0 (OriginLab, США).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучено вольтамперометрическое поведение хлорогеновой и феруловой кислот на СУЭ и МУНТ/СУЭ на фоне фосфатного буферного раствора с pH 7.0 в условиях дифференциально-им-



**Рис. 2.** Циклическая вольтамперограмма 500 мкМ желтого "солнечного заката" (*1*) на МУНТ/СУЭ, на фоне 0.1 М NaOH (*2*). Скорость изменения потенциала 100 мВ/с.

пульсной вольтамперометрии. Установлено, что при концентрации 10 мкМ на вольтамперограммах наблюдаются очень низкие токи окисления обоих аналитов (на уровне единиц наноампер). На МУНТ/СУЭ регистрируются четкие пики окисления при 0.186 В для хлорогеновой кислоты и при 0.372 и 0.469 В для феруловой кислоты (рис. 1, кривая *I*). Токи окисления составляют менее 0.10 мкА, что свидетельствует о низкой чувствительности отклика. Для решения этой задачи предложен электрод, модифицированный электрополимеризованным красителем желтым "солнечным закатом".

Желтый "солнечный закат" необратимо окисляется на МУНТ/СУЭ при 0.550 В на фоне 0.1 М раствора NaOH (рис. 2, кривая *I*) с образованием феноксильного радикала согласно схеме 1 [41, 42].



Схема 1. Электроокисление желтого "солнечного заката".

Электрополимеризацию красителя проводили в потенциостатическом режиме хроноамперометрически. Поскольку отклик целевых аналитов зависит от условий получения полимерного покрытия, оценено влияние параметров электролиза и концентрации мономера на отклик 10 мкМ смеси хлорогеновой и феруловой кислот. Варьирование концентрации мономера от 25 до 75 мкМ показало, что наилучшие характеристики наблюдаются при концентрации желтого "солнечного заката" 50 мкМ. Параметры электролиза (потенциал и время) оказывают влияние на отклик фенольных кислот. Учитывая раздвоенную форму пика окисления феруловой кислоты, в качестве контролируемого параметра рассматривали пло-



**Рис. 3.** Влияние параметров электролиза (потенциала и времени) желтого "солнечного заката" на площадь пиков окисления 10 мкМ смеси хлорогеновой (а) и феруловой (б) кислот по данным дифференциально-импульсной вольт-амперометрии на фоне фосфатного буферного раствора с рН 7.0.

щадь пиков окисления фенольных кислот. Показано, что разность потенциалов окисления хлорогеновой и феруловой кислот практически не меняется при изменении условий электролиза и составляет 190 мВ. Площади пиков окисления кислот статистически достоверно изменяются (рис. 3) с ростом потенциала и времени электролиза, достигая максимума в случае электрополимеризации желтого "солнечного заката" при 1.10 В в течение 30 с. Дальнейшее увеличение времени и потенциала электролиза приводит к уменьшению площади пиков окисления хлорогеновой и феруловой кислот, что, вероятно, связано с ростом толщины полимерного покрытия.

На дифференциально-импульсных вольтамперограммах смеси хлорогеновой и феруловой кислот на поли(желтый "солнечный закат")/МУНТ/СУЭ на фоне фосфатного буферного раствора с рН 7.0 наблюдаются четко выраженные пики окисления при 0.181, 0.376 и 0.498 В соответственно (рис. 1, кривая 2), токи которых статистически достоверно увеличиваются по сравнению с МУНТ/СУЭ (рис. 1, кривая 1). Это объясняется увеличением площади поверхности электрода с полимерным покрытием, что подтверждается данными циклической вольтамперометрии (для модифицированных электродов) и хроноамперометрии (для СУЭ) по окислению  $[Fe(CN)_6]^{4-}$ ионов на фоне 0.1 М раствора КСІ. Рассчитанная по уравнениям Рэндлса–Шевчика и Коттрелла эффективная площадь поверхности составляет  $8.2 \pm 0.3$  мм<sup>2</sup> для СУЭ,  $26.1 \pm 0.6$  мм<sup>2</sup> для МУНТ/СУЭ и  $44.0 \pm 0.6$  мм<sup>2</sup> для электрода, модифицированного полимером.

Для характеристики электродов использовали СЭМ и спектроскопию электрохимического импеданса. Данные СЭМ (рис. 4) подтверждают однородность покрытия электродной поверхности модификаторами и значительное увеличение шероховатости поверхности модифицированных электродов по сравнению с СУЭ. Поли(желтый "солнечный закат") представляет собой равномерно распределенные шарообразные гранулы диаметром 26–75 нм (рис. 4в).

Параметры электронного переноса оценивали методом спектроскопии электрохимического импеданса, используя для количественной характеристики эквивалентные ячейки Рэндлса (табл. 2). Для модифицированных электродов наблюдается

Электрод	<i>R</i> <sub>s</sub> , Ом	R <sub>ct</sub> , кОм	Q, мк $O$ м <sup>-1</sup>	п	<i>W</i> , мкОм <sup>-1</sup>
СУЭ	$245 \pm 5$	$72 \pm 3$	$3.7\pm0.2$	0.789	_
МУНТ/СУЭ	199 ± 3	$12.1\pm09$	$3.6 \pm 0.1$	0.775	$230\pm5$
Поли(желтый "солнечный закат")/МУНТ/СУЭ	99.0 ± 0.5	$4.4\pm0.2$	$3.8 \pm 0.1$	0.902	$372 \pm 5$

**Таблица 2.** Параметры электрохимического импеданса электродов (n = 5, P = 0.95)



Рис. 4. СЭМ-изображения поверхности СУЭ (а), МУНТ/СУЭ (б) и поли(желтый "солнечный за-кат")/МУНТ/СУЭ (в).

значительное уменьшение сопротивления переносу заряда ( $R_{ct}$ ), что свидетельствует об увеличении скорости переноса электрона. Это хорошо согласуется с данными для других красителей [37–39].

Изучено электроокисление фенольных кислот на поли(желтый "солнечный закат")/МУНТ/СУЭ. Варьирование pH фонового электролита от 5.0 до 8.0 показало, что потенциалы окисления обеих кислот линейно смещаются в область меньших значений по мере увеличения pH фонового электролита (уравнения (1) и (2) соответственно):

$$E(B) = (0.59 \pm 0.01) - (0.050 \pm 0.002) \text{ pH},$$
  

$$R^2 = 0.9943,$$
(1)

$$E(B) = (0.792 \pm 0.009) - (0.057 \pm 0.001) \text{ pH},$$
  
 $R^2 = 0.9964.$  (2)

Зависимость потенциалов окисления от pH свидетельствует об участии протонов в электродной реакции. Полученные значения тангенсов углов наклона указывают на равное число протонов и электронов, участвующих в реакциях. Дальнейшие исследования проводили при физиологическом значении pH 7.0.

Для установления природы электрохимического процесса оценили влияние скорости изменения потенциала на токи окисления хлорогеновой и феруловой кислот. Показано, что окисление контролируется диффузией аналитов, что подтверждается линейной зависимостью токов окисления от  $v^{1/2}$  (уравнения (3) и (4) соответственно) и значениями тангенсов угла наклона зависимости  $\ln I_{\rm n}$  от  $\ln v$  (уравнения (5) и (6) соответственно):

$$I_{\rm n} ({\rm M}\kappa{\rm A}) = (0.15 \pm 0.03) + + (0.140 \pm 0.003) v^{1/2} ({\rm M}{\rm B/c}), \quad R^2 = 0.9961, \quad (3)$$

$$I_{\pi} (MKA) = (-0.04 \pm 0.01) + (0.047 \pm 0.001) v^{1/2} (MB/c), \quad R^2 = 0.9950, \quad (4)$$

$$\ln I_{\pi} (M \kappa A) = (1.44 \pm 0.02) + (0.434 \pm 0.006) \ln v (B/c), \quad R^2 = 0.9984,$$
(5)

$$\ln I_{\rm n} ({\rm M}\kappa{\rm A}) = (0.50 \pm 0.02) + + (0.588 \pm 0.007) \ln v ({\rm B/c}), \ R^2 = 0.9992.$$
(6)

Разность потенциалов пиков окисления и восстановления и соотношение токов окисления свидетельствуют об обратимом окислении хлорогеновой кислоты. Феруловая кислота окисляется необратимо, что подтверждается значением коэффициента анодного переноса 0.59, рассчитанным из наклона зависимости Тафеля [43]. Число участвующих в реакции электронов рассчитывали согласно формуле  $\Delta E_{1/2} = 56.5/n$  для обратимого процесса и  $\Delta E_{1/2} = 47.7/\alpha_a n$  для необратимого [43]. Расчеты показали, что электроокисление хлорогеновой и феруловой кислот протекает с участием двух электронов с образованием соответствующих *о*-хинонов (схемы 2 и 3 соответственно), что согласуется с данными [6, 14, 44].



**Рис. 5.** Дифференциально-импульсные вольтамперограммы с коррекцией базовой линии эквимолярных смесей хлорогеновой и феруловой кислот (*1* – 0.1, *2* – 0.25, *3* – 0.50, *4* – 0.75, *5* – 1.0, *6* – 2.5, *7* – 4.0 мкМ) на поли(желтый "солнечный закат")/МУНТ/СУЭ на фоне фосфатного буферного раствора с рН 7.0. Амплитуда импульса 50 мВ, время импульса 50 мс, скорость изменения потенциала 10 мВ/с.



Схема 2. Электроокисление хлорогеновой кислоты.



Схема 3. Электроокисление феруловой кислоты.

Одновременное количественное определение хлорогеновой и феруловой кислот проводили методом дифференциально-импульсной вольтамперометрии. Варьирование амплитуды и времени

импульса показало, что разрешение пиков наилучшее и токи окисления максимальны при амплитуде импульса 50 мВ и времени импульса 50 мс. При этом на вольтамперограммах смесей

Таблица 3. Аналитические характеристики и параметры градуировочных зависимостей фенольных кислот на поли(желтый "солнечный закат")/МУНТ/СУЭ

ΠρΟ ΜκΜ	Диапазон определяемых	I = a	+ bc	<b>D</b> <sup>2</sup>
	содержаний, мкМ	$a\pm \sigma$ , мкА	$b \pm \sigma$ , мкА/мкМ	Λ
	Х	лорогеновая кислота		
0.076	0.10-4.0	$-0.001 \pm 0.002$	$0.079\pm0.001$	0.9988
		Феруловая кислота		
0.098	0.5-4.0	$-0.0033 \pm 0.0003$	$0.0092 \pm 0.0001$	0.9992

Введено, мкМ	Хлороген	лота	Феруловая кислота			
	найдено, мкМ	s <sub>r</sub>	<i>R</i> , %	найдено, мкМ	s <sub>r</sub>	<i>R</i> , %
0.10	$0.100\pm0.002$	0.02	$100 \pm 2$	—	_	—
0.50	$0.501\pm0.009$	0.02	$100 \pm 2$	$0.50 \pm 0.01$	0.02	$100 \pm 2$
0.75	$0.75\pm0.02$	0.01	$100 \pm 3$	$0.76\pm0.01$	0.009	$101 \pm 1$
1.0	$1.01\pm0.01$	0.01	$101 \pm 1$	$1.01\pm0.02$	0.01	$101 \pm 1$
2.5	$2.49\pm0.03$	0.01	$99.6\pm0.9$	$2.50\pm0.02$	0.007	$100.0\pm0.8$
4.0	$4.01\pm0.03$	0.007	$100.3\pm0.8$	$4.01\pm0.03$	0.007	$100.3\pm0.8$

**Таблица 4.** Результаты одновременного определения фенольных кислот в модельных растворах на поли(желтый "солнечный закат")/МУНТ/СУЭ на фоне фосфатного буферного раствора с pH 7.0 (*n* = 5, *P* = 0.95)

Таблица 5. Степень открытия хлорогеновой и феруловой кислот в кофе по данным вольтамперометрии на поли(желтый "солнечный закат")/МУНТ/СУЭ на фоне фосфатного буферного раствора с pH 7.0 (*n* = 5, *P* = 0.95)

Образец	Аналит	Введено, мкг	Расчетное значение, мкг	Найдено, мкг	R, %
Эспрессо	Хлорогеновая кис-	0		$4.55\pm0.09$	
	лота	1.14	5.69	$5.7 \pm 0.1$	$100 \pm 2$
		2.28	6.83	$6.8 \pm 0.1$	$99.6\pm0.9$
	Феруловая кислота	0		$0.74\pm0.02$	
		0.18	0.92	$0.92\pm0.04$	$100 \pm 3$
		0.37	1.11	$1.13\pm0.05$	$100 \pm 4$
Растворимый кофе	Хлорогеновая кис- лота Феруловая кислота	0		$4.9\pm0.1$	
		1.23	6.13	$6.1 \pm 0.1$	$100 \pm 2$
		2.45	7.35	$7.4 \pm 0.2$	$101 \pm 3$
		0		$1.8\pm0.08$	
		0.45	2.25	$2.2\pm0.1$	$98\pm4$
		0.90	2.70	$2.65\pm0.08$	$98 \pm 3$

фенольных кислот наблюдаются четко выраженные пики окисления при 0.181 В для хлорогеновой и при 0.396 и 0.525 В для феруловой кислоты (рис. 5). Параметры градуировочных зависимостей и аналитические параметры представлены в табл. 3. Полученные характеристики превосходят описанные для индивидуального определения рассматриваемых кислот на других химически модифицированных электродах (табл. 1). Кроме того, предложенный электрод характеризуется более простой процедурой изготовления с применением доступных реагентов для получения полимерного покрытия.

Варьирование концентрации одного из компонентов при более высоком фиксированном значении концентрации второго не приводит к наложению аналитических сигналов, а токи окисления обоих компонентов совпадают с таковыми для эквимолярных смесей. Это подтверждает, что окисление хлорогеновой и феруловой кислот протекает независимо и для их определения можно использовать градуировочные зависимости для эквимолярных смесей.

Выполнено одновременное определение фенольных кислот в модельных системах (табл. 4). Величина относительного стандартного отклонения не превышает 5%, а значения меры правильности свидетельствуют о высокой точности разработанного подхода.

Показана селективность отклика фенольных кислот в присутствии 1000-кратных избытков неорганических ионов (K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup> и  $SO_4^{2-}$ ), 100-кратных избытков глюкозы, рамнозы и сахарозы, арабиногалактана и аскорбиновой кислоты. Галловая кислота окисляется при 0.131 и 0.217 В только при концентрациях 5 мкМ и выше, что свидетельствует о низкой чувствительности ее отклика и отсутствии мешающего влияния. Кофейная кислота окисляется при потенциале окисления хлорогеновой кислоты, что приводит



**Рис. 6.** Результаты одновременного вольтамперометрического определения хлорогеновой и феруловой кислот в кофе (n = 5, P = 0.95).

к пропорциональному увеличению тока окисления при 0.181 В в случае их смеси. Тем не менее в растительных объектах, в частности в кофе, содержание свободной кофейной кислоты невелико, так как она существует в виде кофеилхинных кислот, к числу которых относится и хлорогеновая.

Разработанный подход применен для определения хлорогеновой и феруловой кислот в кофе. На вольтамперограммах кофе регистрируются четко выраженные пики окисления рассматриваемых кислот, что подтверждается данными метода добавок (табл. 5). Степень открытия составляет 98– 101%, что свидетельствует о высокой точности определения и об отсутствии матричных эффектов.

Результаты определения хлорогеновой и феруловой кислот в кофе представлены на рис. 6. Полученные содержания согласуются с данными [14]. Предложенный метод характеризуется высокими чувствительностью и точностью, а также простотой и доступностью, что позволяет применять его в анализе кофесодержащих напитков.

Авторы выражают благодарность Ю.Н. Осину и А.М. Рогову (междисциплинарный центр "Аналитическая микроскопия" Казанского федерального университета) за СЭМ-исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 18-33-00220-мол\_а).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зиятдинова Г.К., Будников Г.К. Природные фенольные антиоксиданты в биоаналитической химии: состояние проблемы и перспективы развития // Успехи химии. 2015. Т. 84. № 2. С. 194. (Ziyatdinova G.K., Budnikov H.C. Natural phenolic antioxidants in bioanalytical chemistry: State of the art and prospects of development // Russ. Chem. Rev. 2015. V. 84. № 2. Р. 194.)

- D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., Masella R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability // Ann. Ist. Super. Sanita. 2007. V. 43. № 4. P. 348.
- Goleniowski M., Bonfill M., Cusido R., Palazón J. Phenolic acids / Natural Products / Eds. Ramawat K.G., Mérillon J.-M. Berlin, Heidelberg: Springer, 2013. P. 1951.
- Alam M.A., Subhan N., Hossain H., Hossain M., Reza H.M., Rahman M.M., Ullah M.O. Hydroxycinnamic acid derivatives: A potential class of natural compounds for the management of lipid metabolism and obesity // Nutr. Metab. 2016. V. 13. Article 27.
- Vinholes J., Silva B.M., Silva L.R. Hydroxycinnamic acids (HCAs): Structure, biological properties and health effects / Advances in Medicine and Biology. V. 88. Ch. 8. N.Y.: Nova Biomedical, 2015. P. 105.
- 6. *Ziyatdinova G., Aytuganova I., Nizamova A., Budnikov H.* Differential pulse voltammetric assay of coffee antioxidant capacity with MWNT-modified electrode // Food Anal. Methods. 2013. V. 6. № 6. P. 1629.
- Urakova I.N., Pozharitskaya O.N., Shikov A.N., Kosman V.M., Makarov V.G. Comparison of high performance TLC and HPLC for separation and quantification of chlorogenic acid in green coffee bean extracts // J. Sep. Sci. 2008. V. 31. № 2. P. 237.
- Shan Y., Jin X., Cheng Y., Yan W. Simultaneous determination of chlorogenic acids in green coffee bean extracts with effective relative response factors // Int. J. Food Prop. 2017. V. 20. № 9. P. 2028.
- Jeszka-Skowron M., Zgoła-Grześkowiak A., Grześkowiak T. Analytical methods applied for the characterization and the determination of bioactive compounds in coffee // Eur. Food Res. Technol. 2015. V. 240. № 1. P. 19.
- Suárez-Quiroz M.L., Campos A.A., Alfaro G.V., González-Ríos O., Villeneuve P., Figueroa-Espinoza M.C. Isolation of green coffee chlorogenic acids using activated carbon // J. Food Comp. Anal. 2014. V. 33. № 1. P. 55.
- Köseoglu Yilmaz P., Kolak U. SPE-HPLC determination of chlorogenic and phenolic acids in coffee // J. Chromatogr. Sci. 2017. V. 55. № 7. P. 712.
- Shalash M., Makahleh A., Salhimi S.M., Saad B. Vortex-assisted liquid–liquid–liquid microextraction followed by high performance liquid chromatography for the simultaneous determination of fourteen phenolic acids in honey, iced tea and canned coffee drinks // Talanta. 2017. V. 174. P. 428.
- David I.G., Popa D.E., Buleandra M., Moldovan Z., Iorgulescu E.E., Badea I.A. Cheap pencil graphite electrodes for rapid voltammetric determination of chlorogenic acid in dietary supplements // Anal. Methods. 2016. V. 8. № 35. P. 6537.
- Tomac I., Šeruga M. Electrochemical properties of chlorogenic acids and determination of their content in coffee using differential pulse voltammetry // Int. J. Electrochem. Sci. 2016. V. 11. № 4. P. 2854.
- 15. *Yardim Y*. Electrochemical behavior of chlorogenic acid at a boron-doped diamond electrode and estimation of the antioxidant capacity in the coffee samples based on its oxidation peak // J. Foog. Sci. 2012. V. 77. № 4. P. C408.

- Alpar N., Yardım Y., Şentürk Z. Selective and simultaneous determination of total chlorogenic acids, vanillin and caffeine in foods and beverages by adsorptive stripping voltammetry using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode // Sens. Actuators B. 2018. V. 257. P. 398.
- Takahashi S., Wada R., Muguruma H., Osakabe N. Analysis of chlorogenic acids in coffee with a multiwalled carbon nanotube electrode // Food Anal. Methods. 2020. https://doi.org/10.1007/s12161-020-01714-6
- 18. *Ma X., Yang H., Xiong H., Li X., Gao J., Gao Y.* Electrochemical behavior and determination of chlorogenic acid based on multi-walled carbon nanotubes modified screen-printed electrode // Sensors. 2016. V. 16. № 11. Article 1797. 10 p.
- Yiğit A., Alpar N., Yardım Y., Çelebi M., Şentürk Z. A graphene-based electrochemical sensor for the individual, selective and simultaneous determination of total chlorogenic acids, vanillin and caffeine in food and beverage samples // Electroanalysis. 2018. V. 30. № 9. P. 2011.
- Mohammadi N., Najafi M., Adeh N.B. Highly defective mesoporous carbon – ionic liquid paste electrode as sensitive voltammetric sensor for determination of chlorogenic acid in herbal extracts // Sens. Actuators B. 2017. V. 243. P. 838.
- Chao M., Ma X. Voltammetric determination of chlorogenic acid in pharmaceutical products using poly(aminosulfonic acid) modified glassy carbon electrode // J. Food Drug Analysis. 2014. V. 22. № 4. P. 512.
- Ribeiro C.M., Miguel E.M., Silva J.D.S., Silva C.B.D., Goulart M.O.F., Kubota L.T., Gonzaga F.B., Santos W.J.R., Lima P.R. Application of a nanostructured platform and imprinted sol-gel film for determination of chlorogenic acid in food samples // Talanta. 2016. V. 156–157. P. 119.
- 23. Chokkareddy R., Redhi G.G., Karthick T. A lignin polymer nanocomposite based electrochemical sensor for the sensitive detection of chlorogenic acid in coffee samples // Heliyon. 2019. V. 5. № 3. Article e01457.
- 24. Vasilescu I., Eremia S.A.V., Penu R., Albu C., Radoi A., Litescu S.C., Radu G.-L. Disposable dual sensor array for simultaneous determination of chlorogenic acid and caffeine from coffee // RSC Adv. 2015. V. 5. № 1. P. 261.
- 25. Fernandes S.C., Moccelini S.K., Scheeren C.W., Migowski P., Dupont J., Heller M., Micke G.A., Vieira I.C. Biosensor for chlorogenic acid based on an ionic liquid containing iridium nanoparticles and polyphenol oxidase // Talanta. 2009. V. 79. № 2. P. 222.
- Tee-ngam P., Nunant N., Rattanarat P., Siangproh W., Chailapakul O. Simple and rapid determination of ferulic acid levels in food and cosmetic samples using paper-based platforms // Sensors. 2013. V. 13. № 10. P. 13039.
- Liu L., Gou Y., Gao X., Zhang P., Chen W., Feng S., Hu F., Li Y. Electrochemically reduced graphene oxide-based electrochemical sensor for the sensitive determination of ferulic acid in A. sinensis and biological samples // Mater. Sci. Eng. C. 2014. V. 42. P. 227.
- 28. Zhang Y., Liu Y., Yang Z., Yang Y., Pang P., Gao Y., Hu Q. Rapid electrochemical detection of ferulic acid based

on a graphene modified glass carbon electrode // Anal. Methods. 2013. V. 5. № 16. P. 3834.

- 29. Jing L., Lin J., Fei Q., Tang H., Yang X., Sun C. Simultaneous quantitation of caffeic acid and ferulic acid based on graphite-like C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>/chitosan modified film // Int. J. Electrochem. Sci. 2017. V. 12. № 9. P. 8504.
- Liu L.-j., Gao X., Zhang P., Feng S.-l., Hu F.-d., Li Y.-d., Wang C.-m. Ultrasensitive detection of ferulic acid using poly(diallyldimethylammonium chloride) functionalized graphene-based electrochemical sensor // J. Anal. Methods: Chem. 2014. V. 2014. Article 424790.9 p.
- 31. *Abdel-Hamid R., Newair E.F.* Voltammetric determination of ferulic acid using polypyrrole-multiwalled carbon nanotubes modified electrode with sample application // Nanomaterials. 2015. V. 5. № 4. P. 1704.
- 32. *Luo L., Wang X., Li Q., Ding Y., Jia J., Deng D.* Voltammetric determination of ferulic acid by didodecyldimethylammonium bromide/nafion composite film-modified carbon paste electrode // Anal. Sci. 2010. V. 26. N
  <sup>o</sup> 8. P. 907.
- 33. Karimi-Maleh H., Farahmandfar R., Hosseinpour R., Alizadeh J., Abbaspourrad A. Determination of ferulic acid in the presence of butylated hydroxytoluene as two phenolic antioxidants using a highly conductive food nanostructure electrochemical sensor // Chem. Pap. 2019. V. 73. № 10. P. 2441.
- 34. Zabihpour T., Shahidi S.-A., Karimi-Maleh H., Ghorbani-HasanSaraei A. An ultrasensitive electroanalytical sensor based on MgO/SWCNTs-1-butyl-3-methylimidazolium bis(trifluoromethylsulfonyl)imide paste electrode for the determination of ferulic acid in the presence sulfite in food samples // Microchem. J. 2020. V. 154. Article 104572. 8 p.
- Будников Г.К., Евтюгин Г.А., Майстренко В.Н. Модифицированные электроды для вольтамперометрии в химии, биологии и медицине. М.: Бином – Лаборатория знаний, 2010. 416 с.
- 36. Pauliukaite R., Ghica M.E., Barsan M.M., Brett C.M.A. Phenazines and polyphenazines in electrochemical sensors and biosensors // Anal. Lett. 2009. V. 43. № 10–11. P. 1588.
- Ziyatdinova G., Guss E., Budnikov H. Amperometric sensor based on MWNT and electropolymerized carminic acid for the simultaneous quantification of TBHQ and BHA // J. Electroanal. Chem. 2020. V. 859. Article 113885. 8 p.
- 38. Гусс Е.В., Зиятдинова Г.К., Жупанова А.С., Будников Г.К. Вольтамперометрическое определение кверцетина и рутина при совместном присутствии на электроде, модифицированном политимолфталеином // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 4. С. 348. (Guss E.V., Ziyatdinova G.K., Zhupanova A.S., Budnikov H.C. Voltammetric determination of quercetin and rutin in their simultaneous presence on an electrode modified with polythymolphthalein // J. Anal. Chem. 2020. V. 75. № 4. Р. 526.)
- 39. *Zhupanova A., Guss E., Ziyatdinova G., Budnikov H.* Simultaneous voltammetric determination of flavanones using an electrode based on functionalized singlewalled carbon nanotubes and polyaluminon // Anal. Lett. 2020. V. 53. № 13. P. 2170.
- 40. Ziyatdinova G., Guss E., Morozova E., Budnikov H., Davletshin R., Vorobev V., Osin Yu. Simultaneous voltammetric determination of gallic and ellagic acids in

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 3 2021

cognac and brandy using electrode modified with functionalized SWNT and poly(pyrocatechol violet) // Food Anal. Methods. 2019. V. 12. № 10. P. 2250.

- Qiu X., Lu L., Leng J., Yu Y., Wang W., Jiang M., Bai L. An enhanced electrochemical platform based on graphene oxide and multi-walled carbon nanotubes nanocomposite for sensitive determination of sunset yellow and tartrazine // Food Chem. 2016. V. 190. P. 889.
- 42. *Ahmad I., Murtaza S., Ahmed S.* Electrochemical and photovoltaic study of sunset yellow and tartrazine dyes // Monatsh. Chem. 2015. V. 146. № 10. P. 1631.
- 43. *Bard A.J., Faulkner L.R.* Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications. 2nd Ed. New York: John Wiley& Sons Inc., 2001. 850 p.
- 44. *Trabelsi S.K., Tahar N.B., Trabelsi B., Abdelhedi R.* Electrochemical oxidation of ferulic acid in aqueous solutions at gold oxide and lead dioxide electrodes // J. Appl. Electrochem. 2005. V. 35. № 10. P. 967.

УДК 577.352.465

## НАПОЛНЕННЫЕ ИОНИТАМИ ТРЕКОВЫЕ МЕМБРАНЫ С АСИММЕТРИЧНЫМИ ПОРАМИ ДЛЯ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЦЕТИЛХОЛИН ХЛОРИДА

© 2021 г. В. М. Шкинев<sup>а, \*</sup>, Л. Ю. Мартынов<sup>b, \*\*</sup>, Д. А. Трофимов<sup>а</sup>, А. М. Долгоносов<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского Российской академии наук

ул. Косыгина, 19, Москва, 119991 Россия <sup>b</sup>МИРЭА – Российский технологический университет просп. Вернадского, 78, Москва, 119454 Россия \*e-mail: vshkinev@mail.ru \*\*e-mail: martynov\_leonid@mail.ru Поступила в редакцию 19.08.2020 г. После доработки 24.09.2020 г. Принята к публикации 24.09.2020 г.

Предложен метод циклической переменнотоковой вольтамперометрии с использованием наполненных ионитами трековых мембран (**TM**) с асимметричными порами для определения ацетилхолин хлорида (**AUX**). Изучены электрохимические и метрологические характеристики определения AUX для TM с порами, наполненными наночастицами дробленого катионита и анионита. Показано, что возможно определение до 10<sup>-6</sup> M AUX.

Ключевые слова: трековые мембраны, ацетилхолин хлорид, циклическая вольтамперометрия, ITIES.

DOI: 10.31857/S0044450221030105

Трековые мембраны (**TM**) находят широкое применение для выделения, очистки и концентрирования различных веществ. Они изготовлены из инертного материала, обладают слабой сорбционной активностью, не содержат загрязняющих веществ, что делает их полезными в аналитических, экологических и геохимических исследованиях [1–3]. Для получения **TM** с заданными свойствами их модифицируют различными веществами [4–9].

Трековые мембраны широко используют для создания разнообразных сенсоров (см. обзоры [10, 11]). Трековые мембраны с асимметричными порами также находят применение в электрохимических сенсорах при определении органических веществ [12—14]. Свойства таких мембран и методы их получения описаны в работах [10, 11].

Ацетилхолин — это медиатор центральной нервной системы. Он участвует в передаче импульсов в разных отделах мозга. Ацетилхолин хлорид применяется как в качестве лекарственного вещества, так и для фармакологических исследований. Он входит в состав некоторых комбинированных препаратов для местного применения в глазной хирургии. Недостаток его во многом определяет клиническую картину болезни Альцгеймера. Действие ряда ядов (хлорофоса, карбофоса, зарина, зомана) основано на накоплении ацетилхолина в синаптических щелях, что вызывает быструю смерть. Все это определяет важность создания новых методов контроля содержания ацетилхолин хлорида.

Среди современных аналитических методов определения ацетилхолина особый интерес представляет вольтамперометрия на границе раздела двух несмешивающихся растворов электролитов, которую обозначают в западных публикациях аббревиатурой ITIES (Interface Between Two Immiscible Electrolyte Solutions). Данный метод основан на контролируемом обратимом переносе зарядов между двумя растворителями с минимальной (в идеале нулевой) взаимной смешиваемостью, через границу раздела которых осуществляется межфазный переход заряженных частиц - ионов, электронов, а также заряженных ионных комплексов с соответствующим ионофором [13]. Несмотря на значительные достижения в электрохимии ITIES, за последние два десятилетия, очень мало публикаций, посвященных проблеме вольтамперометрического определения таких нередокс-активных ионных частиц, как ацетилхолин. Это связано с трудностями при проведении электрохимических измерений на границе раздела жидкость/жидкость по причине механической нестабильности межфазной границы, а также из-за высокого удельного сопротивления органической фазы [14].

Ранее показано [15–19], что модификация поверхности асимметричных пор ТМ различными веществами может быть использована для создания различных сенсоров, включая сенсоры на АЦХ. Работы по модификации ТМ с асимметричными порами наночастицами ионитов для определения АЦХ авторам неизвестны.

В настоящей работе выдвинута идея о том, что с помощью трековых мембран, модифицированных наночастицами ионитов для стабилизации межфазной границы, удастся преодолеть указанные ограничения и создать системы с микро-ITIES, а также изготовить на их основе вольтамперометрический датчик для определения ацетилхолина в водно-органических растворах.

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Применяли асимметричные трековые мембраны на основе полиэтилентерефталата, модифицированные катионо- и анионнообменными сорбентами. В качестве реагентов использовали: ацетилихолин хлорид, [N,N,N-триметил-2-аминоэтанола ацетат хлорид CH<sub>3</sub>CO(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Cl], *орто*-нитрофенилоктиловый эфир (*о*-**НФОЭ**) и тетрадодециламмоний тетра-*пара*-хлорфенилборат (**ТДАТФБСI**) (≥98%, Sigma-Aldrich, Германия). Неорганические соединения MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, KReO<sub>4</sub>, KNO<sub>3</sub> и KI имели квалификацию "х. ч." (Химмед, Россия).

Все 0.01 М растворы ацетилхолина и неорганических солей готовили по точным навескам с использованием бидистиллированной воды. Рабочие растворы готовили разбавлением исходных.

В качестве фонового электролита органической фазы служил раствор 0.01 М раствор ТДАТФБСІ в *о*-НФОЭ. В качестве фонового электролита водной фазы использовали 0.01 М раствор MgSO<sub>4</sub>. Объем органической фазы составлял 200 мкл, объем водной фазы – 25 мл.

Трековые мембраны с асимметричными порами (0.3–0.1 мкм) были получены в Лаборатории ядерных реакций Объединенного института ядерных исследований (Дубна). Микрофотографии наночастиц ионитов и ТМ получены на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) JEOL JSM-6700 О.А. Касатоновой, а также на автоэмиссионном СЭМ Tescan Mira (образцы смотрелись без напыления) А.А. Бурмистровым.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Получение наночастиц ионита. В ряде экспериментов специально подготовленные образцы промышленно выпускаемых полистирольных ионитов

(КУ-2-8 и АВ-17-8) раздельно подвергали длительному измельчению в шаровой мельнице (100 ч с частотой вращения 120 об/мин) и последующему центрифугированию (>1 ч, 7000 об/мин). Были получены гидрозоли сильнокислотного катионита с сульфогруппами и высокоосновного анионита с четвертичными аммониевыми основаниями с матрицей сополимера стирола и 8% дивинилбензола. Размеры частиц варьировались в диапазоне 50-200 нм (рис. 1). Концентрацию гидрозолей определяли методом кислотно-основного титрования. Концентрация по функциональным группам составила от 7 до 40 мМ. Для работы использовали наноиониты в стандартных состояниях в форме ионов воды (НИК/Н – катионообменник в Н-форме, НИА/ОН – анионообменник в ОНформе) на фоне чистой воды. Для этого измельчаемые макроиониты предварительно переводили в форму соответствующих ионов воды. После получения суспензий с помощью специальных реакций проводили доочистку растворов с целью восстановления стандартных состояний или для перевода НИО в любую ионную форму на фоне чистой воды [20-22].

Из микрофотографий рис. 1 видно, что частицы НИК и НИА, полученные описанным выше методом, имеют неправильную форму и размер от 200 до 100 нм и существуют в виде агрегатов более мелких частиц.

**Получение наполненных трековых мембран.** Для получения наполненных мембран была создана система, состоящая их перистальтического насоса и ячеек тупикового типа (рис. 2).

Трековую мембрану помещали в держатель, систему предварительно промывали спиртом. После этого подавали ранее приготовленную суспензию ионита. Суспензию прокачивали через ТМ циклически со скоростью 1.3 мл/мин. Затем при значительном уменьшении скорости пропускания суспензии процесс останавливали. Контроль заполнения проводили с использованием СЭМ-изображений отдельных образцов (рис. 3).

Микрофотографии поверхности TM, сделанные по окончании нанесения ионитов, свидетельствуют о том, что процесс наполнения прошел полностью. На поверхности нет ярко выраженных устьев пор, следовательно, ионит заполнил поровое пространство. Высушенные и подготовленные таким образом мембраны в дальнейшем применяли для вольтамперометрических исследований.

Электрохимические измерения проводили методом циклической вольтамперометрии с использованием вольтамперометрического анализатора "Экотест-ВА-4" (ООО "Эконикс-Эксперт", Россия), подключенного к компьютеру. Управление прибором и последующую обработку результатов вольтамперометрических измерений осуществляли с помощью компьютерной программы Экотест-ВА. Измерения проводили в четырехэлектродной электрохимической ячейке по следующей схеме:

Ag	AgCl	Исследуемый водный раствор: 10 <sup>-2</sup> M MgSO <sub>4</sub> + <i>x</i> мM иона X	Мембрана (ячейка 1) + НИК (ячейка 2) + НИА (ячейка 3)	Органическая фаза: <i>о</i> -НФОЭ + 10 <sup>-2</sup> М ТДАТФБСІ	AgTΦБCl	Ag
ЭC (B)		Pt-B <sub>Э</sub> (B)		Pt-BЭ (O)		ЭС (0)

Здесь О – органическая фаза, В – водная фаза, ЭС – электрод сравнения, ВЭ – вспомогательный электрод, ТДАТФБСІ – тетракис(4-хлорфенил)борат тетрадодециламмония.

Для изготовления электрохимической ячейки использовали трубку из боросиликатного стекла длиной 12 см и диаметром 8 мм. К торцу трубки с помощью силиконового кольца прижимали ТМ. Трубку с закрепленной на торце мембраной крепили на штативе, внутрь трубки с помощью дозатора наливали фоновый раствор органической фазы. Электродом сравнения в водной фазе служил двухключевой хлоридсеребряный электрод ЭСр-10101/3.5, внешнюю полость которого заполняли 10 мМ раствором MgSO<sub>4</sub>. Электродом сравнения в органической фазе служил Ag/AgTФБСІэлектрод, изготовленный с помощью электрохимического окисления серебряной проволоки в 0.1 М растворе ТФБС1 натрия. Вспомогательными



**Рис. 1.** Микрофотографии частиц измельченного катионита (а) и анионита (б) (образец а – катионит НИК) и (образец б – анионит НИА).



Рис. 2. Фотография установки для получения наполненных трековых мембран.

электродами в водной и органической фазах являлись платиновые электроды.

Вольтамперометрические измерения проводили в режиме циклической постояннотоковой и переменнотоковой квадратно-волновой вольтамперометрии с амплитудой 50 мВ и частотой импульсов 5 Гц. Развертку потенциала осуществляли из катодной области в анодную, скорость развертки потенциала составляла 12 мВ/с.

Результаты измерений. При проведении вольтамперометрических измерений на межфазной границе в системе вода/о-НФОЭ с использованием исходной ТМ (электрохимическая ячейка 1) при поляризации межфазной границы наблюдается формирования окна потенциалов в диапазоне от -650 до +650 мВ (отн. Ag/ACl). Положительный ток соответствует переходу ионов  $SO_4^{2-}$ из водного раствора в органическую фазу и катионов тетрадодециламмония (С12H25)4N<sup>+</sup> из органической фазы в водную (верхний полуцикл, рис. 4). Отрицательный ток, в свою очередь, соответствует переходу анионов тетракис(4-хлорфенил)бората (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Cl)<sub>4</sub>B<sup>-</sup> из органической фазы в водную и катионов Mg<sup>2+</sup> из водной фазы в органическую (нижний полуцикл, рис. 4). Возникающие на границах вольтамперограммы токовые сигналы перехода ионов фоновых электролитов (фарадеевский ток) имеют величины порядка 0.4-0.5 мкА. Соответствующая данным значениям плотность тока *j* с учетом площади массива микроотверстий в мембране (среднее количество отверстий, приходящееся на сечение трубки  $22 \times 10^6$ ,  $r_{отверстия} = 0.3$  мкм) составляет порядка 26-32 мкА/см<sup>2</sup>, что характерно для систем со стабилизированной микрограницей. Стоит отметить, что форма окна потенциалов слегка искажена, что связано с омическим падением напряжения, обусловленного, в свою очередь, сопротивлением мембраны.

При добавлении в фоновой раствор катиона ацетилхолина АЦХ<sup>+</sup>, выбранного в качестве модельного иона для исследования процессов межфазного переноса, в диапазоне концентраций  $3 \times 10^{-6} - 2 \times 10^{-4}$  М на вольтамперограмме в анодной области возникает токовый сигнал в форме максимума (рис. 5). Высота сигнала прямо пропорциональна концентрации ацетилхолина в водной фазе (рис. 5, вставка).

При использовании ТМ с катионитом (электрохимическая ячейка 2) и последующих вольтамперометрических измерениях межфазного пе-



**Рис. 3.** Микрофотографии исходной трековой мембраны (а), (б), а также мембраны после наполнения частицами катионита (в) -0.3 мкм; (г) -0.1 мкм; (а), (в) – верхняя сторона и (б), (г) – нижняя сторона.

реноса катиона АЦХ<sup>+</sup> наблюдали аналогичную зависимость І-Е (рис. 6). При увеличении концентрации ацетилхолина в диапазоне 6 × 10<sup>-6</sup>- $2 \times 10^{-4}$  М в анодной области окна потенциалов возникает характерный токовый сигнал асимметричной формы: при переходе катиона ацетилхолина из водной в органическую фазу сигнал имеет сигмоидальную форму, подобную классической полярографической волне, что объясняется квазисферической диффузией катиона в поры мембраны. При катодной развертке (из положительной в отрицательную область потенциалов) сигнал имеет форму максимума, что связано с диффузионным режимом, объединяющим полусферический поток к микроотверстию и линейный поток внутри него. Наблюдаемое явление асимметрии диффузионного поля согласиется с теоретическими представлениями о массопереносе в подобных пленках [23].

По измеренным вольтамперограммам растворов ацетилхолина с концентрациями от 3.0 × 10<sup>-6</sup>

ки зависимости высоты токового сигнала от концентрации ацетилхолина. Определили параметры уравнения регрессии вида:  $I = ac_{AIIX} + b$ , где I – ток пика, мкА;  $c_{AIIX}$  – концентрация ацетилхолина, М;  $r^2$  – достоверность аппроксимации (табл. 1). Предел обнаружения  $c_{min}$  АЦХ<sup>+</sup>, рассчитанный по формуле  $c_{min} = 3s_0/S$ , где  $s_0$  – стандартное отклонение фонового сигнала, S – коэффициент чувствительности, составил 1 × 10<sup>-6</sup> М.

до  $2.0 \times 10^{-4}$  М построили градуировочные графи-

При измерении фонового раствора в переменнотоковом режиме добавление различных концентраций АЦХ<sup>+</sup> (6–200 мкМ) в водную фазу приводит к появлению в анодной области окна потенциалов вольтамперометрического сигнала в форме широкого пика с максимумом при потенциале  $510 \pm 15$  мВ. Площадь токового сигнала увеличивается пропорционально концентрации АЦХ<sup>+</sup> в водной фазе (рис. 7). Для увеличения чувствительности из полученных вольтамперометриче-



Рис. 4. Циклическая вольтамперограмма 10 мМ фонового раствора MgSO<sub>4</sub>, измеренная на межфазной границе вода/о-НФОЭ, стабилизированной исходной трековой мембраной (ячейка 1).

ских сигналов проводили программное вычитание фона. катиона АЦХ<sup>+</sup> от его концентрации в водном растворе. Графики линейны с  $r^2 > 0.980$  в диапазоне концентраций 6.0 ×  $10^{-6}$ -7.5 ×  $10^{-5}$  М как при анодной (*o*-НФОЭ → H<sub>2</sub>O), так и при катодной

На вставке рис. 7 показаны градуировочные графики зависимости площади токового сигнала



**Рис. 5.** Циклические постояннотоковые вольтамперограммы фонового раствора, измеренные при последовательном увеличении концентрации  $AUX^+$  на межфазной границе вода/*o*-НФОЭ, стабилизированной исходной трековой мембраной (фон вычтен). Вставка: градуировочные зависимости высоты токовых сигналов от концентрации  $AUX^+$  при анодной (прямой) (*1*) и катодной (обратной) развертке потенциала (*2*).



**Рис. 6.** Циклические постояннотоковые вольтамперограммы фонового раствора, измеренные на межфазной границе вода/o-НФОЭ, стабилизированной трековой мембраной, модифицированной катионитом (фон вычтен), при последовательном увеличении концентрации АЦХ<sup>+</sup>. Вставка: градуировочные зависимости высоты токовых сигналов от концентрации АЦХ<sup>+</sup> при анодной (прямой) (*1*) и катодной (обратной) развертке потенциала (*2*).

 $(H_2O \rightarrow o-H\Phi O \Theta)$  развертке потенциала. При концентрации катиона АЦХ выше  $1 \times 10^{-4}$  М  $S_{пика}$  нелинейно увеличивается с ростом концентрации. Подобное поведение наблюдали Жиро и сотр. [24] при определении холина и ацетилхолина при изучении межфазного переноса в системе вода—нитробензол, стабилизированной при помощи гелеобразных мембран. Его можно объяснить уменьшением скорости диффузии из-за высокой степени заполнения микроотверстий мембраны анионитом.

При вольтамперометрических измерениях с использованием для стабилизации межфазной границы ТМ с анионитом (электрохимическая ячейка 3) наблюдается сильное искажение рабочего окна потенциалов и токовых сигналов межфазного переноса катиона ацетилхолина. Форма сигналов при этом по-прежнему асимметричная, однако происходит их размытие и уширение. Вероятно, такой эффект связан со значительным снижением скорости ионного обмена между катионом ацетилхолина и анионитом из-за электроста-

Таблица 1. Характеристики градуировочных графиков определения ацетилхолин хлорида методом постояннотоковой вольтамперометрии на межфазной границе вода/о-НФОЭ (трековая мембрана с катионитом, фон – 10 мМ раствор MgSO<sub>4</sub>)

Диапазон линейности, М	Направление развертки потенциала (направление перехода)	Уравнение регрессии	r <sup>2</sup>
$3 \times 10^{-6} - 5 \times 10^{-5}$ (вкл.)	Анодная	$I = 0.168c_{AIIX} + 0.092$	0.975
$5 \times 10^{-6} - 2 \times 10^{-4}$	$(o-H\Phi O \ni \rightarrow H_2 O)$	$I = 0.035c_{AIIX} + 0.740$	0.988
$3 \times 10^{-6}$ — $5 \times 10^{-5}$ (вкл.)	Катодная	$I = 0.110c_{AIIX} + 0.134$	0.977
$5 \times 10^{-6} - 2 \times 10^{-4}$	$(H_2 O \rightarrow o - H \Phi O \Im)$	$I = 0.0389 c_{\rm AIIX} + 0.500$	0.979



**Рис.** 7. Циклические переменнотоковые вольтамперограммы фонового раствора, измеренные при последовательном увеличении концентрации АЦХ<sup>+</sup> на межфазной границе вода/*о*-НФОЭ, стабилизированной с помощью трековой мембраны, модифицированной анионитом (фон вычтен).  $c_{ALLX} \times 10^5$ , M: 1 - 0.6, 2 - 1.25, 3 - 2.5, 4 - 5.0, 5 - 7.5, 6 - 10, 7 - 20. Вставка: 1 - анодная развертка, 2 - катодная развертка.

тического отталкивания, в результате чего межфазный перенос АЦХ<sup>+</sup> становится затрудненным.

В заключение следует отметить, что создание новых электрохимических сенсоров, в том числе для определения таких нейромедиаторов, как ацетилхолин, холин, дофамин, серотонин и др., является важным направлением современной аналитической химии [10, 13–20].

Известные способы электрохимического определения нейротрамедиаторов основаны на фарадеевском переносе электрона на углеродных электродах [18, 20]. Таким способом в основном обнаруживают редокс-активные нейромедиаторы, например дофамин и серотонин. Электрохимическое обнаружение нередокс-активных нейромедиаторов, в частности АЦХ<sup>+</sup>, достигается косвенным методом с использованием электродов, модифицированных комбинацией ферментов ацетилхолинэстеразы и холиноксидазы, при этом скорость ферментативной реакции может ограничивать отклик электрода. В табл. 2 сравниваются аналитические характеристики ряда электрохимических датчиков, предназначенных для

электрохимического определения ацетилхолина в водных растворах и биологических жидкостях.

Как видно табл. 2, предложенный в настоящей работе метод определения ацетилхолина на микро-ITIES, стабилизированной с помощью ТМ, заполненных ионитом, характеризуется приемлемыми аналитическими характеристиками в сравнении с другими электрохимическими методами. При необходимости пределы обнаружения можно снизить примерно на порядок при проведении измерений в инверсионном режиме. По сравнению с ферментативными электродами предложенный метод практически не зависит от кинетических факторов и позволяет проводить измерения при высокой скорости развертки потенциала за 10-100 нс даже при отсутствии перемешивания раствора. Высокие скорости развертки позволяют существенно повысить величину аналитического сигнала и уменьшить продолжительность его регистрации. Это является важным достоинством, особенно при вольтамперометрических измерениях в потоке или в условии непостоянства состава матрицы анализируемого раствора. По

	-				
Метод	Тип электрода	Состав сенсорного элемента электрода	Линейный диапазон, М	Предел обнаружения, М	Литература
Потенциомет- рия	Ацетилхолин-селек- тивный электрод с жидкостной мем- браной	ПВХ–нитробензол-гель (0.1 М ТБАТФБ + 10 мМ АЦХТФБ)	$2 \times 10^{-4} - 0.1$	$1 \times 10^{-4} - 0.1$	[16]
Амперометрия	Pt-микроэлектрод	Иммобилизованная ацетил- холинэстераза на ацетил- целлюлозе	$5.0 \times 10^{-7} -$ $9.3 \times 10^{-5}$	$5.0 \times 10^{-7}$	[17]
Амперометрия	Микроэлектрод из углеродного волокна	Токопроводящий полимер поли( <i>o</i> -фенилендиаммин), модифицированный аце- тилхолинэстеразой и холи- ноксидазой	$1.0 \times 10^{-5} - 4 \times 10^{-3}$	$1 \times 10^{-5}$	[18]
Циклическая постоянното- ковая ВА	Электрод в виде нанопитки с внеш- ним диаметром 14— 70 нм	Граница раздела вода (0.15— 8 мМ LiCl)/1,2-дихлорэтан (5 мМ ТДАТФБСl)	$2.5 \times 10^{-4} - 6 \times 10^{-3}$	$2.0 \times 10^{-4}$	[19]
Циклическая постоянното- ковая ВА	Планарный углерод- ный электрод, полу- ченный методом трафаретной печати	Магнитные наночастицы феррита марганца	$1.0 \times 10^{-7} - 5.0 \times 10^{-4} \mathrm{M}$	$2.0 \times 10^{-8}$	[20]
Циклическая постоянното- ковая ВА	Микро-ITIES-элек- трод	Граница раздела вода (10 мМ MgSO <sub>4</sub> )/ <i>о</i> -НФОЭ (10 мМ ТДАТФБСІ), стаби- лизованная ТМ с катионитом	$3.0 \times 10^{-6} - 2 \times 10^{-4}$	$1.0 \times 10^{-6}$	Настоя- щая работа

Таблица 2. Сравнение аналитических характеристик разработанного метода определения ацетилхолина с описанными ранее электрохимическими методами

Обозначения: ПВХ – поливинилхлорид, ТБАТФБ – тетрабутиламмоний тетрафенилборат, ВА – вольтамперометрия.

этой причине электрохимические системы с микpo-ITIES, стабилизованной с помощью трековых мембран, приобретают большое значение для развития электрохимии на межфазных границах, в особенности в аналитическом приложении при определении органических веществ.

Авторы выражают благодарность д. х. н. Павлу Юрьевичу Апелю за помощь в обсуждении результатов при написании статьи.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Шкинев В.М., Трофимов Д.А., Данилова Т.В., Роговая И.В., Моржухина С.В., Карандашев В.К., Спиваков Б.Я. Армированные трековые мембраны в методах оценки качества природной и питьевой воды // Журн. аналит. химии. 2008. Т. 63. № 4. С. 363. https://doi.org/10.1007/s10809-008-4004-х
- Моржухина С.В., Балакин В.А., Котенко С.В., Чермных Л.П., Хозяинов М.С., Вавина О.Э., Шкинев В.М., Данилова Т.В., Шкинева Е. В. Экологическое состояние р. Москвы на территории Раменского района Московской области // Геоинформатика. 2004. № 3. С. 41.

- 3. Шкинев В.М., Джераян Т.Г., Карандашев В.К., Аракчаа К.Д., Спиваков Б.Я. Мембранная фильтрация для непрерывного фракционирования частиц и макромолекул. Распределение компонентов вод лечебных источников-аржаанов // Журн. аналит. химии. 2000. Т. 55. № 2. С. 135. https://doi.org/10.1007/BF02757738
- 4. Апель П.Ю., Бобрешова О.В., Волков А.В., Волков В.В., Никоненко В.В., Стенина И.А., Филиппов А.Н., Ямпольский Ю.П., Ярославцев А.Б. Перспективы развития мембранной науки // Мембраны и мембранные технологии. 2019. Т. 9. № 2. С. 59.
- Trofimov Denis A., Shkinev Valery M., Spivakov Boris Ya. Modification of the surface and pores of poly(ethylene terephthalate) track membranes using N-isopropylacrylamide for an improvement of membrane performance // Mendeleev Commun. 2017. V. 27. P. 44. https://doi.org/10.1016/j.mencom.2017.01.013
- Митрофанова Н.В., Сергеев А.В., Хохлова Т.Д., Нечаев А.Н., Березкин В.В., Трофимов Д.А., Мчедлишвили Б.В. Модифицированные трековые мембраны II. Модификация трековых мембран водорастворимыми полимерами // Мембраны. 2000. Т. 6. С. 17.
- 7. Pérez-Mitta Gonzalo, Toimil-Molares María Eugenia, Trautmann Christina, A. Marmisollé Waldemar, Azza-

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 76 № 3 2021

*roni Omar*. Molecular design of solid-state nanopores: Fundamental concepts and applications // Adv. Mater. 2019. V. 31. № 37. P. 1.

https://doi.org/10.1002/adma.201901483

 Qi Chen, Zewen Liu. Fabrication and applications of solid-state nanopores. Review // Sensors. 2019. V. 19(8). P. 1.

https://doi.org/10.3390/s19081886

- Trofimov D.A., Shkinev V.M., Spivakov B.Ya., Schue F. Improvement of pore geometry and performances of poly(ethylene terephthalate) track membranes by a protective layer method using plasma-induced graft polymerization of 1H, 1H, 2H – perfluoro-1-octene monomer // J. Memb. Sci. 2009. V. 326. № 2. P. 265. https://doi.org/10.1016/j.memsci.2008.10.057
- 10. *Dila Kaya, Kaan Keçeci*. Track-etched nanoporous polymer membranes as sensors: A review // J. Electrochem. Soc. 2020. V. 167. № 3. P.75.
- Березкин В.В., Васильев А.Б., Цыганова Т.В., Мчедлишвили Б.В., Апель П.Ю., Орелович О.Л., Олейников В.А., Простякова А.И., Хохлова Т.Д. Асимметричные трековые мембраны: поверхностные и эксплуатационные свойства // Мембраны. 2008. Т. 4. С. 3.
- Apel P.Yu., Blonskaya I.V., Dmitriev S.N., Mamonova T.I., Orelovitch O.L., Sartowska B., Yamauchi Yu. Surfactantcontrolled etching of ion track nanopores and its practical applications in membrane technology // Radiat. Meas. 2008. V. 43. (Suppl. 1). P. 552. https://doi.org/10.1016/j.radmeas.2008.04.057
- Зайцев Н.К. Амперометрические ионоселективные электроды и вольтамперометрия на границе раздела фаз электролит-электролит / Зайцев Н.К., Шорин С.В., Дедов А.Г. М.: ЭкООнис, 2014. 200 с.
- 14. *Мартынов Л.Ю*. Дис. ... канд. хим. наук. М.: РТУ МИРЭА, 2019. 175 с.
- Wen L., Sun Z., Han C., Imene B., Tian D., Li H., Jiang L. Fabrication of layer-by-layer assembled biomimetic nanochannels for highly sensitive acetylcholine sensing // Chem. Eur. J. 2013. V. 19. № 24. P. 7686. https://doi.org/10.1002/chem.201300528
- 16. Kakutani T., Ohkouchi T., Osakai T., Kakiuchi T., Senda M. Ion-transfer voltammetry and potentiometry of acetyl-

choline with the interface between polymer-nitrobenzene gel and water // Anal. Sci. 1985. V. 1. № 3. P. 219. https://doi.org/10.2116/analsci.1.219

- Huang Z., Villarta-Snow R., Lubrano G.J., Guilbault G.G. Development of choline and acetylcholine Pt microelectrodes // Anal. Biochem. 1993. V. 215. № 1–3. P. 31. https://doi.org/10.1006/abio.1993.1550
- Khan A., Ab Ghani S. Multienzyme microbiosensor based on electropolymerized ophenylenediamine for simultaneous in vitro determination of acetylcholine and choline // Biosens. Bioelectron. 2012. V. 31. № 1. P. 433.

https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.11.007

- Colombo M.L., Sweedler J.V., Shen M. Nanopipetbased liquid-liquid interface probes for the electrochemical detection of acetylcholine, tryptamine, and serotonin via ionic transfer // Anal. Chem. 2015. V. 87. № 10. P. 5095. https://doi.org/10.1021/ac504151e
- Mohammadi S.Z., Beitollahi H., Tajik S. Nonenzymatic coated screen-printed electrode for electrochemical determination of acetylcholine // Micro and Nano Syst. Lett. 2018. V. 6. № 9. P. 1. https://doi.org/10.1186/s40486-018-0070-5
- 21. Dolgonosov A.M., Khamizov R.Kh., Kolotilina N.K. Nanoion-exchangers — a new class of reactive materials // Сорбционные и хроматографические процессы. 2018. Т. 18. № 6. С. 794. https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2018.18/607
- 22. Долгоносов А.М., Хамизов Р.Х., Колотилина Н.К. Наноиониты – модификаторы хроматографических фаз и источники аналитического сигнала // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 4. С. 285. https://doi.org/10.1134/S0044450219030034
- Arrigan D.W.M., Herzog G. Theory of electrochemistry at miniaturised interfaces between two immiscible electrolyte solutions // Curr. Opin. Electrochem. 2017. V. 1. № 1. P. 66. https://doi.org/10.1016/j.coelec.2017.01.003
- 24. *Lee H.J., Beriet C., Girault H.H.* Stripping voltammetric determination of choline based on micro-fabricated composite membrane // Anal. Sci. 1998. V. 14. № 1. P. 71. https://doi.org/10.2116/analsci.14.71