

# СОДЕРЖАНИЕ

---

---

Том 77, номер 10, 2022

---

---

Номер посвящен 90-летнему юбилею  
Почетного главного редактора «Журнала аналитической химии»  
академика Юрия Александровича Золотова

К юбилею академика Ю.А. Золотова 873

## ОБЗОРЫ

Фотонные кристаллы и их аналоги как средство химического анализа

*Е. С. Большаков, И. С. Щемелев, А. В. Иванов, А. А. Козлов* 875

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Экстракция и определение синтетических пищевых красителей  
в двухфазной водной системе на основе бромид тетрабутиламмония

*К. А. Лысковцева, Г. Б. Эльдяева, С. В. Смирнова, И. В. Плетнев* 899

Перспективы использования аналитических систем на основе треугольных  
нанопластинок серебра для спектрофотометрического  
определения восстановителей

*А. А. Фурлетов, В. В. Аняри, А. В. Гаршев, С. Г. Дмитриенко* 911

ВЭЖХ-разделение карбоновых кислот с использованием пористого  
графитированного углерода и градиентного элюирования растворами  
муравьиной кислоты

*К. С. Гутенев, М. А. Статкус, Г. И. Цизин* 923

Сравнение лиофилизации с последующей дериватизацией и микросорбционного  
концентрирования в шприце (MEPS) для анализа конденсата выдыхаемого  
воздуха человека методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии

*А. И. Ревельский, А. С. Козырь, А. С. Самохин, Э. Х. Анаев, И. А. Ревельский* 931

Быстрый гидролиз и дериватизация метаболитов нитрофуранов с новым  
дериватирующим агентом 5-нитро-2-фуральдегидом  
при их ВЭЖХ-МС/МС-определении в курином мясе

*А. О. Мелехин, В. В. Толмачева, Ю. Н. Холявская, Е. С. Седых,  
С. Г. Дмитриенко, В. В. Аняри, А. Л. Баиров* 938

Скрининг лекарственных соединений в крови методом масс-спектрометрии  
с ионизацией, индуцированной лазерной плазмой при атмосферном давлении

*К. Ю. Кравец, С. И. Тимакова, А. А. Гречников, А. С. Бородков,  
П. К. Лаптинская, В. С. Кузьмин, Я. О. Симановский* 947

Антропогенный источник золота в московской городской пыли

*М. С. Ермолин, А. И. Иванеев, А. С. Бржезинский, В. К. Карандашев,  
А. В. Мохов, П. С. Федотов* 956

---

---



## К ЮБИЛЕЮ АКАДЕМИКА Ю.А. ЗОЛотова

DOI: 10.31857/S004445022210019X



4 октября 2022 г. исполняется 90 лет со дня рождения Юрия Александровича Золотова, академика Российской академии наук, доктора химических наук, профессора. В настоящее время Юрий Александрович – главный научный сотрудник кафедры аналитической химии МГУ им. М.В. Ломоносова, главный научный сотрудник Института общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, член бюро Отделения химии и наук о материалах РАН, председатель Научного совета РАН по аналитической химии, президент ассоциации “Экоаналитика”, вице-президент РХО им. Д.И. Менделеева (в 1991–1995 гг. – президент), член ряда научных советов и комиссий РАН. В 2001–2002 гг. исполнял обязанности академика-секретаря Отделения физико-химии и технологии неорганических материалов РАН, члена Президиума РАН. Был председателем совета по химии Российского фонда фундаментальных исследований. По много лет работал в ряде международных научных организаций – Международном союзе теоретической и прикладной химии, Федерации европейских химических обществ. Он входил и входит в состав редколлегий и редсоветов ряда российских и международных журналов. На протяжении 60 лет Ю.А. Золотов

работает в “Журнале аналитической химии”, а с 1988 по 2021 г. руководил журналом в качестве главного редактора.

Ю.А. Золотов окончил химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова (1955), аспирантуру Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского АН СССР (1958). Работал в том же институте до 1989 г. младшим и старшим научным сотрудником, заведующим лабораторией, заместителем директора по научной работе. В 1989–1999 гг. – директор ИОНХ РАН, затем там же – заведующий лабораторией. Параллельно с 1978 г. является профессором химического факультета МГУ, а с 1989 г. по 2019 г. заведовал кафедрой аналитической химии.

Ю.А. Золотов – выдающийся ученый в области аналитической химии, лидер этого направления в стране. Области его научных интересов – аналитическая химия нептуния, жидкостная экстракция, концентрирование микроколичеств веществ, гибридные методы анализа, тест-методы, аналитическая химия платиновых металлов, общие вопросы аналитической химии.

В 1960–1980 гг. входил в группу ведущих мировых ученых в области экстракции. Он обосновал гидратно-сольватный механизм экстракции; показал, что в органическую фазу могут переходить комплексные формы металлов, в водной фазе практически отсутствующие. Дал объяснение соэкстракции одного элемента с другим; предсказал, обнаружил и объяснил явление подавления экстракции одного элемента другим (открытие № 113); развил теорию взаимного влияния элементов при экстракции. Показал роль молекул воды во внутренней координационной сфере хелатов: наличие или отсутствие такой воды определяет выбор органического растворителя при экстракции; сформулировал понятие о “координационно насыщенных” и “координационно ненасыщенных” хелатах; провел серию исследований по синергетическим эффектам при экстракции хелатов; показал, что в зависимости от соотношения координационного числа и степени окисления иона металла могут образовываться нейтральные, “катионные” и “анионные” хелаты, которые при экстракции ведут себя по-разному, и указал способы экстракции “заряженных” хелатов; предложил ряд новых экстрагентов. Вместе с сотрудниками разработал большое число

экстракционных методов разделения сложных смесей веществ, в том числе для целей радиохимии и гидрометаллургии.

Ю.А. Золотов развил общую методологию концентрирования микрокомпонентов и предложил новые методы концентрирования, в том числе при анализе высокочистых веществ. Совместно с сотрудниками предложил много методик сорбционного концентрирования элементов и органических соединений, в том числе с использованием новых высокоэффективных сорбентов для концентрирования в динамических условиях. Ввел понятие о гибридных методах анализа, разработал серию таких методов. Под его руководством найдены условия сорбции полициклических ароматических углеводородов, фенолов, катионных и анионных ПАВ, ионных ассоциатов катионных и анионных красителей, ионов металлов, анионов; предложены физико-химические модели сорбции, развиваются работы по иммобилизации органических реагентов на ксерогелях на основе оксидов кремния, по теории действия и применению органических реагентов на органические вещества.

На рубеже 1970–1980 гг. Ю.А. Золотов развернул в стране работы по ионной хроматографии; цикл совместных работ привел к созданию и серийному выпуску ионных хроматографов; были существенно снижены пределы обнаружения ионной хроматографии, разработано много ионохроматографических методик. Организовал первые в стране исследования по проточно-инжекционному анализу; в результате созданы потоко-распределительные системы для определения веществ, основанные на проведении онлайн сорбционно-разделения и концентрирования.

Под руководством Ю.А. Золотова выполнены работы по аналитической химии благородных металлов, актинидов, прикладные работы по анализу высокочистых веществ, ряда природных и промышленных объектов, объектов окружающей среды. Дал импульс работам по тест-методам; под его руководством разработан комплекс тестов для анализа объектов окружающей среды, пищевых продуктов, медицинских и других объектов. Многие публикации Ю.А. Золотова посвящены общим

вопросам аналитической химии – методологическим проблемам, терминологии, истории, перспективам развития, популяризации, преподаванию и решению научно-организационных вопросов.

Ю.А. Золотов – автор более тысячи научных публикаций, более 30 патентов. В числе публикаций более 50 книг – монографий, справочников, учебных пособий; книги изданы на русском, английском, немецком, японском и румынском языках. По его инициативе и под его редакцией подготовлен учебник по аналитической химии для университетов, вышедший четырьмя изданиями. Юрий Александрович внес вклад в изучение истории аналитической химии и популяризацию этой науки. Вел и ведет большую научно-организационную и общественную работу.

Академик Ю.А. Золотов является почетным доктором Киевского национального и Башкирского государственного университетов, почетным профессором Кубанского государственного университета, заслуженным профессором МГУ им. М.В. Ломоносова. Он был избран иностранным членом Японского общества аналитической химии и Королевского общества наук и искусств в Гётеборге (Швеция). Ю.А. Золотов – лауреат Государственных премий СССР (1972), РСФСР (1991) и РФ (2000), лауреат премий Совета Министров СССР (1985) и Правительства РФ (2008), лауреат Демидовской премии. Награжден орденами Трудового Красного Знамени, Знак Почета, Дружбы, Александра Невского, Золотыми медалями им. Д.И. Менделеева и им. Н.С. Курнакова РАН, премиями РАН им. Л.А. Чугаева, В.Г. Хлопина и В.А. Коптюга, премией РАН за лучшие работы по популяризации науки, медалями им. Эмиха (Австрия), Пуркинье (Чехословакия), Исибаси (Япония), Хансона (Международный комитет по экстракционной химии и технологии), Хануша (Чехия), призом журнала *Talanta*.

В день девяностолетия редколлегия “Журнала аналитической химии”, коллеги по работе, многочисленные ученики поздравляют дорогого Юрия Александровича, желают ему здоровья и благополучия на долгие годы, исполнения творческих задумок и планов, опережающего развития аналитической химии в России.

УДК 543.4

## ФОТОННЫЕ КРИСТАЛЛЫ И ИХ АНАЛОГИ КАК СРЕДСТВО ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

© 2022 г. Е. С. Большаков<sup>а</sup>, И. С. Щемелев<sup>а</sup>, А. В. Иванов<sup>а, б, \*</sup>, А. А. Козлов<sup>с</sup><sup>а</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет  
ГСП-1, Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, 119991 Россия<sup>б</sup>Институт общей и неорганической химии имени Н.С. Курнакова Российской академии наук  
Ленинский просп., 31, Москва, 119991 Россия<sup>с</sup>МИРЭА – Российский технологический университет,  
Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова  
просп. Вернадского, 86, Москва, 119454 Россия

\*e-mail: sandro-i@yandex.ru

Поступила в редакцию 05.03.2022 г.

После доработки 24.04.2022 г.

Принята к публикации 25.04.2022 г.

Природа создала наноструктуры, которые привлекли к себе внимание за счет сочетания уникальных свойств. Одним из множества вариантов наноструктур являются упорядоченные структуры — фотонные кристаллы, способные отражать узкую полосу видимого излучения, что позволяет использовать их в оптике, электронике, нанотехнологиях, химическом анализе. Незначительное воздействие на фотонные кристаллы на макроуровне приводит к существенным изменениям на микроуровне. Это свойство легло в основу создания селективных сенсоров, позволяющих экспрессно проводить анализ. Создание сенсорных матриц на основе фотонных кристаллов состоит из трех основных этапов: формирования упорядоченных структур, придания специфических свойств, регистрации и интерпретации аналитического сигнала. Результатом такого комплексного подхода являются сенсорные устройства, позволяющие в режиме реального времени определять концентрации мишеней различной природы — от ионов и маленьких молекул до белков и клеток.

**Ключевые слова:** фотонные кристаллы, сенсорные материалы, оптические наноструктуры, тест-средства.

DOI: 10.31857/S0044450222100036

### МЕХАНИЗМ ОТКЛИКА ФОТОННЫХ КРИСТАЛЛОВ

На протяжении многих веков самые красивые и яркие переливающиеся цвета различных предметов, встречающихся в природе (например, жуков, бабочек и минерала — опала), очаровывали людей. Такие цвета появляются исключительно за счет физических эффектов: рассеяния, отражения, преломления, дифракции и интерференции; результат называют “структурным цветом” — феноменом, который постоянно привлекает внимание многих поколений ученых.

Еще в 1887 г. лорд Рэйли продемонстрировал фотонную запрещенную зону (ФЗЗ) в 1D периодической структуре — брэгговском зеркале [1, 2]. Однако впервые идея управления спонтанным излучением в 3D периодической структуре предложена Быковым в 1972 г [3]. В 1987 г. Эли Яблонович и Саджив Джон расширили концепцию за-

прещенной зоны на 2D и 3D структуры и ввели термин “фотонный кристалл” [4, 5].

Фотонные кристаллы (ФК) — это метаматериалы с упорядоченной структурой, с характерным периодическим изменением показателя преломления (диэлектрической проницаемости) в пространстве с периодом, допускающим брэгговскую дифракцию света, проявляющуюся в иризации. Волна, проходящая через регулярно упорядоченную структуру, подчиняется условию Вульфа–Брэгга (рис. 1). Поскольку диаметр частиц в узлах решетки лежит в субмикронном диапазоне, дифракции подвержена видимая область спектра, при этом необходимо учитывать преломление лучей при прохождении через среды с различным показателем преломления. Объединяя закон Вульфа–Брэгга с законом Снеллиуса для трехмерного ФК с гранецентрированной кубической решеткой, получим следующее равенство:

$$m\lambda = 2d_{111}\sqrt{n_{\text{eff}}^2 - n_{\text{air}}^2} \sin^2\theta, \quad (1)$$

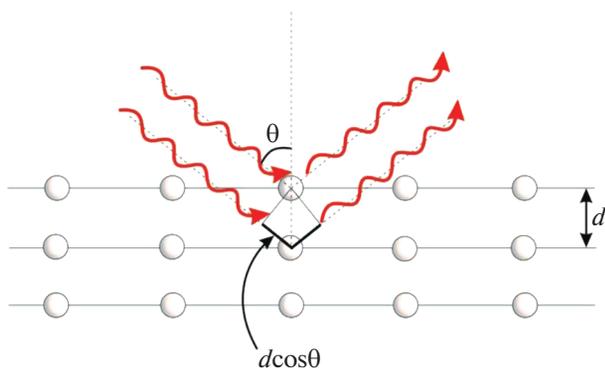


Рис. 1. Схема взаимодействия света с упорядоченной наноструктурой [6].

где  $m$  – порядок дифракционного максимума,  $\lambda$  – длина волны максимума на полосе отражения,  $d_{111}$  – межплоскостное расстояние между кристаллическими плоскостями (111),  $n_{\text{eff}}$  – эффективный показатель преломления структуры,  $n_{\text{air}}$  – показатель преломления среды, из которой падает свет,  $\theta$  – угол падения.

Физика и аналитическая химия ставят разные задачи: если для физики от материала требуются стабильность и неизменяемость его характеристик во времени, то для химии важна возможность изменения состояния системы в зависимости от свойств окружающей среды, т.е. использование этого материала в химическом анализе. В данном обзоре мы будем рассматривать получение сенсорных материалов на основе фотонно-

кристаллических массивов и их аналогов, а также особенности и возможности их применения для аналитических целей. Так, например, длина волны отраженного света изменится, когда при взаимодействии с аналитом изменится ориентация массива кристалла, эффективный показатель преломления структуры или ее период. Наиболее частым вариантом отклика при химическом воздействии является батохромный сдвиг экстремума на спектрах отражения или пропускания за счет таких процессов, как, например, набухание монодисперсных сферических частиц (МСЧ) или матрицы при воздействии аналитов. На рис. 2 приведены примеры формирования аналитического отклика сенсорной матрицы на основе ФК при таком воздействии. В приведенных примерах происходит изменение межплоскостного расстояния между кристаллическими плоскостями  $d$  и, как следствие, изменение длины волны максимума на полосе отражения в соответствии с уравнением (1).

Обычно при проведении анализа в той или иной мере необходимо учитывать все параметры уравнения (1), поскольку даже в приведенных примерах при набухании материала помимо объема изменяется эффективный показатель преломления  $n_{\text{eff}}$ . Эффективный показатель преломления можно рассчитать по следующей формуле:

$$n_{\text{eff}}^2 = n_p^2 \phi_p^2 + n_m^2 \phi_m^2, \quad (2)$$

где  $\phi_p$  и  $\phi_m$  – объемные доли коллоидных частиц и матрицы соответственно,  $n_p$  и  $n_m$  – показатели преломления частиц и матрицы соответственно.

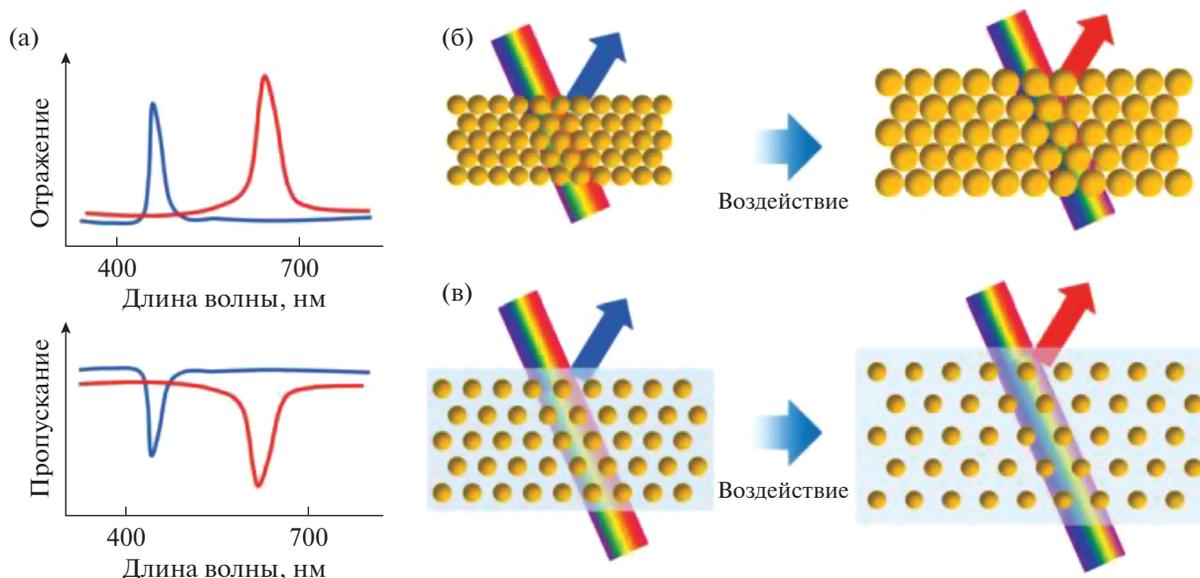


Рис. 2. Примеры механизмов отклика фотонно-кристаллического сенсора: (а) батохромный сдвиг на спектрах отражения и пропускания за счет изменения (б) объема монодисперсных сферических частиц или (в) объема чувствительной матрицы при воздействии аналита [7].

Несмотря на то, что параметры структуры часто меняются одновременно, относительное изменение периода, как правило, гораздо более значительно, чем показателя преломления, хотя датчики, которые используют изменение показателя преломления, могут показывать более высокую чувствительность и более короткое время отклика. Из этого следует, что монодисперсные частицы — ключевой компонент ФК, поскольку однородность их размера, формы, поверхности, внутренней структуры, упорядоченное взаимное расположение и т.д. влияют на свойства получаемых сенсорных матриц. Частицы могут различаться по структуре (сферические, янусы, многокомпонентные и т.д.) и по природе материалов (полимерные гидрофобные и гидрофильные, неорганические из оксидов или сульфидов, с комбинацией различных материалов и т.д.), для фотонных кристаллов наиболее распространены МСЧ из диоксида кремния и полистирола. В большинстве случаев процесс получения МСЧ трудоемок, и это обстоятельство существенным образом сдерживает синтез частиц в промышленном масштабе и, соответственно, получаемых из них сенсорных матриц.

Таким образом, аналитическим сигналом фотонно-кристаллических сенсоров является визуально наблюдаемое изменение структурного цвета или смещение максимума/минимума полосы отражения/пропускания, которое регистрируется как гипсохромный или батохромный сдвиг, а также изменение интенсивности отражения/пропускания (гипер- или гипохромный эффект) в результате воздействия аналита. Качественный анализ можно осуществлять визуально по факту изменения цвета, например с зеленого на красный, фиксируемого при одинаковых углах наблюдения, а количественный — путем регистрации времени, необходимого для изменения цвета фотонного кристалла, или по величине смещения ФЗЗ за фиксированное время. Подход позволяет проводить мониторинг в случае, если отклик сенсорной матрицы на аналит обратим, и после снятия воздействия она приобретает первоначальные характеристики. Способность к регенерации (обратимость спектральных характеристик) некоторых ФК является одним из важных преимуществ.

#### ФОРМИРОВАНИЕ УПОРЯДОЧЕННЫХ СТРУКТУР

На данный момент предложено около десятка всевозможных методов укладки монодисперсных сферических частиц в упорядоченную структуру. Основным методом получения упорядоченных структур является самоорганизация из дисперсии МСЧ. Под самоорганизацией будем подразумевать методы без возможности укладки МСЧ в

конкретную точку, но с возможным применением внешних сил.

Двухмерные фотонно-кристаллические системы, как и их аналоги проявляют структурную периодичность в двух пространственных направлениях. Данные материалы встречаются реже, чем одномерные и трехмерные фотонно-кристаллические структуры. Это объясняется тем, что получение двухмерных массивов сильно усложняется фактором удерживания света, который требует, чтобы структуры были достаточно большими либо по сравнению с пятном падающего луча, либо по сравнению с лучом, заключенным в третьем измерении [7]. Для получения подобных структур применяют методы самоорганизации [8, 9], спинпокрытия [10–15], электрофоретического осаждения [16], Ленгмюра–Блоджетт [17], прямого осаждения коллоидных частиц субстрата техникой roll-to-roll [18] и др.

В процессе сборки действуют коллоидные силы, которые упорядочивают МСЧ. Соответственно, методы самоорганизации можно классифицировать на основе движущей силы коллоидного уплотнения, а именно: гравитационной/инерционной, капиллярной (и поверхностного натяжения), электрической и магнитной [19–21]. В зависимости от условий осаждения выделяют несколько разновидностей подобных методов.

Нельзя не упомянуть все разнообразие методов изготовления ФК. К настоящему времени используют четыре основных подхода укладки МСЧ в кристаллическую структуру: *микроманипуляция* (micromachining) “сверху вниз” [22–26], *голографическая литография* (holographic lithography) [27–29], *мультифотонная литография* (multiphoton lithography) [30–34] и *самоорганизация* (self-assembly) “снизу вверх”. Первым трехмерным ФК, в котором теоретически обнаружена ФЗЗ, была структура с симметрией решетки алмаза, в узлах которой размещались диэлектрические коллоиды [22]. Первые фотонные кристаллы для работы микроволнового диапазона изготавливали *механическими методами*, такими как прямое сверление или послойная укладка перпендикулярных слоев параллельных стержней из низкопотенциальных диэлектрических материалов [35–37]. Сверление методом *фокусируемого ионного пучка* (focused ion beam) позволяет изготовить ФК высокого разрешения уже для оптического диапазона, однако метод отличается высокой стоимостью и ограничением в материалах [38]. Обратным методом с аналогичными возможностями является *электронная литография* (electron-beam lithography). Метод многостадийный, сначала отверждают фоточувствительный полимер пучком электронов, затем удаляют неотвержденный полимер в проявителе [39–41]. Литография наиболее успешно применяется для получения

двухмерных ФК малой толщины. Подход заключается в интерференции двух или более когерентных волн, которые формируют периодическое распределение интенсивности поля из нескольких некопланарных лазерных лучей в фоточувствительном полимере — *голографическая интерференционная литография* (holographic interference lithography), однако метод ограничен средним разрешением [27, 42, 43]. Также используют технологию *атомно-слоевого осаждения* (atomic layer deposition) [44, 45].

### ПРИДАНИЕ СТРУКТУРАМ СПЕЦИФИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ДЛЯ РЕШЕНИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ ЗАДАЧ

Встречаются три основных метода модификации ФК с целью создания стимул-отзывчивых материалов (stimuli-responsive material) для изготовления чувствительных и селективных сенсоров: формирование чувствительной полимерной матрицы; импрегнирование или иммобилизация агента молекулярного распознавания и изготовление элементов сенсора из полимера с молекулярными отпечатками молекул-мишеней. В этом разделе мы рассмотрим также решение аналитических задач с использованием конкретных видов фотонных кристаллов или их аналогов, поскольку оно неразрывно связано со специфическими свойствами их структуры.

**Матричное взаимодействие.** Химические сенсоры на основе трехмерных коллоидных кристаллических массивов (ККМ) (colloidal crystalline array, CCA) используют для обнаружения полярных органических веществ, например паров спиртов (метанол, этанол, пропанол-1, пропанол-2 и бутанол-1). При экспонировании сенсора парами спиртов можно наблюдать значительный батохромный сдвиг ФЗЗ. Это вызвано совместным эффектом изменения эффективного показателя преломления и набухания полистирола (ПС) коллоидов. Пары воды оказывают незначительное влияние на сенсоры ввиду гидрофобных свойств поверхности полимерных МСЧ и наноструктурной поверхности сенсора, которые предотвращают проникновение в межплоскостное пространство ККМ [46–48]. Капля метанола или этанола, нанесенная на поверхность ККМ, приводит к изменению структурного цвета сенсора в течение 1 мин. Изменение структурного цвета сенсора на основе ККМ из полистирольных МСЧ в случае воздействия метанола необратимо, поскольку метанол растворяет мономеры — остаточный стирол, отклик сенсора на этанол является обратимым. Избирательность сенсора основана на изменении положения пиков на спектрах зеркального отражения как функции времени [49]. Изготовлены композитные сенсоры из чередующихся слоев органических и неорганических МСЧ — сополимер стирола и ак-

риловой кислоты и  $\text{TiO}_2$  со средними диаметрами  $\approx 53$  и  $\approx 35$  нм соответственно. Сенсор обеспечивает визуальное обнаружение (батохромный сдвиг ФЗЗ) различных концентраций паров неполярных летучих органических соединений: бензола, толуола, ксилола и 1,2,4-триметилбензола с пределами обнаружения 1,2,4-триметилбензола и ксилола 14.7 и 99.2 ppm соответственно [50].

Придание специфических свойств стимул-отзывчивому материалу на основе трехмерных ККМ возможно за счет нанесения чувствительного полимерного слоя. Получаемые структуры называют “полимеризованным коллоидным кристаллическим массивом” (ПККМ) (polymerized colloidal crystalline array, PCCA). Формирование матрицы осуществляется за счет инфильтрации пустот ККМ под действием капиллярных сил, например, гидрофобным гибкоцепным полимером — полидиметилсилоксаном (ПДМС), который позволяет детектировать бензол, толуол и ксилолы. Их воздействие вызывает набухание чувствительного ПККМ-слоя, что приводит к изменению периода решетки и, следовательно, к батохромному сдвигу ФЗЗ, причем набухание и сжатие матрицы обратимо более 10 раз [51]. Покрытие МСЧ отражающей оболочкой из серебра позволяет увеличить интенсивность отражения сенсора в два раза. Воздействие органических растворителей: тетрагидрофурана, дихлорметана, хлороформа, хлорбензола, диметоксиэтана на фотонные кристаллы, имеющих толщину ПДМС-слоя порядка 1.5 мкм, смещает пик отражения в красную область на 20–50 нм [52]. Уменьшение толщины ПДМС до 20–100 мкм позволяет обратимо детектировать пары таких неполярных растворителей, как бензол, толуол и ксилолы. Батохромный сдвиг при этом лежит в диапазоне от десятых долей до сотен нанометров, а предел обнаружения для толуола составляет  $\approx 0.3$  мг/м<sup>3</sup> [53]. Кроме того, уменьшение толщины позволяет увеличить сдвиг ФЗЗ при воздействии неполярных органических растворителей, например, для *n*-гексана до  $\approx 150$  нм. Такой сенсор, как и сенсор на основе ККМ, способен детектировать полярные растворители: метанол и этанол, при этом происходит смещение длины волны дифрагированного излучения на 5 и 20 нм соответственно, в том числе в смесях этанол–вода, метанол–вода и этанол–метанол. Отклик сенсора полностью обратим, а его время сокращается до  $< 1$  с [6]. Применение более гидрофильных полимеров позволяет увеличить чувствительность сенсора к полярным органическим соединениям. Сенсорная матрица, полученная инфильтрацией пустот массива из полиметилметакрилата (ПММА) водным раствором метилцеллюлозы — экологически чистым материалом, позволяет определять как в виде жидкости, так и в виде паров этанол, *n*-пропанол, изопропанол и *n*-бутанол в диапазоне от 0 до 300 ppm [54]. Бато-

хромные сдвиги ФЗЗ при воздействии различных растворителей коррелируют с коэффициентами набухания полимерных матриц, что позволяет идентифицировать органические растворители по зависимости максимальной длины волны полосы отражения от времени. Степень набухания, в свою очередь, зависит от полярности растворителя. Длина отраженной волны не зависит от изменений температуры, и сенсор не подвержен фотообесцвечиванию.

В качестве чувствительной матрицы могут выступать полимерные гидрогели. Химические сенсоры на основе трехмерных гелевых коллоидных кристаллических массивов (ГККМ) (gelated colloidal crystalline array, GCCA) также способны к формированию аналитического отклика при воздействии полярных растворителей. В качестве гидрогелевой матрицы используют сшитый поливиниловый спирт (ПВС) или полиакриловую кислоту (ПАК), а частицы кристаллического коллоидного массива – из полистирола. Матрицу формируют из спиртового раствора мономеров и дисперсии МСЧ. При увеличении содержания этанола от чистой воды к чистому этанолу в течение нескольких секунд происходит гипсохромный сдвиг ФЗЗ с 673 до 466 нм [55, 56]. Поведение структур согласуется с теорией Флори–Ренера для неионогенного состояния, позволяя проводить моделирование изменения объема гидрогеля по изменению параметра Флори–Хаггинса. Такие сенсоры позволяют определять большинство индивидуальных органических растворителей по зависимости интенсивности отражения от времени [57].

Отметим, что в ГККМ частицы в большинстве случаев используются как темплат для формирования упорядоченного ансамбля коллоидов; они существенно влияют на эффективный показатель преломления структуры. Удаление МСЧ позволяет получить трехмерную упорядоченную структуру *инвертированного опалового гидрогеля* (ИОГ) (inverse opal hydrogel, ИОН). Сенсорную матрицу ИОГ из полиакриламида (ПААм) изготавливают инфильтрацией мономеров в пустоты темплата из ПС частиц. После формирования матрицы образец погружают в органический растворитель до полного удаления ПС частиц. Такой сенсор обладает лучшей обратимостью структуры в ответ на спирты, в отличие от ГККМ. Наблюдается гипсохромный сдвиг максимума длины волны в среднем от 600 до 450 нм, величина и скорость смещения зависят от структуры спиртов. На величину гипсохромного сдвига влияет не только число гидроксильных групп, но и длина цепи, структура и концентрации спиртов. Сенсор также чувствителен к полиэтиленгликолю и демонстрирует разную величину смещения ФЗЗ в зависимости от его молекулярной массы [58]. Предложен сенсор на основе пленок со структурой инверсного опала

из фоторезиста ЕТРТА (этоксилат триметилпропан триакрилата). Отклик линейно растет с увеличением концентрации этиленгликоля и нелинейно, но монотонно возрастает с ростом концентрации этанола. Изготовленные сенсоры характеризуются чувствительностью к концентрации этиленгликоля около 0.413 нм/мас. % [59]. Структура ИОГ, полученная фотосополимеризацией акриловой кислоты (АК) и пентаэритритолтриакрилата, проявляет двойную чувствительность: к рН и ионам  $Hg^{2+}$  из-за набухания гидрогеля и наличия карбоксильных групп соответственно. Длина волны максимума полосы отражения сдвигается в красную область в течение 3 с при увеличении рН с 11 до 13. Предел обнаружения ионов ртути составляет 10 нМ [60]. Фотонная микрогидрогелевая структура из ПААм реагирует на уровень относительной влажности, вызывая изменение спектров отражения из-за разбухания или сжатия структуры [61]. Чем большее сродство ИОГ матрицы к спиртам, тем выше чувствительность сенсора. Матрица из полигидроксиэтилметакрилата, сформированная на темплате из МСЧ – сульфированного  $SiO_2@ПС$  (кремний удаляется растворением в HF), позволяет обнаружить присутствие 1% этанола [62]. Функционализированный аминогруппами ИОГ сенсор дает возможность определить  $CO_2$ . Фотополимеризация функционального мономера – N-[3-(диметиламино)пропил]метакриламида, инфильтрованного в пустоты ККМ из  $SiO_2$ , позволяет изготовить ИОГ, не подверженный влиянию влаги. Сенсор устойчив к воздействию влаги,  $CO$ , фенола и ацетальдегида, но определению мешают кислотные и основные газы:  $SO_2$ ,  $SO_3$ ,  $NO_2$ ,  $HCl$  и  $H_2S$  – свыше 500 ppmv, а  $NH_3$  в высокой концентрации, поскольку он частично нейтрализует влияние  $CO_2$  [63]. Использование полианилина позволяет ФЗЗ осуществлять обратимый батохромный и гипсохромный сдвиг в видимом диапазоне длин волн в течение нескольких минут при попеременном экспонировании парами  $NH_3$  и  $HCl$  [64]. Повысить информативность детектирования и, вероятно, чувствительность и селективность возможно, используя токопроводящие полимеры, такие как сополимер поли-3,4-этилендиокситиофен и полипиррол. При воздействии паров аммиака на сенсор он встраивается в проводящие полимерные цепи, что приводит к увеличению эффективного показателя преломления структуры, к набуханию полимерной матрицы (увеличение периода решетки) и, соответственно, к увеличению расстояния между соседними полимерными цепями, что усложняет переходы электронов между полимерными цепями и снижает электропроводимость сенсора [65].

Инвертированные опаловые структуры из полимеризованных ионных жидкостей (ПИЖ-ИО)

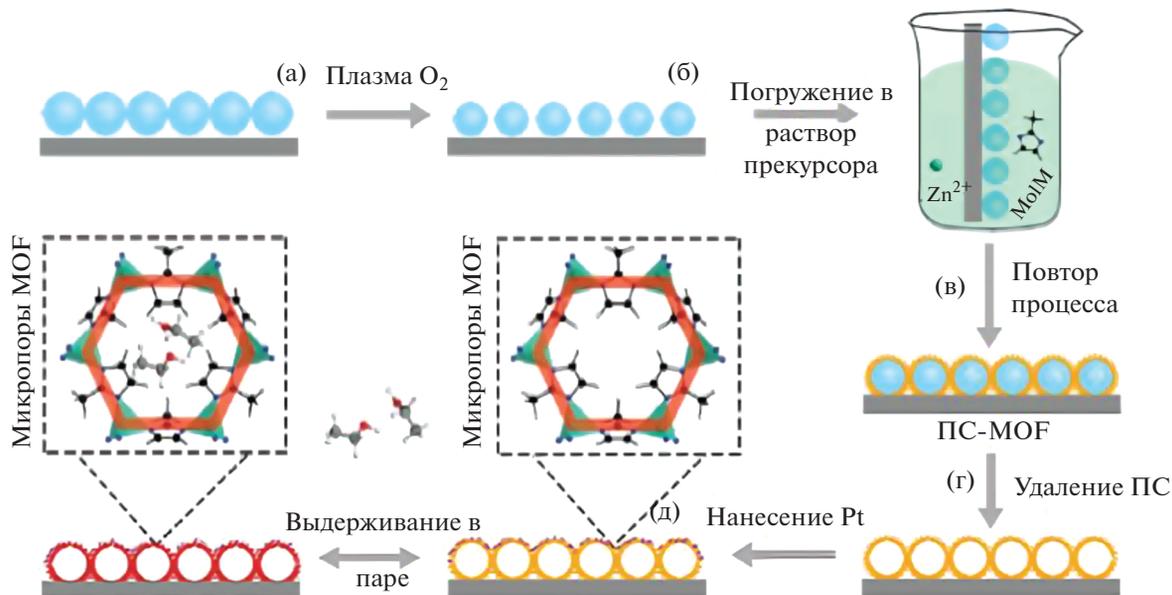


Рис. 3. Схема получения 2D фотонных кристаллов на основе металлоорганических каркасов (MOF). MeIM – 2-метилимидазол [77].

могут использоваться не только в качестве простого ИОГ, реагирующего на аналит, но также позволяют получить полифункциональные сенсоры, которые имитируют основные характеристики молекул, включая внутренние оптические свойства, специфическое молекулярное распознавание, реакцию способность и дериватизацию, а также анизотропию. Присутствие фрагментов имидазолия наделяет ПИЖ-ИО уникальной реакционной способностью, и, в принципе, неограниченные комбинации могут быть получены из исходных ПИЖ-ИО посредством простой реакции обмена противоионов. Интересно, что подобно маленьким молекулам гомологи ПИЖ-ИО могут быть скомпонованы так, чтобы образовать перекрестно-реактивный сенсорный массив для распознавания анионов и органических растворителей без меток [66].

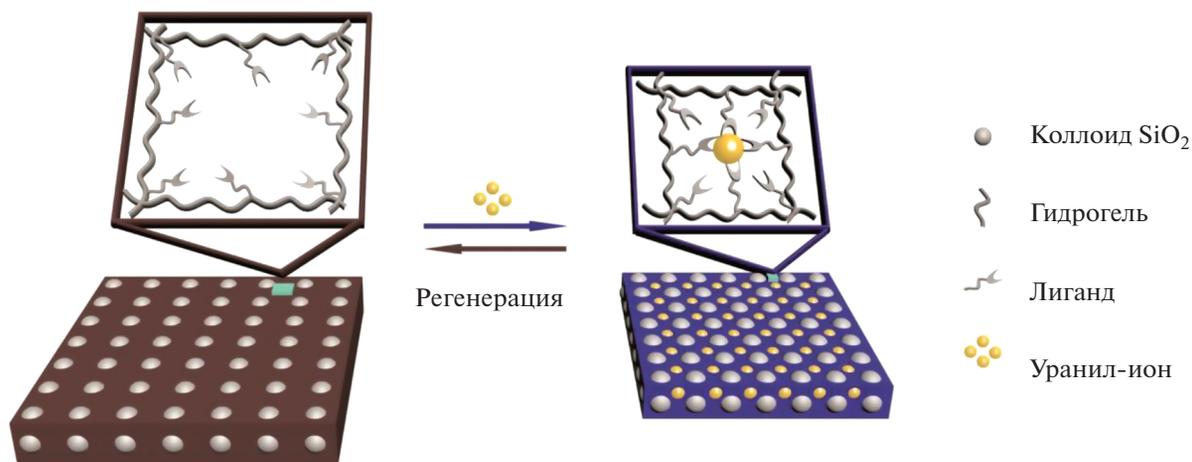
**Импрегнирование и иммобилизация.** Возможность модифицирования полимерных матриц ФК органическими реагентами играет важную роль в аналитической химии. С помощью подобных процедур достигается селективность в определении тех или иных веществ.

Фотонно-кристаллические сенсоры с ковалентно закрепленными органическими реагентами (агенты молекулярного распознавания) нашли широкое применение для определения ионов металлов [67–69], а также в биохимическом анализе [18, 22, 70–76]. Основным недостатком ковалентного закрепления органического реагента является трудность регенерации поверхности фотонных кристаллов, что является серьез-

ным препятствием для их повторного использования.

Одним из распространенных подходов при модификации полимерных матриц является их импрегнирование органическими реагентами. Данный подход нашел широкое применение для создания сенсоров, позволяющих определять пары токсичных органических растворителей в воздухе. После импрегнирования возможно удаление исходной матрицы из чувствительного элемента. Так, в работе [77] предложен оптический сенсор на основе 2D фотонных кристаллов, построенных путем формирования полых МСЧ из металлоорганических каркасов (MOF) между стеклянной подложкой и слоем платины. Схема получения подобной структуры приведена на рис. 3. Показана возможность селективного определения паров спиртов, кетонов, нитрилов, циклогексана, бензола, ксилолов за счет варьирования размеров нанопор в МСЧ, а также различия химического взаимодействия MOFс определяемыми веществами. Стоит отметить, что селективность может быть достигнута методами математической обработки многомерных данных. Полученные сенсорные элементы также обладают такими достоинствами, как малое время отклика, возможность регенерации и стабильность, низкая стоимость.

Авторы статьи [78] разработали 2D фотонные кристаллы на основе полистирола, импрегнированные цеолитно-имидазолатной структурой ZIF-8. Изучено влияние размера гранул полистирола и количества циклов импрегнирования на оптические свойства полученных фотонных кри-



**Рис. 4.** Формирование поперечных сшивок в гидрогеле при химическом связывании молекул анализируемого вещества агентами молекулярного распознавания, приводящее к сжатию гидрогеля и гипсохромному сдвигу фотонной запрещенной зоны [81].

сталлов. Данные материалы предложены для определения паров органических растворителей. Сенсоры продемонстрировали селективность по отношению к парам ацетонитрила. Получены спектры отражения и пропускания при различных содержаниях ацетонитрила ( $1 \times 10^5 - 7 \times 10^5$  ppm). Как и в предыдущем случае, селективность определяется химическими свойствами определяемых компонентов по отношению к MOF, а также размером частиц полистирола.

В работе [79] предложены визуальные сенсоры на основе 2D массивов из полигидроксиметилметакрилата, импрегнированных перхлоратом этилгуанидина, для определения влажности и аммиака в воздухе. Данную ионную жидкость использовали в качестве подвижной фазы на стадии получения полимера. Полученные ФК обладают высокой устойчивостью в сухом воздухе. При увеличении влажности за счет абсорбции воды ионной жидкостью объем полимерного геля уменьшается, как показано при измерении межплоскостного расстояния дифракционным методом. Сенсор для определения аммиака получен в результате импрегнирования фотонного кристалла вторичным раствором мономера в ионной жидкости с последующей УФ-полимеризацией мономера. В результате получена взаимопроникающая сеть, содержащая карбоксильные группы. Определяемый аммиак селективно депротонирует полиакриловую кислоту, в результате чего происходит локализация заряда на полимере и тот набухает. Полученный сенсор чувствителен к следовым количествам аммиака (до 18 ppm), при этом скорость набухания полимерного геля, как и степень набухания зависит от содержания аммиака.

Авторами работы [80] предложено использовать 2D массив из наночастиц полистирола, им-

прегнированный модифицированным 3-акриламидофенилборной кислотой гидрогелем, в качестве сенсора для полуколичественного определения глюкозы в моче. Основное преимущество данного сенсора – скорость получения чувствительного слоя. Установлено, что при изменении концентрации глюкозы в пробе от 0 до 10 ммоль/л цвет сенсора изменяется от красного до зеленого. По сравнению с традиционными методами определения сахара в моче, широко используемыми в клинической диагностике, предложенный метод позволяет избежать ошибок, связанных с присутствием мешающих компонентов, таких как витамин С и кетоновые тела.

Другой разновидностью фотонно-кристаллических сенсоров является импрегнированный или иммобилизованный гелевый коллоидный кристаллический массив (И-ГККМ), содержащий агент молекулярного распознавания, который приводит к изменению объема матрицы в результате изменений концентрации аналита. Набухание или сжатие гидрогеля происходит вследствие повышения осмотического давления или образования поперечных сшивок в результате химической реакции (рис. 4). Таким образом, структурный цвет является функцией концентрации аналита. Сенсоры позволяют определять анионы и катионы, а также некоторые органические вещества. Эти чувствительные материалы могут использоваться жидкими в виде дисперсии, которую можно перенести в раствор исследуемого вещества.

Стимул-отзывчивый материал, содержащий хелатообразующий краун-эфир и представляющий собой ККМ полимерных монодисперсных ПС-частиц (диаметром примерно 100 нм), в пустоты которого инфильтрированы мономеры гидрогеля ПААм, обратимо набухает и сжимается

в присутствии катионов  $Pb^{2+}$ . И-ГККМ изменяет длину волны дифракции из-за связывания  $Pb^{2+}$  с агентом молекулярного распознавания — эфира 18-краун-6 в диапазоне концентраций от 0.1 мкМ до 20 мМ (от  $\approx 20$  ppb до  $\approx 4000$  ppm). Эти краун-эфирные группы хелатируют  $Pb^{2+}$  с высокими селективностью и чувствительностью. Можно провести прямой количественный анализ образцов с различной ионной силой, определив ионную силу с использованием другого полиэлектролитного ГККМ. Дифракцию от этих И-ГККМ можно наблюдать визуально и использовать в простых тест-системах для определения аналитов в растворе. Визуально можно определить концентрацию  $Pb^{2+}$  до 400 ppb. Отклик И-ГККМ на  $Pb^{2+}$  линеен приблизительно до 1 мМ с чувствительностью  $Pb^{2+}$  90 нм/мМ, а в диапазоне 1.0–7.5 мМ  $Pb^{2+}$  чувствительность  $Pb^{2+}$  составляет 14 нм/мМ. При низких концентрациях с разрешением дифракционного пика 1 нм легко обнаружить концентрацию  $Pb^{2+}$  10 мкМ. Связывание  $Pb^{2+}$  иммобилизует заряд на И-ГККМ, что вызывает набухание, как и для датчика рН. В растворах с низкой ионной силой потенциал Доннана формирует осмотическое давление, которое приводит к набуханию И-ГККМ пропорционально количеству связанного  $Pb^{2+}$  [82–84]. Однако при высокой ионной силе потенциал Доннана подавляется, статический отклик не возникает. Предложена специальная конструкция оптрода, позволяющая быстро удалять несвязанные ионы из И-ГККМ путем промывания чистой водой. Когда несвязанные ионы вымываются, оставшиеся связанные ионы создают потенциал Доннана, который приводит к батохромному сдвигу Ф33. Это позволяет обнаруживать  $Pb^{2+}$  в средах с высокой ионной силой, таких как биологические жидкости, с пределом обнаружения  $< 500$  нМ  $Pb^{2+}$  (100 ppb). При более высоких концентрациях  $Pb^{2+}$  ( $\approx 10$  мкМ) отклик И-ГККМ виден человеческому глазу, а предел обнаружения  $Pb^{2+}$  составляет  $< 0.5$  мкМ [85, 86]. Восстановление исходных характеристик сенсора — положения Ф33 — возможно промыванием И-ГККМ водой. Чувствительность сенсоров зависит от их эластичности, которая в свою очередь зависит от степени сшивки гидрогеля, следовательно, при уменьшении степени сшивания гидрогеля увеличивается чувствительность. Отклик И-ГККМ на  $Pb^{2+}$  в растворах электролитов зависит от ионной силы и заряда противоиона [87]. Присутствие в растворе ионов  $Pb^{2+}$  само по себе уже создает некоторую ионную силу, обусловленную ионами  $Pb^{2+}$  и их противоионами. С увеличением ионной силы объемная реакция И-ГККМ на  $Pb(NO_3)_2$  уменьшается. Одинаковые отклики И-ГККМ на  $Pb^{2+}$  проявляются в растворах NaCl и  $NaNO_3$  с одинаковой ионной силой. Однако в растворах  $Mg(NO_3)_2$  и  $NaNO_3$  при одинаковой ионной силе

отклики сенсоров на  $Pb^{2+}$  различаются [88]. Сенсоры на основе ПААМ в чистой воде при комнатной температуре можно хранить не менее четырех месяцев. Использование вместо ПААМ химически модифицированного ПВС позволяет хранить сенсор в высушенном состоянии и при необходимости восстанавливать его оптические и механические свойства погружением в воду [89]. Такой подход дает возможность создавать сенсорные материалы, чувствительные к различным катионам и анионам.

Иммобилизованный гелевый коллоидный кристаллический массив на основе гидрогеля ПААМ, модифицированного 8-гидроксихинолином в качестве хелатирующего агента, ковалентно связывает катионы металлов, такие как  $Cu^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  и  $Zn^{2+}$ . При низких концентрациях металлов ( $< 1$  мкмоль/л) катионы образуют комплексы с двумя молекулами 8-гидроксихинолина, которые сшивают цепи из ПААМ, приводя к гипсохромному сдвигу за счет сжатия гидрогеля. Однако поперечные связи разрушаются при более высоких концентрациях катионов [90]. Эти материалы могут использоваться в качестве сенсоров для определения ультраследовых количеств катионов металлов ( $\approx 1$  зМ) или в качестве сенсорных материалов для концентраций, превышающих 1 мкМ. Такие сенсоры позволяют на месте оказания медицинской помощи определить средство связывания металла в плазме крови для исключения ишемии миокарда. Сенсорная матрица обладает линейным откликом на концентрации  $Ni^{2+}$  в воде в диапазоне от 0.2 до 1.0 мМ и может обнаруживать изменения концентрации свободного  $Ni^{2+}$  при его содержании  $< 60$  мкМ. В диапазоне от 0 до 1 мМ определить результаты теста можно визуально. Датчик реагирует при физиологических значениях рН и может быть обратимо обезвожен [91]. Также используют гидрогель из сополимера ПВС и ПАК [56]. Определить катион  $Ni^{2+}$  возможно с использованием ПВС-гидрогеля, функционализированного карбоксилатами, поскольку связывание  $Ni^{2+}$  с карбоксильными группами приводит к повышению осмотического давления, набуханию в гидрогеле и дифракции, батохромно сдвигающей Ф33 [55].

Стимул-отзывчивый материал из полистирольного ККМ, инфильтрированный ПААМ-гидрогелем с уреазными и карбоксилатными группами в качестве агента молекулярного распознавания, способен определять концентрацию катионов ртути. Гидролиз мочевины уреазой, присоединенной к И-ГККМ, приводит к образованию внутри гидрогеля ионов ( $NH_4^+$  и  $HCO_3^-$ ), что вызывает гипсохромный сдвиг Ф33. Однако в присутствии ионов ртути гидролиз мочевины прекращается из-за ингибирующего воздействия ртути, и, следовательно, чистый гипсохромный сдвиг уменьшается или, другими словами, наблюдается красное сме-

щение ФЗЗ. Степень изменения объема гидрогеля зависит от концентрации  $\text{Hg}^{2+}$ . Сенсор обнаруживает сверхнизкую (1 ppb) концентрацию  $\text{Hg}^{2+}$  в воде, обладает обратимостью и очень высокой селективностью к  $\text{Hg}^{2+}$ . Предел обнаружения сенсора составляет 1 ppb (1 мг/л) [68]. Сенсор с использованием тиомочевины в качестве агента молекулярного распознавания позволяет определять катионы кадмия. Существует функциональная зависимость между гипсохромным сдвигом ФЗЗ и концентрацией  $\text{Cd}^{2+}$  в водном растворе в диапазоне от 0.01 до 10 мМ в присутствии буферного раствора с pH 4. Максимальный гипсохромный сдвиг достигает 47 нм в ответ на  $\text{Cd}^{2+}$ , но на катионы  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Hg}^{2+}$  отклика не возникает [92].

Определение аммиака возможно с использованием 3-аминофенола в качестве агента молекулярного распознавания, ковалентно присоединенного к полигидроксиэтилакрилатному гидрогелю. Так,  $\text{OCI}^-$  и  $\text{NH}_3$  реагируют в растворе с образованием монохлорамина, который вступает в реакцию с двумя из 3-аминофенолов, находящимися в боковой цепи, с формированием поперечной связи в гидрогеле. Шивка матрицы гидрогеля увеличивает силу упругости сети гидрогеля и приводит к возникновению осмотического давления внутри гидрогеля, которое приводит к усадке геля (гипсохромному сдвигу ФЗЗ) пропорционально количеству аммиака, находящегося в растворе. Сенсор позволяет определять концентрацию  $\text{NH}_3$  в сыворотке человеческой крови в диапазоне от 50 до 350 мкмоль/л. Предел обнаружения составляет 27 мкмоль/л в боратном буферном растворе через 60 мин и 50 мкмоль/л в 50%-ном растворе сыворотки через 60 мин с уровнем достоверности >99% [93]. Связывание иона уранила с несколькими лигандными группами приводит к усадке ПААм-гидрогеля. Способность материала к адсорбции  $\text{UO}_2^{2+}$  достигается путем введения множества амидных и карбоксильных групп в качестве лигандов. Предел обнаружения катионов  $\text{UO}_2^{2+}$  составляет 10 нМ, а максимальная адсорбционная емкость при 298 К составляет 169.67 ммоль/кг [81].

Другим подходом к созданию композиционного И-ГККМ-сенсора является использование многослойной сборки, например, состоящей из ПААм-гидрогеля и калийселективной пластифицированной ПВХ-мембраны. Мембрана состоит из пластифицированного поливинилхлорида, модифицированного  $\text{K}^+$ -селективным ионным носителем — валиномицином. Сенсорная матрица приобретает красный цвет при контакте с водой, зеленый в 5 мМ растворе хлорида калия и фиолетовый при концентрациях хлорида калия свыше 100 мМ. Применение спектрофотометра позволяет с помощью сенсора обнаруживать катионы  $\text{K}^+$  в диапазоне концентраций от 0.1 до 100 мМ

(который включает физиологический диапазон концентраций катионов  $\text{K}^+$  в крови) по смещению ФЗЗ на спектре отражения (90 нм). Сенсор обладает высокой селективностью по отношению к ионам аммония и натрия и полной обратимостью при воздействии воды [94].

Датчик на основе И-ГККМ позволяет определять глюкозу: к полистирольным МСЧ прикрепляют агент молекулярного распознавания — фермент глюкозооксидазу. Растворы глюкозы, приготовленные на воздухе, вызывают набухание И-ГККМ и смещение ФЗЗ в красную область. Сенсор обратим и селективен по отношению к сахарозе или маннозе за счет селективности фермента. Набухание является результатом образования восстановленного аниона флавина. В отсутствие окислителей гель реагирует на концентрацию глюкозы 10 пМ, если раствор перемешивают, при этом батохромный сдвиг ФЗЗ составляет 8 нм в течение 30 мин. Концентрация глюкозы выше 0.5 мМ не приводит к дальнейшему набуханию из-за возникновения устойчивого состояния с точки зрения превращения глюкозы в глюконовую кислоту в сочетании с повторным окислением глюкозооксидазы растворенным кислородом [82]. Также изготовили стимул-отзывчивый материал на глюкозу и галактозу, используя глюкозооксидазу или  $\alpha$ -D-галактозидазу в качестве элементов распознавания [83]. Разработали И-ГККМ с группами бороновой кислоты и ее производных [95]. Этот чувствительный сенсор реагирует на глюкозу в водных растворах с низкой ионной силой (<50 мкМ) за счет набухания, которое приводит к красному смещению его дифракции при увеличении концентрации глюкозы. Определение глюкозы возможно при физиологических значениях ионной силы и pH (рис. 5), причем селективно по отношению к галактозе, маннозе и фруктозе как по батохромному сдвигу [96], так и по гипсохромному сдвигу [97]. Предложен сенсор для определения относительно высоких концентраций глюкозы (таких как в крови человека) с формированием гипсохромного сдвига [98]. Для понимания механизма взаимодействия иммобилизованной фенилбороновой кислоты (ФБК) с глюкозой в гидрогелевых системах при физиологических условиях исследованы зависимость от глюкозы изменения объема ряда гидрогелевых сенсоров, функционализированных различными классами ФБК. Заместители ФБК могут увеличивать или уменьшать величину ответа [99]. В качестве элементов распознавания предложены производные бороновой кислоты: 4-амино-3-фторфенилбороновая и 4-карбоксит-3-фторфенилбороновая кислоты. Связывание глюкозы с боронатами происходит посредством образования бис-бидентатной поперечной связи, которая уменьшает объем гидрогеля в искусственной слезной жидкости, при этом основные компоненты слезной жидкости не мешают определению [100]. Изготовлены датчики, не

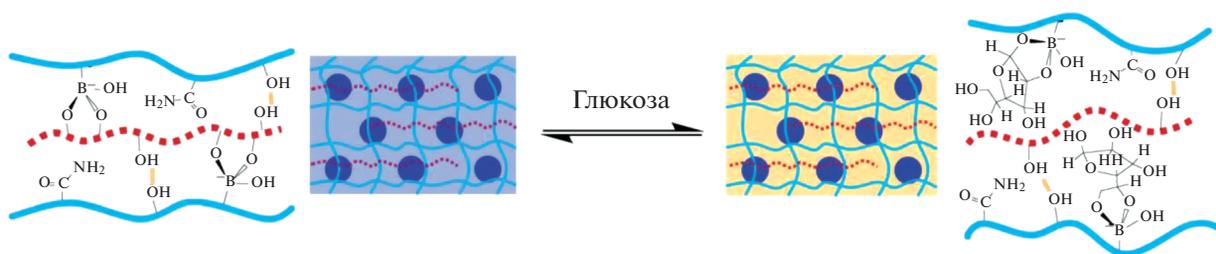


Рис. 5. Обратимая реакция на глюкозу посредством диссоциации и ассоциации комплексов фенолбороновая кислота–поливиниловый спирт–фенолбороновая кислота [96].

требующие  $\text{Na}^+$ -хелатирующих агентов (таких как полиэтиленгликоль или краун-эфир). Скорость отклика этих чувствительных к глюкозе материалов можно повысить путем прививания гидрофобных групп на основные цепи гидрогеля. Так, более гидрофобную гидрогелевую композицию получают путем сополимеризации *n*-гексилакрилата в акриламид–бисакриламидный гидрогель [101]. Сконструирован коллоидный массив из ПС в модифицированном 4-альдегидфенолборной кислотой гидрогеле ПВС, который прикреплен на жесткую газопроницаемую контактную линзу, дающий возможность обнаружения глюкозы [102]. Разработан сенсор на основе диольных групп и гидрогеля из ПВС, в котором в присутствии тетрабората натрия длина волны дифракции смещается при изменении концентрации глюкозы. Дифракционные сдвиги являются результатом связывания глюкозы с боратом, что снижает концентрацию бората, связанного с диолами ПВС [103].

Креатинин можно определить с помощью И-ГККМ с двумя связанными модулями молекулярного распознавания – ферментом креатининдеиминазы и титрующей группой 2-нитрофенола. Креатинин в геле гидролизует ферментом и в результате реакции выделяются ионы  $\text{OH}^-$ , в ответ 2-нитрофенол депротонируется. Повышенная растворимость фенолятных частиц по сравнению с растворимостью нейтральных фенолов вызывает набухание гидрогеля [104]. Аналогичный подход позволяет определять  $\beta$ -лактамазы. Гидролиз пенициллина G ( $\beta$ -лактаманного антибиотика) катализируется пенициллиназой с образованием пеницилловой кислоты, что приводит к снижению pH [105]. Подход можно применять для изготовления фотонно-кристаллических сенсоров различных видов, для которых существует фермент, катализирующий высвобождение ионов  $\text{H}^+$  или  $\text{OH}^-$ . Предложен способ обнаружения ципрофлоксацина без предварительной обработки и без меток с помощью реакции присоединения Майкла. Процесс распознавания осуществляется реакцией присоединения Майкла между пиперазиновой группой ципрофлоксацина и *o*-бензохиноновой группой на ККМ. Ципрофлоксацин может быть обнаружен непосредственно в воде для разведе-

ния рыбы без какой-либо предварительной обработки и маркировки [106].

Изготовлены сенсоры на основе И-ГККМ, которые модифицированы уреазой для определения мочевины [107], бутирилхелиназой (рис. 6) для определения зурина [108, 109], ферментом ацетилхолинэстеразы для определения паратиона в водных средах с низкой ионной силой [110].

**Молекулярный импринтинг.** Полимеры с молекулярными отпечатками – высокосшитые полимеры с повышенной селективностью по отношению к определяемым веществам. Эти полимеры в перспективе могут быть использованы для доставки лекарственных средств по назначению, очистки и разделения компонентов смесей. Их синтезируют путем полимеризации смеси швивающего реагента с мономером в присутствии молекулы-темплата, растворенной в подходящем растворителе, после чего темплат удаляют из образовавшейся сетки полимера [111]. Чаще всего в качестве темплата используют определяемый компонент. Схема синтеза, теоретически обоснованная в статье Полинга [112], представлена на рис. 7. Процесс напоминает специфическое взаимодействие между антителами и антигенами в иммунных системах, поэтому полимеры с молекулярными отпечатками иначе называют “подражателями антителам” или “пластичными антителами”.

К настоящему времени известно большое количество фотонно-кристаллических сенсоров для определения белков, хиральных биомолекул и т.д., в которых полимерные матрицы получены указанным способом.

Предложен [113] сенсор для определения окситетрациклина в молоке. Сенсор получали путем формирования 2D массива из частиц полистирола с последующим внедрением в него полиакриламидного геля с молекулами окситетрациклина в качестве темплата. Концентрацию антибиотика определяли путем измерения межплоскостного расстояния дифракционным методом. Установлено, что чувствительность сенсора к определяемому компоненту зависит от количества внедренного в массив гидрогеля. Фотонный кристалл пока-

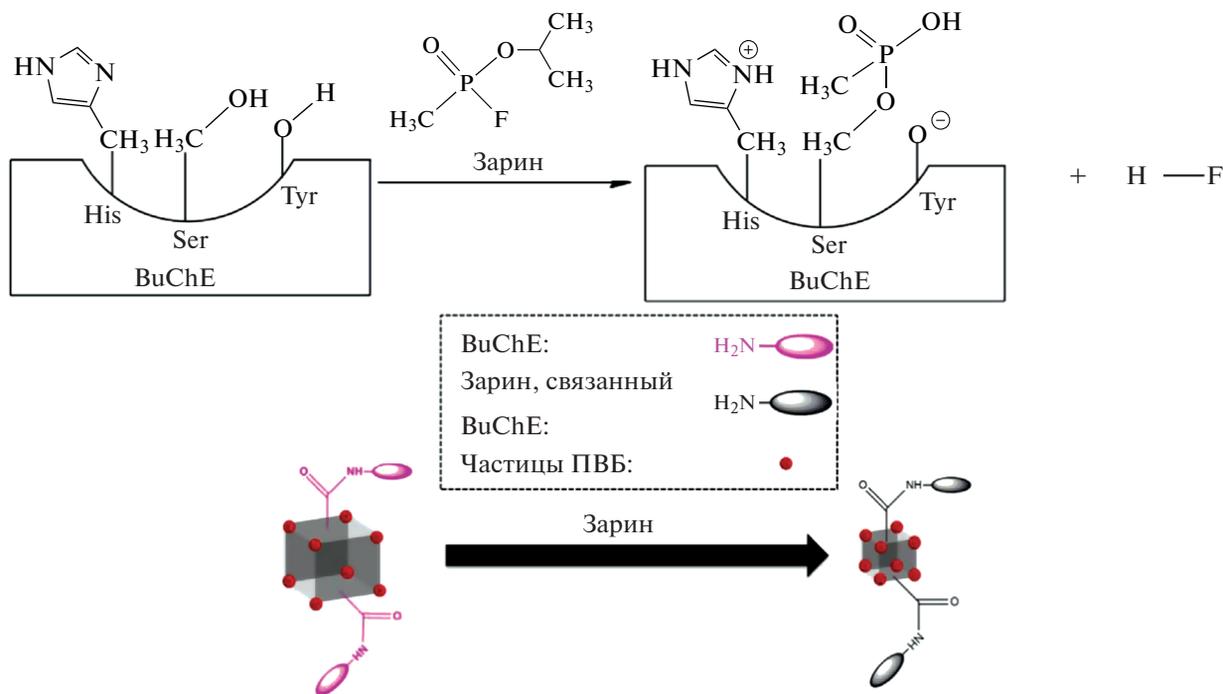


Рис. 6. Механизм реакции зарина с фотонно-кристаллическим сенсором на основе частиц из поливинилбутирала (ПВБ), модифицированных бутирилхолинэстеразой (BuChE) [108].

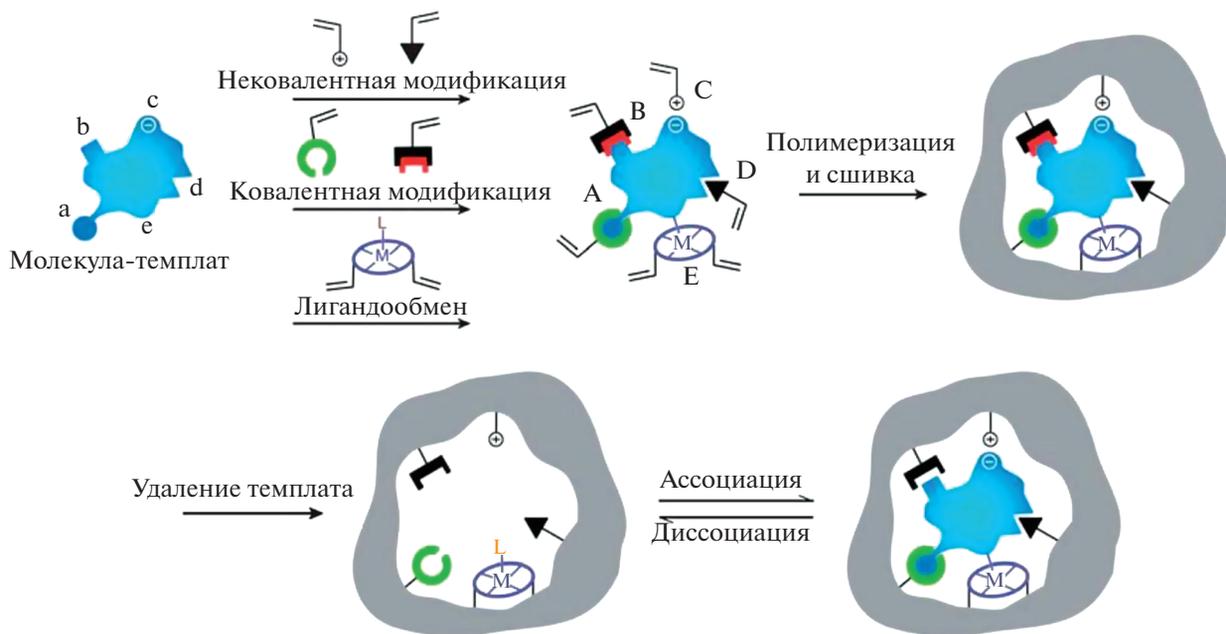


Рис. 7. Процесс формирования полимеров с молекулярными отпечатками органических реагентов [111].

зывает высокую селективность к окситетрациклину по отношению к его структурным аналогам: тетрациклину, доксициклину и хлортетрациклину. Предел обнаружения окситетрациклина данным методом составляет 9.6 мкмоль/л.

Аналогичным образом получен сенсор для определения тетрациклина [114]. Сенсор также обладает высокой селективностью к определяемому компоненту. Определению тетрациклина практически не мешают его структурные аналоги.

Диапазон определяемых содержаний тетрациклина с помощью данного сенсора составляет  $10^{-14}$ – $10^{-6}$  моль/л. Сенсор с успехом апробирован для определения тетрациклина в молоке и в свинине.

Авторами работы [115] разработаны сенсоры на основе гликозированного альбумина для определения липополисахаридов и грамотрицательных бактерий. Один из них получен с применением липополисахарида *E. coli* в качестве темплата. Сенсор на основе немодифицированного фотонного кристалла является групповым на грамотрицательные бактерии. Модифицированный методом молекулярной печати фотонный кристалл проявляет селективность к бактерии *E. coli* и ее липосахаридам. Так, предел обнаружения липосахаридов *E. coli* составляет 0.76 нг/мл, а непосредственно бактерии – 58 КОЕ/мл. Полученные сенсоры показали высокую точность при анализе молока и сыворотки, апельсинового сока, речной воды.

В работе [116] представлен сенсор для определения L-кинурунина в человеческой сыворотке крови. Процедура получения чувствительного элемента аналогична описанному выше. Количественный анализ проводили с помощью измерения диаметра кольца Дебая. Как и другие сенсоры на основе полимеров с молекулярными отпечатками, данный сенсор проявляет высокую селективность к определяемому веществу, нижний предел обнаружения составляет 50 нмоль/мл. В качестве достоинств отмечается низкая стоимость сенсора, высокая чувствительность, селективность, экспрессность анализа, отсутствие необходимости применения дорогостоящих антител, что делает возможным его использование в клиническом анализе. Таким образом, методом молекулярной печати можно получать фотонно-кристаллические сенсоры для определения хиральных молекул.

Изготовлен молекулярно-импринтированный 2D ФК-гелевый сенсор для распознавания сульфаметоксазола [117]. Когда сенсор реагирует на аналит, диаметр дебаевского кольца постепенно уменьшается, а расстояние между частицами фотонных кристаллов постепенно увеличивается. Установлена линейная зависимость между изменением расстояния между частицами и значением логарифма концентрации в диапазоне от  $10^{-16}$  до  $10^{-10}$  моль/л. В присутствии аналогов, таких как сульфизоксазол, сульфадиазин и сульфаметазин, диаметр дебаевского кольца изменяется незначительно.

Молекулярно-импринтированные кристаллические коллоидные массивы (МИ-ПККМ), полученные путем сочетания технологий трехмерных ККМ и методов молекулярного импринтинга, позволяют обнаруживать молекулы сложного строения, например бисфенол А (дифенилолпро-

пан, ДФП), диэтилстилбестрол (ДЭС), 2,4,6-тринитротолуол (ТНТ) и хлорамфеникол (ХАФ). Образование водородных связей между мономерами и молекулами-мишенями в процессе синтеза полимера обеспечивает – необходимое условие для создания большего числа специфических сайтов связывания.

Монодисперсные коллоиды из ПММА с диаметром частиц  $220 \pm 5$  нм, импринтированные ДФП, синтезируют методом суспензионной сополимеризации метилметакрилата (ММА) и акриламида (АА) в присутствии темплата. Высокое сродство поверхности МИ-ПККМ и пористая регулярная структура позволяют целевым молекулам эффективно транспортироваться и встраиваться. Специфическое распознавание ДФП с использованием МИ-ПККМ осуществляется через образование нековалентных связей, что вызывает набухание частиц. Это приводит к уменьшению эффективного показателя преломления и к снижению интенсивности дифракционного пика (батохромный сдвиг и гипохромный эффект). Время отклика сенсора составляет 13 мин при концентрации ДФП 1000 нг/мл; этот процесс является динамическим (непрерывное формирование отклика) [118]. Такой же подход позволяет определять ДЭС в водном растворе с использованием частиц из ПММА  $258 \pm 5$  нм с импринтированным аналитом. Оптимизация условий анализа позволяет уменьшить время отклика до 7 мин при изменении концентрацией ДЭС от 2 нг/мл до 8 мг/мл, тогда как для соединений, структурно похожих на ДЭС (ДФП, фенол и нонилфенол), не наблюдали значительных изменений интенсивности дифракции [119]. Структура на основе МИ-ПККМ из коллоидных частиц (диаметром 210 нм), синтезированных эмульсионной сополимеризацией ММА и АА в присутствии молекул-мишеней, позволяет определять ТНТ. Дифракция МИ-ПККМ зависит от концентрации ТНТ в буферном растворе метанол–вода (3 : 2, по объему) в дигидрофосфате калия (рН 7.0, 30 мМ). Повышение концентрации ТНТ до 20 мМ вызывает изменение структурного цвета с зеленого на красный и батохромный сдвиг ФЗЗ на 84 нм. Время отклика сенсора составляет 3 мин, а предел обнаружения – 1.03 мкг. Сенсор стабилен с незначительным изменением отклика после трех лет хранения и селективен по отношению к аналогичным соединениям: 2,4,6-тринитрофенолу, 2,4-динитротолуолу, 2,6-динитротолуолу, 2-нитромезитилу, 4-нитротолуолу, 2-нитротолуолу, 1,3-динитробензолу, метилбензолу, 4-нитрофенолу, 2-нитроанилину, 3-аминофенолу и 3-нитроанилину [120]. Сенсоры на основе МИ-ПККМ могут быть использованы для обнаружения биомаркеров, например фибринопептида В в моче – биомаркера венозной тромбоэмболии [121]. Структуру получают импрегнированием импринтированного полимера в ККМ из диоксида крем-

ния. Особенности стимул-чувствительного материала позволяют оценивать наличие биомаркера в моче на клиническом уровне и проводить как минимум три цикла распознавания/регенерации.

Сенсор для определения 2-хлорфенола в водопроводной воде изготовлен на основе инвертированной опаловой структуры из импринтированных полимеров [122]. Инвертированную опаловую структуру формируют, используя ККМ из  $\text{SiO}_2$  в качестве жертвенного шаблона, метанол в качестве растворителя, метакриловую кислоту в качестве функционального мономера, диметакрилат этиленгликоля в качестве сшивающего агента, 2,2-диэтоксацетофенон в качестве инициатора. Отпечатанные молекулы удаляют 0.015 М раствором NaOH. Зависимость между  $\Delta\lambda$  и значением логарифма концентрации 2-хлорфенола линейна в диапазоне от  $10^{-8}$  до  $10^{-4}$  моль/л. При воздействии фенола, 2,4-дихлорфенола или 2,4,6-трихлорфенола положение пика брэгговской дифракции изменяется незначительно.

Улучшить аналитические характеристики можно за счет использования молекулярно-импринтированных магнитно-модифицированных МСЧ. Суперпарамагнитные наночастицы  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , модифицированные олеиновой кислотой, заключены в капсулу, полученную методом эмульсионной сополимеризации MMA и AA. Средний размер композиционных частиц – 88.3 нм с четкой структурой ядро@оболочка. Непосредственно на поверхности коллоидных частиц отпечатываются ХАФ. Повторное связывание молекул ХАФ увеличивает объем наногидрогеля, вызывая повышение магнитного притяжения и, наконец, смещение максимума длины волны полосы отражения от 597 нм (исходный) до 416 нм (1.0 мг/мл) с пределом определения  $1.0 \times 10^{-3}$  мг/мл. Чувствительный механизм сенсора на основе МИ-ПККМ обусловлен увеличением магнитного притяжения МСЧ при связывании молекул ХАФ, при этом изменение размера частиц меньше эффекта магнитного притяжения (рис. 8). Время отклика составляет <1 мин. Сенсор стабилен при распознавании более 10 раз с сохранением хорошей воспроизводимости, селективности и чувствительности. Селективность оценена при воздействии на сенсор 4-нитроанилина (структурный аналог) и тетрациклина (функциональный аналог) [123].

Для определенияДФП применяют инвертированные опаловые гели, изготовленные из молекулярно-импринтированных полимеров (МИ-ИОГ). Однако процесс изготовления МИ-ИОГ более сложен и трудозатратен, чем МИ-ККМ. Стимул-отзывчивый материал изготавливают полимеризацией метакриловой кислоты, инфильтрированной в промежуточных ККМ в присутствииДФП. Полученным МИ-ИОГ присуща высокая аффинность, они демонстрируют высокую чувствительность по отношению к внешним воздействиям

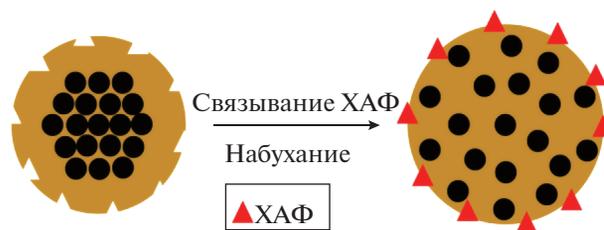


Рис. 8. Схема устройства композиционных частиц, ядро из наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  и оболочка из сополимера метилметакрилата и акриламида с отпечатанными молекулами хлорамфеникола [123].

(рН илиДФП) со сдвигамиФЗЗ, зависящими от толщины пленки гидрогеля [124]. Молекулярно-импринтированный полимер, полученный из АК и AA, позволяет определять сульфамеразин или сульфаметазин в яйце. Максимальный гипсохромный сдвигФЗЗ составляет 70 нм при концентрациях аналитов от 3.8 до 22.8 мкМ, существуют функциональные зависимости между гипохромным сдвигом и концентрациями сульфонамидов в натрий-ацетатном буферном растворе при рН 5 [125]. Сенсор из метакриловой кислоты и диметакрилата этиленгликоля позволяет определять сульфатуанидин в рыбе более пяти раз с пределом обнаружения 28 нМ. Соотношение между сдвигом длины волны пика отражения и концентрацией следующее:  $\Delta\lambda = 7.8887 \lg c + 79.9664$ , а время отклика – 5 мин [126]. Возможно создание четырехканальной сенсорной матрицы для одновременной идентификации сульфатуанидина, сульфаметазина и сульфатиазола [127]. На основе метакриловой кислоты и диметакрилата этиленгликоля изготовлен МИ-ИОГ, чувствительный по отношению к  $\alpha$ -аманитину в растворе этанола с низким пределом обнаружения ( $5.0 \times 10^{-10}$  мг/л). Линейный диапазон сенсора –  $10^{-9}$ – $10^{-3}$  мг/л, время отклика – 2 мин. Сенсор способен обнаруживать  $\alpha$ -аманитин в реальных образцах: грибах, моче и сыровотке [128]. Сенсорная матрица сходного строения использована для селективного захвата белка S-слоя клеточной стенки *Lactobacillus acidophilus* в образце смешанной культуры. Батохромный сдвигФЗЗ МИ-ИОГ линейно связан с количеством молекул, находящихся в пленке. Этот вариант характеризуется широким линейным диапазоном от 0 до 1 мг/мл с пределом обнаружения всего 1 нг/мл [129]. Изготовлены МИ-ИОГ из ПААм, импринтированного 3-пиридинкарбоксамидом. Сенсоры обладают быстрым откликом; связывание импринтируемых молекул происходит в течение 50 с. Восстановление сенсора осуществляют повторным погружением в деионизованную воду на 100 с. Сенсор проявляет селективный отклик на 3-пиридинкарбоксамид (по отношению к AA и никотиновой кислоте). Положение дифракционного пика можно настроить сополиме-

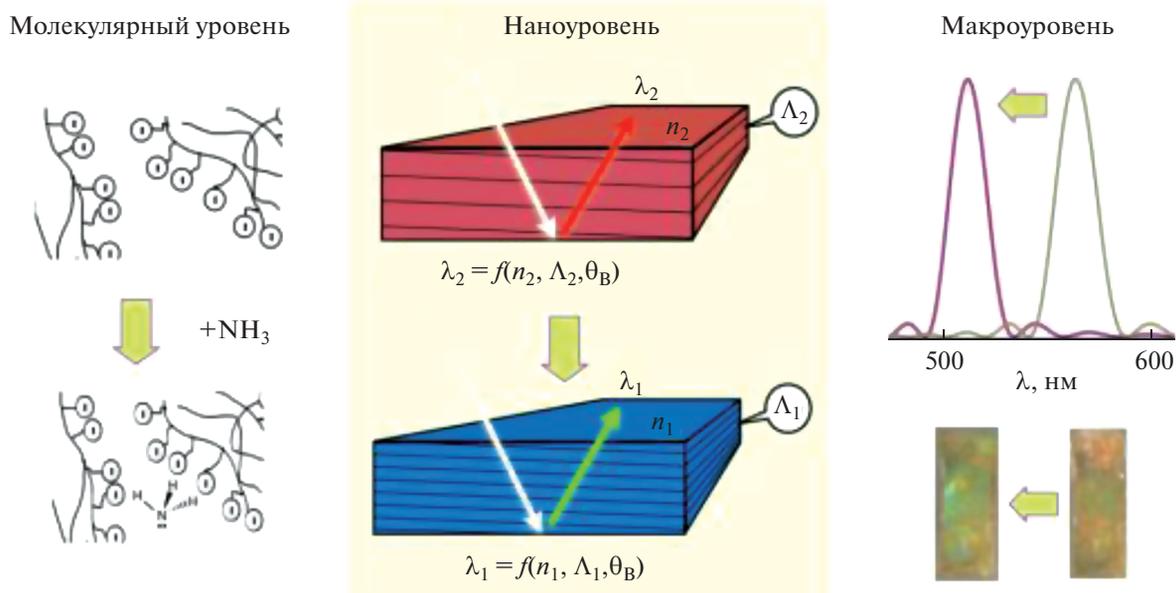


Рис. 9. Схема, иллюстрирующая принцип работы голографического сенсора для определения аммиака [132].

ризацией АА с АК, изменением отношения АА к АК или добавлением N,N'-метиленабисакриламида к мономерам [130]. Сенсоры на основе МИ-ИОГ позволяют обнаруживать ультраследовые количества ( $10^{-9}$  М) холестерина в этаноле. Процесс сопровождается изменением цвета с bathochromным сдвигом пика отражения на 26 нм [131]. Форма и размер образованных сайтов связывания играют решающую роль в процессе высокоселективного молекулярного распознавания. В работе [132] предложен быстрый метод самосборки коллоидных ФК большой площади с гелевой матрицей, импринтированной 4-нитрофенолом. Формирование отклика занимает 3 мин, сенсор можно регенерировать более девяти раз.

**Голографические сенсоры.** Аналогами 2D фотонных кристаллов служат голографические сенсоры. Их получают путем записи фотонных структур на полимерной пленке за счет фотоиницированной реакции [133]. Записывающие материалы способны изменять свой показатель преломления и/или светопоглощение в соответствии с интенсивностью записанных с помощью лазерного излучения паттернов. Когда материал облучают подходящим световым потоком, он раскладывает падающий луч и дает голограмму, поэтому материалы для изготовления голографических сенсоров должны удовлетворять двум основным требованиям: чувствительности к записываемому световому пучку и возможности физического преобразования оптических свойств [134].

Принцип отклика голографических сенсоров аналогичен принципу отклика фотонно-кристаллических. На рис. 9 представлена схема отклика

голографического сенсора, разработанного для определения паров аммиака на основе мембраны Nafion.

К настоящему времени разработаны голографические сенсоры для определения различных органических и неорганических веществ (табл. 1). За последние 10 лет разработаны алгоритмы, позволяющие в качестве измерительного устройства использовать фотокамеры [135–137] и смартфоны [138–140] наряду со спектрометрами и визуальным детектированием.

## РЕГИСТРАЦИЯ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКОГО СИГНАЛА

Регистрация отклика сенсоров возможна либо визуально, либо с применением технических средств: спектрофотометров зеркального и диффузного отражения, а также в случае 2D структур – колец Дебая. Под отражением подразумевается физическое взаимодействие волны с поверхностью, в результате которого она возвращается обратно в ту среду, из которой пришла. Отражение включает в себя две составляющие: зеркальное отражение и диффузное отражение. Интерпретация спектров, связанных с использованием этих видов отражения, довольно сложна, так как в реальных образцах почти всегда одновременно возникают и зеркальное, и диффузное отражение.

**Зеркальное отражение.** Оптические свойства фотонно-кристаллических сенсоров наиболее часто исследуют методом спектроскопии зеркального отражения [82, 99]. Спектрофотометры зер-

**Таблица 1.** Примеры голографических сенсоров

Определяемое вещество	Записывающая матрица	Фотосенсибилизатор	Диапазон определяемых содержаний	Литература
Аммиак	Мембрана Nafion N-117	Наночастицы серебра, 17 нм	0.19–12.5%	[133]
Кокаин	Поли(2-гидроксиэтилметакрилат-со-этилендиметакрилат-со-метакролеин), модифицированный Уги-лигандами	Наночастицы золота	10–50 ммоль/л	[139]
рН	ПММА	9,10-фенантрохинон	4–7	[141]
	Полигидроксиэтилметакрилат	9,10-фенантрохинон	4–8	[142]
	ПГЭМА, модифицированный трифторметилакриловой кислотой	Наночастицы серебра	3–6	[143]
Глюкоза	Полиакриламид, модифицированный фенолборной кислотой	Полиакриламид	<10 ммоль/л	[144]
		Наночастицы серебра	От 1 ммоль/л	[137, 145]
		1D фотонноструктурный шаблон	0–50 ммоль/л	[140]
Ионы металлов	Полиакриламид, полученный сополимеризацией акриламида с ионогенными сомономерами	Наночастицы серебра	Для ионов Pb <sup>2+</sup> и Co <sup>3+</sup> 10 <sup>-5</sup> –10 <sup>-1</sup> моль/л	[137, 145]
	Полиакриламид, модифицированный лизином	Наночастицы серебра	Для ионов Cu <sup>2+</sup> 10 <sup>-5</sup> –10 <sup>-3</sup> моль/л	[146]
Углеводороды	ПДМС	Наночастицы серебра	В зависимости от природы углеводорода	[147]
Пероксид водорода	Полисилоксан, модифицированный пероксидазой	Голографическая фотопластинка Славич	10 <sup>-5</sup> –10 <sup>-2</sup> %	[148]

кального отражения позволяют получать спектр с высокой дискретностью (менее 1 нм), однако при проведении анализа смещение длины волны максимума на полосе отражения достигает десятков и даже сотен нм, что, в свою очередь, требует значительного времени для сканирования спектра видимого излучения.

На спектрах зеркального отражения можно наблюдать батохромный и гипсохромный сдвиги, а также как гипер- или гипсохромный эффекты ФЗЗ. Исходя из этих данных, можно построить зависимость изменения отражения от концентрации. При воздействии некоторых аналитов удобно пользоваться зависимостями положения максимума длины волны на полосе отражения от времени экспонирования [149]. Повысить информативность анализа можно путем периодической регистрации спектров в течение всего акта воздействия аналита (рис. 10а); результаты таких измерений получили название “динамические спектры отражения” (dynamic reflection spectrum, DRS). В результате проекции на плоскость данных по интенсивности при каждой длине волны в зависимости от време-

ни можно получить паттерны (рис. 10б), которые индивидуальны для аналитов, в том числе для изомеров органических веществ [57].

Необходимо отметить, что метод спектроскопии зеркального отражения незаменим при исследовании структуры и морфологии фотонных кристаллов [150–152].

**Диффузное отражение.** Портативные спектрофотометры являются доступным вариантом для регистрации диффузного отражения ФК-сенсоров и уже зарекомендовали себя в химическом анализе [153–157]. Мини-спектрофотометры в составе программно-аппаратных комплексов для калибровки принтеров и экранов компьютеров стандартизированы и соответствуют требованиям ISO 13655:2017. Получение спектров диффузного отражения возможно только на калибраторах, имеющих дифракционную решетку, недорогие приборы имеют светофильтры и не позволяют получить спектр [158].

В данном случае информативным может оказаться рассмотрение спектров диффузного отражения как интегральной характеристики, по-

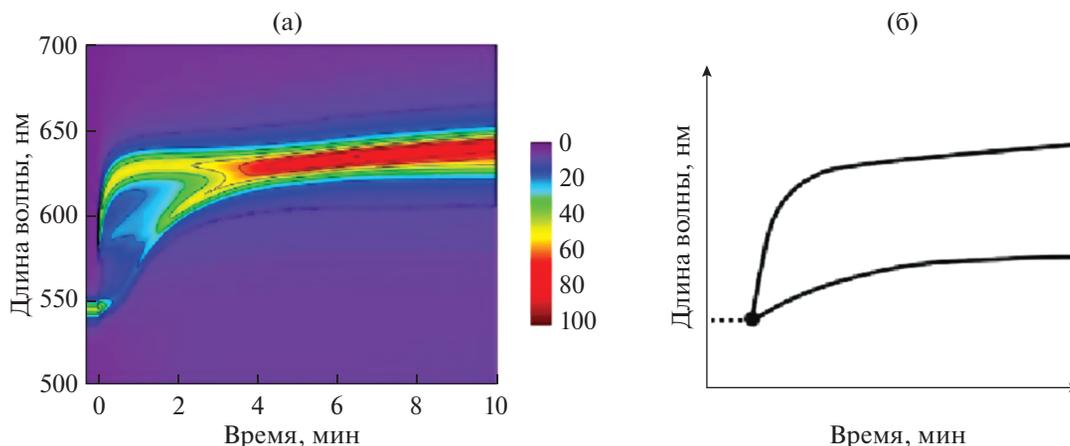


Рис. 10. Визуализация воздействия на фотонно-кристаллический сенсор этанола: (а) динамический спектр отражения и (б) паттерн [57].

скольку поверхность фотонных кристаллов не является идеально “гладкой” и однородной. На используемом оборудовании можно исследовать кинетику процессов, поскольку получение спектров диффузного отражения занимает до 10–20 с.

В работе [159] подтверждена статистическая значимость батохромного сдвига на 0.08–0.10 нм. Величина этих изменений значительно меньше, чем шаг регистрации спектра (10 нм). Столь высокая точность нахождения положения спектрального максимума объясняется малыми колебаниями измеряемых величин коэффициентов диффузного отражения, а также высокой коррелированностью этих колебаний при соседних длинах волн. Это позволило находить максимум описанием участка спектра вблизи максимума квадратичной функцией.

Применение стандартизованного метода измерения цвета фотонно-кристаллических сенсоров позволяет получать цветовые координаты, например, в программном обеспечении “Spectra-Suite”, и использовать в химическом анализе цветовые пространства RGB, CIE и т. д. [160]. Однако, поскольку положение ФЗЗ зависит от угла падения, цвет образцов меняется при изменении угла обзора [161]. Такой подход дает возможность построить в цветовом пространстве треки цвета в зависимости от концентрации аналита, а также в дальнейшем проводить определение веществ при помощи простых спектрофотометров или цифровых бытовых устройств – сканеров и фотоаппаратов (рис. 11).

Хроматические диаграммы уже используют для отслеживания механических деформаций [162], изменения концентрации метанола и этанола [49], а также для демонстрации цветовых характеристик сенсоров [160, 163].

**Кольцо Дебая.** Идеально упорядоченный гексагонально 2D слой может давать дифракционную картину в виде пятен, образующих шести-

угольник, под углом, зависящим от межплоскостного расстояния. Когда слой двумерных массивов состоит из неупорядоченных гексагональных доменов, размер которых меньше длины волны падающего лазерного излучения под прямым углом к плоскости фотонного кристалла, дифракционная картина представляет собой кольцо [164, 165], носящее название кольца Дебая. На рис. 12 представлена экспериментальная установка для наблюдения данного явления.

Межплоскостное расстояние в двумерном фотонно-кристаллическом массиве может быть рассчитано из экспериментальных данных по следующей формуле:

$$d = \frac{4\lambda\sqrt{(D/2)^2 + h^2}}{\sqrt{3}D}, \quad (3)$$

где  $\lambda$  – длина волны лазерного излучения,  $D$  – диаметр кольца Дебая,  $h$  – расстояние от фотонного кристалла до экрана [16, 17].

При нанесении пробы на фотонный кристалл изменяется межплоскостное расстояние. Следовательно, данный параметр зависит от концентрации определяемых веществ в пробе, а значит, может быть использован как аналитический сигнал [70]. В табл. 2 приведены примеры использования межплоскостного расстояния в фотонных кристаллах различных сенсоров в качестве аналитического сигнала. Как видно, данный подход нашел широкое применение в биохимическом анализе. В качестве матриц для создания фотонных кристаллов могут применяться как гидрофильные, так и гидрофобные полимеры, предварительно модифицированные органическими реагентами. Метод пригоден для определения следовых количеств веществ, прост в исполнении, не требует специального дорогостоящего оборудования, поэтому в настоящее время является одним из основных для целей количественного анализа.

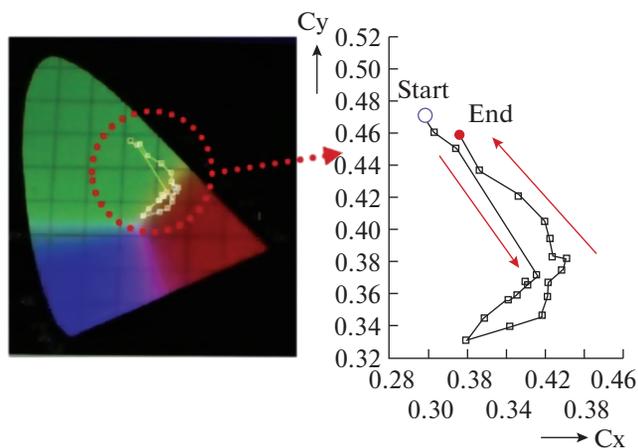


Рис. 11. Треки изменения цвета на хроматической диаграмме при воздействии аналита на фотонно-кристаллический сенсор [49].

Встречаются также “нетрадиционные” методы регистрации и обработки данных. Так, для регистрации изменения концентрации паров по изменению цвета сенсора ФК использовали программу колориметрического анализа для смартфона, основанную на взаимосвязи между значениями RGB цветов ФК и концентрациями паров толуола [50].

Предложен подход, комбинирующий сразу несколько аналитических методов: спектрофотометрию, лазерную дифракцию и атомно-силовую микроскопию для комплексного определения характеристик ФК: диаметра МСЧ, эффективного

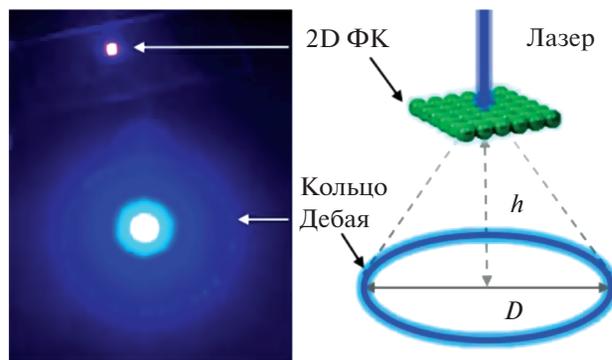


Рис. 12. Схема экспериментальной установки для наблюдения кольца Дебая [166].

показателя преломления, распределения по размерам [169].

Классические методы хемотрики, такие как метод главных компонент, позволяют отличать до пяти различных анионов. Подход позволяет определять не только единичные анионы, но и анализировать их бинарные или трехкомпонентные смеси [66].

\*\*\*

Сенсоры на основе фотонных кристаллов, несомненно, являются перспективными тест-системами за счет сочетания уникальных свойств: обширного выбора потенциальных материалов для изготовления структур, возможности использования практически всех селективных реагентов в качестве модификаторов структуры, универ-

Таблица 2. Химические сенсоры на основе 2D фотонных кристаллов, где аналитическим сигналом служит межплоскостное расстояние

Определяемые вещества	Матрица сенсора	Диапазон определяемых содержаний	Литература
Глюкоза	Полистирол, импрегнированный поливиниловым спиртом и 4-формилфенилборной кислотой	0.1–20 ммоль/л	[166]
	Полистирол, импрегнированный гидрогелем сополимера полиакриламида и акриловой кислоты с модификацией последнего 3-акриламидофенилборной кислотой	0.4–53.3 ммоль/л	[71]
	<i>E. coli</i> белок	0.2–10 ммоль/л	[72]
Лектиновые белки	Сополимеры акриламида и акриловой кислоты, модифицированные моно- и олигосахаридами	0.02–2.00 мг/мл	[17, 73]
Нервные агенты G	Полистирол, модифицированный ацетилхолинэстеразой	$7.1 \times 10^{-17}$ – $7.1 \times 10^{-4}$ моль/л	[74]
Наркотические вещества	Полистирол, модифицированный сывороточными альбуминами	0.01–1.00 ммоль/л	[75]
Мочевина	Полиакриламид, модифицированный уреазой	1–120 ммоль/л	[76]
pH	Полистирол, импрегнированный гидрогелем ПВС	–	[167]
<i>Candida albicans</i>	Конканавалин А	>32 КОЕ/мл	[168]

сальности аналитического сигнала. Более того, это не только передовая платформа для сенсорных устройств, но потенциальный элемент для создания новых инструментальных методов анализа с новым типом детекторов.

На сегодня можно насчитать десятки методов сборки фотонных кристаллов и множество способов придания структурам специфических свойств, однако основная задача — оптимизация методов изготовления фотонно-кристаллических сенсоров и, соответственно, снижение себестоимости анализа.

Фотонно-кристаллические сенсоры на основе 2D фотонных кристаллов изучены в меньшей степени, чем их трехмерные и одномерные аналоги, что, вероятно, связано со сложностью их получения. Однако возможность применения таких фотонных кристаллов в аналитических целях без использования спектрометров, малое время отклика уже существующих сенсоров показывают перспективность развития данного направления и обеспечивают возможность создания новых сенсоров на основе других хорошо изученных полимерных материалов.

*Часть работы выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках государственного задания ИОХ РАН.*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Lord Rayleigh*. On the maintenance of vibrations by forces of double frequency, and on the propagation of waves through a medium endowed with a periodic structure // *Philos. Mag.* 1887. V. 24. P. 145. <https://doi.org/10.1080/14786448708628074>
2. *Lord Rayleigh*. On the remarkable phenomenon of crystalline reflexion described by Prof. Stokes // *Phil. Mag.* 1888. V. 26. P. 256. <https://doi.org/10.1080/14786448808628259>
3. *Быков В.П.* Спонтанная эмиссия в периодической структуре // *Журн. эксперим. и теоретич. физики.* 1972. Т. 62. № 2. С. 505. (Bykov V.P. Spontaneous emission in a periodic structure // *J. Exp. Theor. Phys.* 1972. V. 35 P. 269.)
4. *Yablonovitch E.* Inhibited spontaneous emission in solid-state physics and electronics // *Phys. Rev. Lett.* 1987. V. 58. P. 2059. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.58.2059>
5. *John S.* Strong localization of photons in certain disordered dielectric superlattices // *Phys. Rev. Lett.* 1987. V. 58. P. 2486. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.58.2486>
6. *Fenzl C., Hirsch T., Wolfbeis O.S.* Photonic crystals for chemical sensing and biosensing // *Sensors.* 2012. V. 12. № 12. P. 16954. <https://doi.org/10.1002/anie.201307828>
7. *Sepre M.J., Kang Yo., Zhang Q.M.* Photonic materials for sensing, biosensing and display devices / Springer Series in Material Science. V. 229. Springer International, 2016. 364 p.
8. *Xue F., Asher S.A., Meng Z., Wang F., Lu W., Xue M., Qi F.* Two-dimensional colloidal crystal heterostructures // *RSC Adv.* 2015. V. 5. № 24. P. 18939. <https://doi.org/10.1039/C4RA16006A>
9. *Subramanian B., Theriault G., Robichaud J., Tchoukanova N., Djaoued Ya.* Large-area crack-free Au-SiO<sub>2</sub> 2D inverse opal composite films: fabrication and SERS applications // *Mater. Chem. Phys.* 2020. V. 244. Article 122630. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.122630>
10. *Aki Sh., Endo T., Sueyoshi K., Hisamoto H.* Plasticized poly(vinyl chloride)-based photonic crystal for ion sensing // *Anal. Chem.* 2014. V. 86. № 24. P. 11986. <https://doi.org/10.1021/ac503447m>
11. *He Ya., Zhu B., Zeng Xi., Yang R., Lv Xi., Yuan W.* Fabrication of large-area, close-packed, monolayer colloidal crystals via a hybrid method of spin coating and peeling—draining // *Thin Solid Films.* 2017. V. 639. P. 98. <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2017.08.035>
12. *Zhai Sh., Zhao H.* Silica-coated metallic nanoparticle-based hierarchical super-hydrophobic surfaces fabricated by spin-coating and inverse nanotransfer printing // *Appl. Phys. Lett.* 2019. V. 114. № 23. Article 233702. <https://doi.org/10.1063/1.5098780>
13. *Toolan D.T.W., Fujii S., Ebbens S.J., Nakamura Yo., Howse J.R.* On the mechanisms of colloidal self-assembly during spin-coating // *Soft Matter.* 2014. V. 10. № 44. P. 8804. <https://doi.org/10.1039/C4SM01711K>
14. *Noppakuadridditeja P., Tonsomboonb K., Ummartyotin S.* Importance of solvent singularity on the formation of highly uniform hexagonal close packed (HCP) colloidal monolayers during spin coating // *Colloids Interface Sci. Commun.* 2019. V. 30. Article 100177. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2019.100177>
15. *Khanna S., Utsav, Marathe P., Chaliyawala H., Rajaram N., Roy D., Banerjee R., Mukhopadhyay I.* Fabrication of long-ranged close-packed monolayer of silica nanospheres by spin coating // *Colloids Surf. A.* 2018. V. 553. P. 520. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.05.063>
16. *Asmatulu R., Kim S., Bright R., Yu Ph., Papadimitrakopoulos F., Marcus H.* Fabrication and defect designs on DNA linked 2D colloidal photonic crystals using a Nd:YAG Pulsed Laser // *MRS Proceedings.* 2005. V. 901. P. 102. <https://doi.org/10.1557/PROC-0901-Ra21-02>
17. *Bardosova M., Pemble M.E., Povey I.M., Tredgold R.H.* The Langmuir – Blodgett approach to making colloidal photonic crystals from silica spheres // *Adv. Mater.* 2010. V. 22. № 29. P. 3104. <https://doi.org/10.1002/adma.200903708>
18. *Cagnani G.R., Spada E.R., Cagnani D.L., Torres B.B.M., Balogh D.T., Bardosova M., Faria R.M.* Large-area flexible 2D-colloidal crystals produced directly using roll-to-roll processing // *Colloids Surf. A.* 2020. V. 588. Article 124389. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.124389>
19. *Bishop K.J., Wilmer C.E., Soh S., Grzybowski B.A.* Nanoscale forces and their uses in self-assembly // *Small.* 2009. V. 5. № 14. P. 1600. <https://doi.org/10.1002/smll.200900358>

20. Walker D.A., Kowalczyk B., de La Cruz M.O., Grzybowski B.A. Electrostatics at the nanoscale // *Nanoscale*. 2011. V. 3. № 4. P. 1316.  
<https://doi.org/10.1039/C0NR00698J>
21. Velev O.D., Gupta S. Materials fabricated by micro- and nanoparticle assembly – the challenging path from science to engineering // *Adv. Mater.* 2009. V. 21. № 19. P. 1897.  
<https://doi.org/10.1002/adma.200801837>
22. Ho K.M., Chan C.T., Soukoulis C.M. Existence of a photonic gap in periodic dielectric structures // *Phys. Rev. Lett.* 1990. V. 65. № 25. P. 3152.  
<https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.65.3152>
23. Lin S.Y., Fleming J.G., Hetherington D.L., Smith B.K., Biswas R., Ho K.M., Sigalas M.M., Zubrzycki W., Kurtz S.R., Bur J. A three-dimensional photonic crystal operating at infrared wavelengths // *Nature*. 1998. V. 394. № 6690. P. 251.  
<https://doi.org/10.1038/28343>
24. Noda S., Tomoda K., Yamamoto N., Chutinan A. Full three-dimensional photonic bandgap crystals at near-infrared wavelengths // *Science*. 2000. V. 289. № 5479. P. 604.  
<https://doi.org/10.1126/science.289.5479.604>
25. Aoki K., Miyazaki H.T., Hirayama H., Inoshita K., Baba T., Sakoda K., Shinya N., Aoyagi Y. Microassembly of semiconductor three-dimensional photonic crystals // *Nat. Mater.* 2003. V. 2. № 2. P. 117.  
<https://doi.org/10.1038/nmat802>
26. Ogawa S., Imada M., Yoshimoto S., Okano M., Noda S. Control of light emission by 3D photonic crystals // *Science*. 2004. V. 305. № 5681. P. 227.  
<https://doi.org/10.1126/science.1097968>
27. Campbell M., Sharp D., Harrison M., Denning R., Turberfield A. Fabrication of photonic crystals for the visible spectrum by holographic lithography // *Nature*. 2000. V. 404. № 6773. P. 53.  
<https://doi.org/10.1038/35003523>
28. Miklyaev Y.V., Meisel D.C., Blanco A., von Freymann G., Busch K., Koch W., Enkrich C., Deubel M., Wegener M. Three-dimensional face-centered-cubic photonic crystal templates by laser holography: fabrication, optical characterization, and band-structure calculations // *Appl. Phys. Lett.* 2003. V. 82. № 8. P. 1284.  
<https://doi.org/10.1063/1.1557328>
29. Scrimgeour J., Sharp D.N., Blanford C.F., Roche O.M., Denning R.G., Turberfield A.J. Three-dimensional optical lithography for photonic microstructures // *Adv. Mater.* 2006. V. 18. № 12. P. 1557.  
<https://doi.org/10.1002/adma.200502286>
30. Deubel M., von Freymann G., Wegener M., Pereira S., Busch K., Soukoulis C.M. Direct laser writing of three-dimensional photonic-crystal templates for telecommunications // *Nat. Mater.* 2004. T. 3. № 7. P. 444.  
<https://doi.org/10.1038/nmat1155>
31. Deubel M., Wegener M., Kaso A., John S. Direct laser writing and characterization of “Slanted Pore” Photonic Crystals // *Appl. Phys. Lett.* 2004. V. 85. № 11. P. 1895.  
<https://doi.org/10.1063/1.1792802>
32. Seet K.K., Mizekic V., Matsuo S., Juodkazis S., Misawa H. Three-dimensional spiral-architecture photonic crystals obtained by direct laser writing // *Adv. Mater.* 2005. V. 17. № 5. P. 541.  
<https://doi.org/10.1002/adma.200401527>
33. Gratson G.M., Garcia-Santamaria F., Lousse V., Xu M., Fan S.H., Lewis J.A., Braun P.V. Direct-write assembly of three-dimensional photonic crystals: Conversion of polymer scaffolds to silicon hollow-woodpile structures // *Adv. Mater.* 2006. V. 18. № 4. P. 461.  
<https://doi.org/10.1002/adma.200501447>
34. Tretreault N., von Freymann G., Deubel M., Hermatschweiler M., Prerez-Willard F., John S., Wegener M., Ozin G.A. New route to three-dimensional photonic bandgap materials: Silicon double inversion of polymer templates // *Adv. Mater.* 2006. V. 18. № 4. P. 457.  
<https://doi.org/10.1002/adma.200501674>
35. Yablonovitch E., Gmitter T.J., Leung K.M. Photonic band structure: The face-centered-cubic case employing nonspherical atoms // *Phys. Rev. Lett.* 1991. V. 67. № 17. P. 2295.  
<https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.67.2295>
36. Yablonovitch E., Gmitter T.J. Photonic band structure: The face-centered-cubic case // *Phys. Rev. Lett.* 1989. V. 63. № 18. P. 1950.  
<https://doi.org/10.1364/JOSAA.7.001792>
37. Özbay E., Abeyta A., Tuttle G., Tringides M., Biswas R., Chan C.T., Soukoulis C.M., Ho K.M. Measurement of a three-dimensional photonic band gap in a crystal structure made of dielectric rods // *Phys. Rev. B*. 1994. V. 50. № 3. P. 1945.  
<https://doi.org/10.1103/PhysRevB.50.1945>
38. Cheng C.C., Scherer A., Arbet-Engels, V., Yablonovitch E. Lithographic band gap tuning in photonic band gap crystals // *J. Vac. Sci. Technol. B: Microelectron. Nanometer Struct. Process. Meas. Phenom.* 1996. V. 14. № 6. P. 4110.  
<https://doi.org/10.1116/1.588601>
39. Kawakami S., Kawashima T., Sato T. Mechanism of shape formation of three-dimensional periodic nanostructures by bias sputtering // *Appl. Phys. Lett.* 1999. V. 74. № 3. P. 463.  
<https://doi.org/10.1063/1.123037>
40. Kawashima T., Miura K., Sato T., Kawakami S. Self-healing effects in the fabrication process of photonic crystals // *Appl. Phys. Lett.* 2000. V. 77. № 16. P. 2613.  
<https://doi.org/10.1063/1.1316070>
41. Cheng C.C., Scherer A. Fabrication of photonic bandgap crystals // *J. Vac. Sci. Technol. B: Microelectron. Nanometer Struct. Process. Meas. Phenom.* 1995. V. 13. № 6. P. 2696.  
<https://doi.org/10.1116/1.588051>
42. Sharp D.N., Turberfield A.J., Denning R.G. Holographic photonic crystals with diamond symmetry // *Phys. Rev. B*. 2003. V. 68. № 20. Article 205102.  
<https://doi.org/10.1103/PhysRevB.68.205102>
43. Xu D., Chen K. P., Harb A., Rodriguez D., Lozano K., Lin Y. Phase tunable holographic fabrication for three-dimensional photonic crystal templates by using a single optical element // *Appl. Phys. Lett.* 2009. V. 94. № 23. Article 231116.  
<https://doi.org/10.1063/1.3149705>
44. Poncelet O., Tallier G., Mouchet S.R., Crahay A., Ranson J., Kotipalli R., Deparis O., Francis L.A. Vapour sensitivity of an ALD hierarchical photonic structure inspired by Morpho // *Bioinspiration Biomimetics*. 2016. V. 11. № 3. Article 036011.  
<https://doi.org/10.1088/1748-3190/11/3/036011>
45. Ranson J., Poncelet O., Mouchet S.R., Deparis O., Francis L.A. Vapor sensing using a bio-inspired porous sili-

- con photonic crystal // *Mater. Today Proc.* 2017. V. 4. P. 5006.  
<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.04.107>
46. *Burratti L., De Matteis F., Casalboni M., Francini R., Pizzoferrato R., Proposito, P.* Polystyrene photonic crystals as optical sensors for volatile organic compounds // *Mater. Chem. Phys.* 2018. V. 212. P. 274.  
<https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2018.03.039>
  47. *Burratti L., Casalboni M., De Matteis F., Pizzoferrato R., Proposito P.* Polystyrene opals responsive to methanol vapors // *Materials*. 2018. V. 11. № 9. P. 1547.  
<https://doi.org/10.3390/ma11091547>
  48. *Li J., Zheng T.* A comparison of chemical sensors based on the different ordered inverse opal films // *Sens. Actuators B*. 2008. V. 131. № 1. P. 190.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2007.11.006>
  49. *Kuo W.K., Weng H.P., Hsu J.J., Yu H.H.* A bioinspired color-changing polystyrene microarray as a rapid qualitative sensor for methanol and ethanol // *Mater. Chem. Phys.* 2016. V. 173. P. 285.  
<https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2016.02.014>
  50. *Kou D., Zhang Y., Zhang S., Wu S., Ma W.* High-sensitive and stable photonic crystal sensors for visual detection and discrimination of volatile aromatic hydrocarbon vapors // *Chem. Eng. J.* 2019. V. 375. Article 121987.  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.121987>
  51. *Endo T., Yanagida Y., Hatsuzawa T.* Colorimetric detection of volatile organic compounds using a colloidal crystal-based chemical sensor for environmental applications // *Sens. Actuators B*. 2007. V. 125. № 2. P. 589.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2007.03.003>
  52. *Sato A., Ikeda Y., Yamaguchi K., Vohra V.* Strongly iridescent hybrid photonic sensors based on self-assembled nanoparticles for hazardous solvent detection // *Nanomaterials*. 2018. V. 8. № 3. P. 169.  
<https://doi.org/10.3390/nano8030169>
  53. *Bolshakov E.S., Ivanov A.V., Kozlov A.A., Aksenov A.S., Isanbaeva E.V., Kushnir S.E., Yapritysev A.D., Baranchikov A.E., Zolotov Yu.A.* A photonic crystal material for the online detection of nonpolar hydrocarbon vapors // *Beilstein J. Nanotechnol.* 2022. V. 13. P. 127.  
<https://doi.org/10.3762/bjnano.13.9>
  54. *Wang F., Zhu Z., Xue M., Xue F., Wang Q., Meng Z., Lu W., Chen W., Qi F., Yan Z.* Cellulose photonic crystal film sensor for alcohols // *Sens. Actuators B*. 2015. V. 220. P. 222.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.05.057>
  55. *Chen C., Zhu Y., Bao H., Shen J., Jiang H., Peng L., Yang X., Li C., Chen G.* Ethanol-assisted multi-sensitive poly(vinyl alcohol) photonic crystal sensor // *Chem. Commun.* 2011. V. 47. № 19. P. 5530.  
<https://doi.org/10.1039/C1CC10957J>
  56. *Jiang H., Zhu Y., Chen C., Shen J., Bao H., Peng L., Yang X., Li C.* Photonic crystal pH and metal cation sensors based on poly (vinyl alcohol) hydrogel // *New J. Chem.* 2012. V. 36. № 4. P. 1051.  
<https://doi.org/10.1039/C2NJ20989F>
  57. *Zhang Y., Fu Q., Ge J.* Photonic sensing of organic solvents through geometric study of dynamic reflection spectrum // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. № 1. P. 1.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms8510>
  58. *Pan Z., Ma J., Yan J., Zhou M., Gao J.* Response of inverse-opal hydrogels to alcohols // *J. Mater. Chem.* 2012. V. 22. № 5. P. 2018.  
<https://doi.org/10.1039/C1JM13955J>
  59. *Ашуров М.С., Икрами С.А., Климонский С.О.* Фотонно-кристаллические сенсоры состава жидкостей на основе пленок со структурой инвертированного опала // *Материаловедение*. 2020. № 10. С. 17. (*Ashurov M.S., Ikrami S.A., Klimonsky S.O.* Photonic crystal sensors for the composition of liquids based on films with the structure of inverse opal // *Inorg. Mater.: Appl. Res.* 2021. V. 12. № 4. P. 915.)  
<https://doi.org/10.1134/S2075113321040043>
  60. *Zhang M.L., Jin, F., Zheng, M.L., Duan, X.M.* Inverse opal hydrogel sensor for the detection of pH and mercury ions // *RSC Adv.* 2014. V. 4. № 39. P. 20567.  
<https://doi.org/10.1039/C4RA03013C>
  61. *Barry R.A., Wiltzius P.* Humidity-sensing inverse opal hydrogels // *Langmuir*. 2006. V. 22. № 3. P. 1369.  
<https://doi.org/10.1021/la0519094>
  62. *Xu X., Goponenko A.V., Asher S.A.* Polymerized poly-HEMA photonic crystals: pH and ethanol sensor materials // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. V. 130. № 10. P. 3113.  
<https://doi.org/10.1021/ja077979+>
  63. *Hong W., Chen Y., Feng X., Yan Y., Hu X., Zhao B., Zhang F., Zhang D., Xu Z., Lai Y.* Full-color CO<sub>2</sub> gas sensing by an inverse opal photonic hydrogel // *Chem. Commun.* 2013. V. 49. № 74. P. 8229.  
<https://doi.org/10.1039/C3CC44825H>
  64. *Liu C., Gao G., Zhang Y., Wang L., Wang J., Song Y.* The naked-eye detection of NH<sub>3</sub>-HCl by polyaniline-Infiltrated TiO<sub>2</sub> inverse opal photonic crystals // *Macromol. Rapid Commun.* 2012. V. 33. № 5. P. 380.  
<https://doi.org/10.1002/marc.201100575>
  65. *Zhong Q., Xu H., Ding H., Bai L., Mu Z., Xie Z., Zhao Y., Gu Z.* Preparation of conducting polymer inverse opals and its application as ammonia sensor // *Colloids Surf. A*. 2013. V. 433. P. 59.  
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.04.053>
  66. *Cui J., Zhu W., Gao N., Li J., Yang H., Jiang Y., Seidel P., Ravoo B.J., Li G.* Inverse opal spheres based on polyionic liquids as functional microspheres with tunable optical properties and molecular recognition capabilities // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014. V. 53. № 15. P. 3844.  
<https://doi.org/10.1002/anie.201308959>
  67. *Zhang J.-T., Wang L., Luo J., Tikhonov A., Kornienko N., Asher S.A.* 2-D array photonic crystal sensing motif // *J. Am. Chem. Soc.* 2011. V. 133. № 24. P. 9152.  
<https://doi.org/10.1021/ja201015c>
  68. *Arunbabu Dh., Sannigrahi A., Jana T.* Photonic crystal hydrogel material for the sensing of toxic mercury ions (Hg<sup>2+</sup>) in water // *Soft Matter*. 2011. V. 7. № 6. P. 2592.  
<https://doi.org/10.1039/C0SM01136C>
  69. *Ye B.-F., Zhao Yu.-J., Cheng Ya., Li T.-T., Xie Zh.-Yi., Zhao Xi.-W., Gu Zh.-Ze.* Colorimetric photonic hydrogel aptasensor for the screening of heavy metal ions // *Nanoscale*. 2012. V. 4. № 19. P. 5998.  
<https://doi.org/10.1039/C2NR31601C>
  70. *Cai Zh., Smith N.L., Zhang J.-T., Asher S.A.* Two-dimensional photonic crystal chemical and biomolecular sensors // *Anal. Chem.* 2015. V. 87. № 10. P. 5013.  
<https://doi.org/10.1021/ac504679n>
  71. *Lan Yu., Xue M., Qiu L., Meng Z.* Clinical evaluation of a photonic crystal sensor for glucose monitoring in

- urine // *Chem. Select.* 2019. V. 4. № 21. P. 6547.  
<https://doi.org/10.1002/slct.201900840>
72. *Cai Zh., Luck L.A., Punihaole D., Madura J.D., Asher S.A.* Photonic crystal protein hydrogel sensor materials enabled by conformationally induced volume phase transition // *Chem. Sci.* 2016. V. 7. № 7. P. 4557.  
<https://doi.org/10.1039/C6SC00682E>
73. *Cai Zh., Sasmal A., Liu X., Asher S.A.* Responsive photonic crystal carbohydrate sensor materials for selective and sensitive lectin protein detection // *ACS Sens.* 2017. V. 2. № 10. P. 1474.  
<https://doi.org/10.1021/acssensors.7b00426>
74. *Qui F., Yan Ch., Meng Z., Li Sh., Xu Ji., Hu Xi., Xue M.* Acetylcholinesterase-functionalized two-dimensional photonic crystal for the sensing of G-series nerve agents // *Anal. Bioanal. Chem.* 2019. V. 411. P. 2577.  
<https://doi.org/10.1007/s00216-019-01700-w>
75. *Cai Zh., Zhang Zh.-T., Xue F., Hong Zh., Punihaole D., Asher S.A.* 2D photonic crystal protein hydrogel coulometer for sensing serum albumin ligand binding // *Anal. Chem.* 2014. V. 86. № 10. P. 4840.  
<https://doi.org/10.1021/ac404134t>
76. *Li G., Xiao F., Liao Sh., Chen Q., Zhou J., Wu Zh., Yu R.* Label-free 2D colloidal photonic crystal hydrogel biosensor for urea and urease inhibitor // *Sens. Actuators B.* 2018. V. 277. P. 591.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.09.059>
77. *Li Ch., Li L., Yu Sh., Jiao Xi., Chen D.* High performance hollow metal-organic framework nanoshell-based etalons for volatile organic compounds detection // *Adv. Mater. Technol.* 2016. V. 1. № 7. Article 1600127.  
<https://doi.org/10.1002/admt.201600127>
78. *Li L., Li Ch., Jiao Xi., Chen D., Lotsch B.V.* Facile fabrication of ultrathin metal-organic framework-coated monolayer colloidal crystals for highly efficient vapor sensing // *Chem. Mater.* 2015. V. 27. № 22. P. 7601.  
<https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.5b02476>
79. *Smith N.L., Hong Zh., Asher S.A.* Responsive ionic liquid-polymer 2D photonic crystal gas sensors // *Analyst.* 2014. V. 139. № 24. P. 6379.  
<https://doi.org/10.1039/C4AN01485E>
80. *Yan Z., Xue M., He Q., Lu W., Meng Z., Yan D., Qiu L., Zhou L., Yu Yi.* A non-enzymatic urine glucose sensor with 2-D photonic crystal hydrogel // *Anal. Bioanal. Chem.* 2016. V. 408. № 29. P. 8317.  
<https://doi.org/10.1007/s00216-016-9947-4>
81. *Xiao F., Sun Y., Du W., Shi W., Wu Y., Liao S., Wu Z., Yu R.* Smart photonic crystal hydrogel material for uranyl ion monitoring and removal in water // *Adv. Funct. Mater.* 2017. V. 27. № 42. Article 1702147.  
<https://doi.org/10.1002/adfm.201702147>
82. *Holtz J.H., Asher S.A.* Polymerized colloidal crystal hydrogel films as intelligent chemical sensing materials // *Nature.* 1997. V. 389. № 6653. P. 829.  
<https://doi.org/10.1038/39834>
83. *Holtz J.H., Holtz J.S., Munro C.H., Asher S.A.* Intelligent polymerized crystalline colloidal arrays: novel chemical sensor materials // *Anal. Chem.* 1998. V. 70. № 4. P. 780.  
<https://doi.org/10.1021/ac970853i>
84. *Reese C.E., Baltusavich M.E., Keim J.P., Asher S.A.* Development of an intelligent polymerized crystalline colloidal array colorimetric reagent // *Anal. Chem.* 2001. V. 73. № 21. P. 5038.  
<https://doi.org/10.1021/ac010667j>
85. *Asher S.A., Peteu S.F., Reese C.E., Lin M., Finegold D.* Polymerized crystalline colloidal array chemical-sensing materials for detection of lead in body fluids // *Anal. Bioanal. Chem.* 2002. V. 373. № 7. P. 632.  
<https://doi.org/10.1007/s00216-002-1366-z>
86. *Reese C.E., Asher S.A.* Photonic crystal optrode sensor for detection of  $Pb^{2+}$  in high ionic strength environments // *Anal. Chem.* 2003. V. 75. № 15. P. 3915.  
<https://doi.org/10.1021/ac034276b>
87. *Goponenko A.V., Asher S.A.* Modeling of stimulated hydrogel volume changes in photonic crystal  $Pb^{2+}$  sensing materials // *J. Am. Chem. Soc.* 2005. V. 127. № 30. P. 10753.  
<https://doi.org/10.1021/ja051456p>
88. *Yan F., Asher S.* Cation identity dependence of crown ether photonic crystal  $Pb^{2+}$  sensing // *Anal. Bioanal. Chem.* 2007. V. 387. № 6. P. 2121.  
<https://doi.org/10.1007/s00216-006-1088-8>
89. *Muscatello M.M.W., Asher S.A.* Poly (vinyl alcohol) rehydratable photonic crystal sensor materials // *Adv. Funct. Mater.* 2008. V. 18. № 8. P. 1186.  
<https://doi.org/10.1002/adfm.200701210>
90. *Asher S.A., Sharma A.C., Goponenko A.V., Ward M.M.* Photonic crystal aqueous metal cation sensing materials // *Anal. Chem.* 2003. V. 75. № 7. P. 1676.  
<https://doi.org/10.1021/ac026328n>
91. *Baca J.T., Finegold D.N., Asher S.A.* Progress in developing polymerized crystalline colloidal array sensors for point-of-care detection of myocardial ischemia // *Analyst.* 2008. V. 133. № 3. P. 385.  
<https://doi.org/10.1039/B712482A>
92. *Lin F.Y., Yu L.P.* Thiourea functionalized hydrogel photonic crystal sensor for  $Cd^{2+}$  detection // *Anal. Methods.* 2012. V. 4. № 9. P. 2838.  
<https://doi.org/10.1039/C2AY25408E>
93. *Kimble K.W., Walker J.P., Finegold D.N., Asher S.A.* Progress toward the development of a point-of-care photonic crystal ammonia sensor // *Anal. Bioanal. Chem.* 2006. V. 385. № 4. P. 678.  
<https://doi.org/10.1007/s00216-006-0453-y>
94. *Fenzl C., Kirchinger M., Hirsch T., Wolfbeis O.S.* Photonic crystal-based sensing and imaging of potassium ions // *Chemosensors.* 2014. V. 2. № 3. P. 207.  
<https://doi.org/10.3390/chemosensors2030207>
95. *Asher S.A., Alexeev V.L., Goponenko A.V., Sharma A.C., Lednev I.K., Wilcox C.S., Finegold D.N.* Photonic crystal carbohydrate sensors: low ionic strength sugar sensing // *J. Am. Chem. Soc.* 2003. V. 125. № 11. P. 3322.  
<https://doi.org/10.1021/ja021037h>
96. *Zhang C., Cano G.G., Braun P.V.* Linear and fast hydrogel glucose sensor materials enabled by volume resetting agents // *Adv. Mater.* 2014. V. 26. № 32. P. 5678.  
<https://doi.org/10.1002/adma.201401710>
97. *Alexeev V.L., Sharma A.C., Goponenko A.V., Das S., Lednev I.K., Wilcox C.S., Finegold D.N., Asher S.A.* High ionic strength glucose-sensing photonic crystal // *Anal. Chem.* 2003. V. 75. № 10. P. 2316.  
<https://doi.org/10.1021/ac030021m>
98. *Muscatello M.M.W., Stunja L.E., Asher S.A.* Polymerized crystalline colloidal array sensing of high glucose concentrations // *Anal. Chem.* 2009. V. 81. № 12.

- P. 4978.  
<https://doi.org/10.1021/ac900006x>
99. Zhang C., Losego M.D., Braun P.V. Hydrogel-based glucose sensors: effects of phenylboronic acid chemical structure on response // *Chem. Mater.* 2013. V. 25. № 15. P. 3239.  
<https://doi.org/10.1021/cm401738p>
  100. Alexeev V.L., Das S., Finegold D.N., Asher S.A. Photonic crystal glucose-sensing material for noninvasive monitoring of glucose in tear fluid // *Clin. Chem.* 2004. V. 50. № 12. P. 2353.  
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2004.039701>
  101. Ben-Moshe M., Alexeev V.L., Asher S.A. Fast responsive crystalline colloidal array photonic crystal glucose sensors // *Anal. Chem.* 2006. V. 78. № 14. P. 5149.  
<https://doi.org/10.1021/ac060643i>
  102. Ruan J.L., Chen C., Shen J.H., Zhao X.L., Qian S.H., Zhu Z.G. A gelated colloidal crystal attached lens for noninvasive continuous monitoring of tear glucose // *Polymers.* 2017. V. 9. № 4. P. 125.  
<https://doi.org/10.3390/polym9040125>
  103. Cui Q., Muscatello M.M.W., Asher S.A. Photonic crystal borax competitive binding carbohydrate sensing motif // *Analyst.* 2009. V. 134. № 5. P. 875.  
<https://doi.org/10.1039/B901017N>
  104. Sharma A.C., Jana T., Kesavamoorthy R., Shi L., Virji M.A., Finegold D.N., Asher S.A. A general photonic crystal sensing motif: creatinine in bodily fluids // *J. Am. Chem. Soc.* 2004. V. 126. № 9. P. 2971.  
<https://doi.org/10.1021/ja038187s>
  105. Xiao F., Li G., Wu Y., Chen Q., Wu Z., Yu R. Label-free photonic crystal-based  $\beta$ -lactamase biosensor for  $\beta$ -lactam antibiotic and  $\beta$ -lactamase inhibitor // *Anal. Chem.* 2016. V. 88. № 18. P. 9207.  
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b02457>
  106. Song Y., Bai J., Zhang R., He H., Li C., Wang J., Li S., Peng Y., Ning B., Wang M., Gao Z. Michael-addition-mediated photonic crystals allow pretreatment-free and label-free sensing of ciprofloxacin in fish farming water // *Anal. Chem.* 2018. V. 90. № 2. P. 1388.  
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04655>
  107. Zeng F., Wu S., Sun Z., Xi H., Li R., Hou Z. Urea sensing materials via solidified crystalline colloidal arrays // *Sens. Actuators B.* 2002. V. 81. № 2–3. P. 273.  
[https://doi.org/10.1016/S0925-4005\(01\)00965-0](https://doi.org/10.1016/S0925-4005(01)00965-0)
  108. Yan C., Qi F., Li S., Xu J., Liu C., Meng Z., Qiu L., Xue M., Lu W., Yan Z. Functionalized photonic crystal for the sensing of Sarin agents // *Talanta.* 2016. V. 159. P. 412.  
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.06.045>
  109. Xu J., Yan C., Liu C., Zhou C., Hu X., Qi F. Photonic crystal hydrogel sensor for detection of nerve agent // *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 2017. V. 167. № 1. P. 012024.  
<https://doi.org/10.1088/1757-899X/167/1/012024>
  110. Walker J.P., Asher S.A. Acetylcholinesterase-based organophosphate nerve agent sensing photonic crystal // *Anal. Chem.* 2005. V. 77. № 6. P. 1596.  
<https://doi.org/10.1021/ac048562e>
  111. Chen W., Meng Zh., Xue M., Shea K.J. Molecular imprinted photonic crystal for sensing of biomolecules // *Mol. Impr.* 2016. V. 4. № 1. P. 1.  
<https://doi.org/10.1515/molim-2016-0001>
  112. Pauling L. A theory of the structure and process of formation of antibodies // *J. Am. Chem. Soc.* 1940. V. 62. № 10. P. 2643.  
<https://doi.org/10.1021/ja01867a018>
  113. Wang Yi., Xie T., Yang J. Lei M., Fan J., Meng Z., Xue M., Qiu L., Qi F., Wang Zh. Fast screening of antibiotics in milk using a molecularly imprinted two-dimensional photonic crystal hydrogel sensor // *Anal. Chim. Acta.* 2019. V. 1070. P. 90.  
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.04.031>
  114. Han Sh., Jin Ya., Su L., Chu H., Zhang W. A two-dimensional molecularly imprinted photonic crystal sensor for highly efficient tetracycline detection // *Anal. Methods.* 2020. V. 12. № 10. P. 1374.  
<https://doi.org/10.1039/D0AY00110D>
  115. Murtaza Gh., Rizvi A.S., Irfan M., Yan D., Khan R.U., Rafique B., Xue M., Meng Z.-H., Qu F. Glycated albumin based photonic crystal sensors for detection of lipopolysaccharides and discrimination of Gram-negative bacteria // *Anal. Chim. Acta.* 2020. V. 1117. P. 1  
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.04.018>
  116. Rizvi A.S., Murtaza G., Yan D., Irfan M., Xue M., Meng Z.-H., Qu F. Development of molecularly imprinted 2D photonic crystal hydrogel sensor for detection of L-Kynurenine in human serum // *Talanta.* 2020. V. 208. Article 120403.  
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120403>
  117. Cao Y., Liu G., Zheng B., Wang X., Li H., Wang G., Lingli Z., Wang Y. A sulfamethoxazole molecularly imprinted two-dimensional photonic crystal hydrogel sensor // *Soft Matter.* 2021. V. 17. № 19. P. 4969.  
<https://doi.org/10.1039/D1SM00176K>
  118. Guo C., Zhou C., Sai N., Ning B., Liu M., Chen H., Gao Z. Detection of bisphenol A using an opal photonic crystal sensor // *Sens. Actuators B.* 2012. V. 166. P. 17.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2011.10.082>
  119. Sai N., Ning B., Huang G., Wu Y., Zhou Z., Peng Y., Bai J., Yu G., Gao Z. An imprinted crystalline colloidal array chemical-sensing material for detection of trace diethylstilbestrol // *Analyst.* 2013. V. 138. № 9. P. 2720.  
<https://doi.org/10.1039/C3AN36829G>
  120. Lu W., Asher S.A., Meng Z., Yan Z., Xue M., Qiu L., Yi D. Visual detection of 2, 4, 6-trinitrotoluene by molecularly imprinted colloidal array photonic crystal // *J. Hazard. Mater.* 2016. V. 316. P. 87.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.05.022>
  121. Resende S., Frasco M.F., Sales M.G.F. A biomimetic photonic crystal sensor for label-free detection of urinary venous thromboembolism biomarker // *Sens. Actuators B.* 2020. V. 312. P. 127947.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.127947>
  122. Cao Y., Liu G., Qin X., Li H., Liu C. Preparation and application of 2-chlorophenol molecularly imprinted photonic crystal hydrogel sensor // *J. Macromol. Sci. A: Pure Appl. Chem.* 2021. V. 58. № 5. P. 336.  
<https://doi.org/10.1080/10601325.2020.1854046>
  123. You A.M., Ni X.J., Cao Y.H., Cao G.Q. Colorimetric chemosensor for chloramphenicol based on colloidal magnetically assembled molecularly imprinted photonic crystals // *J. Chin. Chem. Soc.* 2017. V. 64. № 10. P. 1235.  
<https://doi.org/10.1002/jccs.201700126>
  124. Griffete N., Frederich H., Maître A., Ravaine S., Chehimi M.M., Mangeney C. Inverse opals of molecularly imprinted hydrogels for the detection of bisphenol A and pH sensing // *Langmuir.* 2012. V. 28. № 1.

- P. 1005.  
<https://doi.org/10.1021/la202840y>
125. Zhang Y.H., Ren H.H., Yu L.P. Development of molecularly imprinted photonic polymers for sensing of sulfonamides in egg white // *Anal. Methods*. 2018. V. 10. № 1. P. 101.  
<https://doi.org/10.1039/C7AY02283B>
  126. Lin J., Huang Y., Huang P. Graphene-based nanomaterials in bioimaging // *Biomed. Appl. Funct. Nanomater.* 2018. P. 247.  
<https://doi.org/10.1007/s40820-018-0206-4>
  127. Lin Z.Z., Li L., Fu G.Y., Lai Z.Z., Peng A.H., Huang Z.Y. Molecularly imprinted polymer-based photonic crystal sensor array for the discrimination of sulfonamides // *Anal. Chim. Acta*. 2020. V. 1101. P. 32.  
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.12.032>
  128. Qiu X., Chen W., Luo Y., Wang Y., Wang Y., Guo H. Highly sensitive  $\alpha$ -amanitin sensor based on molecularly imprinted photonic crystals // *Anal. Chim. Acta*. 2020. V. 1093. P. 142.  
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.09.066>
  129. Pan D., Xun M., Lan H., Li J., Wu Z., Guo Y. Selective, sensitive, and fast determination of S-layer proteins by a molecularly imprinted photonic polymer coated film and a fiber-optic spectrometer // *Anal. Bioanal. Chem.* 2019. V. 411. № 29. P. 7737.  
<https://doi.org/10.1007/s00216-019-02109-1>
  130. Yuan Y., Li Z., Liu Y., Gao J., Pan Z., Liu Y. Hydrogel photonic sensor for the detection of 3-pyridinecarboxamide // *Chem. Eur. J.* 2012. V. 18. № 1. P. 303.  
<https://doi.org/10.1002/chem.201102001>
  131. Zeng X., Du Z., Ma J. Colorimetric detection of ultratrace cholesterol by free standing inverse opal hydrogel films / *Optical Sensors*. Optical Society of America, 2012. P. STh1B. 5.  
<https://doi.org/10.1364/SENSORS.2012.STh1B.5>
  132. Fan J., Qiu L., Zheng W., Meng Z., Xue M., Qiao Y. Rapid self-assembly preparation of p-nitrophenol-molecular imprinted photonic crystal sensors // *Microchem. J.* 2021. V. 164. Article 105950.  
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.105950>
  133. Martinez-Hurtado J.L., Lowe C.R. Ammonia-sensitive photonic structures fabricated in Nafion membranes by laser ablation // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2014. V. 6. № 11. P. 8903.  
<https://doi.org/10.1021/am5016588>
  134. Blanche P.-A. Holographic recording media and devices / *Encyclopedia of Modern Optics*. 2nd Ed. Amsterdam: Elsevier, Academic Press, 2018. V. 4. P. 87.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.09610-7>
  135. Крайский А.В., Миронова Т.В., Султанов Т.Т. Измерение поверхностного распределения длины волны узкополосного излучения колориметрическим методом // *Квантовая электроника*. 2010. Т. 40. № 7. С. 652.
  136. Крайский А.В., Миронова Т.В., Султанов Т.Т. Измерение длины волны узкополосного излучения при обработке цифровых фотографий в raw-формате // *Квантовая электроника*. 2012. Т. 42. № 12. С. 1137.
  137. Postnikov V.A., Kraiskii A.V., Sergienko V.I. Holographic sensors for detection of components in water solutions / *Holography – Basic Principles and Contemporary Applications* / Ed. Mihaylova E. Dublin: InTech, 2013. P. 103.  
<https://doi.org/10.5772/53564>
  138. Yetisen A.K., Martinez-Hurtado J.L., Garcia-Melendrez A., da Cruz Vasconcelos F., Lowe C.R. A smartphone algorithm with inter-phone repeatability for the analysis of colorimetric tests // *Sens. Actuators B*. 2014. V. 196. P. 156.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.01.077>
  139. Oliveira N.C.L., El Khoury G., Versnel J.M., Moghaddam G.K., Leite L.S., Lima-Filho J.L., Lowe C.R. A holographic sensor based on a biomimetic affinity ligand for the detection of cocaine // *Sens. Actuators B*. 2018. V. 270. P. 216.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.05.009>
  140. Elsharif M., Umar Hassan M., Yetisen A.K., Butt H. Wearable contact lens biosensors for continuous glucose monitoring using smartphones // *ACS Nano*. 2018. V. 12. № 6. P. 5452.  
<https://doi.org/10.1021/acsnano.8b00829>
  141. Liu H., Yu D., Zhou K., Wang Sh., Luo S., Li L., Wang W., Song Q. Novel pH-sensitive photopolymer hydrogel and its holographic sensing response for solution characterization // *Opt. Laser Technol.* 2018. V. 101. P. 257.  
<https://doi.org/10.1016/j.optlastec.2017.11.025>
  142. Liu H., Wang R., Yu D. Luo S., Li L., Wang W., Song Q. Direct light written holographic volume grating as a novel optical platform for sensing characterization of solution // *Opt. Laser Technol.* 2019. V. 109. P. 510.  
<https://doi.org/10.1016/j.optlastec.2018.08.041>
  143. Chan L.C.Z., Moghaddam G.K., Wang Z., Lowe C.R. Miniaturized pH holographic sensor for the monitoring of *Lactobacillus casei* shirota growth in a microfluidic chip // *ACS Sensors*. 2019. V. 4. № 2. P. 456.  
<https://doi.org/10.1021/acssensors.8b01470>
  144. Moghaddam G.K., Margerison H., Suzuki J. Blyth J., Lowe C.R. A transparent glucose-sensitive double polymerised holographic sensor // *Sens. Actuators B*. 2018. V. 267. P. 1.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.04.009>
  145. Крайский А.В., Постников В.А., Султанов Т.Т., Хамидулин А.В. Голографические сенсоры для диагностики компонентов растворов // *Квантовая электроника*. 2010. Т. 40. № 2. С. 178.
  146. Постников В.А., Крайский А.В., Шевченко М.А., Иванов А.В., Исмаилов И.Р. Голографические сенсоры на основе полиакриламида, модифицированного лизином, для определения состава растворов / Тез. докл. VI Респ. конф. по аналитической химии с международ. участием “Аналитика РБ-2018”. Минск, БГУ, 16–19 мая 2018. С. 217.
  147. Martinez-Hurtado J.L., Davidson C. A.B., Blyth J., Lowe C.R. Holographic detection of hydrocarbon gases and other volatile compounds // *Langmuir*. 2010. V. 26. № 19. P. 15694.  
<https://doi.org/10.1021/la102693m>
  148. Hsu Ch.-Ch., Xu Zh.-Q., Xu Yo.-Ch., Chen Yu-P., Lin Yu-H., Yeh H.-I. Hydrogen peroxide concentration measurement by an enzymatic/holographic hybrid structured sensor with polarized spectrometry // *Sens. Actuators A*. 2021. V. 322. Article 112630.  
<https://doi.org/10.1016/j.sna.2021.112630>
  149. Mouchet S.R., Tabarrant T., Lucas S., Su B.L., Vukusic P., Deparis O. Vapor sensing with a natural photonic cell // *Opt. Express*. 2016. V. 24. № 11. P. 12267.  
<https://doi.org/10.1364/OE.24.012267>

150. *Ishii M., Harada M., Tsukigase A., Nakamura H.* Three-dimensional structure analysis of opaline photonic crystals by angle-resolved reflection spectroscopy // *J. Opt. A: Pure Appl. Opt.* 2007. V. 9. № 9. P. S372.  
<https://doi.org/10.1088/1464-4258/9/9/S15>
151. *Alee K.S., Carina B.M., Sriram G., Rao D.N.* Optical characteristics of different Bragg planes of 3D polystyrene photonic crystals in the LU and LK path of the first Brillouin zone of close packed fcc structure with large band gap depth and steeper band edges // *Proc. of SPIE*. 2010. V. 8173. Article 817301-1.  
<https://doi.org/10.1117/12.897919>
152. *Alee K.S., Sriram G., Rao D.N.* Spectral and morphological changes of 3D polystyrene photonic crystals with the incorporation of alcohols // *Opt. Mater.* 2012. V. 34. № 7. P. 1077.  
<https://doi.org/10.1016/j.optmat.2012.01.002>
153. *Апяри В.В., Дмитриенко С.Г.* Применение цифрового фотоаппарата и компьютерной обработки данных для определения органических веществ с использованием диазотированного пенополиуретана // *Журн. аналит. химии*. 2008. Т. 63. № 6. С. 581. (*Apyari V.V., Dmitrienko S.G.* Using a digital camera and computer data processing for the determination of organic substances with diazotized polyurethane foams // *J. Anal. Chem.* 2008. V. 63. № 6. P. 530.)  
<https://doi.org/10.1134/S1061934808060038>
154. *Апяри В.В., Дмитриенко С.Г., Батов И.В., Золотов Ю.А.* Мини-спектрофотометр Eye-One Pro как альтернатива спектрометру диффузного отражения // *Журн. аналит. химии*. 2011. Т. 66. № 2. С. 148. (*Apyari V.V., Dmitrienko S.G., Batov I.V., Zolotov Yu.A.* An Eye-One Pro mini-spectrophotometer as an alternative to diffuse reflectance spectrometer // *J. Anal. Chem.* 2011. V. 66. № 2. P. 144.)  
<https://doi.org/10.1134/S1061934811020043>
155. *Большаков Е.С., Иванов А.В., Козлов А.А., Абдуллаев С.Д.* Сенсор на основе фотонного кристалла для обнаружения паров бензола, толуола и *o*-ксилола // *Журн. физ. химии*. 2018. Т. 92. № 8. С. 1283. (*Bol'shakov E.S., Ivanov A.V., Kozlov A.A., Abdullaev S.D.* Photonic crystal sensors for detecting vapors of benzene, toluene, and *o*-xylene // *Russ. J. Phys. Chem. A*. 2018. V. 92. № 8. P. 1530.)  
<https://doi.org/10.1134/S0036024418080083>  
<https://doi.org/10.7868/S0044453718080137>
156. *Milić N., Novaković D., Kašiković N.* Measurement uncertainty in colour characterization of printed textile materials // *J. Graphic Eng. Design*. 2011. V. 2. № 2. P. 16.
157. *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.)  
<https://doi.org/10.1134/S1061934818110060>  
<https://doi.org/10.1134/S0044450218110063>
158. *Иванов А.В., Большаков Е.С., Апяри В.В., Козлов А.А., Горбунова М.В., Абдуллаев С.Д.* Аналитический отклик сенсорных матриц на основе фотонных кристаллов: измерение диффузного отражения // *Журн. аналит. химии*. 2019. Т. 74. № 2. С. 154. (*Ivanov A.V., Bol'shakov E.S., Apyari V.V., Kozlov A.A., Gorbunova M.V., Abdullaev S.D.* Analytical response of sensor arrays based on photonic crystals: measurements of diffuse reflectance // *J. Anal. Chem.* V. 74. № 2. P. 198.)  
<https://doi.org/10.1134/S1061934819020072>  
<https://doi.org/10.1134/S0044450219020075>
159. *Большаков Е.С., Иванов А.В., Гармаш А.В., Самохин, А.С., Козлов А.А., Золотов Ю.А.* Комплексный подход к мониторингу летучих органических соединений сенсорными фотонно-кристаллическими матрицами // *Журн. неорг. химии*. 2021. Т. 66. № 2. С. 220. (*Bol'shakov E.S., Ivanov A.V., Garmash A.V., Samokhin A.S., Kozlov A.A., Zolotov Yu.A.* Integrated approach to monitoring volatile organic compounds by photonic-crystal sensor matrices // *Russ. J. Inorg. Chem.* 2021. V. 66. № 2. P. 217.)  
<https://doi.org/10.1134/S0036023621020030>  
<https://doi.org/10.31857/S0044457X21020033>
160. *Lai C.F., Wang Y.C., Wu C.L., Zeng J.Y., Lin C.F.* Preparation of a colloidal photonic crystal containing CuO nanoparticles with tunable structural colors // *RSC Adv.* 2015. V. 5. № 127. Article 105200.  
<https://doi.org/10.1039/C5RA21035F>
161. *Kushnir S.E., Napolskii K.S.* Thickness-dependent iridescence of one-dimensional photonic crystals based on anodic alumina // *Mater. Des.* 2018. V. 144. P. 140.  
<https://doi.org/10.1016/j.matdes.2018.02.012>
162. *Kim Y., Yoo Y., Kang M., Ko J., Park M., Yoo D., Lee D., Kim K., Kang I., Song Y.* Mechanotunable optical filters based on stretchable silicon nanowire arrays // *Nanophotonics*. 2020. Article 20200062.  
<https://doi.org/10.1515/nanoph-2020-0062>
163. *Kawamura A., Kohri M., Morimoto G., Nannichi Y., Taniguchi T., Kishikawa K.* Full-color biomimetic photonic materials with iridescent and non-iridescent structural colors // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. № 1. P. 1.  
<https://doi.org/10.1038/srep33984>
164. *Zhang J.-T., Cai Zh., Kwak D.H., Liu Xi., Asher A.S.* Two-dimensional photonic crystal sensors for visual detection of lectin concanavalin A // *Anal. Chem.* 2014. V. 86. № 18. P. 9036.  
<https://doi.org/10.1021/ac5015854>
165. *Prevo B.G., Velev O.D.* Controlled, rapid deposition of structured coatings from micro- and nanoparticle suspensions // *Langmuir*. 2004. V. 20. № 6. P. 2099.  
<https://doi.org/10.1021/la035295j>
166. *Chen Ch., Dong Zh.-Q., Shen J.-H., Chen H.-W., Zhu Yi-H., Zhu Zhi-G.* 2D photonic crystal hydrogel sensor for tear glucose monitoring // *ACS Omega*. 2018. V. 3. P. 3211.  
<https://doi.org/10.1021/acsomega.7b02046>
167. *Coukouma A.E., Smith N.L., Asher S.A.* Removable interpenetrating network enables highly-responsive 2-D photonic crystal hydrogel sensors // *Analyst*. 2015. V. 140. № 19. P. 6517.  
<https://doi.org/10.1039/C5AN01204J>
168. *Cai Zh., Kwak D.H., Punihale D., Hong Zh., Velankar S.S., Liu X., Asher S. A.* A photonic crystal protein hydrogel sensor for *Candida albicans* // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015 V. 54. № 44. P. 13036.  
<https://doi.org/10.1002/anie.201506205>
169. *Akhmadeev A.A., Salakhov M.K.* A new approach of recognition of ellipsoidal micro-and nanoparticles on AFM images and determination of their sizes // *Meas. Sci. Technol.* 2016. V. 27. № 10. Article 105402.  
<https://doi.org/10.1088/0957-0233/27/10/105402>

УДК 542.61, 543.054, 543.422.3

## ЭКСТРАКЦИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПИЩЕВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ В ДВУХФАЗНОЙ ВОДНОЙ СИСТЕМЕ НА ОСНОВЕ БРОМИДА ТЕТРАБУТИЛАММОНИЯ

© 2022 г. К. А. Лысковцева<sup>а</sup>, Г. Б. Эльдяева<sup>а</sup>, С. В. Смирнова<sup>а, \*</sup>, И. В. Плетнев<sup>а</sup><sup>а</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет  
Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, 119991 Россия

\*e-mail: sv\_v\_smirnova@mail.ru

Поступила в редакцию 19.01.2022 г.

После доработки 01.02.2022 г.

Принята к публикации 01.02.2022 г.

Двухфазная водная система (ДФВС) на основе бромид тетрабутиламмония (ТБАВr) с сульфатом аммония в качестве высаливателя использована для извлечения синтетических пищевых красителей из водных растворов. Оптимизированы условия получения ДФВС ТБАВr–H<sub>2</sub>O–(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> для микроэкстракционного концентрирования Красного очаровательного, Тартразина, Азорубина, Желтого “солнечный закат”, Зеленого прочного: 0.075 М бромид тетрабутиламмония и 33 мас. % сульфата аммония. Степень извлечения всех красителей составила не менее 97% при pH 2.3–9.5 за 1 мин. Для облегчения разделения фаз и отделения экстракта использовали фильтрование через нетканый полипропилен. Концентрат элюировали дистиллированной водой и проводили спектрофотометрическое определение красителей в элюате. Пределы обнаружения составили 0.02, 0.03, 0.03, 0.04 и 0.02 мг/л для Красного очаровательного, Азорубина, Тартразина, Желтого “солнечный закат” и Зеленого прочного соответственно. Методика применена для определения красителей в напитках, ополаскивателе для полости рта, пасхальном наборе для окрашивания яиц, лекарственном препарате “Ибупрофен”.

**Ключевые слова:** двухфазные водные системы, бромид тетрабутиламмония, пищевые красители, нетканый полипропилен, экстракция.

DOI: 10.31857/S0044450222100103

Синтетические красители широко применяют в пищевой промышленности для придания, усиления или восстановления цвета различных продуктов. Повсеместное использование и негативное влияние синтетических красителей на организм человека обуславливают необходимость контроля их содержания [1–3]. Основная сложность, с которой сталкиваются при определении красителей, – это неколичественное извлечение из сложных матриц и необходимость предварительного концентрирования. Для извлечения красителей из продуктов питания обычно применяют жидкостно-жидкостную экстракцию, экстракцию в точке помутнения, ультразвуковую [4–6], а также твердофазную экстракцию [4–8]. Большинство методов извлечения красителей требует использования органических растворителей [9–11], обладающих такими недостатками, как летучесть, воспламеняемость, токсичность, канцерогенность. В связи с этим востребованы экологически безопасные экстракционные системы, не содержащие органических растворителей, на основе ионных жидкостей [12–17], глубоких эв-

тектических растворителей [18–21] или двухфазные водные системы (ДФВС) [22].

Для экстракции гидрофильных и ионизирующихся соединений, в том числе и красителей, особенно перспективны двухфазные водные системы жидкость–жидкость с высоким содержанием воды в экстрагирующей фазе. Для образования ДФВС на основе водорастворимых полимеров, поверхностно-активных веществ, гидрофильных растворителей, ионных жидкостей и органических солей обычно необходимо введение высаливателя, изменение температуры или pH [12, 23–27]. Помимо низкой летучести очевидным достоинством ДФВС на основе органических солей является высокая полярность экстрагирующей фазы и способность к ионному обмену.

Синтетические сульфосодержащие красители присутствуют в водном растворе в виде многозарядных анионов, поэтому их обычно экстрагируют в органические растворители (хлороформ, толуол, *n*-бутанол, 1-гексанол/изооктан) в виде ионных ассоциатов с гидрофобными противоио-

нами, используя четвертичные соли аммония: бромид и гидросульфат тетрабутиламмония, бромид октадецилтриметиламмония, хлориды триоктилметиламмония и цетилтриметиламмония [11, 28–31]. Межгосударственный стандарт ГОСТ 33457-2015 для анализа продуктов переработки фруктов и овощей включает метод качественного определения синтетических красителей (Амарант, Азорубин, Желтый “солнечный закат”, Тартразин, Красный очаровательный, Красный 2Ж и др.), основанный на ион-парной экстракции в хлороформ в присутствии бромида тетрабутиламмония [32]. Однако получить двухфазную систему жидкость–жидкость на основе соли четвертичного аммония можно и в отсутствие органического растворителя, смешивая соль с водой. Так, при контакте бромида тетрагексиламмония с водой образуются две несмешивающиеся жидкие фазы [33], причем для образования двухфазной системы не требуется введение высаливателя или каких-либо других воздействий. Количественная экстракция красителей (Красный очаровательный, Красный 2Ж, Азорубин, Зеленый прочный) достигается в ДФВС на основе бромида тетрагексиламмония за 1 мин [34].

Некоторые соли четвертичного аммония образуют ДФВС в присутствии высаливателей, в частности бромид тетрабутиламмония (ТБАВг). Эта органическая соль, хорошо растворимая в воде, с температурой плавления 99–100°C занимает пограничное положение между обычными солями и ионными жидкостями [33]. При добавлении к водному раствору ТБАВг достаточного количества высаливателя растворимость ТБАВг резко понижается, что приводит к отделению жидкой фазы, обогащенной ТБАВг. В качестве высаливателей можно применять  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{K}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$  [35–37], а также  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  [36] и  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{K}_3\text{PO}_4$  [38]. Двухфазные водные системы на основе ТБАВг с сульфатом аммония использовали для количественной экстракции ионов металлов [25, 35, 37]. В работе [39] показана возможность применения этой системы в микрофлюидном устройстве для экстракции метилового оранжевого (степень извлечения не более 55%). Описано применение подобных ДФВС на основе хлорида тетрабутиламмония с цитратом калия [40] или малатом натрия [41] в качестве высаливателей для экстракции кофеина, карбамазепина и нестероидных противовоспалительных препаратов.

Нами показано [25], что ДФВС на основе ТБАВг может быть получена в широком диапазоне концентраций фазообразующих компонентов. Оптимальный выбор соотношения концентраций компонентов и объемов образующихся фаз ДФВС может обеспечить возможность концентрирования красителей из большого объема ана-

лизируемой пробы в малый объем экстракта с высокими коэффициентами концентрирования. Высокое содержание воды в ТБАВг-обогащенной фазе, способность системы к ионному обмену создают условия для эффективного извлечения гидрофильных ионизирующихся соединений, таких как анионные красители.

Цель настоящей работы – изучение возможности применения ДФВС ТБАВг– $\text{H}_2\text{O}$ – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  для микроэкстракционного концентрирования синтетических пищевых красителей Тартразин (E102), Азорубин (E122), Красный очаровательный (E129), Желтый “солнечный закат” (E110), Зеленый прочный (E143) и их определения в напитках, жидких средах и других объектах.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Реагенты, растворы, оборудование.** Использовали Тартразин (85%, Sigma, США), Азорубин (50%, Aldrich, КНР), Красный очаровательный (80%, Sigma-Aldrich, Индия), Желтый “солнечный закат” (90%, Aldrich, Индия), Зеленый прочный FCF ( $\geq 85\%$ , Sigma-Aldrich, Индия), бромид тетрабутиламмония (ТБАВг) (99+%, Acros Organics, Индия), сульфат аммония (97%, РусХим, Россия), соляную кислоту 37%-ную, Reag. USP (Panreac, Германия), гидроксид натрия (98%, Panreac, Германия). Структурные формулы синтетических пищевых красителей, используемых в работе, представлены на схеме 1.

Исходные растворы красителей ( $5.0 \times 10^{-2}$  М) готовили растворением точных навесок в дистиллированной воде. Все рабочие растворы готовили ежедневно, разбавляя исходный раствор дистиллированной водой. Растворы реагентов и красителей хранили при +4°C в недоступном для солнечного света месте. Для сбора и отделения экстракта использовали нетканый полипропилен (НПП) (протирачный материал, Kimberly-Clark Kimtech Pure W4, США).

Спектры поглощения получали на двухлучевом спектрофотометре U-2900 UV-VIS (Hitachi, Япония) с использованием кювет с длиной оптического пути  $l = 1$  см. Значения pH измеряли на pH-метре модели 410 (Аквилон, Россия) с комбинированным стеклянным микроэлектродом ELSK-13.7. Использовали центрифугу Hettich EBA-20 (Tuttlingen, Германия). Для взвешивания веществ использовали аналитические весы ViBRA HT (Shinko Denshi, Япония). Механическое перемешивание растворов осуществляли на орбитальном шейкере ELMi S-3 (ELMI, Латвия). Содержание воды в экстрактах определяли титрованием по методу Карла Фишера с помощью титратора 870 KF Titrino plus (Metrohm, Швейцария).

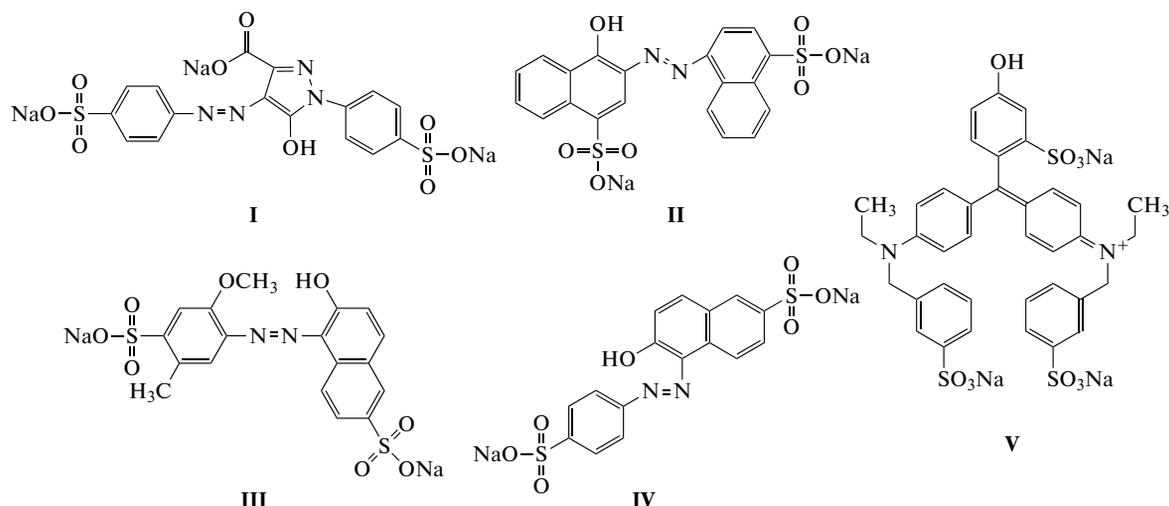


Схема 1. Структурные формулы синтетических пищевых красителей: Тартразин (I), Азорубин (II), Красный очаровательный (III), Желтый “солнечный закат” (IV), Зеленый прочный (V).

Для определения границы области фазового расслоения в системе ТБАВг–H<sub>2</sub>O–(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (21 ± 2°С) методом изотермического титрования готовили исходные растворы фазообразующих компонентов с концентрациями  $c_{\text{ТБАВг, исх}} = 1.00$  М и  $c_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4, \text{ исх}} = 3.93$  М (44 мас. %) растворением точных навесок ( $\pm 10^{-4}$  г) в дистиллированной воде. Двухфазные системы, полученные смешением исходных растворов ТБАВг и (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> в объемных соотношениях  $V_{\text{ТБАВг}} : V_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4}$  от 3 : 1 до 1 : 99, общий объем 10.0 мл, титровали дистиллированной водой при постоянном перемешивании магнитной мешалкой до исчезновения опалесценции. Точку однофазности системы (прозрачный раствор) фиксировали визуально [42]. Отмечали объем воды ( $V_{\text{H}_2\text{O}}$ ), потраченный на титрование, и рассчитывали концентрации  $c_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4, \text{ ктт}}$  и  $c_{\text{ТБАВг, ктт}}$  в конечной точке титрования по следующим формулам:

$$c_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4, \text{ ктт}} = \frac{c_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4, \text{ исх}} V_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4}}{V_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4} + V_{\text{ТБАВг}} + V_{\text{H}_2\text{O}}};$$

$$c_{\text{ТБАВг, ктт}} = \frac{c_{\text{ТБАВг, исх}} V_{\text{ТБАВг}}}{V_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4} + V_{\text{ТБАВг}} + V_{\text{H}_2\text{O}}}.$$

Содержание компонентов в рассчитанных точках отвечает соответствующим точкам на бинальной кривой.

**Получение двухфазных водных систем и экстракция красителей.** Для получения ДФВС и изучения экстракции красителей в пластиковую пробирку вносили 3.0 мл раствора сульфата аммония с концентрацией от 30 до 47 мас. %, добавляли 0.4 мл  $5.0 \times 10^{-4}$  М раствора красителя ( $1.0 \times 10^{-4}$  М для Зеленого прочного), 0.4 мл дистиллированной воды или растворов HCl или NaOH

для создания нужного значения pH, 0.2 мл 1.5 М раствора бромида тетрабутиламмония. Пробирки встряхивали в течение 1 мин. Для разделения фаз содержимое пробирки фильтровали через стеклянную воронку, горлышко которой заполняли нетканым полипропиленом. При этом водная фаза свободно проходила через НПП, а фаза, обогащенная бромидом тетрабутиламмония с извлеченным красителем, удерживалась на фильтре. Измеряли равновесное значение pH водной фазы и использовали ее для спектрофотометрического определения остаточного содержания красителей по собственному поглощению при длине волны максимального поглощения 503, 516, 426, 481, 624 нм для Красного очаровательного, Тартразина, Азорубина, Желтого “солнечный закат”, Зеленого прочного соответственно. При определении красителей в объектах экстракт смывали с НПП 2.0 мл дистиллированной воды и проводили спектрофотометрическое определение красителей в элюате.

Степень извлечения красителей ( $R$ , %) рассчитывали по формуле:

$$R = \frac{c_{\text{B}}^0 V_{\text{B}}^0 - c_{\text{B}} V_{\text{B}}}{c_{\text{B}}^0 V_{\text{B}}^0},$$

где  $c_{\text{B}}^0$ ,  $c_{\text{B}}$  – начальная и конечная (равновесная) концентрации красителя в водной фазе соответственно, М;  $V_{\text{B}}^0$ ,  $V_{\text{B}}$  – начальный и конечный объемы водной фазы соответственно, мл.

**Экстракционно-фотометрическое определение красителей в напитках, жидких средах и других объектах.** Красители Красный очаровательный, Желтый “солнечный закат” и Зеленый прочный определяли в напитках “Lifeline”, “Mirinda” и ополаскивателе “Listerine” без предварительной

пробоподготовки, объемы аликвот составили 1.0, 1.0 и 0.5 мл соответственно. Для определения Азорубина и Тартразина в пасхальном наборе растворяли 100 мг образца, содержащего Азорубин (или Тартразин) в 100.0 мл дистиллированной воды, объем аликвоты — 10.0 мл.

Для определения красителя в пластиковую пробирку емк. 15 мл вводили аликвоту анализируемого образца (1.0–10.0 мл), дистиллированную воду до суммарного объема 10.0 мл. Добавляли 4.5 г сульфата аммония и 0.5 мл 1.5 М раствора ТБАВг. Пробирки встряхивали в течение 1 мин, разделяли фазы фильтрованием через воронку, наполненную НПП. Экстракт, удерживаемый на полипропиленовом фильтре, элюировали 2.0 мл дистиллированной воды. Регистрировали спектры поглощения элюата и измеряли оптическую плотность в максимуме поглощения. Содержание красителя рассчитывали по градуировочным зависимостям.

При определении Азорубина в оболочке лекарственного препарата “Ибупрофен” объем водной фазы уменьшили до 4.0 мл из-за низкого содержания красителя. Концентрации фазообразующих компонентов соответствовали оптимальным для получения ДФВС и количественной экстракции ( $c_{\text{ТБАВг}} = 0.075 \text{ М}$ ,  $c_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4} = 33 \text{ мас. \%}$ ). К одной таблетке препарата добавляли 4.0 мл дистиллированной воды, после растворения оболочки водный раствор отделяли декантацией. После центрифугирования в течение 5 мин при 4000 об/мин и отделения нерастворимого остатка отбирали аликвоту 2.0 мл и вносили навеску 1.2 г сульфата аммония, 0.5 мл раствора 1.5 М ТБАВг, доводили дистиллированной водой до объема 4.0 мл. Экстракцию красителей проводили аналогично процедуре, описанной выше.

**Подготовка полосок нетканого полипропилена.** Нетканый полипропилен промывали дистиллированной водой, а затем сушили при комнатной температуре. Лист НПП разрезали на полоски одинакового размера (20 × 30 мм) и массы (50 ± 1 мг). Затем скручивали полоску НПП и помещали в горлышко стеклянной воронки.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Условия образования двухфазной водной системы.** Двухфазная водная система на основе бромид-тетрабутиламмония и неорганической соли образуется вследствие высаливающего эффекта при смешении в определенных соотношениях фазообразующих компонентов. Для высаливания эффективны соли с многозарядными анионами. Способность натриевых солей к высаливанию бромид-тетрабутиламмония соответствует ряду Гофмейстера:  $\text{PO}_4^{3-} \gg \text{HPO}_4^{2-} > \text{CO}_3^{2-} > \text{SO}_4^{2-} > \text{H}_2\text{PO}_4$  [36], наиболее эффективны ионы с высокой плот-

ностью заряда, например фосфат-ион. Следует отметить, что в результате применения разных высаливателей значения рН в сосуществующих фазах двухфазной системы оказываются различными. При использовании фосфатов и карбонатов расслоение происходит в щелочной области. При уменьшении рН способность системы к расслоению снижается, что связано с протонированием анионов и уменьшением заряда и, как следствие, снижением высаливающего действия [43]. В кислой среде возможно осаждение солей (высаливателей) за счет снижения растворимости.

В качестве агента, вызывающего расслаивание фаз, использовали сульфат аммония, позволяющий высаливать ТБАВг в широкой области рН. Растворимость сульфата аммония почти в три раза выше растворимости сульфата натрия [44], что может способствовать высаливанию бромид-тетрабутиламмония из его водных растворов с меньшими концентрациями.

Образование ДФВС ТБАВг–H<sub>2</sub>O–(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> происходит в широком диапазоне концентраций фазообразующих компонентов. Объемное соотношение сосуществующих фаз зависит от состава системы. Варьирование концентраций ТБАВг и (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> позволяет менять соотношение объемов фаз ДФВС. При уменьшении концентрации ТБАВг и увеличении содержания высаливателя в системе уменьшается объем экстрагирующей фазы.

Для исследования возможности применения ДФВС для микроэкстракционного концентрирования определили границу области фазового расслоения при высоких концентрациях сульфата аммония (до 3.5 М или 38 мас. %). Границы области фазового расслоения при (21 ± 2)°С представлены на рис. 1. Бинодальная кривая отделяет область концентраций компонентов, образующих две несмешивающиеся водные фазы L<sub>1</sub> + L<sub>2</sub> (выше кривой), от однофазной области L (на кривой и ниже). Расслаивание в системе происходит самопроизвольно и быстро после смешения компонентов. Образующиеся фазы являются прозрачными, легкоподвижными жидкостями.

Из сравнения полученной бинодали с данными работы [36] следует, что количество сульфата натрия, необходимое для высаливания бромид-тетрабутиламмония, несколько меньше по сравнению с количеством сульфата аммония. Например, для высаливания ТБАВг из 0.55 М водного раствора требуется 0.89 М раствор Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> или 1.15 М раствор (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Тем не менее граница области расслоения расширяется при использовании сульфата аммония в части диаграммы, соответствующей высокому содержанию неорганической соли. Применение сульфата аммония в качестве компонента, вызывающего расслаивание фаз, позволяет высаливать бромид-тетрабутиламмония из его водных растворов с концентра-

цией до 0.009 М (при содержании сульфата аммония 3.5 М или 38 мас. %, рис. 1). В работе [36] бромид тетрабутиламмония высаливали из его водных растворов с содержанием не ниже 0.119 М (или 0.1226 моль/кг) при содержании сульфата натрия до 20 мас. % (1.56 М или 1.7762 моль/кг), что близко к растворимости сульфата натрия в воде [44].

Для выбора условий экстракционного концентрирования изучали влияние содержания сульфата аммония и бромида тетрабутиламмония на соотношение объемов разделяющихся фаз и на эффективность экстракции красителей.

Для извлечения красителей из небольших объемов водных растворов (до 10 мл) выбирали условия получения ДФВС, варьируя концентрации фазообразующих компонентов. Установили, что при концентрации ТБАВг 0.188 М образование ДФВС ТБАВг–Н<sub>2</sub>О–(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> происходит при содержании сульфата аммония > 22 мас. % (рис. 2). Количественная экстракция всех исследуемых красителей достигается при содержании (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ≥ 29 мас. %. В этих условиях степень извлечения составила более 97% для всех красителей (рис. 2). При содержании сульфата аммония более 29 мас. % объем ТБАВг-обогащенной фазы оставался постоянным и составлял 0.28 ± 0.02 мл. При уменьшении содержания сульфата аммония в системе до 25 мас. % и ниже объем экстракта уменьшался, а при концентрации высаливателя ниже 20 мас. % разделение системы на две фазы не происходило. В дальнейших исследованиях ДФВС получали при содержании сульфата аммония 33 мас. % (2.97 моль/л).

Концентрацию ТБАВг, оптимальную для образования ДФВС и обеспечивающую количественную экстракцию красителей, варьировали в диапазоне 0.019–0.188 М, добавляя 0.05–0.5 мл 1.5 М раствора ТБАВг. Общий объем ДФВС составлял 4.0 мл, содержание (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 33 мас. %. Установили, что при содержании 0.019 М ТБАВг система остаётся однофазной, однако уже при концентрации 0.038 М ТБАВг происходит образование микрокапель новой фазы, а при увеличении концентрации ТБАВг до 0.056 М экстракция красителей протекает количественно; однако объем экстракта слишком мал для точного измерения и получения воспроизводимых результатов (рис. 3).

Для работы в режиме микроэкстракции использовали минимально возможное содержание ТБАВг в системе 0.075 М, обеспечивающее количественную экстракцию красителей и удовлетворительную воспроизводимость результатов; при этом объем верхней отделившейся ТБАВг-обогащенной фазы составил 70 ± 5 мкл, а объем фазы, обогащенной сульфатом аммония, – 3.93 ± 0.01 мл. Таким образом, соотношение объемов водной и

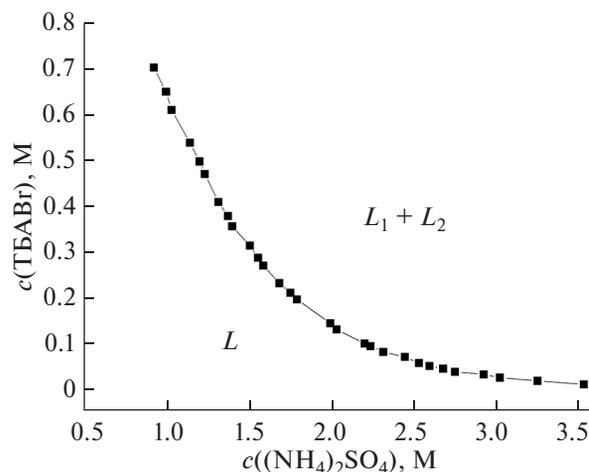
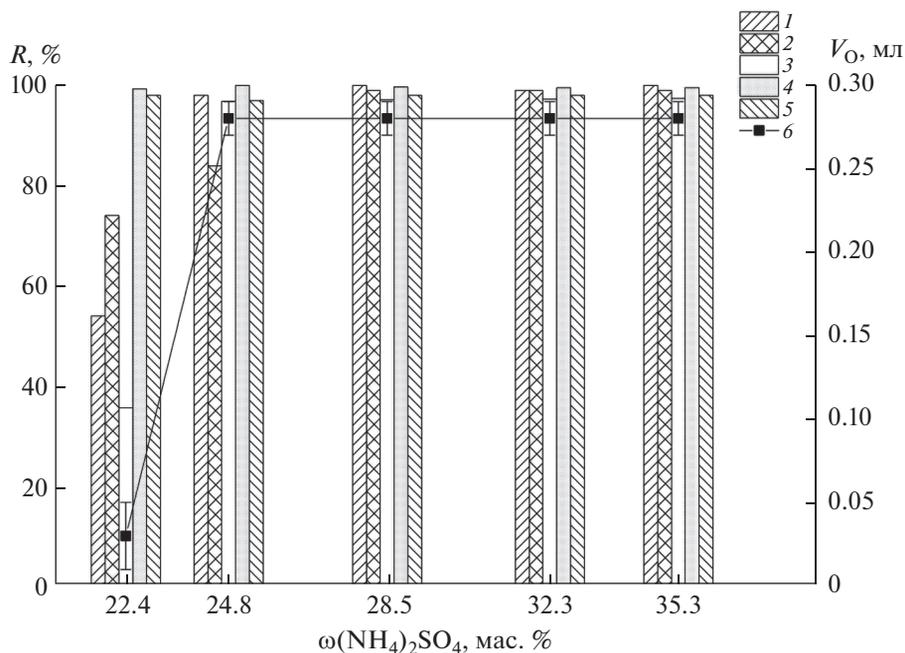


Рис. 1. Границы области фазового расслоения в системе бромид тетрабутиламмония–Н<sub>2</sub>О–(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (21°С).

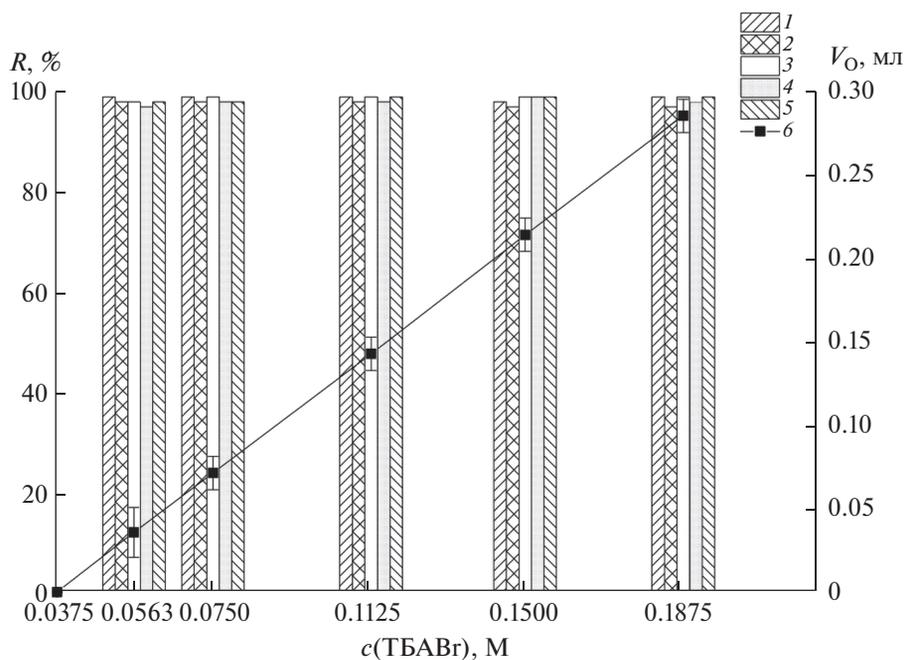
органической фаз составило 56 : 1, что значительно выше, чем в ряде работ по экстракции в ДФВС на основе бромида тетрабутиламмония [35, 37, 39].

**Выбор условий экстракции красителей в двухфазной водной системе.** Азорубин, Красный очаровательный, Тартразин, Желтый “солнечный закат”, Зеленый прочный являются водорастворимыми сульфосоединениями, ионное состояние которых зависит от рН. Установлено, что красители экстрагируются количественно в ДФВС ТБАВг–Н<sub>2</sub>О–(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> в широком диапазоне рН от 2.3 до 9.5 (рис. 4а), где они существуют в виде разно- и многозарядных анионов, т.е. ионное состояние не влияет на степень извлечения красителей: трех- и четырехзарядные анионы извлекаются так же эффективно, как и однозарядные. Экстракция многозарядных ионов несвойственна традиционным экстракционным системам с молекулярными растворителями. Уменьшение степени извлечения с увеличением заряда ионов красителей отмечали и в системах на основе оксиэтилированных неионных поверхностно-активных веществ [26].

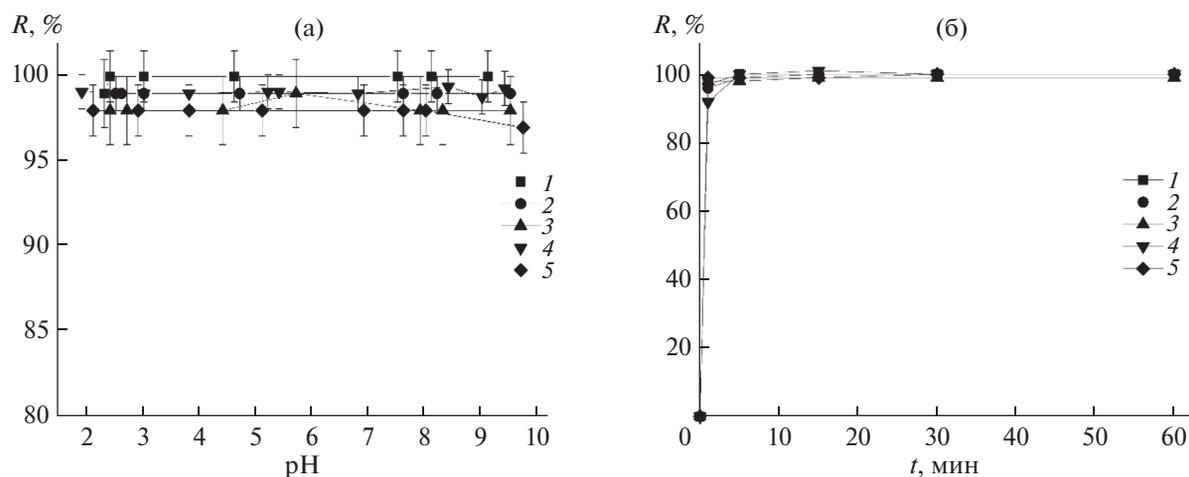
Поскольку в исследуемой области рН красители существуют в виде многозарядных анионов, логично предположить анионообменный механизм экстракции в системе ТБАВг–Н<sub>2</sub>О–(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: обмен аниона красителя на бромид-ионы в результате конкуренции за катион тетрабутиламмония ТБА<sup>+</sup>. Экстрагирующая фаза ДФВС содержит в качестве основного фазообразующего компонента гидрофобный катион тетрабутиламмония, который может выполнять функцию противоиона при экстракции анионных форм красителя. Кроме того, на эффективности экстракции красителя в системе ТБАВг–Н<sub>2</sub>О–



**Рис. 2.** Зависимость степени извлечения красителей и объема отделившейся фазы, обогащенной бромидом тетрабутиламмония, от содержания сульфата аммония в двухфазной водной системе;  $c_{\text{ТБАВr}} = 0.188 \text{ M}$ , pH 5.2–5.9. 1 – Красный очаровательный, 2 – Азурubin, 3 – Тартразин, 4 – Желтый “солнечный закат”, 5 – Зеленый прочный, 6 – объем отделившейся фазы, обогащенной бромидом тетрабутиламмония.



**Рис. 3.** Зависимость степени извлечения красителей и объема отделившейся фазы, обогащенной бромидом тетрабутиламмония, от концентрации бромида тетрабутиламмония в двухфазной водной системе;  $c_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4} = 33 \text{ мас. \%}$ , pH 5.2–5.9. 1 – Красный очаровательный, 2 – Азурubin, 3 – Тартразин, 4 – Желтый “солнечный закат”, 5 – Зеленый прочный, 6 – объем отделившейся фазы, обогащенной бромидом тетрабутиламмония.



**Рис. 4.** Зависимость степени извлечения красителей от pH (а) и времени контакта фаз (б).  $c_{\text{ТБАВг}} = 7.5 \times 10^{-2}$  М,  $c_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4} = 33$  мас. %,  $V_{\text{в}}/V_0 = 56$ . 1 – Красный очаровательный, 2 – Азорубин, 3 – Тартразин, 4 – Желтый “солнечный закат”, 5 – Зеленый прочный.

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  положительно сказывается, по-видимому, высокое содержание воды в экстрагирующей ТБАВг-обогащенной фазе: 36.7 мас. % или 0.91 м.д. (при концентрации 0.075 М ТБАВг в исходном растворе и 33 мас. %  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , установлено титрованием по Карлу Фишеру). Содержание воды в этой фазе практически не изменяется в диапазоне pH от 3 до 8. Вероятно, перенос высокогидрофильных/гидратированных соединений из водной в экстрагирующую фазу с высоким содержанием воды в этом случае не требует существенной дегидратации экстрагируемых соединений.

Независимость степени извлечения от состояния ионизации растворенного вещества в водной фазе наблюдали ранее для двухфазной системы бромид тетрагексиламмония–вода [34], а также в системах на основе гидрофильно-гидрофобных ионных жидкостей [45]. Для всех этих систем характерно высокое содержание воды (не ниже 68 мол. %) в экстрагирующей фазе [34, 45] и количественная экстракция гидрофильных соединений.

Установлено, что красители Красный очаровательный, Азорубин, Тартразин, Желтый “солнечный закат”, Зеленый прочный экстрагируются количественно в диапазоне концентраций от  $1 \times 10^{-5}$  М до  $1 \times 10^{-2}$  М; степень извлечения не ниже 98% при pH 5.2–5.9. Как видно из рис. 4б, извлечение 99% и более достигается через 5 мин. Довольно высокие степени извлечения 92–98% наблюдали для всех красителей при времени контакта фаз 1 мин. Высокая скорость экстракции выгодно отличает систему ТБАВг– $\text{H}_2\text{O}$ – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  от экстракционных систем, в которых количественная экстракция достигается при более длитель-

ном контакте фаз или при более высокой температуре [26, 28, 46].

Высокое объемное соотношение водной и органической фаз позволяет реализовать высокий коэффициент концентрирования. Однако существенной проблемой является отделение экстракта малого объема, обладающего низкой вязкостью и плотностью ниже, чем у воды, от водной фазы для дальнейшего анализа. Для отделения и сбора экстракта малого объема проводили фильтрование пробы через стеклянную воронку, горлышко которой плотно заполняли нетканым полипропиленом [25], который пропускал воду, но удерживал “органическую” фазу. Процедура фильтрования занимала не более 30 с и позволила избежать стадии центрифугирования. Высокая пористость, обусловленная наличием пустот между волокнами материала, олеофильные и гидрофобные свойства материала обеспечивают удержание экстракта, в то время как водная фаза свободно (не требуется давление или вакуум) проходит через фильтр из НПП.

Поскольку экстракт хорошо растворяется в воде, не содержащей высаливателя, после разделения фаз его смывали с полипропиленового фильтра 2.0 мл дистиллированной воды. Такой объем элюента обеспечивал количественное извлечение красителей с полипропиленового фильтра и являлся оптимальным для последующего спектрофотометрического определения.

**Определение красителей в напитках, жидких средах и в оболочке лекарственного препарата.** Выбранные условия экстракции красителей в ДФВС ТБАВг– $\text{H}_2\text{O}$ – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ( $c_{\text{ТБАВг}} = 7.5 \times 10^{-2}$  М,  $c_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4} = 33$  мас. %) использовали для их экстракционно-фотометрического определения.

**Таблица 1.** Аналитические характеристики спектрофотометрического определения красителей после экстракции в двухфазной водной системе бромид тетрабутиламмония— $\text{H}_2\text{O}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ( $n = 3$ ,  $P = 0.95$ )

Краситель	Уравнение градуировочной зависимости $A = ac$ (мг/л) + $b$	$\lambda$ , нм	Диапазон линейности, мг/л	Коэффициент корреляции ( $r$ )	$c_{\text{мин}}$ , мг/л
Красный очаровательный	$A = (157 \pm 4) \times 10^{-3}c + (0.02 \pm 0.01)$	496	0.05–7.5	0.9976	0.02
Азорубин	$A = (124 \pm 3) \times 10^{-3}c + (0.03 \pm 0.01)$	519	0.05–7.5	0.9967	0.03
Тартразин	$A = (197 \pm 3) \times 10^{-3}c + (0.03 \pm 0.01)$	426	0.05–8.0	0.9991	0.03
Желтый “солнечный закат”	$A = (221 \pm 6) \times 10^{-3}c + (0.05 \pm 0.02)$	481	0.02–4.5	0.9973	0.04
Зеленый прочный	$A = (507 \pm 6) \times 10^{-3}c + (0.03 \pm 0.01)$	609	0.01–2.0	0.9995	0.02

Поскольку для создания ДФВС требуется добавление значительного объема концентрированного раствора высаливателя  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , при определении красителей в объектах сульфат аммония добавляли в твердом виде (точную навеску) в количестве, соответствующем условию образования ДФВС и обеспечивающем количественную экстракцию.

Для построения градуировочных зависимостей и определения красителей в пластиковые пробирки емк. 15 мл помещали аликвоту 1.0 мл стандартного раствора красителя (или 1.0–10.0 мл анализируемого образца), добавляли дистиллированную воду. Суммарный объем составлял 10.0 мл. Добавляли 4.5 г сульфата аммония и 0.5 мл 1.5 М раствора ТВАВг. Пробирки встряхивали в течение 1 мин, затем разделяли фазы фильтрованием через воронку, наполненную НПП. Экстракт, удерживаемый на полипропиленовом фильтре, элюировали 2.0 мл дистиллированной воды. Регистрировали спектры поглощения элюата и измеряли оптическую плотность в максимуме поглощения. Аналогичную процедуру выполняли для холостых растворов.

Характеристики методики экстракционно-фотометрического определения красителей (уравнение градуировочных зависимостей, диапазон линейности, предел обнаружения  $c_{\text{мин}}$ ) представлены в табл. 1. Градуировочные зависимости для каждого красителя строили как зависимости оптической плотности органической фазы (экстракта, разбавленного водой, или элюата) от концентрации красителя (мг/л) при 503, 519, 426, 481 и 609 нм для Красного очаровательного, Азорубина, Тартразина, Желтого “солнечный закат” и Зеленого прочного соответственно. Пределы обнаружения рассчитывали по  $3s$ -критерию. Относительное стандартное отклонение, полученное для трех повторных экспериментов ( $n = 3$ ,

$P = 0.95$ ), при концентрации красителей 1.0 мг/л составило 0.03, 0.04, 0.05, 0.04, 0.05 для Красного очаровательного, Азорубина, Тартразина, Желтого “солнечный закат” и Зеленого прочного соответственно.

Красители Красный очаровательный, Желтый “солнечный закат”, Зеленый прочный, Азорубин и Тартразин определяли в напитках “Lifeline” и “Mirinda”, ополаскивателе “Listerine”, пасхальном наборе, лекарственном препарате “Ибупрофен” (составы исследуемых объектов, заявленные производителем, представлены в табл. 2). Условия пробоподготовки всех исследуемых объектов описаны в “Экспериментальной части” и в табл. 2.

Исследовали мешающее влияние сахарозы, аскорбиновой и лимонной кислот, обычно содержащихся в различных пищевых продуктах и напитках в больших количествах, на экстракцию красителей при соотношении молярных концентраций красителя и мешающего компонента от 1 : 1 до 1 : 1000. Установили, что даже при 1000-кратном избытке мешающего компонента по отношению к красителю степень извлечения красителей в системе ТБАВг— $\text{H}_2\text{O}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  составила не менее 92%.

Правильность методики экстракционно-фотометрического определения проверяли методом введено—найдено (табл. 3). Идентификацию красителей проводили сравнением молекулярных спектров поглощения экстрактов, полученных после экстракции красителя из стандартного раствора и из анализируемого объекта. Как видно из рис. 5, форма спектров и максимумы поглощения экстрактов совпадают.

Результаты определения красителей в объектах методом введено—найдено, представленные в табл. 3, свидетельствуют о правильности и хоро-

**Таблица 2.** Состав исследуемых объектов и предварительная подготовка образцов

Объект анализа	Состав	Пробоподготовка/объем аликвоты или навеска образца
Безалкогольный негазированный витаминизированный напиток клубника-ваниль “Lifeline” (ООО “Фонте Аква”, Россия)	Подготовленная артезианская вода, сахар, регулятор кислотности лимонная кислота, ароматизаторы, консервант сорбат калия, краситель Красный очаровательный, премикс витаминный	Без пробоподготовки/1.0 мл
Безалкогольный газированный напиток “Mirinda” (ООО “ПепсиКо Холдингс”, Россия)	Вода, сахар, лимонная кислота, цитрат натрия, сульфит натрия, краситель Желтый “солнечный закат”, аскорбиновая кислота, ароматизатор “Апельсин”	Без пробоподготовки/1.0 мл
Ополаскиватель для полости рта “Listerine” (“Джонсон и Джонсон С.п.А.”, Италия)	Полипропиленгликоль, лаурил-сульфат натрия, цинеол, бензойная кислота, бензоат натрия, метилсалицилат, тимол, сахаринат натрия, фторид натрия, ментол, сукралоза, CI 42053 <sup>a</sup>	Без пробоподготовки/0.5 мл
Пасхальный набор сухих красителей “Пищевые красители для окрашивания яиц” (“РОКОС”, Сергиев Посад)	Соль <sup>b</sup> , красители пищевые (E102, E122, E133)	100 мг образца, содержащего Азурбин (или Тартразин) растворяли в 100.0 мл дистиллированной воды/10.0 мл
Таблетированная форма лекарственного препарата “Ибупрофен” (Белмедпрепараты РУП, Беларусь)	Гидроксипропилметилцеллюлоза (НРМС) 6сР 1.25 мг, коповидон 1.125 мг, полидекстроза 0.75 мг, макрогол-3350 (полиэтиленгликоль 3350) 0.475 мг, каприлик/каприк триглицериды (триглицериды средней цепи) 0.15 мг, титана диоксид 1.219 мг, краситель Азурбин (кармуазин Лейк) (E122) 0.005 мг <sup>c</sup>	К одной таблетке препарата добавляли 4.0 мл дистиллированной воды, после растворения оболочки водный раствор отделяли декантацией. После центрифугирования в течение 5 мин при 4000 об/мин и отделения нерастворимого остатка отбирали аликвоту 2.0 мл

<sup>a</sup> Индекс соответствует красителю Зеленый прочный. <sup>b</sup> Предположительно хлорид натрия. <sup>c</sup> Состав оболочки на одну таблетку.

шей воспроизводимости методики. Найденное с помощью предложенной экстракционно-фотометрической методики содержание Азурбина в оболочке одной таблетки “Ибупрофен” составило  $5.3 \pm 0.4$  мкг ( $n = 3$ ,  $P = 0.95$ ), что соответствует в пределах доверительного интервала данным, заявленным производителем (табл. 2).

\* \* \*

Таким образом, двухфазная водная система  $\text{ТБАВr}-\text{H}_2\text{O}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  обеспечивает количественную экстракцию красителей Красный очаровательный,

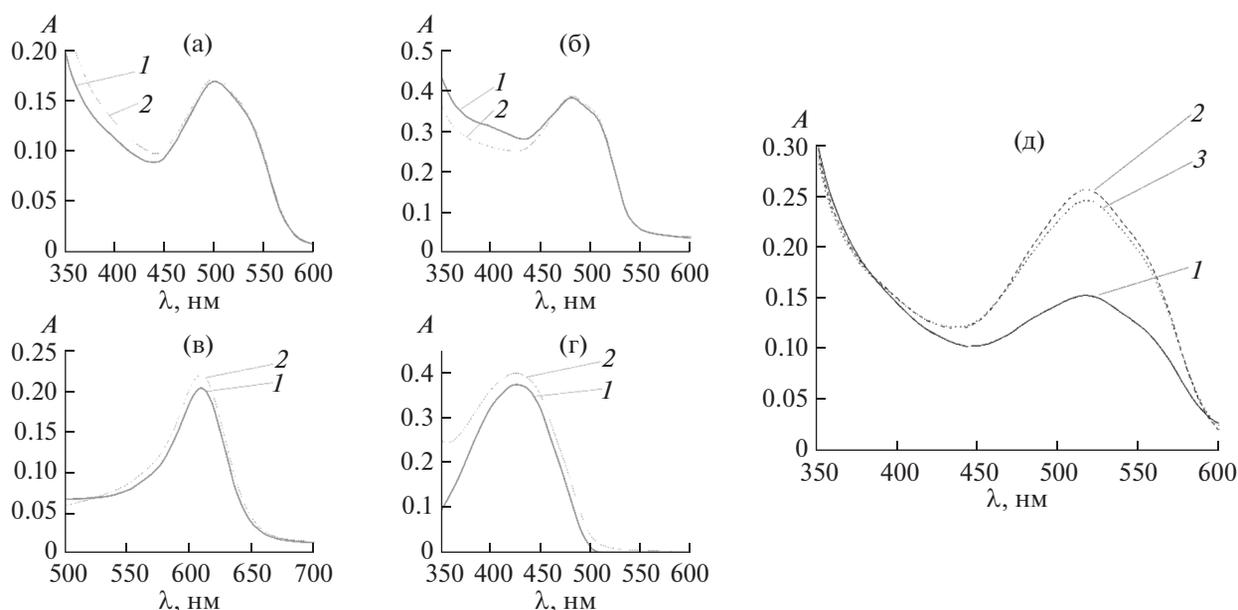
Азурбин, Тартразин, Желтый “солнечный закат”, Зеленый прочный из водных растворов, отличается легкостью получения, доступностью реагентов, позволяет избежать применения токсичных органических растворителей. Предложенная методика экстракционно-фотометрического определения красителей характеризуется простотой, экспрессностью, доступностью используемого оборудования и легкостью реализации в лабораторных условиях.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 20-03-00354).*

**Таблица 3.** Результаты\* экстракционно-фотометрического определения красителей в различных объектах ( $n = 3$ ,  $P = 0.95$ )

Объект анализа	Краситель	Введено	Найдено	$s_r$	$R^{**}$ , %
Напиток “Lifeline”	Красный очаровательный	0	$1.00 \pm 0.05$	0.05	—
		1.0	$2.0 \pm 0.1$	0.05	100
		2.0	$3.0 \pm 0.1$	0.03	100
Напиток “Mirinda”	Желтый “солнечный закат”	0	$3.1 \pm 0.1$	0.03	—
		2.2	$5.2 \pm 0.2$	0.04	95
		4.6	$7.6 \pm 0.2$	0.03	98
Ополаскиватель “Listerine”	Зеленый прочный	0	$3.6 \pm 0.1$	0.03	—
		6.1	$9.4 \pm 0.2$	0.02	95
		12.1	$15.5 \pm 0.3$	0.02	98
Пасхальный набор	Азорубин	0	$32 \pm 1$	0.03	—
		20	$53 \pm 1$	0.01	105
		40	$73 \pm 1$	0.01	102
	Тартразин	0	$34.6 \pm 0.6$	0.02	—
		21	$55 \pm 1$	0.01	97
		43	$78 \pm 1$	0.01	101
Ибупрофен	Азорубин	0	$5.3 \pm 0.4$	0.07	—
		5.0	$10.8 \pm 0.5$	0.05	109
		10.0	$14.8 \pm 0.5$	0.03	95

\* Результаты анализа напитков “Lifeline” и “Mirinda”, а также ополаскивателя “Listerine” приведены в мг/л; пасхального набора – в мг/г; Ибупрофена – в мкг. \*\* Рассчитано как  $(c_{\text{найденно}} - c_{\text{найденно}}^0) / c_{\text{введено}} \times 100\%$ , где  $c_{\text{найденно}}$ ,  $c_{\text{найденно}}^0$  – найденная концентрация красителя с добавкой и без добавки соответственно;  $c_{\text{введено}}$  – введенная концентрация красителя.



**Рис. 5.** Молекулярные спектры поглощения экстрактов: (а) – Красный очаровательный, (б) – Желтый “солнечный закат”, (в) – Зеленый прочный, (г) – Тартразин, (д) – Азорубин. 1 – после извлечения из стандартного раствора красителя; 2, 3 – после извлечения красителя из анализируемого объекта; (д): 2 – Пасхальный набор, 3 – Ибупрофен.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Amin K.A., Abdel Hameid H., Abd Elsttar A.H.* Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats // *Food Chem. Toxicol.* 2010. V. 48. № 10. P. 2994.
2. *Bateman B.* The effects of a double blind, placebo controlled, artificial food colourings and benzoate preservative challenge on hyperactivity in a general population sample of preschool children // *Arch. Dis. Child.* 2004. V. 89. № 6. P. 506.
3. *McCann D., Barrett A., Cooper A., Crumpler D., Dalen L., Grimshaw K., Kitchin E., Lok K., Porteous L., Prince E., Sonuga-Barke E., Warner J.O., Stevenson J.* Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: A randomised, double-blinded, placebo-controlled trial // *The Lancet.* 2007. V. 370. № 9598. P. 1560.
4. *Siddiquee S., Shafwanah A.M.S.* Toxicology and analytical methods for the analysis of allura red (E129) in food and beverage products: A current perspective / *Safety Issues in Beverage Production.* Elsevier, 2020. P. 335.
5. *Yamjala K., Nainar M.S., Ramiseti N.R.* Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry – A review // *Food Chem.* 2016. V. 192. P. 813.
6. *Rovina K., Siddiquee S., Shaarani S.M.* Extraction, analytical and advanced methods for detection of Allura Red AC (E129) in food and beverages products // *Front. Microbiol.* 2016. V. 7. № 798. P. 1.
7. *Tikhomirova T.I., Ramazanova G.R., Apyari V.V.* Effect of nature and structure of synthetic anionic food dyes on their sorption onto different sorbents: Peculiarities and prospects // *Microchem. J.* 2018. V. 143. P. 305.
8. *Rukosueva E.A., Aliyarova G.R., Tikhomirova T.I., Apyari V.V., Nesterenko P.N.* Simultaneous determination of synthetic food dyes using a single cartridge for preconcentration and separation followed by photometric detection // *Int. J. Anal. Chem.* 2020. V. 2020. P. 1.
9. *Soylak M., Unsal Y.E., Tuzen M.* Spectrophotometric determination of trace levels of allura red in water samples after separation and preconcentration // *Food Chem. Toxicol.* 2011. V. 49. № 5. P. 1183.
10. *Tang B, Xi C., Zou Y., Wang G.* Simultaneous determination of 16 synthetic colorants in hotpot condiment by high performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. B.* 2014. V. 960. P. 87.
11. *Faraji M., Nasiri Sahneh B., Javanshir R.* An ion-pair dispersive liquid-liquid microextraction for simultaneous determination of synthetic dyes in ice cream samples by HPLC // *Anal. Bioanal. Chem. Res.* 2017. V. 4. № 2. P. 213.
12. *Sha O., Zhu X., Feng Y., Ma W.* Aqueous two-phase based on ionic liquid liquid-liquid microextraction for simultaneous determination of five synthetic food colourants in different food samples by high-performance liquid chromatography // *Food Chem.* 2015. V. 174. P. 380.
13. *Wu H., Guo J., Du L., Tian H., Hao C., Wang Z., Wang J.* A rapid shaking-based ionic liquid dispersive liquid phase microextraction for the simultaneous determination of six synthetic food colourants in soft drinks, sugar- and gelatin-based confectionery by high-performance liquid chromatography // *Food Chem.* 2013. V. 141. № 1. P. 182.
14. *Liu J., Wang L., Zhu W., Jia C., Deng Q., Yao S.* Temperature-assisted removal of triphenylmethane dyes from water with novel hydrophobic benzothiazolium ionic liquids // *Sep. Sci. Technol.* 2014. V. 49. № 1. P. 146.
15. *Lin J., Teng Y., Lu Y., Lu S., Hao X., Cheng D.* Usage of hydrophobic ionic liquid [BMIM][PF6] for recovery of acid dye from wastewater and sequential application in tussah silk dyeing: Recovery of acid dye from wastewater // *CLEAN – Soil, Air, Water.* 2014. V. 42. № 6. P. 799.
16. *Li Q., Liu W., Zhu X.* Green choline amino acid ionic liquid aqueous two-phase extraction coupled with HPLC for analysis sunset yellow in beverages // *Food Anal. Methods.* 2019. V. 12. № 11. P. 2527.
17. *Sha O., Zhu X., Feng Y., Ma W.* Determination of Sunset Yellow and Tartrazine in food samples by combining ionic liquid-based aqueous two-phase system with high performance liquid chromatography // *J. Anal. Methods Chem.* 2014. V. 2014. P. 1.
18. *Faraji M.* Determination of some red dyes in food samples using a hydrophobic deep eutectic solvent-based vortex assisted dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2019. V. 1591. P. 15.
19. *Kanberoglu G.S., Yilmaz E., Soylyak M.* Developing a new and simple ultrasound-assisted emulsification liquid phase microextraction method built upon deep eutectic solvents for Patent Blue V in syrup and water samples // *Microchem. J.* 2019. V. 145. P. 813.
20. *Ghorbani Ravandi M., Fat'hi M.R.* Green effervescence assisted dispersive liquid-liquid microextraction based on a hydrophobic deep eutectic solvent for determination of Sunset Yellow and Brilliant Blue FCF in food samples // *New J. Chem.* 2018. V. 42. № 18. P. 14901.
21. *Zhu S, Zhou J., Jia H., Zhang H.* Liquid-liquid microextraction of synthetic pigments in beverages using a hydrophobic deep eutectic solvent // *Food Chem.* 2018. V. 243. P. 351.
22. *Плетнев И.В., Смирнова С.В., Шаров А.В., Золотов Ю.А.* Экстракционные растворители нового поколения: от ионных жидкостей и двухфазных водных систем к легкоплавким комбинированным растворителям // *Успехи химии.* 2021. Т. 90. № 9. С. 1109. (Плетнев И.В., Смирнова С.В., Шаров А.В., Золотов Ю.А. Next-generation extraction solvents: From ionic liquids to aqueous biphasic systems to low-melting combined solvents // *Russ. Chem. Rev.* 2021. V. 90. № 9. P. 1109.)
23. *Penido J.A., Mageste A.B., Martins P.L., Ferreira G.M.D.* Surfactant as selective modulator in the partitioning of dyes in aqueous two-phase systems: A strategy for separation // *J. Mol. Liq.* 2019. V. 293. Article 111501.
24. *Коренман Я.И., Суханов П.Т., Санникова Н.Ю.* Извлечение моноазокрасителей гидрофильными экстрагентами из водных растворов // *Вестник Воронежского гос. ун-та инженерных технологий.* 2012. Т. 3. С. 115.
25. *Smirnova S.V., Ilin D.V., Pletnev I.V.* Extraction and ICP-OES determination of heavy metals using tetraabu-

- tylammonium bromide aqueous biphasic system and oleophilic collector // *Talanta*. 2021. V. 221. Article 121485.
26. *Шестопалова Н.Б.* Системы НПАВ – H<sub>2</sub>O – электролиты в мицеллярной экстракции и фотометрическом определении синтетических пищевых красителей. Дис. ... канд. хим. наук. Саратов: СГУ, 2014. 203 с.
  27. *Исаева Ю.И., Елохов А.М., Денисова С.А., Кудряшова О.С., Леснов А.Е.* Растворимость и экстракция ионов металлов в системах неорганическая кислота–хлорид алкилбездиметиламмония–вода // *Журн. физ. химии*. 2019. Т. 3. № 2. С. 220.
  28. *Pourreza N., Elhami S.* Cloud point extraction and spectrophotometric determination of amaranth in food samples using nonionic surfactant Triton X-100 and tetrabutylammonium hydrogen sulfate // *J. Iran. Chem. Soc.* 2009. V. 6. № 4. P. 784.
  29. *López-de-Alba P.L., Michelini-Rodríguez L.I., Wróbel K., Amador-Hernández J.* Extraction of Sunset Yellow and Tartrazine by ion-pair formation with Adogen-464 and their simultaneous determination by bivariate calibration and derivative spectrophotometry // *The Analyst*. 1997. V. 122. № 12. P. 1575.
  30. *Lau O.-W., Poon M.M.K., Mok S.-C., Wong F.M.Y., Luk S.-F.* Spectrophotometric determination of single synthetic food colour in soft drinks using ion-pair formation and extraction // *Int. J. Food Sci. Technol.* 1995. V. 30. P. 793.
  31. *Kinugasa T., Ohta A., Nishii Y.* Removal and recovery of acid azo dyes by solvent extraction using cetyltrimethylammonium chloride // *Sep. Sci. Technol.* 2015. V. 50. № 9. P. 1369.
  32. ГОСТ 33457-2015. Продукты переработки фруктов и овощей. Метод качественного определения синтетических красителей с применением ион-парного экстрагирования. М.: Стандартинформ, 2019. 8 с.
  33. *Nakayama H.* Solid-liquid and liquid-liquid phase equilibria in the symmetrical tetraalkylammonium halide–water systems // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1981. V. 54. № 12. P. 3717.
  34. *Smirnova S.V., Lyskovtseva K.A., Pletnev I.V.* Extraction and determination of synthetic food dyes using tetraalkylammonium based liquid-liquid extraction // *Microchem. J.* 2021. V. 162. Article 105833.
  35. *Akama Y.* Selective separation of cadmium from cobalt, copper, iron(III) and zinc by water-based two-phase system of tetrabutylammonium bromide // *Talanta*. 2000. V. 53. № 3. P. 645.
  36. *Hooshyar H., Sadeghi R.* Aqueous biphasic formation, volumetric and compressibility behaviour in tetrabutylammonium bromide-inorganic salts aqueous systems // *J. Chem. Thermodyn.* 2013. V. 67. P. 120.
  37. *Akama Y.* Extraction mechanism of Cr(VI) on the aqueous two-phase system of tetrabutylammonium bromide and (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> mixture // *Talanta*. 2002. V. 57. № 4. P. 681.
  38. *Zawadzki M., e Silva F.A., Domańska U., Coutinho J.A.P.* Recovery of an antidepressant from pharmaceutical wastes using ionic liquid-based aqueous biphasic systems // *Green Chem.* 2016. V. 18. № 12. P. 3527.
  39. *Song Y.S., Choi Y.H., Kim D.H.* Microextraction in a tetrabutylammonium bromide/ammonium sulfate aqueous two-phase system and electrohydrodynamic generation of a micro-droplet // *J. Chromatogr. A*. 2007. V. 1162. № 2. P. 180.
  40. *Dinis T.B.V., Passos H., Lima D. L., Sousa A.C.A., Coutinho J., Esteves V., Freire M.* Simultaneous extraction and concentration of water pollution tracers using ionic-liquid-based systems // *J. Chromatogr. A*. 2018. V. 1559. P. 69.
  41. *Li W., Zheng X., Tu G., Zhang S., Zhang P.* Novel aqueous biphasic system based on ionic liquid for the simultaneous extraction of seven active pharmaceutical ingredients in aquatic environment // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2021. V. 28. № 14. P. 17853.
  42. *Hatti-Kaul R.* Aqueous Two-Phase Systems. New Jersey: Humana Press, 2000. V. 11. 440 p.
  43. *Sintra T.E., Cruz R., Ventura S.P.M., Coutinho J.A.P.* Phase diagrams of ionic liquids-based aqueous biphasic systems as a platform for extraction processes // *J. Chem. Thermodyn.* 2014. V. 77. P. 206.
  44. *Haynes W.M.* Handbook of Chemistry and Physics. Boca Raton: CRC Press LLC, 2014–2015. P. 5.
  45. *Smirnova S.V., Samarina T.O., Pletnev I.V.* Hydrophobic-hydrophilic ionic liquids for the extraction and determination of metal ions with water-soluble reagents // *Anal. Methods*. 2015. V. 7. P. 9629.
  46. *Avazpour M., Shiri S., Delpisheh A., Abbasi A.* Simultaneous determination of Brilliant Blue FCF and Carmoisine in food samples by aqueous two-phase system and spectrophotometric detection // *J. Basic Res. Med. Sci.* 2014. V. 1. P. 56.

УДК 543.422;543.64

## ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ТРЕУГОЛЬНЫХ НАНОПЛАСТИНОК СЕРЕБРА ДЛЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВОССТАНОВИТЕЛЕЙ

© 2022 г. А. А. Фурлетов<sup>a, \*</sup>, В. В. Апяри<sup>a</sup>, А. В. Гаршев<sup>a, b</sup>, С. Г. Дмитриенко<sup>a</sup><sup>a</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет  
Ленинские горы, 1, стр. 3, ГСП-1, Москва, 119991 Россия<sup>b</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет наук о материалах  
Ленинские горы, 1, стр. 73, ГСП-1, Москва, 119991 Россия

\*e-mail: aleksei\_furletov@mail.ru

Поступила в редакцию 29.01.2022 г.

После доработки 21.02.2022 г.

Принята к публикации 22.02.2022 г.

Изучены возможности использования аналитических систем на основе треугольных нанопластинок серебра для спектрофотометрического определения восстановителей. Установлено, что взаимодействие треугольных нанопластинок серебра с L-аскорбиновой кислотой в присутствии нитрата серебра(I) сопровождается батохромным смещением и увеличением интенсивности полосы поверхностного плазмонного резонанса наночастиц, что может быть положено в основу способов определения восстановителей. Предполагаемый механизм взаимодействия включает восстановление ионов  $\text{Ag}^+$  до металлического серебра под действием определяемого соединения и его осаждение на поверхности наночастиц-затравок. Изучено влияние pH, времени взаимодействия, концентрации реагентов и посторонних соединений на величину аналитического сигнала. Предел обнаружения L-аскорбиновой кислоты в выбранных условиях равен 0.5 мг/л, диапазон определяемых содержаний составляет 1.7–60 мг/л. Предложенный в работе подход применен для определения L-аскорбиновой кислоты в листовом зеленом чае и яблочном соке.

**Ключевые слова:** L-аскорбиновая кислота, наночастицы, оптические сенсоры, восстановители, антиоксиданты, треугольные нанопластины серебра, спектрофотометрия, поверхностный плазмонный резонанс.

**DOI:** 10.31857/S004445022210005X

Благодаря удачному сочетанию необычных физических, химических и биологических свойств наночастицы серебра в последние годы находят все более широкое применение во многих областях науки и техники. В химическом анализе их используют для усиления аналитического сигнала в спектроскопии комбинационного рассеяния и флуоресцентной спектроскопии, для придания каталитических и бактерицидных свойств материалам, а также при разработке различного рода сенсоров, важное место среди которых занимают оптические сенсоры [1–6]. Наиболее распространенным принципом действия таких сенсоров является агрегация наночастиц в коллоидном растворе под действием определяемых соединений [7].

Основная часть научных работ посвящена исследованию и применению в химическом анализе изотропных (сферических или псевдосферических) наночастиц серебра и материалов на их ос-

нове [8–17]. Значительно меньшее число работ посвящено синтезу и изучению свойств анизотропных наночастиц серебра, в частности треугольных нанопластинок (ТНП) [18–26]. Между тем особенности их физических и химических свойств, обусловленные явлением локализованного поверхностного плазмонного резонанса (ППР), могли бы сыграть решающую роль в разработке принципиально новых способов определения соединений.

Одна из актуальных задач аналитической химии, где эффективно мог бы реализоваться потенциал ТНП серебра как аналитических реагентов, – это определение восстановителей, среди которых важное место занимает L-аскорбиновая кислота. Она является маркером антиоксидантной активности, кофактором многих ферментов [27] и веществом-предшественником биосинтеза некоторых важных метаболитов [28–30]. Орга-

низм человека полностью зависит от L-аскорбиновой кислоты, поступающей вместе с пищей, так как не может синтезировать ее самостоятельно. Поиск недорогих, экспрессных и чувствительных способов определения L-аскорбиновой кислоты в продуктах питания, а также оценка их антиоксидантной активности являются актуальными задачами аналитической химии.

Цель настоящей работы заключалась в оценке перспектив использования аналитических систем на основе треугольных нанопластинок серебра, стабилизированных цитратом натрия и поли(N-винил-2-пирролидоном), для спектрофотометрического определения восстановителей.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Реагенты, материалы, оборудование.** Использовали следующие вещества: азотную кислоту х. ч., 68%-ный водный раствор (ОАО “НАК “Азот”, Россия), L-аскорбиновую кислоту ( $\geq 98.0\%$ , Sigma-Aldrich, США), борогидрид натрия (99%, Acros Organics, Бельгия), гидроксид натрия ч. (ООО “АО Реахим”, Россия), нитрат серебра ч. д. а. (ООО “ПЗЦМ-Втормет”, Россия), пероксид водорода 30%-ный водный раствор с добавкой стабилизатора, ACS (Sigma-Aldrich, США), поливинилпирролидон,  $M_w = 58000$  г/моль (99%, Acros Organics, Бельгия), соляную кислоту х. ч., 36%-ный водный раствор (ООО “АО Реахим”, Россия), цитрат натрия ( $\geq 99.5\%$ , Sigma, США), ледяную уксусную кислоту х. ч. (ООО “ИРЕА 2000”, Россия). Рабочие растворы веществ готовили растворением их точных навесок или аликвот в деионизованной воде при комнатной температуре. Отдельные эксперименты проводили в ацетатном буферном растворе, который получали *in situ* добавлением к реакционной смеси 0.1 М  $\text{CH}_3\text{COOH}$  и 0.1 М раствора  $\text{NaOH}$  в различных соотношениях.

Сыпучие твердые вещества взвешивали на аналитических весах “Adventurer” (OHAUS, США). Для отбора аликвот жидких веществ использовали автоматические одноканальные пипет-дозаторы переменного объема “Discovery Comfort” (HTL, Польша). Спектры поглощения и оптическую плотность растворов в диапазоне длин волн 400–1100 нм измеряли в стандартных кварцевых кюветках с длиной оптического пути 1 см на спектрофотометре СФ-103 (Аквион, Россия). Перемешивание растворов осуществляли с помощью магнитной мешалки “Экрос ПЭ-6100” (Экрос, Россия). Величину рН контролировали с помощью рН-метр-иономера “Эксперт-001” (Эконикс-Эксперт, Россия). Деионизованную воду получали с использованием системы очистки “Simplicity” (Millipore, США).

Электронно-микроскопические исследования проводили с использованием просвечивающего

электронного микроскопа с катодом с термополовой эмиссией “Libra 200” (Carl Zeiss, Германия) при ускоряющем напряжении 200 кВ. Информационный предел при регистрации изображений в режиме светлопольной просвечивающей микроскопии был лучше 0.1 нм. Для проведения анализа образцы в виде суспензии наносили на поддерживающую сеточку из меди с пленкой из формвара и нанесенного на него слоя углерода “Formvar®/Carbon Reinforced Copper Grids 3440C-MB” (SPI, США). Перед установкой в микроскоп образцы сушили сначала на воздухе в течение 20–30 мин и затем в вакууме с использованием системы “Turbo Pumping Station Model 655” (Gatan, США) в течение 10–12 ч.

### Синтез треугольных нанопластинок серебра.

Для получения ТНП серебра использовали методику [31], предложенную в 2005 году научной группой Миркина, с незначительными изменениями.

Всю химическую посуду, которую использовали при проведении эксперимента, предварительно мыли свежеприготовленной “царской водкой”, тщательно промывали дистиллированной водой и затем сушили на воздухе. Для приготовления всех растворов в эксперименте использовали деионизованную воду.

К 0.50 мл водного 0.01 М раствора  $\text{AgNO}_3$  приливали 4.30 мл деионизованной воды, а затем при интенсивном перемешивании добавляли 2.30 мл 1%-ного раствора цитрата натрия ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$ ), 0.60 мл раствора поли(N-винил-2-пирролидона) с концентрацией 20.3 г/л и 1.20 мл 3%-ного  $\text{H}_2\text{O}_2$ . К полученному раствору быстро добавляли 1.00 мл свежеприготовленного 35 мМ раствора  $\text{NaBH}_4$ . В процессе выдерживания системы в течение 30 мин наблюдали изменение окраски раствора с желтой на синюю, свидетельствующее о формировании ТНП серебра. Полученный раствор ТНП серебра хранили при комнатной температуре. Конечная концентрация ТНП серебра в растворе после синтеза составляла 56 мг/л (0.52 мМ в расчете на атомарное серебро).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Взаимодействие треугольных нанопластинок серебра с L-аскорбиновой кислотой в присутствии нитрата серебра (I).** Известно [32], что оптические свойства наночастиц серебра сильно изменяются при покрытии их поверхности другими металлами. Мы предположили, что данное свойство можно использовать для определения восстановителей, которые способны восстанавливать серебро из его солей на поверхности наночастиц. В данной работе такая возможность изучена на примере L-аскорбиновой кислоты, которую добавляли к раствору ТНП серебра, после чего в реакцион-

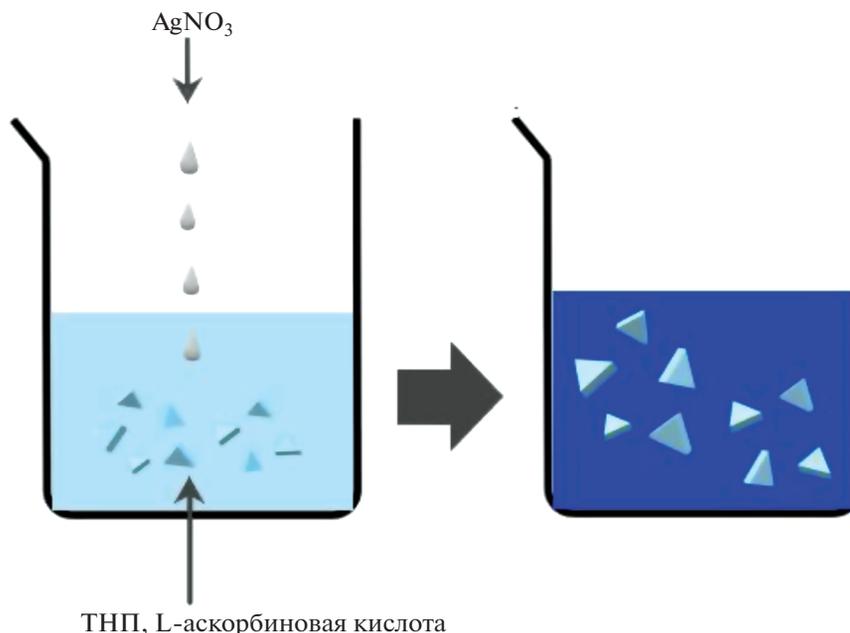


Рис. 1. Схема эксперимента (приведена на примере L-аскорбиновой кислоты).

ную смесь по каплям вносили раствор  $\text{AgNO}_3$  (рис. 1).

Для изучения зависимости спектральных характеристик растворов ТНП серебра от концентрации L-аскорбиновой кислоты в полипропиленовые пробирки последовательно вводили ТНП серебра, растворы L-аскорбиновой кислоты и  $\text{AgNO}_3$ . Объем раствора доводили до 10.0 мл с помощью дистиллированной воды. Установлено, что после завершения восстановления  $\text{Ag}^+$  L-аскорбиновой кислотой происходит батохромный сдвиг полосы поглощения ТНП серебра, а также значительно увеличивается ее интенсивность (рис. 2а).

Предполагаемый механизм взаимодействия ТНП серебра с восстановителями в присутствии нитрата серебра(I) состоит из двух стадий, реализующихся последовательно. На первой стадии происходит восстановление ионов  $\text{Ag}^+$  до металлического серебра  $\text{Ag}^0$  под действием L-аскорбиновой кислоты и его осаждение на поверхности присутствующих в растворе ТНП-затравок, что приводит к их укрупнению. На второй стадии происходит образование агрегатов ТНП, что подтверждено просвечивающей электронной микроскопией высокого разрешения в светлом поле (рис. 3). Показано, при проведении реакции в щелочной среде в качестве продукта преимущественно образуются сферические наночастицы серебра, в то время как в нейтральной среде происходит образование треугольных нанопластинок. На микрофотографиях наночастиц после взаимодействия присутствует некоторое количе-

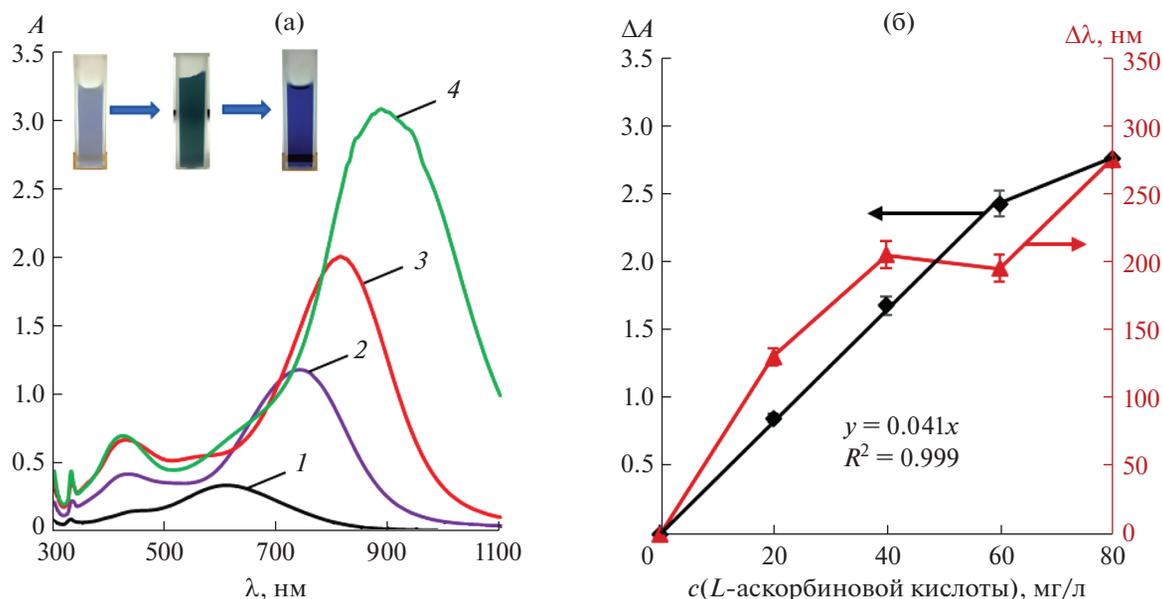
ство агрегатов, что может являться причиной батохромного смещения полосы поглощения наночастиц.

На основании анализа микрофотографий более 100 наночастиц построена гистограмма их распределения по размерам до и после взаимодействия с L-аскорбиновой кислотой в присутствии нитрата серебра(I) (рис. 4). Как видно, в результате взаимодействия средняя длина ребра ТНП серебра возрастает примерно в два раза, что косвенно подтверждает сделанное ранее предположение о том, что серебро осаждается на поверхности наночастиц-затравок.

Для выбора аналитического сигнала рассматривали зависимости  $\Delta A = f(c(\text{L-аскорбиновой кислоты}), \text{мг/л})$  и  $\Delta \lambda (\text{нм}) = f(c(\text{L-аскорбиновой кислоты}), \text{мг/л})$ , где  $\Delta A$  – разница оптических плотностей в максимуме,  $\Delta \lambda$  – разница длин волн, при которых наблюдается максимум (рис. 2б). Так как первая зависимость оказалась наиболее близкой к линейной, было решено использовать  $\Delta A$  в качестве аналитического сигнала для спектрофотометрического определения L-аскорбиновой кислоты.

С целью улучшения аналитических характеристик спектрофотометрического способа определения L-аскорбиновой кислоты исследовали влияние концентрации ТНП серебра, pH раствора, времени взаимодействия и концентрации  $\text{AgNO}_3$  на величину аналитического сигнала.

**Влияние концентрации треугольных нанопластинок серебра.** Для изучения зависимости аналитического сигнала от концентрации наночастиц в



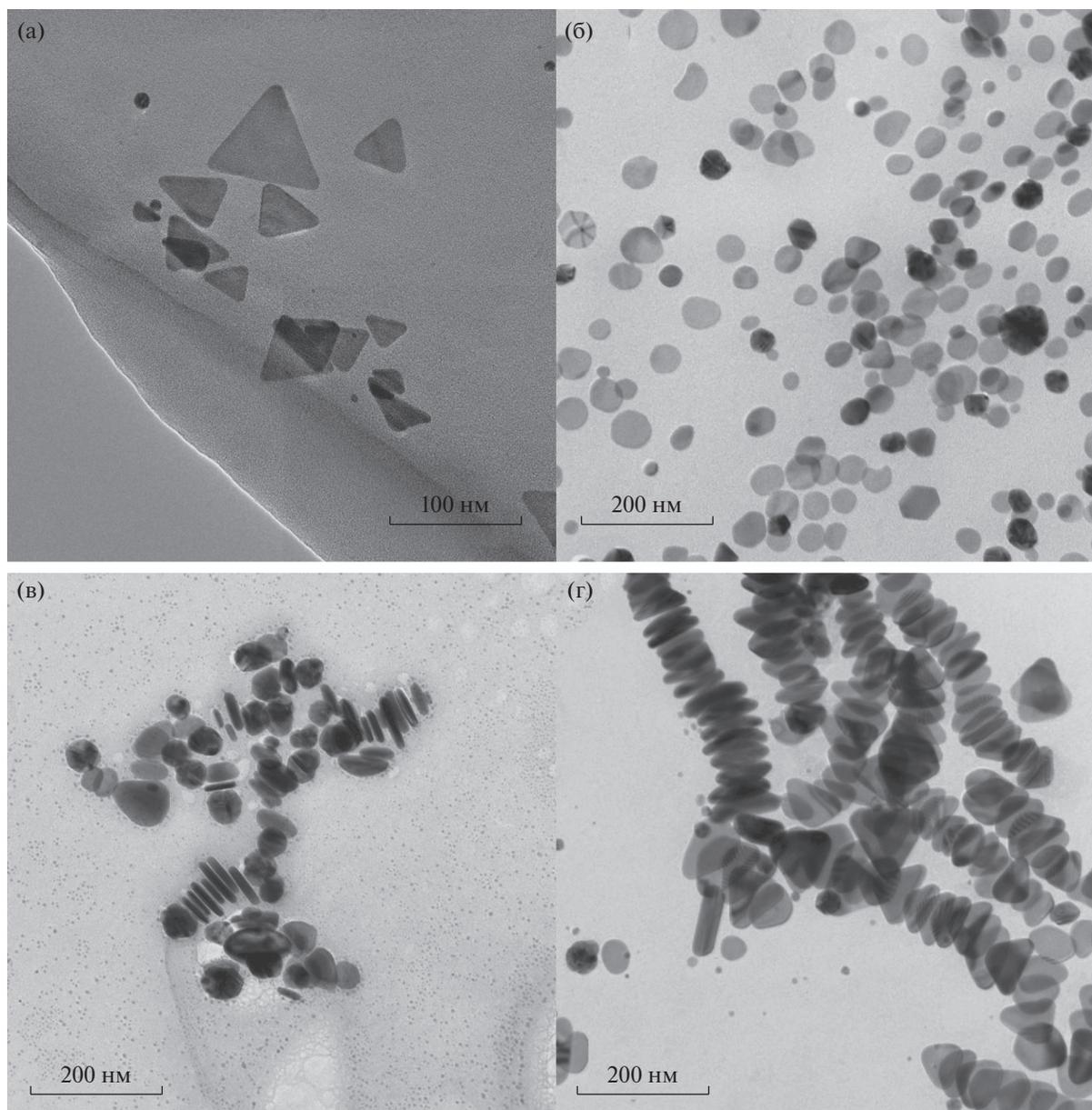
**Рис. 2.** (а): Спектры поглощения треугольных нанопластинок серебра до (1) и после (2–4) взаимодействия с L-аскорбиновой кислотой в присутствии нитрата серебра (1) при различных концентрациях определяемого соединения.  $c$  (L-аскорбиновой к-ты), мг/л: 0 (1), 20 (2), 40 (3), 80 (4);  $c$  (ТНП) = 0.04 мМ Ag,  $c$  (AgNO<sub>3</sub>) = 0.225 мМ, pH 6,  $t$  = 5 мин. (б): Зависимости  $\Delta A = f(c$  (L-аскорбиновой к-ты), мг/л) и  $\Delta\lambda$  (нм) =  $f(c$  (L-аскорбиновой к-ты), мг/л).  $c$  (ТНП) = 0.04 мМ Ag,  $c$  (AgNO<sub>3</sub>) = 0.225 мМ, pH 6,  $t$  = 5 мин.

полипропиленовые пробирки вводили различные количества ТНП серебра, 1 мл L-аскорбиновой кислоты с концентрацией 1 г/л и 0.15 мл 0.01 М раствора AgNO<sub>3</sub>. Объем раствора доводили до 10.0 мл дистиллированной водой. Спектры поглощения наночастиц регистрировали через 5 мин после добавления последнего реагента (рис. 5а). Как видно, при концентрации ТНП серебра, равной 0.16 мМ Ag, полоса поглощения имеет нечеткий максимум, что может затруднять измерение аналитического сигнала. Кривые, соответствующие концентрациям 0.04 мМ Ag и 0.08 мМ Ag, имеют четкий пик и почти идентичны по форме и высоте. Наибольший сдвиг полосы ППР наблюдается при концентрации ТНП 0.04 мМ Ag. На рис. 5б приведена зависимость изменения оптической плотности в максимуме полосы ППР от концентрации ТНП, из которой видно, что наибольшее увеличение оптической плотности также наблюдается при концентрации ТНП 0.04 мМ в пересчете на атомарное серебро.

**Влияние pH.** Для изучения влияния pH раствора на величину аналитического сигнала в пробирки вводили 0.78 мл 0.52 мМ раствора ТНП серебра, 1.00 мл раствора L-аскорбиновой кислоты с концентрацией 1 г/л и 0.15 мл 0.01 М раствора AgNO<sub>3</sub>. Объем раствора доводили до 10.0 мл с помощью 0.1 М CH<sub>3</sub>COOH и 0.1 М раствора NaOH, которые добавлялись в различных соотношениях. Спектры поглощения наночастиц после взаимодействия с L-аскорбиновой кислотой представ-

лены на рис. 6а. Видно, что в щелочной среде не только отсутствует батохромный сдвиг полосы локализованного поверхностного плазмонного резонанса ТНП серебра, но, наоборот, наблюдается гипсохромный сдвиг в область 400–410 нм, а интенсивность полосы в этих условиях возрастает незначительно. Кроме полосы поглощения в области 400–410 нм, в спектрах поглощения имеется плечо в характерной для ТНП области 600–620 нм, что говорит о том, что они остаются неизменными в рассматриваемом процессе. Эти результаты, по-видимому, свидетельствуют о том, что в данных условиях не происходит покрытия ТНП слоем серебра, а преимущественно формируются сферические наночастицы серебра в растворе. Данный результат становится понятным с учетом того, что в щелочной среде L-аскорбиновая кислота переходит в отрицательно заряженный аскорбат-ион, который не может эффективно сорбироваться отрицательно заряженными ТНП серебра. Вместо этого происходит гетерогенная нуклеация сферических наночастиц серебра в объеме раствора. Этому процессу способствует также увеличение восстановительной способности L-аскорбиновой кислоты в щелочной среде.

Наибольшая разность оптических плотностей по сравнению с контрольным опытом (pH 6.5) наблюдается для растворов с pH 4.5 и pH 6.7 (рис. 6б). При этом значение pH 6.7 близко к условиям контрольного опыта, в котором буферный раствор не используется, поэтому можно



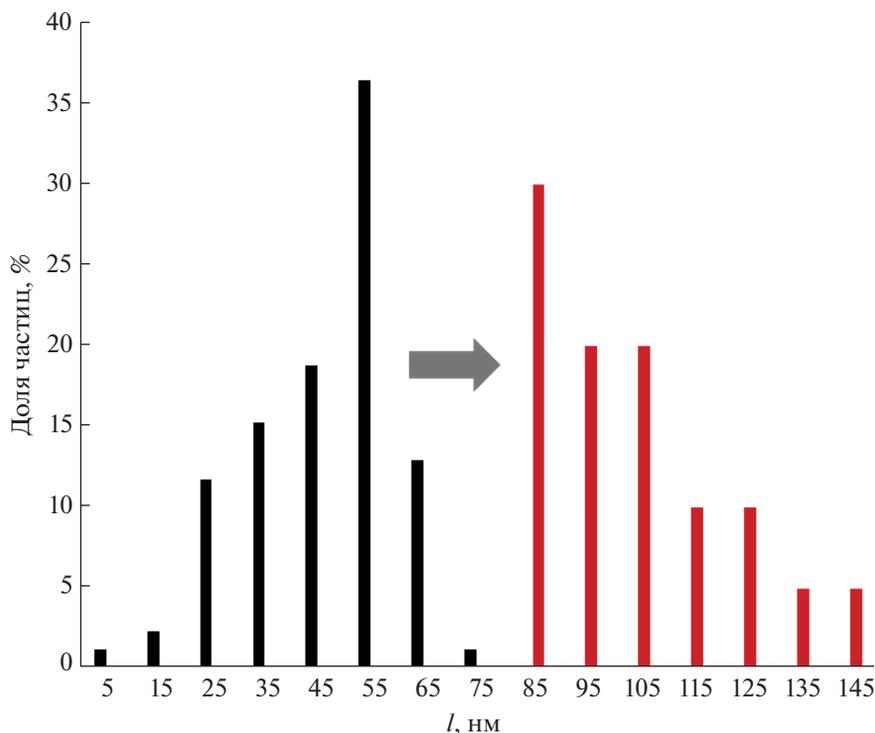
**Рис. 3.** Микрофотографии треугольных нанопластинок серебра, полученные методом просвечивающей электронной микроскопии в светлом поле, до (а) и после взаимодействия с L-аскорбиновой кислотой в присутствии нитрата серебра(I) при pH 11.0 (б), 7.5 (в), 6.0 (г).

сделать вывод о том, что его добавление не оказывает значительного влияния на величину  $\Delta A$ .

**Влияние времени взаимодействия.** Для изучения влияния времени взаимодействия веществ на величину аналитического сигнала в пробирки вводили 0.78 мл 0.52 мМ раствора ТНП серебра, 1.00 мл раствора L-аскорбиновой кислоты с концентрацией 1 г/л, 0.15 мл 0.01 М раствора  $\text{AgNO}_3$ . Объем раствора доводили до 10.0 мл дистиллированной водой. По истечении 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 15 и 20 мин после добавления нитрата серебра(I) регистрировали спектры поглощения водных раство-

ров наночастиц (рис. 7а). Можно видеть, что с течением времени наблюдается постепенное смещение полосы локализованного ППР в область больших длин волн и увеличение ее интенсивности.

Зависимость аналитического сигнала от времени взаимодействия представлена на рис. 7б. По пересечению условно линейных участков графика видно, что для раствора с концентрацией L-аскорбиновой кислоты 100 мг/л достаточно 5 мин для завершения восстановления ионов  $\text{Ag}^+$ , поэтому это время выбрали для выдерживания рас-



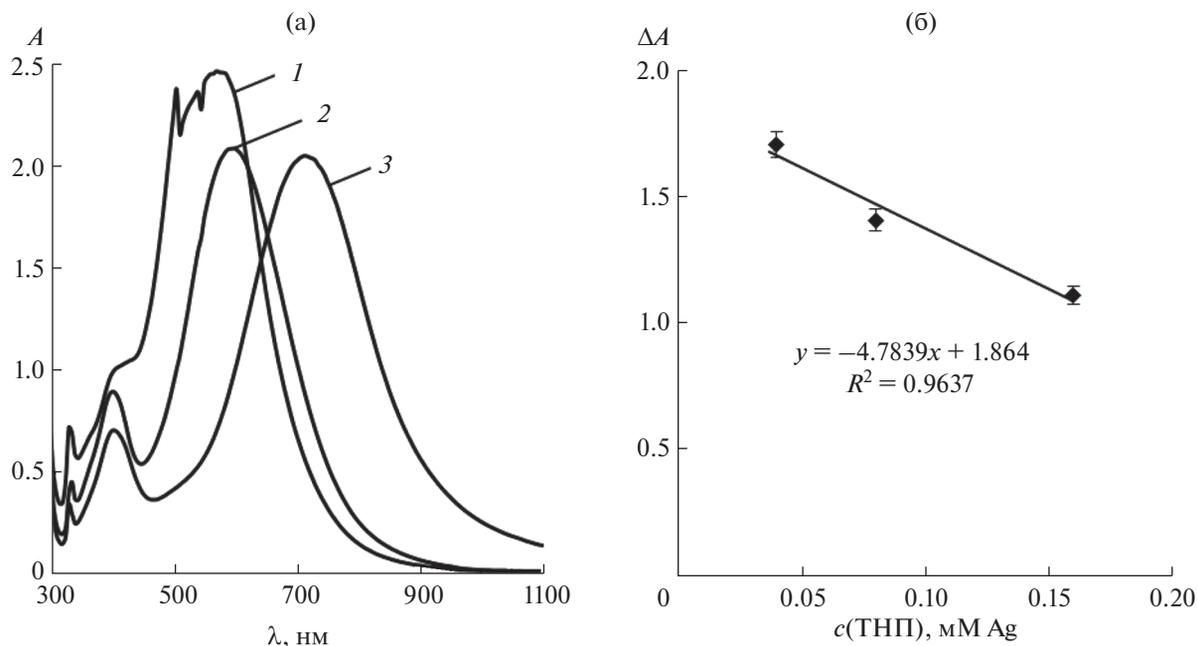
**Рис. 4.** Гистограмма распределения треугольных нанопластинок серебра по средней длине ребра до (столбцы темного цвета) и после (столбцы светлого цвета) взаимодействия наночастиц с L-аскорбиновой кислотой в присутствии нитрата серебра(I).  $c(\text{L-аскорбиновой к-ты}) = 80 \text{ мг/л}$ ;  $c(\text{ТНП}) = 0.04 \text{ мМ Ag}$ ,  $c(\text{AgNO}_3) = 0.15 \text{ мМ}$ ,  $\text{pH } 6$ ,  $t = 5 \text{ мин}$ .

творов до регистрации спектров. Однако стоит отметить, что при значительном понижении концентрации определяемого соединения для взаимодействия ТНП серебра и L-аскорбиновой кислоты требуется больше времени, причем окончание реакции можно фиксировать визуально: по прошествии достаточного количества времени окраска раствора перестает изменяться.

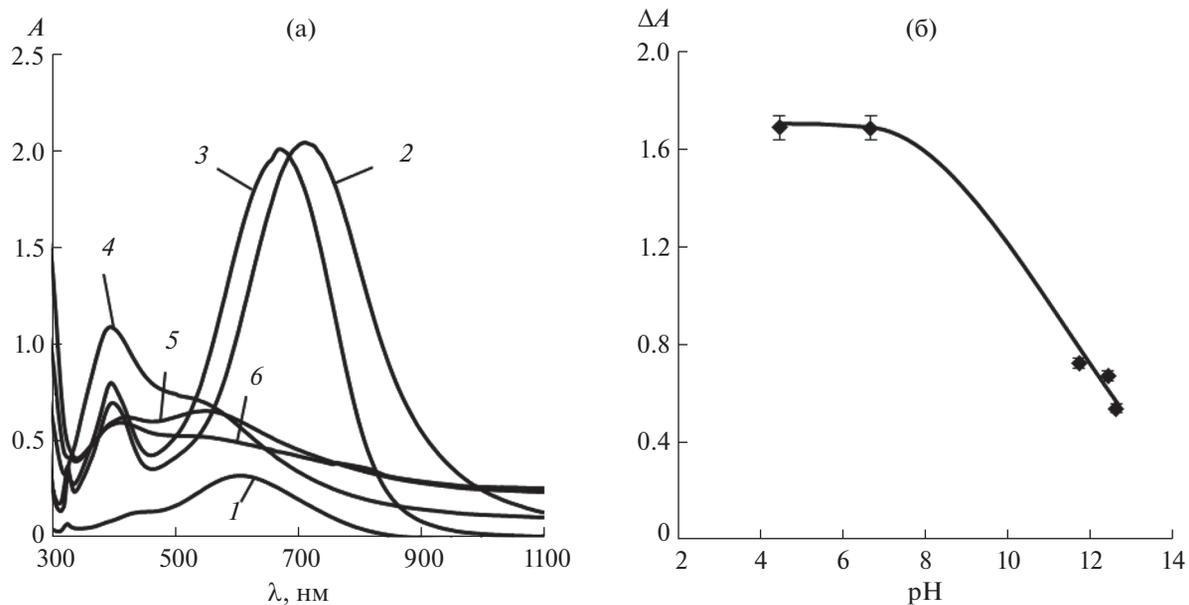
**Влияние концентрации нитрата серебра(I).** Для изучения влияния концентрации нитрата серебра(I) на величину аналитического сигнала в полипропиленовые пробирки последовательно вводили 0.78 мл 0.52 мМ раствора ТНП серебра, 1.00 мл раствора L-аскорбиновой кислоты с концентрацией 1 г/л и различные количества 0.01 М раствора нитрата серебра(I). Объем раствора доводили до 10.0 мл дистиллированной водой. Из зависимости аналитического сигнала от концентрации  $\text{AgNO}_3$ , представленной на рис. 8б, видно, что максимальное изменение оптической плотности растворов наночастиц, содержащих добавку L-аскорбиновой кислоты, достигается при концентрации  $\text{AgNO}_3$  0.30 мМ. Тем не менее при сравнении спектров поглощения соответствующих водных растворов (рис. 8а) видно, что при данной концентрации нитрата серебра(I) максимум полосы поглощения треугольных нанопластинок серебра является размытым. По сравне-

нию с ним, максимум полосы поверхностного плазмонного резонанса наночастиц, соответствующий введенной добавке 0.225 мМ  $\text{AgNO}_3$ , имеет четкий максимум; при этой концентрации нитрата серебра достигается также достаточно большая величина аналитического сигнала. Для дальнейших экспериментов и построения градуировочной зависимости выбрали концентрацию нитрата серебра(I), равную 0.225 мМ.

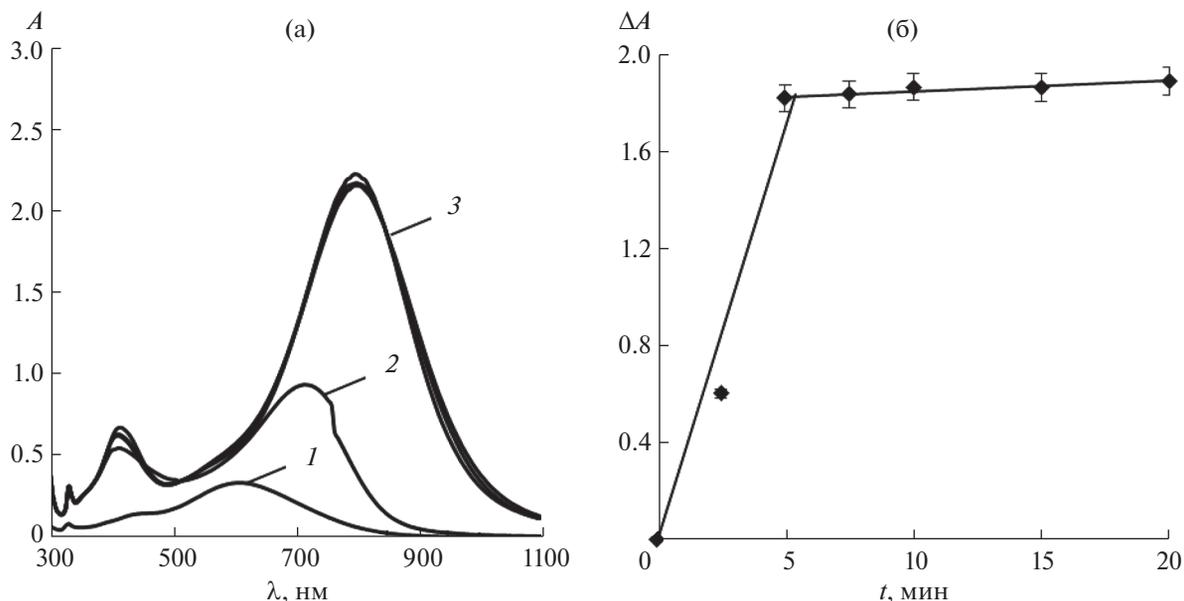
**Оценка аналитических характеристик способа.** Выбранные условия взаимодействия аскорбиновой кислоты с нитратом серебра в присутствии ТНП положены в основу способа ее спектрофотометрического определения. Для построения градуировочных зависимостей в полипропиленовые пробирки вводили 0.78 мл раствора ТНП серебра с концентрацией 0.52 мМ (в пересчете на атомарное серебро), различные количества раствора L-аскорбиновой кислоты с концентрацией 1 г/л и 0.225 мл 0.01 М водного раствора  $\text{AgNO}_3$ . Объем раствора доводили до 10.0 мл дистиллированной водой. Спектры поглощения наночастицы регистрировали через 5 мин с момента добавления последнего реагента. Установлено, что линейный участок градуировочной зависимости описывается уравнением  $\Delta A = 0.0375(c(\text{L-аскорбиновой кислоты}), \text{ мг/л})$  ( $r^2 = 0.975$ ). На основании полученных данных рассчитаны аналитиче-



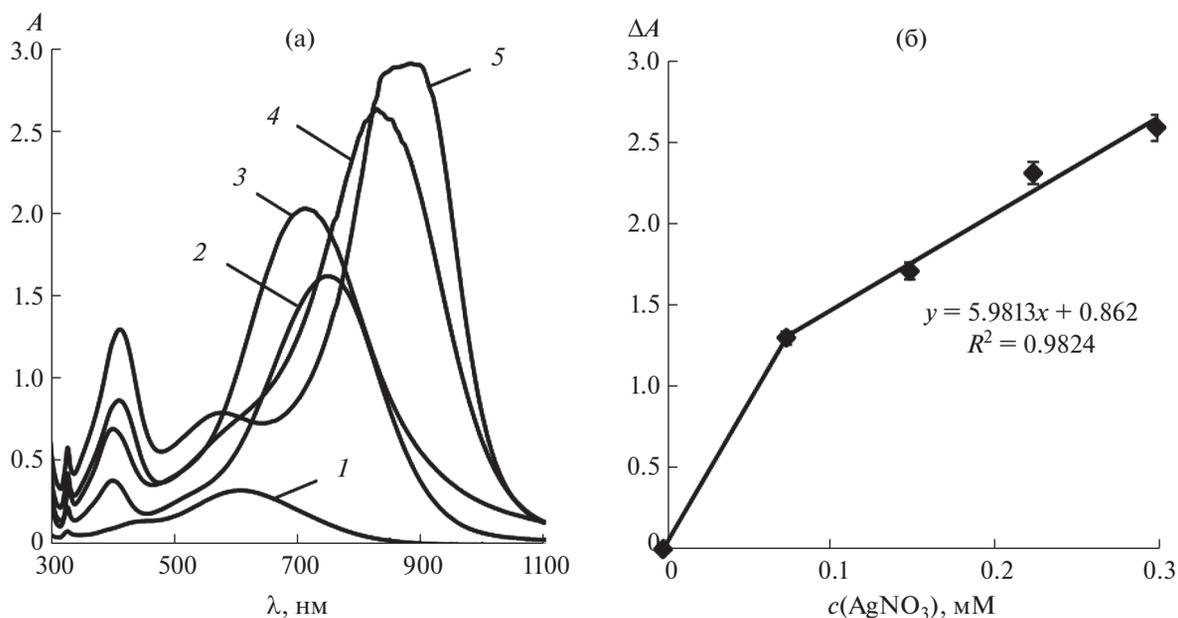
**Рис. 5.** (а): Спектры поглощения треугольных нанопластинок серебра после взаимодействия с L-аскорбиновой кислотой в присутствии нитрата серебра(I) при различных концентрациях наночастиц.  $c(\text{ТНП}), \text{ мМ Ag}$ : 0.16 (1), 0.08 (2), 0.04 (3);  $c(\text{L-аскорбиновой к-ты}) = 70 \text{ мг/л}$ ,  $c(\text{AgNO}_3) = 0.15 \text{ мМ}$ ,  $\text{pH } 6$ ,  $t = 5 \text{ мин}$ . (б): Зависимость аналитического сигнала ( $\Delta A$ ) от концентрации треугольных нанопластинок серебра.  $c(\text{L-аскорбиновой к-ты}) = 70 \text{ мг/л}$ ,  $c(\text{AgNO}_3) = 0.15 \text{ мМ}$ ,  $\text{pH } 6$ ,  $t = 5 \text{ мин}$ .



**Рис. 6.** (а): Спектры поглощения треугольных нанопластинок серебра до (1) и после (2–6) взаимодействия с L-аскорбиновой кислотой в присутствии нитрата серебра(I) при различных значениях pH. pH: 6.5 (1), 4.5 (2), 6.7 (3), 11.7 (4), 12.4 (5), 12.6 (6);  $c(\text{ТНП}) = 0.04 \text{ мМ Ag}$ ,  $c(\text{L-аскорбиновой к-ты}) = 70 \text{ мг/л}$ ,  $c(\text{AgNO}_3) = 0.15 \text{ мМ}$ ,  $t = 5 \text{ мин}$ . (б): Зависимость аналитического сигнала ( $\Delta A$ ) от pH.  $c(\text{ТНП}) = 0.04 \text{ мМ Ag}$ ,  $c(\text{L-аскорбиновой к-ты}) = 70 \text{ мг/л}$ ,  $c(\text{AgNO}_3) = 0.15 \text{ мМ}$ ,  $t = 5 \text{ мин}$ .



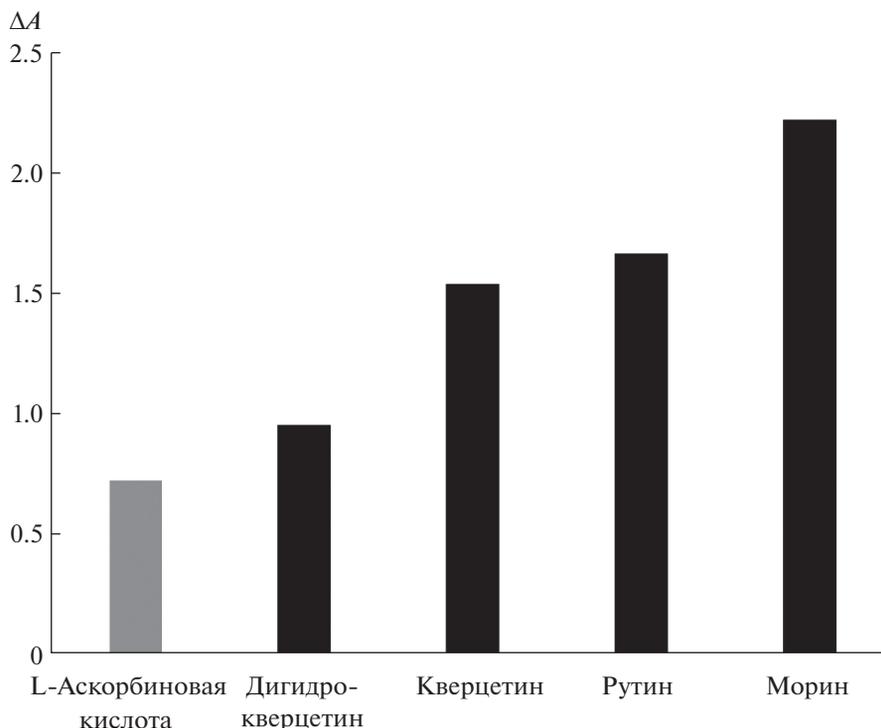
**Рис. 7.** (а): Спектры поглощения треугольных нанопластинок серебра до (1) и после (2, 3) взаимодействия с L-аскорбиновой кислотой в присутствии нитрата серебра(I) при различном времени взаимодействия.  $t$ , мин: 0 (1), 2.5 (2), 5–20 (3);  $c(\text{ТНП}) = 0.04 \text{ мМ Ag}$ ,  $c(\text{L-аскорбиновой к-ты}) = 70 \text{ мг/л}$ ,  $c(\text{AgNO}_3) = 0.15 \text{ мМ}$ , pH 6. (б): Зависимость аналитического сигнала ( $\Delta A$ ) от времени взаимодействия.  $c(\text{ТНП}) = 0.04 \text{ мМ Ag}$ ,  $c(\text{L-аскорбиновой к-ты}) = 70 \text{ мг/л}$ ,  $c(\text{AgNO}_3) = 0.15 \text{ мМ}$ , pH 6.



**Рис. 8.** (а): Спектры поглощения треугольных нанопластинок серебра до (1) и после (2–5) взаимодействия с L-аскорбиновой кислотой в присутствии нитрата серебра(I) при его различных концентрациях.  $c(\text{AgNO}_3)$ , мМ: 0 (1), 0.075 (2), 0.150 (3), 0.225 (4), 0.300 (5);  $c(\text{ТНП}) = 0.04 \text{ мМ Ag}$ ,  $c(\text{L-аскорбиновой к-ты}) = 70 \text{ мг/л}$ , pH 6,  $t = 5 \text{ мин}$ . (б): Зависимость аналитического сигнала ( $\Delta A$ ) от концентрации нитрата серебра(I).  $c(\text{ТНП}) = 0.04 \text{ мМ Ag}$ ,  $c(\text{L-аскорбиновой к-ты}) = 70 \text{ мг/л}$ , pH 6,  $t = 5 \text{ мин}$ .

ские характеристики методики спектрофотометрического определения L-аскорбиновой кислоты в водном растворе с помощью треугольных нанопла-

стинок серебра. Предел обнаружения рассчитывали по формуле  $c_{\min} = 3s_0/S$ , где  $s_0$  – стандартное отклонение сигнала контрольного опыта,  $S$  – тангенс угла



**Рис. 9.** Зависимость аналитического сигнала ( $\Delta A$ ) от природы восстановителя.  $c(\text{ТНП}) = 0.04 \text{ мМ Ag}$ ,  $c(\text{восстановитель}) = 100 \text{ мкМ}$ ,  $c(\text{AgNO}_3) = 0.15 \text{ мМ}$ ,  $\text{pH } 6$ ,  $t = 5 \text{ мин}$ .

наклона градуировочной зависимости. Нижнюю границу определяемых содержаний рассчитывали по формуле  $c_n = 3c_{\text{min}}$ . Предел обнаружения L-аскорбиновой кислоты в выбранных условиях равен 0.5 мг/л, диапазон определяемых содержаний (ДОС) составляет 1.6–60 мг/л. Из полученных результатов видно, что предложенный способ определения L-аскорбиновой кислоты в растворе обладает приемлемой чувствительностью и широким ДОС. Воспроизводимость результатов определения проверяли при концентрации определяемого соединения 40 мг/л. Относительное стандартное отклонение результатов трех параллельных определений составило 0.04, что вполне удовлетворительно для количественного анализа.

**Оценка селективности.** Для оценки влияния посторонних катионов и анионов на величину аналитического сигнала при определении L-аскорбиновой кислоты готовили растворы с различными соотношениями определяемого соединения и выбранных ионов. Обнаружено, что определению L-аскорбиновой кислоты (АК) не мешают катионы  $\text{Na}^+$  ( $m(\text{АК}) : m(\text{Na}^+) = 1 : 1000$ ),  $\text{K}^+$  (1 : 1000),  $\text{Sr}^{3+}$  (1 : 100),  $\text{Cu}^{2+}$  (1 : 100),  $\text{Co}^{2+}$  (1 : 100),  $\text{Al}^{3+}$  (1 : 100); анионы  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  (1 : 1000),  $\text{NO}_3^-$  (1 : 100),  $\text{Cl}^-$  (1 : 50),  $\text{SO}_4^{2-}$  (1 : 10). Мешают определению катионы  $\text{Hg}^{2+}$  (1 : 10),  $\text{Fe}^{3+}$  (1 : 1),  $\text{Ni}^{2+}$  (1 : 1); анион  $\text{I}^-$  (1 : 1).

Оценили применимость предложенного подхода к определению других восстановителей. В качестве таких восстановителей выбрали флавоноиды, являющиеся широко распространенными природными антиоксидантами. Результаты экспериментов представлены на рис. 9 в виде гистограммы. Несмотря на некоторые различия в величине аналитического сигнала, он находится в пределах от 0.7 до 2.2 единиц оптической плотности для всех исследованных восстановителей. Это обстоятельство позволяет сделать вывод о возможности применения предложенного метода для определения других восстановителей.

**Спектрофотометрическое определение L-аскорбиновой кислоты в реальных объектах.** Предложенный подход применили для анализа реальных объектов – листового зеленого чая “Ahmad Tea” и яблочного сока “Сады Придонья”. Для оценки правильности определения АК изучаемые объекты анализировали также независимым методом – кулонометрическим титрованием. Результаты определения представлены в табл. 1. Найденное с помощью предлагаемого способа содержание L-аскорбиновой кислоты совпадает с данными, полученными независимым методом, что свидетельствует о правильности результатов. Степень выделения лежит в пределах 88–105%, а относительное стандартное отклонение не превышает 0.05.

**Таблица 1.** Определение L-аскорбиновой кислоты в реальных объектах ( $n = 3$ ,  $P = 0.95$ )

Объект анализа	Предлагаемый метод		Независимый метод <sup>a</sup>		R, %
	найдено	$s_r$	найдено	$s_r$	
Чай зеленый "Ahmad Tea"	(0.13 ± 0.01) мг/г	0.03	(0.124 ± 0.001) мг/г	0.003	105
Сок яблочный "Сады Придонья"	(25 ± 3) мг/л	0.05	(28.5 ± 0.2) мг/л	0.003	88

<sup>a</sup> Кулонометрическое титрование с бипотенциометрической индикацией конечной точки. Вспомогательный электролит: 0.1 М  $H_2SO_4$  + 0.2 М КВг. Сила тока предэлектролиза составляла 0.25 мА, сила тока электролиза – 2.5 мА, сила тока конца титрования – 0.25 мА. Диапазон равновесных потенциалов, соответствующих конечной точке титрования, составлял 100–300 мВ.

**Таблица 2.** Сравнение аналитических характеристик предложенного и существующих способов определения L-аскорбиновой кислоты

Метод	$c_{min}$ , мкМ	ДОС, мкМ	Литература
СФЛ	200	350–700	[33]
ВА	38.7	400–1600	[34]
СФ	28	110–450	[35]
КР	20	20–10000	[36]
СФ	5	8–80	[37]
СФЛ	1.2	20–500	[38]
СФ	2.8	10–340	Настоящая работа

Обозначения: ВА – вольтамперометрия, КР – спектроскопия комбинационного рассеяния, СФ – спектрофотометрия, СФЛ – спектрофлуориметрия.

**Сравнение аналитических характеристик с существующими подходами.** Аналитические характеристики предложенного и существующих способов определения L-аскорбиновой кислоты приведены в табл. 2. Сравнение приведенных аналитических характеристик позволяет сделать вывод о том, что предложенный подход характеризуется достаточно хорошей чувствительностью и более низкими пределами обнаружения L-аскорбиновой кислоты, чем многие из существующих способов. Ограничением предлагаемого подхода является относительно невысокая селективность, уступающая таким методам, как спектрофлуориметрия. В то же время он не требует использования дорогостоящего оборудования, что является его достоинством.

\*\*\*

Показана возможность применения аналитических систем на основе ТНП серебра, стабилизированных цитратом натрия и поли(N-винил-2-пирролидоном), с полосой локализованного ППР в области 620–700 нм в качестве спектрофотометрических реагентов для определения восстановителей, в частности L-аскорбиновой кислоты. Предполагаемый принцип действия таких систем заключается в восстановлении  $Ag^+$  до металлического серебра под действием определяемого соединения и его осаждение на поверхности

наночастиц-затравок. Изучено влияние pH, времени взаимодействия, концентрации реагентов и посторонних соединений на величину аналитического сигнала и найдены условия проведения аналитической процедуры. Предел обнаружения L-аскорбиновой кислоты составил 0.5 мг/л, диапазон определяемых содержаний – 1.7–60 мг/л. Достоинствами разработанной методики являются простота, экспрессность и хорошие аналитические характеристики.

*Электронно-микроскопические исследования наночастиц и оценка возможностей их использования для определения других восстановителей выполнены при финансовой поддержке Министерства образования и науки и Совета по грантам Президента РФ, проект МД-1448.2021.1.3. Оптимизация параметров проведения эксперимента с L-аскорбиновой кислотой, оценка аналитических характеристик способа и анализ реальных объектов выполнены при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-33-90019. Отдельные эксперименты выполнены с использованием оборудования, приобретенного за счет средств Программы развития Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vilela D., González M.C., Escarpa A. Sensing colorimetric approaches based on gold and silver nanoparticles aggregation: Chemical creativity behind the assay.

- A review // *Anal. Chim. Acta*. 2012. V. 751. P. 24. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.08.043>
2. *Jiang X.C., Yu A.B.* Silver nanoplates: A highly sensitive material toward inorganic anions // *Langmuir*. 2008. V. 24. P. 4300. <https://doi.org/10.1021/la7032252>
  3. *Апыри 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. Т. 74. С. 26. (*Apyari V.V., Dmitrienko S.G., Gorbunova M.V., Furletov A.A., Zolotov Yu.A.* Gold and silver nanoparticles in optical molecular absorption spectroscopy // *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. P. 21. <https://doi.org/10.1134/s1061934819010052> <https://doi.org/10.1134/s0044450219010055>
  4. *Cialla D., März A., Böhme R., Theil F., Weber K., Schmitt M., Popp J.* Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS): Progress and trends // *Anal. Bioanal. Chem.* 2012. V. 403. P. 27. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5631-x>
  5. *Jouyban A., Rahimpour E.* Optical sensors based on silver nanoparticles for determination of pharmaceuticals: An overview of advances in the last decade // *Talanta*. 2020. V. 217. Article 121071. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121071>
  6. *Shiva Prasad K., Shruthi G., Shivamallu C.* Functionalized silver nano-sensor for colorimetric detection of  $Hg^{2+}$  ions: Facile synthesis and docking studies // *Sensors*. 2018. V. 18. P. 2698. <https://doi.org/10.3390/s18082698>
  7. *Szilagyi I., Trefalt G., Tiraferri A., Maroni P., Borkovec M.* Polyelectrolyte adsorption, interparticle forces, and colloidal aggregation // *Soft. Matter*. 2014. V. 10. P. 2479. <https://doi.org/10.1039/c3sm52132j>
  8. *Kappi F.A., Tsogas G.Z., Giokas D.L., Christodouleas D.C., Vlessidis A.G.* Colorimetric and visual read-out determination of cyanuric acid exploiting the interaction between melamine and silver nanoparticles // *Microchim. Acta*. 2014. V. 181. P. 623. <https://doi.org/10.1007/s00604-014-1163-3>
  9. *Shariati-Rad M., Heidari S.* Classification and determination of total hardness of water using silver nanoparticles // *Talanta*. 2020. V. 219. Article 121297. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121297>
  10. *Della Pelle F., Scroccarello A., Scarano S., Compagnone D.* Silver nanoparticles-based plasmonic assay for the determination of sugar content in food matrices // *Anal. Chim. Acta*. 2019. V. 1051. P. 129. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.11.015>
  11. *Shanmugaraj K., Sasikumar T., Campos C.H., Ilancheilian M., Mangalaraja R.V., Torres C.C.* Colorimetric determination of cysteamine based on the aggregation of polyvinylpyrrolidone-stabilized silver nanoparticles // *Spectrochim. Acta. A*. 2020. V. 236. Article 118281. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118281>
  12. *Chen F., Liu L., Zhang W., Wu W., Zhao X., Chen N., Zhang M., Guo F., Qin Y.* Visual determination of azodicarbonamide in flour by label-free silver nanoparticle colorimetry // *Food. Chem.* 2021. V. 337. Article 127990. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127990>
  13. *Lima M.J.A., Reis B.F.* Photogeneration of silver nanoparticles induced by UV radiation and their use as a sensor for the determination of chloride in fuel ethanol using a flow-batch system // *Talanta*. 2019. V. 201. P. 373. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.03.118>
  14. *Trisaranakul W., Chompoosor A., Maneepprakorn W., Nacapricha D., Choengchan N., Teerasong S.* A simple and rapid method based on anti-aggregation of silver nanoparticles for detection of poly(diallyldimethylammonium chloride) in tap water // *Anal. Sci.* 2016. V. 32. P. 769. <https://doi.org/10.2116/analsci.32.769>
  15. *Wang C., Bi X., Wang M., Zhao X., Lin Y.* Dual-channel online optical detection platform integrated with a visible light absorption approach for continuous and simultaneous in vivo monitoring of ascorbic acid and copper(II) ions in a living rat brain // *Anal. Chem.* 2019. V. 91. P. 16010. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b04783>
  16. *Yan P., Ding Z., Li X., Dong Y., Fu T., Wu Y.* Colorimetric sensor array based on Wulff-type boronate functionalized AgNPs at various pH for bacteria identification // *Anal. Chem.* 2019. V. 91. P. 12134. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b03172>
  17. *Bittar D.B., Catelani T.A., Pezza L., Pezza H.R.* A fast method for the determination of lead in honey samples using stabilizer-free silver nanoparticles // *Spectrochim. Acta. A*. 2018. V. 189. P. 221. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.08.032>
  18. *Shen J., Sun C., Wu X.* Silver nanoprisms-based Tb(III) fluorescence sensor for highly selective detection of dopamine // *Talanta*. 2017. V. 165. P. 369. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.12.073>
  19. *Apyari V.V., Gorbunova M.O., Shevchenko A.V., Furletov A.A., Volkov P.A., Garshev A.V., Dmitrienko S.G., Zolotov Yu.A.* Towards highly selective detection using metal nanoparticles: A case of silver triangular nanoplates and chlorine // *Talanta*. 2018. V. 176. P. 406. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.08.056>
  20. *Gorbunova M.O., Baulina A.A., Kulyaginova M.S., Apyari V.V., Furletov A.A., Volkov P.A., Bochenkov V.E., Starukhin A.S., Dmitrienko S.G.* Dynamic gas extraction of iodine in combination with a silver triangular nanoplate-modified paper strip for colorimetric determination of iodine and of iodine-interacting compounds // *Microchim. Acta*. 2019. V. 186. P. 188. <https://doi.org/10.1007/s00604-019-3300-5>
  21. *Furletov A.A., Apyari V.V., Garshev A.V., Volkov P.A., Dmitrienko S.G.* Silver triangular nanoplates as a colorimetric probe for sensing thiols: Characterization in the interaction with structurally related thiols of different functionality // *Microchem. J.* 2019. V. 147. P. 979. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.04.023>
  22. *Feng H., Dong J., Wu X., Yang F., Ma L., Liu X., Liu Q.* Ultra-large local field enhancement effect of isolated thick triangular silver nanoplates on a silicon substrate in the green waveband // *Opt. Lett.* 2020. V. 45. P. 2099. <https://doi.org/10.1364/OL.389241>
  23. *Chen L., Fu X., Lu W., Chen L.* Highly sensitive and selective colorimetric sensing of  $Hg^{2+}$  based on the morphology transition of silver nanoprisms // *ACS. Appl.*

- Mater. Interfaces. 2013. V. 5. P. 284.  
<https://doi.org/10.1021/am3020857>
24. Xue B., Wang D., Zuo J., Kong X., Zhang Y., Liu X., Tu L., Chang Y., Li C., Wu F., Zeng Q., Zhao H., Zhang H., Zhang H. Towards high quality triangular silver nanoprisms: Improved synthesis, six-tip based hot spots and ultra-high local surface plasmon resonance sensitivity // *Nanoscale*. 2015. V. 7. P. 8048.  
<https://doi.org/10.1039/c4nr06901c>
25. He Y., Yu H. A novel triangular silver nanoprisms-based surface plasmon resonance assay for free chlorine // *Analyst*. 2015. V. 140. P. 902.  
<https://doi.org/10.1039/c4an01774a>
26. Brandon M.P., Ledwith D.M., Kelly J.M. Preparation of saline-stable, silica-coated triangular silver nanoplates of use for optical sensing. // *J. Colloid. Interface. Sci.* 2014. V. 415. P. 77.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.10.017>
27. Liang W.-J., Johnson D., Jarvis S.M. Vitamin C transport systems of mammalian cells // *Mol. Membr. Biol.* 2001. V. 18. P. 87.  
<https://doi.org/10.1080/09687680110033774>
28. Arrigoni O., De Tullio M.C. Ascorbic acid: much more than just an antioxidant // *Biochim. Biophys. Acta*. 2002. V. 1569. P. 1.  
[https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(01\)00235-5](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(01)00235-5)
29. Ströhle A., Hahn A. Vitamin C and immune function // *Med. Monatsschr. Pharm.* 2009. V. 32. P. 49. PMID: 19263912.
30. Robertson W.B., Schwartz B. Ascorbic acid and the formation of collagen // *J. Biol. Chem.* 1953. V. 201. P. 689. PMID: 13061407.
31. Métraux G.S., Mirkin C.A. Rapid thermal synthesis of silver nanoprisms with chemically tailorable thickness // *Adv. Mater.* 2005. V. 17. P. 412.  
<https://doi.org/10.1002/adma.200401086>
32. Rycenga M., Cobley C.M., Zeng J., Li W., Moran C.H., Zhang Q., Qin D., Xia Y. Controlling the synthesis and assembly of silver nanostructures for plasmonic applications // *Chem. Rev.* 2011. V. 111. P. 3669.  
<https://doi.org/10.1021/cr100275d>
33. Yan X., He L., Zhou C., Qian Z.-J., Hong P., Sun S., Li C. Fluorescent detection of ascorbic acid using glutathione stabilized Au nanoclusters // *Chem. Phys.* 2019. V. 522. P. 211.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2019.03.008>
34. Sha R., Badhulika S. Facile green synthesis of reduced graphene oxide/tin oxide composite for highly selective and ultra-sensitive detection of ascorbic acid // *J. Electroanal. Chem.* 2018. V. 816. P. 30.  
<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.03.033>
35. Aguirre M.Á., Long K.D., Canals A., Cunningham B.T. Point-of-use detection of ascorbic acid using a spectrometric smartphone-based system // *Food. Chem.* 2019. V. 272. P. 141.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.002>
36. Cholula-Díaz J.L., Lomelí-Marroquín D., Pramanick B., Nieto-Argüello A., Cantú-Castillo L.A., Hwang H. Synthesis of colloidal silver nanoparticle clusters and their application in ascorbic acid detection by SERS // *Colloids Surf. B*. 2018. V. 163. P. 329.  
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.12.051>
37. Güçlü K., Sözgen K., Tütem E., Özyürek M., Apak R. Spectrophotometric determination of ascorbic acid using copper(II)–neocuproine reagent in beverages and pharmaceuticals // *Talanta*. 2005. V. 65. P. 1226.  
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.08.048>
38. Tan Q., An X., Pan S., Liu H., Hu X. Hydrogen peroxide assisted synthesis of sulfur quantum dots for the detection of chromium(VI) and ascorbic acid // *Spectrochim. Acta. A*. 2021. V. 247. Article 119122.  
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.119122>

УДК 543

## ВЭЖХ-РАЗДЕЛЕНИЕ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОРИСТОГО ГРАФИТИРОВАННОГО УГЛЕРОДА И ГРАДИЕНТНОГО ЭЛЮИРОВАНИЯ РАСТВОРАМИ МУРАВЬИНОЙ КИСЛОТЫ

© 2022 г. К. С. Гутенев<sup>а</sup>, М. А. Статкус<sup>а</sup>, Г. И. Цизин<sup>а</sup>, \*<sup>а</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет  
Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, 119992 Россия

\*e-mail: tsisin@analyt.chem.msu.ru

Поступила в редакцию 17.03.2022 г.

После доработки 28.04.2022 г.

Принята к публикации 11.05.2022 г.

Предложен способ ВЭЖХ-разделения смеси карбоновых кислот в условиях градиентного элюирования растворами муравьиной кислоты на пористом графитированном сорбенте Нуресcarb. Анализы детектировали с помощью моноквадрольного масс-спектрометра. Ступенчатый градиент муравьиной кислоты без добавки органического растворителя позволил добиться хорошего разрешения пиков аналитов и снижения пределов обнаружения в 4.4–17.8 раз по сравнению с их разделением в изократических условиях 0.1%-ной муравьиной кислотой. Влияние метанола на разделение аналитов выражено в меньшей степени.

**Ключевые слова:** ВЭЖХ, пористый графитированный углерод, градиентное элюирование.

**DOI:** 10.31857/S0044450222100061

Карбоновые кислоты необходимо определять в пищевых продуктах и напитках в ходе контроля их качества. Соотношение концентраций различных карбоновых кислот позволяет судить о происхождении и возможной фальсификации пищевого продукта. Определение карбоновых кислот в природных водах проводят с целью изучения мобилизации микроэлементов почв. На ряде промышленных производств для их нормального функционирования необходимо контролировать содержание карбоновых кислот в технологических растворах.

Для определения карбоновых кислот предложен большой ассортимент методов: капиллярный электрофорез [1–4], газовая хроматография [5–7], ВЭЖХ в обращенно-фазовом (ОФ) варианте [8–12], ферментативные методы [13, 14]. Для выделения отдельных пиков веществ из перекрывающихся пар аналитов при ОФ ВЭЖХ-определении применяли хемометрические подходы [15]. Наиболее распространенным методом определения карбоновых кислот на сегодняшний день является ионная хроматография [16, 17] с кондуктометрическим, спектрофотометрическим или масс-спектрометрическим (МС) детектированием. Масс-спектрометрическое детектирование, в принципе, не требует полного хроматографического разделения аналитов, что облегчает выбор условий анализа. Однако использование МС-де-

тектора невозможно при введении нелетучих добавок в подвижную фазу, таких как карбонат натрия, которые широко применяют при разделении аналитов на коммерчески доступных анионообменниках. Другой проблемой при использовании МС-детектора является недостаточная чувствительность и воспроизводимость при определении карбоновых кислот с малой молекулярной массой [18].

Коммерческие анионообменники не всегда обеспечивают полное разделение слабоудерживаемых органических кислот, а именно: гликолевой, уксусной, молочной и муравьиной. Более того, при использовании карбонат-селективных неподвижных фаз в изократических условиях наложения пиков карбоновых кислот более вероятны, поскольку их удерживание близко к удерживанию ряда неорганических кислот. Применение градиентных режимов также вызывает ряд проблем, таких как сильное удерживание неорганических анионов и недостаточное разрешение аналитов в сложных матрицах. Одновременное определение слабо- и сильноудерживаемых органических веществ может быть обеспечено использованием градиентного режима элюирования с гидроксидным элюентом на подходящей стационарной фазе [19].

Так называемые “гидроксид-селективные” стационарные фазы гораздо лучше подходят для разделения карбоновых кислот, поскольку их се-

лективность оптимизирована для гидроксидных элюентов в градиентных условиях. Это не означает, что все карбоновые кислоты могут быть разделены путем однократного применения линейного или нелинейного градиента, но более высокая емкость сорбента позволяет одновременно разделять слабо- и сильноудерживаемые карбоновые кислоты. Наиболее популярным анионообменником для такого применения является Dionex IonPac AS11 с аммонийными функциональными группами. При этом даже в градиентных условиях разрешение между пиками фторида и муравьиной кислоты мало, а гидроксикарбоновые кислоты, такие как гликолевая и молочная, лишь частично разрешены от фторида и уксусной кислоты [19]. Более высокая емкость IonPac AS11-НС не улучшает эту ситуацию.

Карбоновые кислоты разделяли и с использованием других неподвижных фаз, таких как сульфированные фазы Supelcogel и Hamilton. Однако и при этом отмечали сложности при разделении карбоновых кислот [16, 17].

Основываясь на наших предыдущих работах по разделению гидрофильных веществ в водной среде, мы предложили способ разделения карбоновых кислот на пористом графитированном углеродном сорбенте Hypercarb. Уникальные свойства этого сорбента отмечены в работах [20, 21], в том числе в работах нашей группы [22–24].

Цель данной работы – оптимизация условий разделения карбоновых кислот на сорбенте Hypercarb при разных градиентных режимах с использованием водных растворов муравьиной кислоты в качестве элюента.

Градиентное элюирование обычно применяют для уменьшения продолжительности разделения аналитов. В этом случае инжектирование аналитов в слабый элюент приводит к их дополнительному фокусированию на начальном участке ВЭЖХ-колонки. За счет уменьшения размытия пиков аналитов на стадии ввода образцов часто повышается селективность разделения. Подобный прием хроматофокусирования часто встречается в работах по ионной хроматографии [25].

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Реагенты.** Для приготовления растворов и элюентов использовали деионизованную воду (18.2 МОм см), полученную на установке Millipore Simplicity (Millipore, США), а также раствор муравьиной кислоты в воде (50 мас. %) чистоты “for HPLC” (Sigma-Aldrich, США) и метанол степени чистоты “for HPLC” (J.T. Baker, Нидерланды).

Исходные водные растворы молочной и яблочной (1 мг/мл); глюконовой, хинной, винной и янтарной (5 мг/мл) кислот х. ч. (Panreac, Испания) готовили по точным навескам. Рабочие рас-

творы с концентрацией 10 мкг/мл готовили путем последовательного разбавления исходных растворов. Исходные растворы хранили в темноте при +4°C.

**Аппаратура.** Для определения использовали жидкостной хромато-масс-спектрометр производства Shimadzu (Япония), состоящий из следующих модулей: квадрупольный масс-спектрометр LCMS-2020 с ионизацией аналитов электро-распылением (ESI); два ВЭЖХ-насоса LC-20AD; дегазатор DGU-20A; контроллер CBM-20A; авто-самплер SIL-20AC и термостат CTO-20AC. Ту же ВЭЖХ-систему использовали с диодно-матричным детектором SPD-M20A. Программное обеспечение для сбора данных и управления хроматографом – LabSolutions ver. 5.55. В режиме ионной хроматографии эксперименты проводили на ионном хроматографе Metrohm 850 Professional IC с кондуктометрическим детектором. Ионный подавитель был отключен из-за невозможности его использования с кислотными подвижными фазами.

Для ВЭЖХ-разделения использовали колонку с сорбентом Hypercarb (Thermo Scientific, США) (100 × 2.1 мм, 5 мкм).

**Условия хроматографического разделения.** В качестве элюентов использовали деионизованную воду и 0.1–0.5%-ный водный раствор муравьиной кислоты, а также 0.1%-ный водный раствор муравьиной кислоты с добавкой 1–5% метанола. Скорость потока составляла 0.2 мл/мин, температура колонки +30°C. Для детектирования аналитов использовали параметры МС-детектора и интерфейса Shimadzu LCMS-2020, рекомендованные производителем оборудования: время регистрации интенсивности на заданном  $m/z$  (SIM event time) 0.2 с; напряжение на детекторе (detector voltage) –1.55 кВ; напряжение на интерфейсе (interface voltage) 4.5 кВ; напряжение линии десольватации (DL voltage) 0 В; температура линии десольватации (DL temperature) +250°C; поток газа-распылителя (nebulizing gas flow) 1.5 л/мин; температура блока нагревателя (heat block) +400°C; поток газа-осушителя (drying gas flow) 15 л/мин. Аналиты определяли в режиме регистрации отрицательных ионов. Параметры  $m/z$  регистрации ионов аналитов для масс-спектрометра были следующие: молочная кислота 89 а.е.м., глюконовая 195 а.е.м., хинная 191 а.е.м., яблочная 133 а.е.м., винная 149 а.е.м., янтарная 117 а.е.м. Пределы обнаружения рассчитывали в программе LabSolutions.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследовали возможность улучшения параметров разделения некоторых карбоновых кислот на пористом графитированном углеродном сор-

бенте Нурегcarb за счет градиентного элюирования на примере разделения смесей молочной, глюконовой, хинной, яблочной, винной и янтарной кислот. Выше показано, что при разделении этих аналитов часто возникают проблемы.

Смеси карбоновых кислот разделяли на колонке Нурегcarb, используя три режима элюирования: изократический, линейный градиент и ступенчатый градиент (скачкообразное изменение концентрации муравьиной кислоты). Известно, что при разделении на Нурегcarb сила водного элюента определяется концентрацией муравьиной кислоты [23, 24].

Так, модельную смесь аналитов разделяли в изократическом режиме 0.1%-ным раствором муравьиной кислоты в воде (рис. 1а). При этом не удалось достичь полного разделения яблочной и винной кислот. При использовании линейного градиента (рис. 1с), наблюдали неполное разделение глюконовой и хинной кислот. Наилучшего разделения аналитов удалось добиться в условиях ступенчатого градиентного элюирования раствором муравьиной кислоты (рис. 1б). Аналогичное наблюдение сделано нами ранее при разделении фосфорорганических аналитов [23, 24].

Ступенчатый градиент характеризуется в том числе длительностью первого и второго участков (100% фазы А и 100% фазы Б соответственно), а линейный – продолжительностью перехода от фазы А к фазе Б. Установлено, что в случае ступенчатого градиента минимально необходимая продолжительность первой стадии – так называемого “уравновешивания” колонки водой перед инъекцией – составила 5 мин (рис. 2). Дальнейшее увеличение продолжительности этой стадии мало влияло на времена удерживания аналитов. Для линейного градиента оптимизирована продолжительность перехода от фазы А (воды) к фазе Б (водному раствору муравьиной кислоты), оптимальная величина составила 8 мин. Время уравновешивания колонки до инъекции составило 5 мин.

Увеличение концентрации муравьиной кислоты приводит к увеличению силы элюента и, как следствие, к сокращению продолжительности анализа [23]. Так, увеличение концентрации муравьиной кислоты от 0.1 до 0.5% привело к уменьшению времен удерживания аналитов, однако отрицательно сказалось на их разрешении во всех режимах элюирования. Кроме того, сильно возросли шумы, и ухудшилась форма пиков. В дальнейших экспериментах применяли 0.1%-ную муравьиную кислоту. При разделении карбоновых кислот на углеродном сорбенте этот прием может сократить продолжительность анализа и повысить интенсивность сигналов при МС-детектировании.

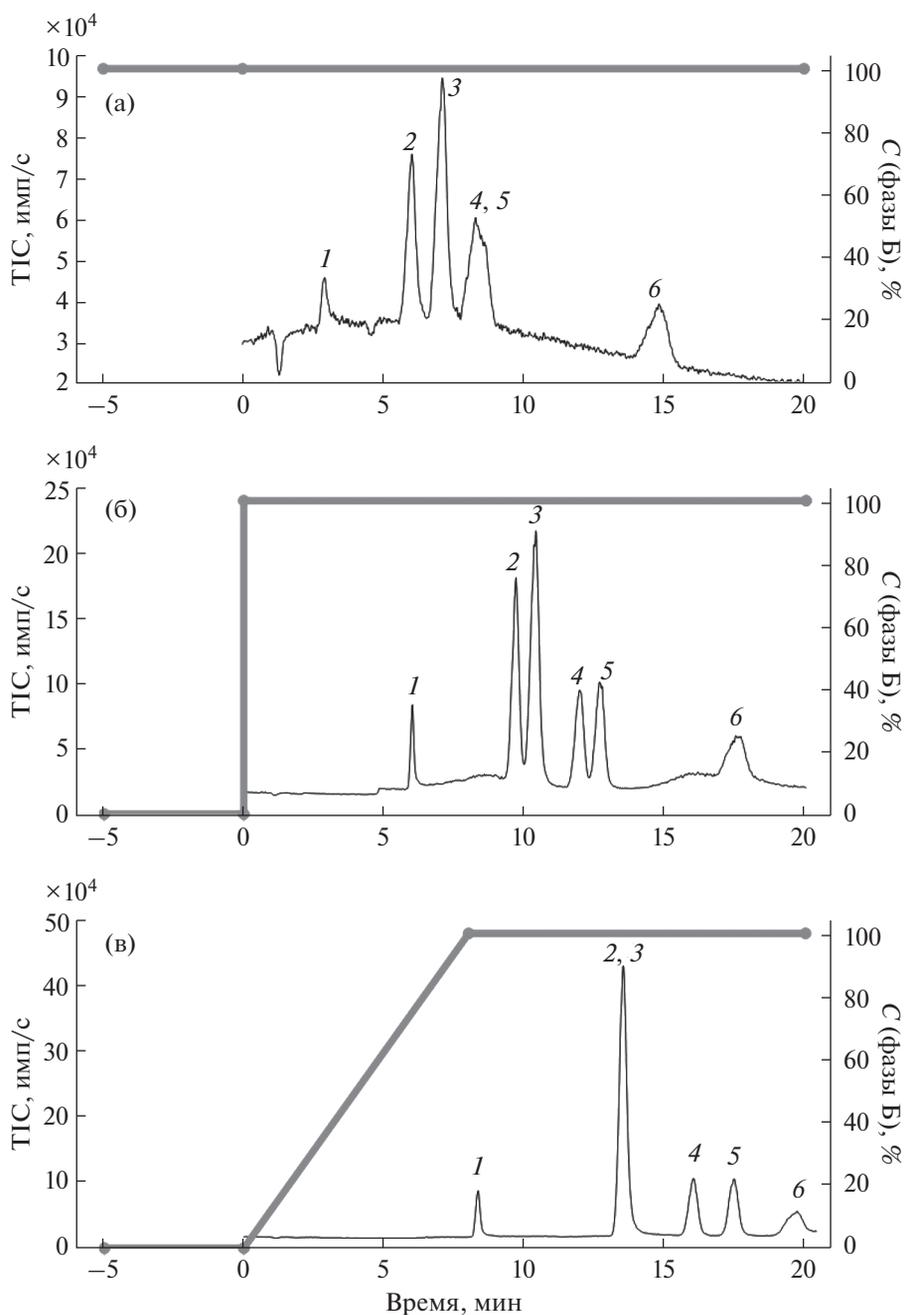
В ионной хроматографии в качестве добавки к подвижной фазе нередко используют органические растворители, например метанол [16, 26] или изопропанол [17]. В серии экспериментов по разделению карбоновых кислот с различными добавками метанола в подвижную фазу нами установлено, что добавка 1% (по объему) метанола незначительно влияет на времена удерживания большинства аналитов, однако улучшает разрешение между яблочной и винной кислотами в изократическом режиме (рис. 3б). При добавке 5% метанола возможно перекрывание пиков янтарной кислоты с пиками винной и яблочной кислот (рис. 3в). На разрешении остальных аналитов увеличение доли метанола до 5% сказывается слабо. При доле метанола выше 5% наблюдается сильное перекрывание пиков аналитов.

При градиентном элюировании аналитов раствором, содержащим одновременно муравьиную кислоту и метанол, сложно учесть отдельно влияние каждого из этих компонентов. В связи с этим проводили отдельные эксперименты, в ходе которых концентрацию одного из компонентов подвижной фазы фиксировали, а другого – меняли. Установлено, что градиент метанола при фиксированной концентрации муравьиной кислоты мало влияет на удерживание карбоновых кислот; основное влияние на времена выхода аналитов оказывает градиент муравьиной кислоты. Совместный градиент муравьиной кислоты и метанола ухудшает разрешение глюконовой и хинной кислот.

Таким образом, наилучшими условиями разделения карбоновых кислот является ступенчатый градиент муравьиной кислоты без добавки метанола (табл. 1). Значения  $R_s$  рассчитывали как среднее из двух повторов. Величина  $R_s$  равна отношению разности времен удерживания соседних хроматографических пиков к полусумме их ширин у основания.

В этих условиях наблюдали улучшение формы пиков на хроматограмме по сравнению с полученными в изократическом режиме без добавки метанола и снижение пределов обнаружения в 4.4–17.8 раз (табл. 2). Пределы обнаружения рассчитывали в программе LabSolutions (параметр Detection Limit) как среднее из двух повторов. В изократическом режиме добавка метанола к подвижной фазе также позволяет снизить пределы обнаружения карбоновых кислот, однако, как отмечено выше, параметры их разделения будут несколько хуже.

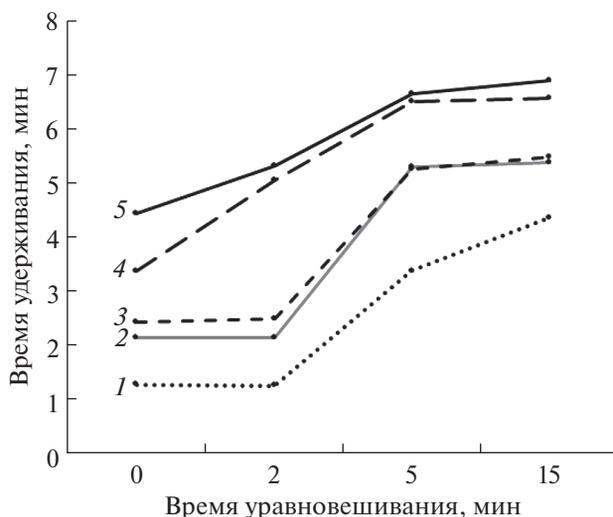
Поскольку при определении карбоновых кислот можно использовать не только МС-детекторы, оценили возможность применения спектрофотометрического и кондуктометрического детекторов. Из-за отсутствия возможности создания градиента подвижной фазы на ионном



**Рис. 1.** Хроматограммы, полученные при разделении карбоновых кислот на колонке с пористым графитированным углеродом. Разделяли молочную (1), глюконовую (2), хинную (3), яблочную (4), винную (5) и янтарную (6) кислоты.  $c_{\text{аналитов}} = 10$  мкг/мл; инжестировали 3 мкл раствора; фаза А – вода, фаза Б – 0.1%-ная  $\text{HCOOH}$ . (а) – изократический режим, (б) – ступенчатый градиент, (в) – линейный градиент.

хроматографе выбрали наиболее подходящий состав элюента для изократических условий разделения, а именно 0.1%-ный раствор муравьиной кислоты в воде с добавлением 1% метанола. Такие же условия воспроизвели на приборе Shimadzu с диодно-матричным детектором.

При использовании хроматографа Shimadzu с диодно-матричным детектором в изократическом режиме на хроматограмме наблюдали лишь часть присутствующих в смеси кислот (рис. 4а): молочную, глюконовую, яблочную, винную. Поглощение остальных аналитов слишком мало,



**Рис. 2.** Зависимость времени удерживания аналитов от длительности “уравнивания” колонки фазой А. Разделили молочную (1), глюконовую (2), хинную (3), винную (4) и янтарную кислоты (5).  $c_{\text{аналитов}} = 10$  мкг/мл, инжестрировали 3 мкл раствора.

чтобы их можно было надежно детектировать спектрофотометрически даже при длине волны 210 нм. Детектировать пик янтарной кислоты не представляется возможным из-за низкой чувствительности детектора.

При работе на хроматографе Metrohm с кондуктометрическим детектированием (рис. 46)

удалось идентифицировать в смеси молочную, хинную, яблочную и винную кислоты. Существенной проблемой при использовании кондуктометрического детектора является необходимость отключать систему подавления фоновой электропроводности из-за ее несовместимости с кислотными подвижными фазами. Это приводит как к снижению чувствительности, так и к увели-

**Таблица 1.** Разрешение ( $R_s$ ) некоторых пар карбоновых кислот в зависимости от выбранного режима элюирования (фаза А –  $H_2O$ )

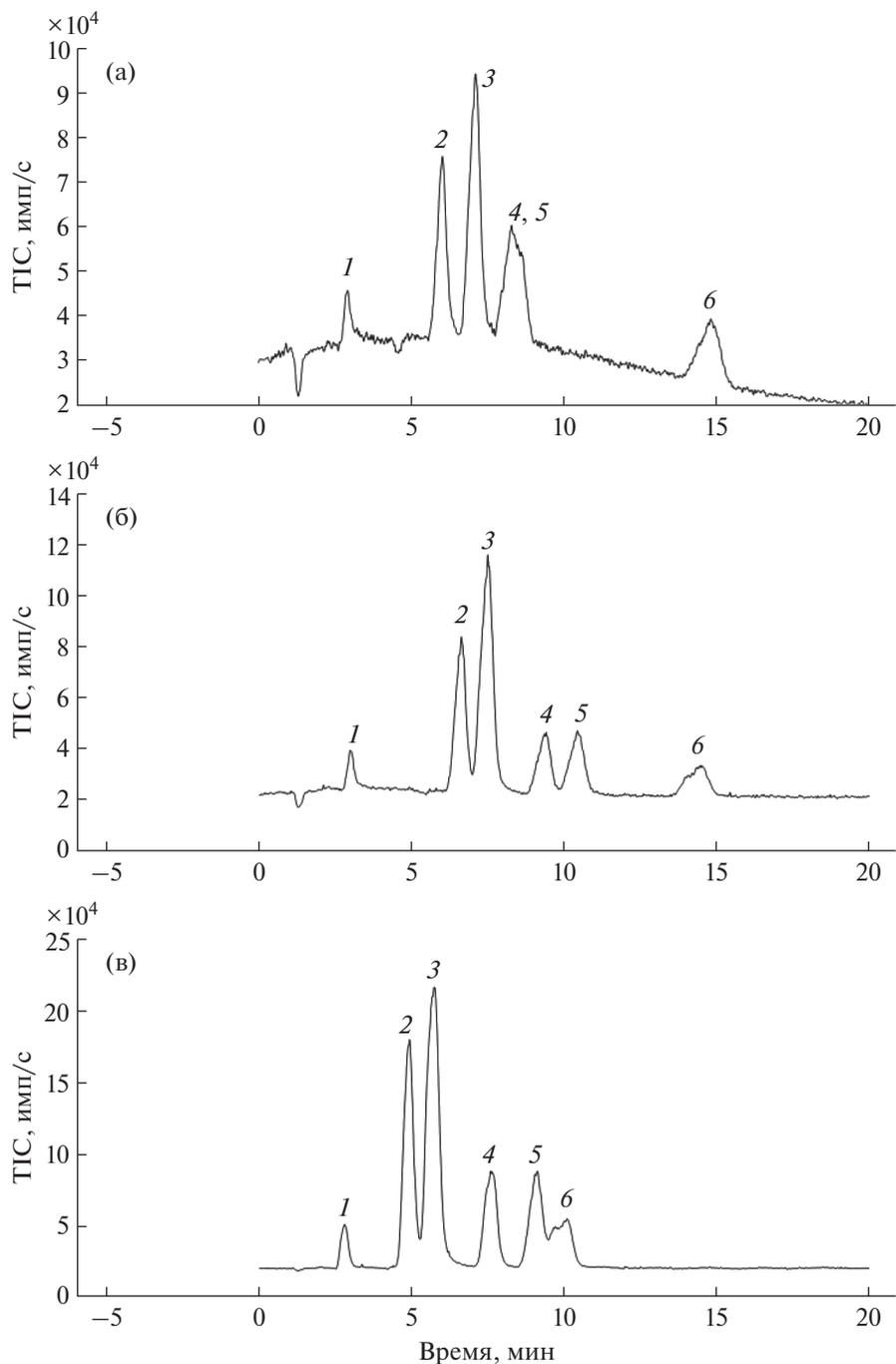
Пара кислот	0.1% HCOOH			0.5% HCOOH, изо.	0.1% HCOOH + 1% MeOH		0.1% HCOOH + 5% MeOH	
	изо.	ступ.	лин.		изо.	ступ.	изо.	ступ.
Глюконовая\хинная	1.66	1.26	0.09	1.75	1.16	1.00	1.23	1.26
Янтарная\винная	5.47	5.59	2.54	5.18	3.47	3.03	1.06	0.75
Яблочная\винная	0.49	1.22	2.27	0.12	1.15	2.11	1.90	2.01

Обозначения: “изо.” – изократический режим, “ступ.” – ступенчатый градиент, “лин.” – линейный градиент.

**Таблица 2.** Пределы обнаружения (мкг/мл) аналитов при разных режимах элюирования\*

Аналит	0.1% HCOOH изо.	0.1% HCOOH ступ.	0.1% HCOOH + 1% MeOH изо.	0.1% HCOOH + 5% MeOH изо.
Молочная кислота	0.89	0.05	0.29	0.08
Глюконовая кислота	0.57	0.07	0.39	0.13
Хинная кислота	2.78	0.47	1.27	0.49
Яблочная кислота	0.71	0.16	0.22	0.13
Винная кислота	1.16	0.12	0.35	0.12
Янтарная кислота	2.21	0.15	0.62	0.16

Обозначения: “изо.” – изократический режим, “ступ.” – ступенчатый градиент.

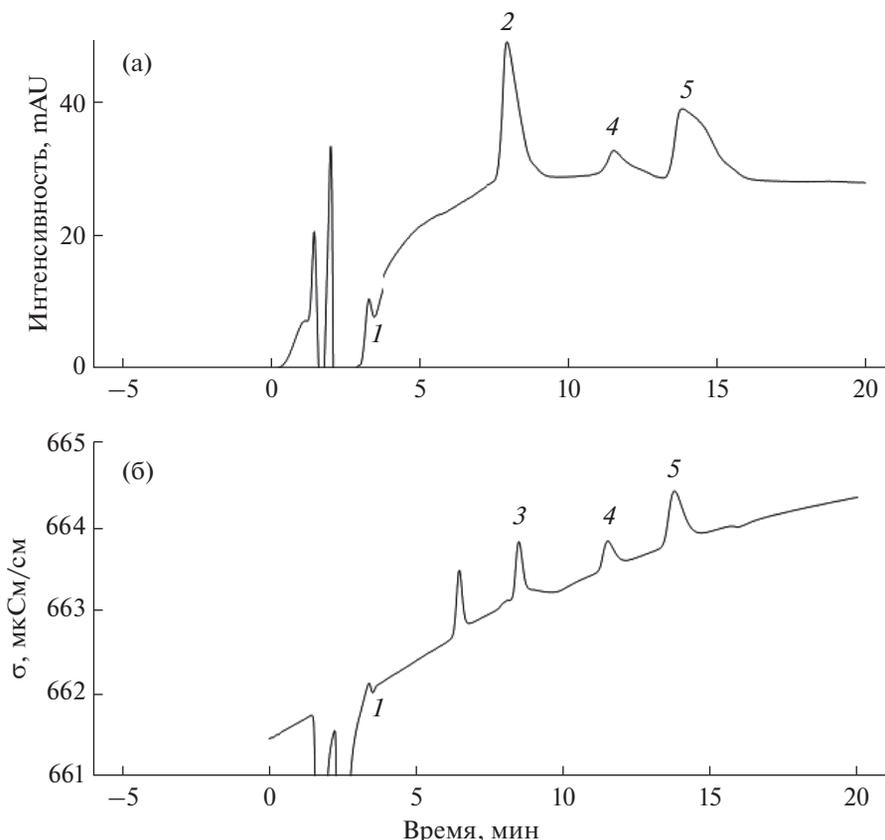


**Рис. 3.** Влияние концентрации метанола в подвижной фазе на разрешение карбоновых кислот при разделении в изократическом режиме. Аналиты: 1 – молочная, 2 – глюконовая, 3 – хинная, 4 – яблочная, 5 – винная, 6 – янтарная кислоты. Концентрация аналитов 10 мкг/мл, инжестировали 3 мкл. Изократический режим элюирования; фаза А – вода; фаза Б – 0.1%-ная НСООН (а), 0.1%-ная НСООН + 1%-ный МеОН (б), 0.1%-ная НСООН + 5%-ный МеОН (в).

чению дрейфа базовой линии. В случае применения градиента концентрации муравьиной кислоты скачок базовой линии в несколько сотен раз превышает высоту пиков карбоновых кислот, что делает нецелесообразным использование этого приема разделения совместно с кондуктометрическим детектированием.

\*\*\*

Таким образом, предложенный ранее нашей научной группой прием предварительного уравновешивания колонки водой с последующим ступенчатым градиентом концентрации муравьиной кислоты при разделении аналитов на пористом



**Рис. 4.** Хроматограммы разделения карбоновых кислот в изократическом режиме с использованием диодно-матричного при 210 нм (а) и кондуктометрического (б) детекторов. Аналиты: 1 – молочная, 2 – глюконовая, 3 – хинная, 4 – яблочная, 5 – винная кислоты. Концентрация аналитов 10 мкг/мл, инжестировали 3 мкл. Фаза А – вода; фаза Б – 0.1%-ная HCOOH + 1%-ный MeOH.

графитированном углеродном сорбенте оказался эффективным и при разделении карбоновых кислот. Этот прием позволил добиться хорошего разрешения пиков аналитов и снижения пределов обнаружения в 4.4–17.8 раз по сравнению с их разделением в изократических условиях 0.1%-ной муравьиной кислотой.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wang M., Qu F., Shan X.-Q., Lin J.-M. Development and optimization of a method for the analysis of low-molecular-mass organic acids in plants by capillary electrophoresis with indirect UV detection // *J. Chromatogr. A*. 2003. V. 989. P. 285. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(03\)00026-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(03)00026-8)
2. Schulz M., Brugnerotto P., Seraglio S.K.T., Gonzaga L.V., Borges G.S.C., Costa A.C.O., Fett R. Aliphatic organic acids and sugars in seven edible ripening stages of juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius) // *J. Food Compos. Anal.* 2021. V. 95. Article 103683. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103683>
3. Soga T., Imaizumi M. Capillary electrophoresis method for the analysis of inorganic anions, organic acids, amino acids, nucleotides, carbohydrates and other anionic compounds // *Electrophoresis*. 2001 V. 22. P. 3418. [https://doi.org/10.1002/1522-2683\(200109\)22:16<3418::aid-elps3418>3.0.co;2-8](https://doi.org/10.1002/1522-2683(200109)22:16<3418::aid-elps3418>3.0.co;2-8)
4. Peres R.G., Moraes E.P., Micke G.A., Tonin F.G., Tavares M.F.M., Rodriguez-Amaya D.B. Rapid method for the determination of organic acids in wine by capillary electrophoresis with indirect UV detection // *Food Control*. 2009. V. 20. P. 548. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.08.004>
5. Adams M.A., Chen Z., Landman P., Colmer T.D. Simultaneous determination by capillary gas chromatography of organic acids, sugars, and sugar alcohols in plant tissue extracts as their trimethylsilyl derivatives // *Anal. Biochem.* 1999. V. 266. P. 77. <https://doi.org/10.1006/abio.1998.2906>
6. Jurado-Sánchez B., Ballesteros E., Gallego M. Gas chromatographic determination of 29 organic acids in food-stuffs after continuous solid-phase extraction // *Talanta*. 2011. V. 84. P. 924. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.02.031>
7. Balducci C., Cecinato A. Particulate organic acids in the atmosphere of Italian cities: Are they environmentally relevant? // *Atmos. Environ.* 2010. V. 44. P. 652. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2009.11.015>
8. Kemmei T., Kodama S., Yamamoto A., Inoue Y., Hayakawa K. Reversed phase liquid chromatographic deter-

- mination of organic acids using on-line complexation with copper(II) ion // *Anal. Chim. Acta.* 2015. V. 886. P. 194.  
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.07.002>
9. *Flores P., Hellín P., Fenoll J.* Determination of organic acids in fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry // *Food Chem.* 2012. V. 132. P. 1049.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.064>
  10. *Scherer R., Rybka A. C.P., Ballus C.A., Meinhart A.D., Filho J.T., Godoy H.T.* Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices // *Food Chem.* 2012. V. 135. P. 150.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.111>
  11. *Klupczynska A., Plewa S., Sytek N., Sawicki W., Dereziński P., Matysiak J., Kokot Z.J.* A study of low-molecular-weight organic acid urinary profiles in prostate cancer by a new liquid chromatography-tandem mass spectrometry method // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2018. V. 159. P. 229.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.06.059>
  12. *Nour V., Trandafir I., Ionica M.E.* HPLC organic acid analysis in different citrus juices under reversed phase conditions // *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.* 2010. V. 38. № 1. P. 44.  
<https://doi.org/10.15835/nbha3814569>
  13. *Rinken T.* State of the Art in Biosensors - Environmental and Medical Applications. London: IntechOpen, 2013. P. 151.  
<https://doi.org/10.5772/55617>
  14. *Mato I., Suárez-Luque S., Huidobro J.F.* A review of the analytical methods to determine organic acids in grape juices and wines // *Food Res. Int.* 2005. V. 38. P. 1175.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.04.007>
  15. *Mortera P., Zuljan F.A., Magni C., Bortolato S.A., Alarcón S.H.* Multivariate analysis of organic acids in fermented food from reversed-phase high-performance liquid chromatography data // *Talanta.* 2018. V. 178. P. 15.  
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.09.005>
  16. *Bylund D., Norström S.H., Essén S.A., Lundström U.S.* Analysis of low molecular mass organic acids in natural waters by ion exclusion chromatography tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2007. V. 1176. P. 89.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.10.064>
  17. *Rellán-Álvarez R., López-Gomollón S., Abadía J., Álvarez-Fernández A.* Development of a new high-performance liquid chromatography-electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry method for the determination of low molecular mass organic acids in plant tissue extracts // *J. Agric. Food Chem.* 2011. V. 59. № 13. P. 6864.  
<https://doi.org/10.1021/jf200482a>
  18. *Hajós P., Nagy L.* Retention behaviours and separation of carboxylic acids by ion-exchange chromatography // *J. Chromatogr. B.* 1998. V. 717. P. 27.  
[https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(98\)00247-3](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(98)00247-3)
  19. *Fritz J.S., Gjerde D.T.* Handbook of Ion Chromatography. New Jersey: Wiley-VCH, 2009. V. 3. P. 227.
  20. *Pereira L.* Porous graphitic carbon as a stationary phase in HPLC: Theory and application // *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 2008. V. 31. P. 1687.  
<https://doi.org/10.1080/10826070802126429>
  21. *West C., Elfakir C., Lafosse M.* Porous graphitic carbon: A versatile stationary phase for liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2010. V. 1217. № 19. P. 3201.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.09.052>
  22. *Гончарова Е.Н., Статкус М.А., Цизин Г.И., Золотов Ю.А.* Пористый графитированный углерод для разделения и концентрирования гидрофильных веществ // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. № 4. С. 291 (*Goncharova E.N., Statkus M.A., Tszin G.I., Zolotov Yu.A.* Porous graphitized carbon for the separation and preconcentration of hydrophilic substances // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 4. P. 423.)  
<https://doi.org/10.1134/S1061934820040036>
  23. *Goncharova E.N., Statkus M.A., Nesterenko P.N., Tsysin G.I., Zolotov Yu.A.* Solid-phase extraction of alkylphosphonic and O-alkyl alkylphosphonic acids followed by HPLC separation using porous graphitic carbon sorbent // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1653. Article 462420.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462420>
  24. *Гончарова Е.Н., Семенова И.П., Статкус М.А., Цизин Г.И.* Градиентное ВЭЖХ разделение алкилфосфоновых кислот на пористом графитированном сорбенте HYPERCARB с использованием водного раствора муравьиной кислоты в качестве подвижной фазы // *Вестн. Моск. ун-та. Серия 2: Химия.* 2017. Т. 58. № 6. С. 275. (*Goncharova E.N., Semenova I.P., Statkus M.A., Tsysin G.I.* Gradient HPLC separation of alkylphosphonic acids on a hypercarb porous graphitic carbon adsorbent with an aqueous formic acid solution as the mobile phase // *Moscow Univ. Chem. Bull.* 2017. V. 72. № 6. P. 255.)  
<https://doi.org/10.3103/S0027131417060050>
  25. *Rodriguez E.S., Poynter S., Curran M., Haddad P.R., Shellie R.A., Nesterenko P.N., Paull B.* Capillary ion chromatography with on-column focusing for ultra-trace analysis of methanesulfonate and inorganic anions in limited volume Antarctic ice core samples // *J. Chromatogr. A.* 2015. V. 1409. P. 182.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.07.034>
  26. *Käkölä J., Alén R.* A fast method for determining low-molecular-mass aliphatic carboxylic acids by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry // *J. Sep. Sci.* 2006. V. 29. № 13. P. 1996.  
<https://doi.org/10.1002/jssc.200600106>

УДК 543.641+543.544.43+543.51

## СРАВНЕНИЕ ЛИОФИЛИЗАЦИИ С ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ДЕРИВАТИЗАЦИЕЙ И МИКРОСОРБЦИОННОГО КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ В ШПРИЦЕ (MEPS) ДЛЯ АНАЛИЗА КОНДЕНСАТА ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

© 2022 г. А. И. Ревельский<sup>а</sup>\*, А. С. Козырь<sup>а</sup>, А. С. Самохин<sup>а</sup>, Э. Х. Анаев<sup>б</sup>, И. А. Ревельский<sup>а</sup><sup>а</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет  
Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, ГСП-1, 119991 Россия<sup>б</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова  
ул. Островитянова, 1, Москва, 117997 Россия

\*e-mail: sorbent@yandex.ru

Поступила в редакцию 12.01.2022 г.

После доработки 09.03.2022 г.

Принята к публикации 09.03.2022 г.

Проведено сравнение двух подходов к пробоподготовке образцов конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) человека (здоровых добровольцев) для обнаружения следов низкомолекулярных органических соединений методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии: лиофилизации с последующей дериватизацией и микросорбционного концентрирования в шприце (micro extraction by packed sorbent, MEPS). В виде силильных производных зарегистрирован ряд жирных, гидроксид-, дикарбоновых кислот, мочевины, в образцах также зафиксирован деканаль. В виде изобутоксикарбонильных эфиров зарегистрированы аланин, глицин, валин, пролин, изолейцин. Микросорбционное концентрирование с применением в качестве сорбента силикагеля с привитыми октадецильными группами позволило зарегистрировать в образцах КВВ ряд жирных кислот, алканов, спиртов, аминов, из альдегидов – деканаль. Примененные подходы к пробоподготовке для обнаружения следов неизвестных низкомолекулярных органических соединений в КВВ подтверждают и дополняют друг друга.

**Ключевые слова:** конденсат выдыхаемого воздуха, лиофилизация, дериватизация, силилирование, изобутилхлорформат, микросорбционное концентрирование в шприце (Micro Extraction by Packed Sorbent (MEPS)), газовая хромато-масс-спектрометрия.

DOI: 10.31857/S0044450222100139

Выявление низкомолекулярных органических веществ, отражающих особенности биохимических процессов в организме человека (область метаболомики), представляет научный и практический интерес на протяжении последних двух десятилетий. Результат поиска литературы по базе Web of Science по ключевому слову “metabolomic” показал следующую картину: в начале 2000-х годов встречаются единичные работы, в 2006 г. зарегистрировано более 100 работ, начиная с 2009 г. количество публикаций увеличивается на 100 и более практически каждый год.

Разработке алгоритмов анализа биологических образцов человека, полученных с помощью неинвазивных методов отбора (моча, пот, слюна, выдыхаемый воздух, конденсат выдыхаемого воздуха), на сегодняшний день уделяется большое внимание. В случае метаболомного анализа таких образцов искомые аналиты необходимо опреде-

лять на следовом уровне на фоне сложной многокомпонентной матрицы. По этой причине для таких образцов применяют высокоселективные и высокочувствительные методы анализа многокомпонентных смесей (хромато-масс-спектрометрию, в частности) в сочетании с эффективными способами пробоподготовки [1].

Анализ выдыхаемого воздуха ограничен летучими органическими соединениями. Он не охватывает многие полярные и нелетучие низкомолекулярные органические вещества, отражающие биохимические процессы в организме человека. Наблюдаются потери определяемых веществ при пробоотборе [2].

Конденсат выдыхаемого воздуха позволяет при пробоотборе охватить более широкий спектр потенциальных маркеров заболевания (в том числе неорганических, полярных и нелетучих низкомолекулярных органических веществ, высокомо-

лекулярных веществ), но при этом вещества находятся в образце на следовом уровне [3–6].

Рост количества публикаций, отражающих результаты научных исследований образцов конденсата выдыхаемого воздуха, заметен с начала 2000-х годов, начиная с 2008 г. и по настоящее время количество ежегодных публикаций не уменьшается.

В 2005 г. от имени специальной комиссии Американского торакального общества (ATS) и Европейского респираторного общества (ERS) была выпущена статья, в которой представлено руководство по проведению отбора образцов КВВ (и их анализа) с рекомендациями по использованию такого подхода к диагностике и описанием путей дальнейшего развития с целью его стандартизации [7].

Авторы обзора [8] рассмотрели пути развития подхода к диагностике заболеваний, основанного на анализе образцов КВВ, начиная с упомянутой выше статьи с рекомендациями ATS/ERS по 2013 г. Представлено многообразие коммерческих устройств для отбора конденсата выдыхаемого воздуха, среди которых и прибор EcoScreen (производитель “Erich Jaeger”, Германия), с помощью которого отбирали образцы КВВ и в нашем исследовании. Сбор образцов КВВ у каждого пациента или добровольца с помощью этой установки занимает 10–15 мин. Объем каждой пробы составляет от 1.5 до 2.5 мл. При этом акцентируется внимание на хорошей воспроизводимости значений объема отобранных образцов КВВ. Говоря о новых подходах к анализу конденсата выдыхаемого воздуха (в том числе и с точки зрения повышения воспроизводимости результатов), авторы делают акцент на метаболомном анализе.

Стандартизация пробоотбора КВВ и анализа для применения в клинической практике не завершена и дальнейшие исследования представляют интерес [8, 9].

Следует отметить, что в большинстве случаев в КВВ здоровых добровольцев содержание низкомолекулярных органических соединений находится на более низком уровне, чем при патологиях [10].

Как и в случаях других биологических жидкостей, при пробоподготовке КВВ используют жидкостно-жидкостную и твердофазную экстракцию. Авторы публикации [11] сравнили эти два варианта пробоподготовки для анализа образцов КВВ здоровых добровольцев методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС) высокого разрешения. Остатки воды в растворах, полученных после проведения жидкостно-жидкостной экстракции и стадии десорбции твердофазной экстракции, вымораживали. Органическую фазу отделяли. В качестве сорбента для твердофазной экстракции использовали силика-

гель с привитыми октадецильными группами. Исследовав образцы КВВ 50 здоровых добровольцев с применением обоих методов пробоподготовки, авторы выделили жидкостно-жидкостную экстракцию (обнаружен 51 компонент по сравнению с 39 после применения твердофазной экстракции). В качестве растворителя для экстракции выбран гексан. Среди обнаруженных соединений ряд жирных кислот, фенол, бензиловый спирт, индол, триэтилцитрат, альдегидов не обнаружено.

В работе [12] почти тот же коллектив авторов применил для поиска низкомолекулярных органических соединений в КВВ здоровых волонтеров метод высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией высокого разрешения. Сравнивали результаты анализа с применением для пробоподготовки твердофазной экстракции на гидрофильном и липофильном (силикагель с октадецильными группами) сорбентах и лиофилизации. Авторам удалось обнаружить 49 соединений, включая аминокислоты, жирные кислоты, амиды, жирные альдегиды, имидазолы, дикарбоновые кислоты, гидроксикислоты. Применение твердофазной экстракции с сорбентом C18 позволило обнаружить в КВВ в два раза больше веществ (22) по сравнению с гидрофильным сорбентом (9) (шесть компонентов совпадают в обеих группах). Наибольшее количество компонентов удалось обнаружить в случае применения для пробоподготовки лиофилизацию образцов КВВ.

При анализе КВВ используют различные варианты миниатюризации методов пробоподготовки. Так, методом твердофазной микроэкстракции (ТФМЭ) удалось определить в образцах КВВ здоровых добровольцев нормальные и разветвленные углеводороды, спирты, кетоны, альдегиды, карбоновые кислоты. При этом авторы концентрировали аналиты не только из паровой фазы над образцами КВВ, но и непосредственно из жидкой фазы образцов. В последнем случае удалось извлечь большее количество компонентов [13]. ТФМЭ с использованием графен/полианилинового покрытия позволила определить ряд альдегидов в образцах здоровых волонтеров и пациентов с раком легких [14].

Микросорбционное концентрирование в шприце (англ. microextraction by packed sorbent, MEPS) – также один из вариантов миниатюризации твердофазной экстракции [15]. Основные особенности метода связаны с количеством сорбента, применяемым для экстракции, и техникой эксперимента пробоподготовки. Обычно для экстракции применяют очень небольшое количество сорбента (до 4 мг), в коммерческом варианте упакованного в герметичный картридж, смонтированный на игле шприца, который, в свою оче-

редь, находится в дозаторе с программируемым управлением (скорость потока образца, количество циклов кондиционирования, сорбции, промывки, элюирования). В отличие от твердофазной экстракции, когда поток жидкого образца (или элюента) проходит в одном направлении (сверху вниз) и однократно, при микросорбционном концентрировании в шприце применяется технику эксперимента, основанную на многократном (около 10 раз) пропускании раствора через сорбент в двух направлениях (вверх и вниз) [16].

Применяя несколько циклов прокачки образца в двух направлениях, удается повысить степень извлечения следов аналитов из образца. Благодаря малому количеству сорбента и правильному подбору состава элюента компоненты матрицы при этом незначительно задерживаются на сорбенте (сорбент регенерируется между анализами), что позволяет использовать иглу с картриджем многократно. Малое количество сорбента дает возможность значительно, до десятков микролитров, уменьшить количество элюента при десорбции, что, в свою очередь, не только значительно уменьшает разбавление пробы, но и позволяет ввести десорбированные аналиты непосредственно в кран-дозатор жидкостного хроматографа или в инжектор с программированием температуры газового хроматографа. Коммерчески доступны иглы с картриджами с широким спектром сорбентов, список которых постоянно пополняется. MEPS успешно используют для анализа водных матриц и различных биологических жидкостей, таких как моча, плазма, сыворотка, слюна и кровь. Литературные данные по анализу конденсата выдыхаемого воздуха с использованием MEPS нами не обнаружены.

Цель данной работы – сравнение методов пробоподготовки образцов КВВ здоровых волонтеров для обнаружения низкомолекулярных органических веществ методом ГХ-МС. Сравнивали лиофилизацию с последующей дериватизацией (в качестве реагентов использовали бис(триметилсилил)трифторацетамид-*N*,*O* (БСТФА) и изобутилхлорформиат) и микросорбционное концентрирование в шприце (MEPS).

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Образцы КВВ отбирали с помощью установки ECoScreen (Jaeger, Würzburg, Германия) у здоровых добровольцев с нормальными показателями функции легких, с отсутствием в анамнезе указаний на атопию, хронические заболевания легких, других органов и систем, а также с отсутствием острых респираторных симптомов в течении последних двух месяцев. Отобранный конденсат переливали в стеклянные флаконы объемом 1.5 по 1 мл и замораживали. Исследовали образцы восьми добровольцев (по три-четыре образца для каждо-

го). Аликвоты образцов, пробоподготовка которых была основана на дериватизации, лиофилизировали. Силилирование сухого остатка образцов КВВ после лиофилизации проводили, добавляя 50 мкл БСТФА и выдерживая реакционную смесь при 80°C в течение 30 мин. Далее раствор остужали, упаривали в токе азота и добавляли 50 мкл метил-*трет*-бутилового эфира. При другом варианте дериватизации к образцам КВВ после лиофильной сушки последовательно добавляли 50 мкл ацетонитрила, 2 мкл пиридина и 1 мкл изобутилхлорформиата. Условия взяты из работы [17], в которой изучали дериватизацию жирных кислот [17]. Реакция проходила при комнатной температуре в течение минуты.

Микросорбционное концентрирование в шприце проводили с помощью электронного дозатора MEPS-eVol с возможностью программирования условий работы (SGE Analytical Science, Австралия). В дозатор вставляли стеклянный шприц для проведения микросорбционного концентрирования объемом 50 мкл (SGE Analytical Science, Австралия), к шприцу подсоединяли сменные иглы с встроенными картриджами с сорбентом (силикагель с привитой фазой C18). Размер частиц силикагеля – 45 мкм, размер пор – 60 Å. Масса сорбента – 4 мг (SGE Analytical Science, Австралия). До отбора образцов КВВ сорбент кондиционировали, пропуская в обоих направлениях последовательно метанол, дистиллированную воду, 0.1%-ную муравьиную кислоту (3 × 50 мкл, скорость – 900 мкл/мин для каждого их растворителей). Выбирая условия сорбции и десорбции, отгадывались от результатов нашего исследования [18] более сложных с точки зрения матрицы образцов сыворотки крови.

Анализировали аликвоты образцов КВВ здоровых добровольцев объемом 300 мкл. На стадии сорбции пропускали через картридж с сорбентом в обе стороны аликвоты образца, равные 50 мкл (объем шприца), 15 раз со скоростью 300 мкл/мин. Далее сорбент промывали 1%-ной муравьиной кислоты (два раза по 20 мкл, скорость 500 мкл/мин). На следующей стадии высушивали сорбент, прокачивая через него воздух (20 раз по 50 мкл, скорость 900 мкл/мин). Десорбировали аналиты диэтиловым эфиром (пять раз по 20 мкл, скорость 600 мкл/мин). Упаривали полученный раствор до 50 мкл в токе азота.

Все последовательности действий с образцами КВВ при сравниваемых вариантах пробоподготовки, повторяли для холостого опыта (дистиллированная вода).

Растворы реакционных смесей после проведения реакций дериватизации и элюаты после стадии десорбции микросорбционного концентрирования анализировали с помощью газового хроматографа (7890A, Agilent), соединенного с

времяпролетным масс-спектрометром Pegasus HT (GC-TOFMS – LECO Corporation). Объем анализируемой пробы составлял 1 мкл. Ввод пробы осуществляли в режиме с делением/без деления потока в инжектор, нагретый до 250°C. Делитель потока открывался через 30 с после ввода пробы в инжектор. Вещества разделяли на колонке VF-5ms длиной 30 м, внутренним диаметром 0.25 мм, толщиной неподвижной фазы (5% фенил-, 95% метилполисилоксан) 0.25 мкм в режиме программирования температуры (изотерма 50°C (5 мин), нагревание термостата со скоростью 10 °C/мин до 250°C (изотерма 10 мин)). Скорость потока газа-носителя гелия 1 мл/мин. Аналитические сигналы регистрировали в режиме полного ионного тока, энергия электронов 70 эВ. Диапазон сканирования – от 50 до 600 а.е.м.. Масс-спектры обнаруженных компонентов сравнивали с библиотечными (NIST).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Дериватизацию сухого остатка образцов КВВ применили с целью расширения потенциального перечня аналитов, определяемых методом ГХ-МС, и снижения пределов их обнаружения. Наряду с широко используемым силилированием продуктов лиофилизации использовали реакцию с изобутилхлорформиатом. Обычно хлорформиаты применяют для дериватизации аналитов по аминным и карбоксильным группам в водной среде. Примеров применения таких реагентов для дериватизации продуктов лиофилизации КВВ в литературе не обнаружено. Базируясь на условиях дериватизации жирных кислот в безводной среде [17], провели пробоподготовку лиофилизатов образцов КВВ с применением изобутилхлорформиата. В виде N-изобутоксикарбонил-, изобутиловых эфиров и изобутиловых эфиров обнаружили ряд полярных соединений, включающий жирные, дикарбоновые и аминокислоты (табл. 1), а в недериватизированном виде – деканаль.

В виде силильных производных зарегистрировали бензойную кислоту, мочевины, жирные, дикарбоновые и гидроксикислоты (табл. 1). Также обнаружили деканаль.

С помощью микросорбционного концентрирования в шприце с применением миллиграммовых количеств силикагеля с привитыми октадецильными группами в образцах КВВ здоровых добровольцев обнаружили ряд среднелетучих органических соединений (СЛОС).

Разделение термостабильных низкомолекулярных органических соединений на летучие и среднелетучие условно и связано с их температурами кипения. Летучие органические соединения легко испаряются при нормальных условиях. Нижняя граница температур кипения среднелету-

чих органических соединений отличается в разных источниках. От чуть больше 100°C (например, пириндин – 115.6°C) [19] до 250°C [20].

СЛОС характеризуют и давлением паров при температуре окружающей среды. Диапазоны значений давлений паров веществ, относимых к СЛОС, представленные в различных источниках, также отличаются: от 10 до 10<sup>-6</sup> (10<sup>-9</sup>) Па [21, 22]; от 10<sup>-1</sup> (10<sup>-2</sup>) до 10<sup>-6</sup> Па [23, 24].

С точки зрения техники эксперимента причина, по которой термостабильные низкомолекулярные органические вещества делят на летучие и среднелетучие, связана с толщиной неподвижной фазы капиллярных колонок, используемых для разделения соединений. Для летучих органических соединений это обычно микрометры (1.0–3.0), для среднелетучих – доли микрометра (0.1–0.25). В данном исследовании использовали колонку, на которой эффективно и селективно разделяют и СЛОС, и производные нелетучих низкомолекулярных органических соединений.

В перечень среднелетучих органических соединений, выделенных с помощью микросорбционного концентрирования в шприце, попали жирные кислоты, фенол, деканол, бензиловый спирт и деканаль. Зарегистрировали ряд веществ экзогенного происхождения.

Обнаруженные среднелетучие органические соединения различной полярности и нелетучие органические соединения представлены в табл. 1. В таблицу внесены только те вещества, которые обнаружили у всех волонтеров. Отношение сигнал/шум для хроматографических пиков выбранных веществ составляло не менее 100/1. Различия в содержании от образца к образцу не учитывали, так как на данном этапе исследования проводили только качественный анализ и при указанном соотношении сигнал/шум коэффициент разбавления аналитов в образцах КВВ не должен был влиять на их обнаружение.

Как видно из табл. 1, рассмотренные методы пробоподготовки дополняют друг друга. Большинство обнаруженных соединений согласно литературным данным входит в перечень веществ, идентифицированных в образцах КВВ здоровых добровольцев с применением газовой хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения [11]. При этом ряд полярных соединений, в том числе дикарбоновые, гидроксикислоты, аминокислоты, обнаруженные в нашем исследовании, расширяют этот список. Сравнимые варианты пробоподготовки позволили также обнаружить в КВВ деканаль.

Обычно при сочетании пробоподготовки, результатом которой является раствор органических веществ, и газовой хроматографии в инжектор хроматографа вводят количество аналитов, содержащихся в 1–2 мкл экстракта. В нашем

**Таблица 1.** Сравнение результатов анализа образцов конденсата выделяемого воздуха здоровых волонтеров методом газовой хромато-масс-спектрометрии с применением различных вариантов пробоподготовки

№	Обнаруженное вещество	Лиофилизация, БСТФА*	Лиофилизация, изобутилхлорформат**	MEPS
1	Фенол	—	—	+
2	Гексановая кислота	—	+	—
3	3-Гидроксипентановая кислота	+	—	—
4	Гептановая кислота	+	+	+
5	2-Гидроксипентановая кислота	+	—	—
6	Деканаль	+	+	+
7	Мочевина, N,N'	+	—	—
8	Бензойная кислота	+	+	—
9	Октановая кислота	+	+	+
10	Бутандиовая кислота	+	+	+
11	Бензиловый спирт	—	—	+
12	Нонановая кислота	+	+	+
13	Декановая кислота	+	+	—
14	2-Гидроксиоктановая кислота	+	—	—
15	Аланин	—	+	—
16	Глицин	—	+	—
17	Валин	—	+	—
18	Пролин	—	+	—
19	Изолейцин	—	+	—
20	Гександиовая кислота	+	+	—
21	Додекановая кислота	+	—	+
22	Деканол	—	—	+
23	Гептандиовая кислота	—	+	—
24	Октандиовая кислота	—	+	—
25	Нонандиовая кислота	+	+	—
26	Гексадекановая кислота	+	+	—

\* Вещества зарегистрированы в виде триметилсилиловых эфиров (за исключением деканала); \*\* вещества зарегистрированы в виде N-изобутоксикарбонил-, изобутиловых эфиров (аминокислоты) и изобутиловых эфиров (за исключением деканала).

предыдущем исследовании [25] мы вводили в инжектор количество аналитов, содержащихся в 100 мкл органического раствора, полученного в результате жидкостно-жидкостной экстракции из образцов КВВ, используя один из вариантов ввода больших по объему проб (large volume injection). Аналиты вводили в инжектор ГХ посредством термодесорбции после предварительного удаления растворителя. Такой вариант ввода пробы заметно снижал предел обнаружения и увеличивал возможность обнаружения большего числа среднетелучих органических веществ в образцах по сравнению с вводом 1 мкл экстракта. Результаты получили для 10 образцов КВВ здоровых волонтеров. При такой технике ввода пробы в образцах здоровых добровольцев обнаружили ряд жирных кислот от гексановой до октадекановой. При этом содержание тех жирных кислот, кото-

рые удалось зарегистрировать в настоящей работе (от гексановой до декановой, додекановая и гексадекановая), было заметно выше остальных. В результате обоих исследований обнаружены фенол, деканаль, деканол, бензиловый спирт.

Это сравнение показывает перспективность сочетания MEPS с коммерческим вариантом ввода больших по объему проб в инжектор газового хроматографа с программированием температуры для обнаружения СЛОС.

Заметим, что возможность варьирования сорбентов в этом методе позволит охватить более широкий спектр следовых количеств низкомолекулярных органических соединений различной полярности. Вероятно, достоинства этого метода концентрирования проявятся и при целевом анализе биомаркеров.

\* \* \*

Применение двух вариантов пробоподготовки образцов КВВ здоровых добровольцев (derivатизации лиофилизатов образцов и микросорбционного концентрирования в шприце (MEPS)) для ГХ-МС-анализа позволило обнаружить 26 низкомолекулярных среднелетучих и нелетучих органических соединений. Метод микросорбционного концентрирования в шприце впервые применен для анализа КВВ, миллиграммовые количества наиболее распространенного сорбента для обычной твердофазной экстракции — силикагеля с привитыми октадецильными группами — позволили выделить и сконцентрировать ряд среднелетучих органических соединений, характерных для КВВ здоровых добровольцев. Представляет интерес дальнейшее исследование КВВ с применением рассмотренных вариантов пробоподготовки, но с использованием инжектора с программированием температуры для ввода больших по объему проб в ГХ-МС и более современного оборудования с пределом детектирования на уровне десятков фемтограмм.

*Исследование было выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-03-00894.*

*Работа выполнена с использованием оборудования, приобретенного за счет средств Программы развития Московского университета.*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Maniscalco M., Paris D., Melck D.J., Molino A., Fuschillo S., Motta A.* Metabolomics of exhaled breath condensate by nuclear magnetic resonance spectroscopy and mass spectrometry: A methodological approach // *Curr. Med. Chem.* 2020. V. 27. P. 2381. <https://doi.org/10.2174/0929867325666181008122749>
2. *Prado C., Marín P., Periago J.F.* Application of solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry to the determination of volatile organic compounds in end-exhaled breath samples // *J. Chromatogr. A.* 2003. V. 1011. № 1–2. P. 125. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)01103-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)01103-8)
3. *Анаев Э.Х., Чучалин А.Г.* Исследование конденсата выдыхаемого воздуха в пульмонологии (обзор зарубежной литературы) // *Пульмонология.* 2002. № 2. С. 57.
4. *Quimbar M.E., Davis S.Q., Al-Farra S.T., Hayes A., Jovic V., Masuda M., Lippert A.R.* Chemiluminescent measurement of hydrogen peroxide in the exhaled breath condensate of healthy and asthmatic adults // *Anal. Chem.* 2020. V. 92. P. 14594. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c02929>
5. *Rahimpour E., Khoubnasabjafari M., Jouyban-Gharamaleki V., Jouyban A.* Non-volatile compounds in exhaled breath condensate: Review of methodological aspects // *Anal. Bioanal. Chem.* 2018. V. 410. P. 6411. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1259-4>
6. *Hayes S.A., Haefliger S., Harris B., Pavlakis N., Clarke S.J., Molloy M.P., Howell V.M.* Exhaled breath condensate for lung cancer protein analysis: A review of methods and biomarkers // *J. Breath Res.* 2016. V. 10. Article 034001. <https://doi.org/10.1088/1752-7155/10/3/034001>
7. *Horváth I., Hunt J., Barnes P.J.* Exhaled breath condensate: Methodological recommendations and unresolved questions // *Euro. Respir. J.* 2005. V. 26. P. 523. <https://doi.org/10.1183/09031936.05.00029705>
8. *Ahmadzai H., Huang S., Hettiarachchi R., Lin J.L., Thomas P.S., Zhang Q.* Exhaled breath condensate: A comprehensive update // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013. V. 51. P. 1343. <https://doi.org/10.1515/cclm-2012-05939>
9. *Połomska J., Bar K., Sozańska B.* Exhaled breath condensate — A non-invasive approach for diagnostic methods in asthma // *J. Clin. Med.* 2021. V. 10. Article 2697. <https://doi.org/10.3390/jcm10122697>
10. *Konstantinidi E.M., Lappas A.S., Tzortzi A.S., Behrakis P.K.* Exhaled breath condensate: Technical and diagnostic aspects // *Sci. World J.* 2015. Article 435160. <https://doi.org/10.1155/2015/435160>
11. *Peralbo-Molina A., Calderón-Santiago M., Priego-Capote F., Jurado-Gómez B., Luque de Castro M.D.* Development of a method for metabolomic analysis of human exhaled breath condensate by gas chromatography–mass spectrometry in high resolution mode // *Anal. Chim. Acta.* 2015. V. 887. P. 118. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.07.008>
12. *Fernández-Peralbo M.A., Calderón Santiago M., Priego-Capote F., Luque de Castro M.D.* Study of exhaled breath condensate sample preparation for metabolomics analysis by LC–MS/MS in high resolution mode // *Talanta.* 2015. V. 144. P. 1360. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.08.010>
13. *Aksenov A.A., Zamuruyev K.O., Pasamontes A., Brown J.F., Schivo M., Foutouhi S., Weimer B.C., Kenyon N.J., Davis C.E.* Analytical methodologies for broad metabolite coverage of exhaled breath condensate // *J. Chromatogr. B.* 2017. V. 1061–1062. P. 17. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.06.038>
14. *Xu Y.L.H.* Development of a novel graphene/polyaniline electrodeposited coating for on-line in-tube solid phase microextraction of aldehydes in human exhaled breath condensate // *J. Chromatogr. A.* 2015. V. 1395. С. 35. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.03.058>
15. *Yang L., Said R., Abdel-Rehim M.* Sorbent, device, matrix and application in microextraction by packed sorbent (MEPS): A review // *J. Chromatogr. B.* 2017. V. 1043. P. 33
16. *Moein M.M., Abdel-Rehim A., Abdel-Rehim M.* Microextraction by packed sorbent (MEPS) // *Trends Anal. Chem.* 2015. V. 67. P. 34. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.12.003>
17. *Hušek P., Rijks J.A., Leclercq P.A., Cramers C.A.* Fast esterification of fatty acids with alkyl chloroformates. Optimization and application in gas chromatography // *J. High Resolut. Chromatogr.* 1990. V. 13. P. 633. <https://doi.org/10.1002/jhrc.1240130910>

18. *Pautova A.K., Sobolev P.D., Revelsky A.I.* Analysis of phenylcarboxylic acid-type microbial metabolites by microextraction by packed sorbent from blood serum followed by GC–MS detection // *Clin. Mass Spectrom.* 2019. V. 14 (A). P. 46.  
<https://doi.org/10.1016/j.clinms.2019.05.005>
19. EPA, Method 8270 [https://www.epa.gov/sites/default/files/2020-10/documents/method\\_8270e\\_update\\_vi\\_06-2018\\_0.pdf](https://www.epa.gov/sites/default/files/2020-10/documents/method_8270e_update_vi_06-2018_0.pdf) (26.05.2022).
20. EPA, Technical Overview of Volatile Organic Compounds, <https://www.epa.gov/indoor-air-quality-iaq/technical-overview-volatile-organic-compounds> (26.05.2022).
21. *Bidleman T.F.* Atmospheric processes: Wet and dry deposition of organic compounds are controlled by their vapor-particle partitioning // *Environ. Sci. Technol.* 1988. V. 22. P. 361.  
<https://doi.org/10.1021/es00169a002>
22. *Weschler C.J., Nazaroff W.W.* Semivolatile organic compounds in indoor environments // *Atmos. Environ.* 2008. V. 42. P. 9018.  
<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2008.09.052>
23. *Wania F., Shunthirasingham C.* Passive air sampling for semi-volatile organic chemicals // *Environ. Sci.: Processes Impacts.* 2020. V. 22. P. 1925.  
<https://doi.org/10.1039/D0EM00194E>
24. *Cousins I.T., Beck A.J., Jones K.C.* A review of the processes involved in the exchange of semi-volatile organic compounds (SVOC) across the air–soil interface // *Sci. Total Environ.* 1999. V. 288. P. 5.  
[https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00015-7](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00015-7)
25. *Родионов А.А., Ревельский А.И., Ревельский И.А., Анохина Т.Н., Анаев Э.Х.* Хроматомасс-спектрометрическое определение среднетлетучих органических веществ в конденсате выдыхаемого воздуха // *Масс-спектрометрия.* 2007. Т. 4. № 2. С. 143. (*Rodionov A.A., Revelsky A.I., Revelsky I.A., Anokhina T.N., Anaev E.Kh.* Determination of semivolatile organic compounds in exhaled breath condensate by gas chromatography–mass spectrometry // *J. Anal. Chem.* 2014. V. 69. № 14. P. 1330.)  
<https://doi.org/10.1134/S1061934814140081>

УДК 543.63

## БЫСТРЫЙ ГИДРОЛИЗ И ДЕРИВАТИЗАЦИЯ МЕТАБОЛИТОВ НИТРОФУРАНОВ С НОВЫМ ДЕРИВАТИЗИРУЮЩИМ АГЕНТОМ 5-НИТРО-2-ФУРАЛЬДЕГИДОМ ПРИ ИХ ВЭЖХ-МС/МС-ОПРЕДЕЛЕНИИ В КУРИНОМ МЯСЕ

© 2022 г. А. О. Мелехин<sup>a, b</sup>, В. В. Толмачева<sup>a, \*</sup>, Ю. Н. Холявская<sup>b</sup>, Е. С. Седых<sup>b</sup>, С. Г. Дмитриенко<sup>a</sup>, В. В. Апяри<sup>a</sup>, А. Л. Баиров<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет  
Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, ГСП-1, 119991 Россия

<sup>b</sup>Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория  
ул. Оранжевая, 23, Москва, 111622 Россия

\*e-mail: nikatolm@mail.ru

Поступила в редакцию 21.02.2022 г.

После доработки 23.03.2022 г.

Принята к публикации 24.03.2022 г.

С использованием 5-нитро-2-фуральдегида в качестве нового дериватирующего агента предложен способ быстрой пробоподготовки образцов пищевых продуктов при определении в них метаболитов нитрофуранов методом ВЭЖХ-МС/МС. На примере образцов мяса кур-бройлеров, получавших в течение 10 дней нитрофураны, показано, что в термостатированной ультразвуковой бане время гидролиза-дериватизации можно значительно уменьшить за счет повышения температуры до 80°C и концентрации соляной кислоты до 0.5 М. Проведено определение метаболитов фуралтадона, фуразолидона, нитрофурантоина и нитрофуразона в курином мясе, печени, желудках и сердце кур с использованием разработанного способа и официальной методики. Предложенный способ обеспечивает количественное выделение метаболитов.

**Ключевые слова:** метаболиты нитрофуранов, 5-нитро-2-фуральдегид, сверхсшитый полистирол, твердофазная экстракция, анализ куриного мяса, ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием.

**DOI:** 10.31857/S0044450222100115

Проблеме безопасности пищевых продуктов в настоящее время уделяется большое внимание [1]. Среди потенциально вредных веществ, которые необходимо контролировать в пищевых продуктах, значительное место занимают ветеринарные препараты [2, 3]. Употребление в пищу продуктов, содержащих остатки таких препаратов, связано с риском для здоровья потребителей, поскольку эти продукты могут вызывать аллергические реакции, индуцировать устойчивость патогенов к антибиотикам, оказывать токсическое микробиологическое действие, вызывать канцерогенные или тератогенные эффекты [4, 5].

Перечень ветеринарных препаратов, которые необходимо контролировать в продуктах животного происхождения, включает, наряду с сульфониламидами, тетрациклинами, фторхинолонами, амфениколами и некоторыми другими антибиотиками, также нитрофураны [5]. Нитрофураны — класс синтетических антибактериальных и противопаразитарных препаратов широкого спектра

действия, которые до 1994 г. широко применялись в качестве терапевтических и ветеринарных препаратов, а также кормовых добавок в ветеринарной практике, животноводстве и аквакультуре [6]. В отличие от большинства других ветеринарных препаратов, при попадании в организм животных нитрофураны в течение нескольких часов быстро метаболизируются. Метаболиты нитрофуранов остаются в продуктах животного происхождения в течение длительного времени в виде связанных с белками соединений [7]. После того как было установлено, что нитрофураны и их метаболиты обладают канцерогенным и мутагенным действием [8], их использование в животноводстве было запрещено в большинстве стран, включая Россию [9, 10]. Однако данные мониторинга качества пищевых продуктов свидетельствуют о том, что несмотря на установленные законодательством запреты нитрофураны продолжают использовать не только в развивающихся странах, но и в Европейском Союзе, что обуслов-

лено их высокой антибактериальной активностью, низкой стоимостью и доступностью [11, 12]. Согласно базе данных Системы быстрого оповещения для пищевых продуктов и кормов (RASFF) в течение 2002–2017 гг. зарегистрировано 854 случая загрязнения пищевых продуктов нитрофуранами [13].

В рамках финансируемого ЕС проекта FoodBRAND (обнаружение связанных остатков и нитрофуранов) разработан подтверждающий метод ВЭЖХ-МС/МС для определения в пище четырех запрещенных нитрофуранов, а именно: фуралтадона, фуразолидона, нитрофурантоина и нитрофуразона, в форме их соответствующих метаболитов: аминоморфолинометил-2-оксазолидинона, 3-амино-2-оксазолидинона, 1-аминогидантоина и семикарбазида [14]. Контроль содержания метаболитов нитрофуранов в пищевых продуктах существенно не изменился с момента внедрения методологии FoodBRAND; во многих странах эта методика с небольшими модификациями используется в качестве официальной [15–19]. Из-за высокой полярности, низкой молекулярной массы и отсутствия хромофоров определение метаболитов нитрофуранов в пищевых продуктах проводят после длительной пробоподготовки, включающей кислотный гидролиз и дериватизацию с использованием 2-нитробензальдегида (0.1–0.2 М HCl, 16 ч при 37–40°C), а также очистку гидролизатов методом жидкостной или твердофазной (ТФЭ) экстракции. Пробоподготовка является самым длительным и трудоемким этапом анализа, поэтому неудивительно, что в последнее десятилетие были предложены альтернативные подходы к оптимизации условий кислотного гидролиза-дериватизации за счет повышения температуры [20–22], изменения концентрации HCl [23], применения ультразвукового [24, 25] или микроволнового [26–30] излучения.

Ранее [31, 32] для дериватизации метаболитов нитрофуранов при их определении методом ВЭЖХ-МС/МС в куриных яйцах [31] и меде [32] мы предложили использовать новый дериватирующий агент 5-нитро-2-фуральдегид (**5-НФА**), а для очистки гидролизата – сверхштитый полистирол (ССПС) [31] и магнитный ССПС [32], которые до этого для этих целей не применяли. Дериватизацию метаболитов проводили в соответствии с официальной методикой в 0.1 М соляной кислоте при 37–40°C течение 16 ч.

Цель настоящей работы состояла в изучении возможности сокращения времени кислотного гидролиза и дериватизации за счет изменения температуры, концентрации соляной кислоты и применения ультразвука. Для достижения поставленной цели нам понадобились образцы, содержащие метаболиты нитрофуранов. В качестве

объектов исследования использовали куриное мясо и субпродукты кур-бройлеров, которые в течение 10 дней получали нитрофураны. Очистку гидролизатов перед ВЭЖХ-МС/МС-определением проводили методом ТФЭ с использованием ССПС.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Реактивы.** Использовали хроматографически чистые метанол, ацетонитрил и муравьиную кислоту (Fisher Scientific Inc., США), *n*-гексан (Fisher Scientific Inc., США), 5-нитро-2-фуральдегид (Sigma-Aldrich, США), 2-нитро-бензальдегид (**2-НБА**), трихлоруксусную кислоту (Fisher Scientific Inc., США), гидрофосфат калия (Fisher Scientific Inc., США), соляную кислоту х. ч., сверхштитый полистирол Диапак П-3 (Био-ХимМак, Россия). ССПС перед использованием активировали ацетонитрилом. Очищенную воду получали с помощью системы Milli-Q Synthesis (Millipore, США).

В качестве стандартных образцов использовали фуралтадон (**ФД**), фуразолидон (**ФТ**), нитрофурантоин (**НФТ**), нитрофуразон (**НФ**), 3-амино-5-метилморфолино-2-оксазолидинон (**АМОЗ**), 3-амино-2-оксазолидинон (**АОЗ**), 1-аминогидантоина (**АГД**) гидрохлорид, семикарбазида (**СЕМ**) гидрохлорид с содержанием основного вещества не менее 95.0% (Sigma-Aldrich, США). В качестве внутренних стандартов метаболитов нитрофуранов использовали  $d_5$ -3-амино-5-метилморфолино-2-оксазолидинон (**АМОЗ-D<sub>5</sub>**),  $^{13}C_3$ -аминогидантоин (**АГД- $^{13}C_3$** ),  $d_4$ -3-амино-2-оксазолидинон (**АОЗ-D<sub>4</sub>**),  $^{15}N_2, ^{13}C$ -семикарбазид (**СЕМ- $^{15}N_2^{13}C$** ) с содержанием основного вещества не менее 99.0% (Witega, Германия).

Исходные растворы нитрофуранов, их метаболитов и изотопно-меченных метаболитов с концентрацией 200 мкг/мл готовили растворением соответствующей навески в ацетонитриле. Растворы хранили при –20°C не более шести месяцев. Растворы смеси нитрофуранов, смеси метаболитов нитрофуранов с концентрацией 1.0 мкг/мл готовили путем разбавления исходных в метаноле. Аналогичным образом готовили раствор смеси внутренних стандартов с концентрацией 1.0 мкг/мл. Срок хранения смесей составлял 1 мес. Рабочие растворы готовили разбавлением исходных метанолом в день использования.

**Анализируемые образцы.** Для построения градуировочных зависимостей использовали образцы “чистого” куриного мяса, собранные Центральной научно-методической ветеринарной лабораторией (Москва, Россия) в 2021 г. в процессе государственного мониторинга пищевой продукции. Образцы хранили при –20°C в холодильнике. Для изучения влияния различных факторов на гидролиз и дериватизацию связанных с

белками метаболитов нитрофуранов использовали образцы от кур-бройлеров, которые в течение 10 дней в виде инъекций получали нитрофураны. Общее количество нитрофуранов, которые получили бройлеры, составило 345, 125, 267 и 222 мкг/кг живого веса бройлеров для фуралтадона, фуразолидона, нитрофурантоина и нитрофуразона соответственно. Забой проводили спустя день после введения последней дозы. Образцы мышц, печени, желудков и сердца от каждого животного собирали отдельно, замораживали и хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$  в холодильнике.

**Аппаратура.** Использовали высокоэффективный жидкостной хроматограф ExionLC (Shimadzu, Япония) в сочетании с тройным квадрупольным масс-спектрометрическим детектором SCIEX Triple QuadTM 5500 (AB Sciex, Сингапур), оснащенный бинарным насосом и автосамплером. Масс-спектрометр был настроен на сбор данных в режиме мониторинга множественных реакций (ММР). Установлены следующие оптимальные значения параметров: напряжение на распыляющем капилляре – 4500 В; температура испарителя –  $550^{\circ}\text{C}$ ; в качестве газа завесы и газа в ячейке использовали азот; давление газа соударений – 10 фунтов на квадратный дюйм (psi); давление газа завесы – 35 psi; давление осушающего газа и давление распыляющего газа – 50 psi; входной потенциал – 10 В. Применяли аналитические весы Sartorius AC 121S (Sartorius, Германия), систему подготовки деионизованной воды Milli-Q Synthesis (Millipore, США), ультразвуковую баню S70H, ElmaSonic (Германия) с частотой ультразвука 37 кГц и эффективной мощностью 150 Вт, центрифугу лабораторную Thermo Scientific SL40R (Thermo Scientific, США), систему упаривания закрытого типа TurboVapII Caliper-LifeSciences (Caliper Life Sciences, США), вакуумную установку для ТФЭ М6 (Манифолд, Россия), шейкер для пробирок MultiReax (Heidolph, Германия).

**Условия хроматографического разделения и детектирования.** Разделение проводили на колонке Acclaim™ 120 C18 ( $100 \times 2.1$  мм) с диаметром зерна сорбента 3.0 мкм (Thermo Scientific, США) в режиме градиентного элюирования. Использовали подвижные фазы, состоящие из 0.5%-ной муравьиной кислоты в воде (А) и 0.5%-ной муравьиной кислоты в смеси ацетонитрила и метанола (50 : 50) (Б). Разделение проводили, применяя следующую программу градиентного элюирования: 20–80% В (0–7 мин), 80% В (7–7.5 мин), 80–20% В (7.5–8 мин). Скорость потока составляла 0.3 мл/мин. Температуры колонки и автосамплера поддерживали во время работы на уровнях 40 и  $15^{\circ}\text{C}$  соответственно, объем вводимой пробы составлял 10 мкл.

**Идентификация и определение.** Продукты дериватизации метаболитов нитрофуранов с 5-НФА (соответствующие исходные нитрофураны) идентифицировали по полученным хроматограммам с использованием метода ММР. Параметры ММР для нитрофуранов и внутренних стандартов приведены в табл. 1. Неизвестную концентрацию аналита в пробе определяли методом градуировочного графика (матричная градуировка). Аналитическим сигналом служило отношение площади пика аналита к площади пика соответствующего внутреннего стандарта. Линейность градуировочных графиков оценивали на модельных “чистых” образцах куриного мяса, не содержащих остаточных количеств определяемых аналитов, с добавками метаболитов нитрофуранов на уровнях концентраций 1, 10, 50, 100 и 250 мкг/кг и добавкой смеси внутренних стандартов с концентрацией 100 мкг/кг. Коэффициенты линейной зависимости площадей хроматографических пиков препаратов от их концентрации в анализируемом образце составили не менее 0.99.

**Пробоподготовка.** В центрифужную пробирку емк. 50 мл вносили  $1.00 \pm 0.01$  г тщательно измельченной пробы куриного мяса и промывали два раза по 5 мл этилацетата для удаления не связанных с белками метаболитов. После центрифугирования и удаления этилацетатной фазы к пробе добавляли 100 мкл раствора внутреннего стандарта (1000 нг/мл), 100 мкл метанола, 5 мл 0.1, 0.2 или 0.5 М соляной кислоты и 400 мкл 0.2 М 5-НФА в метаноле для проведения дериватизации. Содержимое пробирки перемешивали на шейкере в течение 20 мин и помещали в ультразвуковую баню на 10, 20, 30, 40, 60, 90 или 120 мин или в термостат на 16 ч при  $37^{\circ}\text{C}$ . После проведения кислотного гидролиза и дериватизации образцы охлаждали до комнатной температуры, добавляли 1 мл 20%-ного раствора трихлоруксусной кислоты для осаждения белков, перемешивали на шейкере в течение 10 мин. Затем добавляли 10 мл деионизованной воды и доводили pH до 4 раствором  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (1 М раствор). Для обезжиривания пробы к смеси добавляли 3 мл гексана, перемешивали на шейкере в течение 10 мин и центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 мин. Гексан удаляли, а водный слой очищали методом ТФЭ с помощью картриджа шприцевого типа, заполненного 30 мг ССПС ( $30 \times 10$  мм), по методике, разработанной нами ранее [31]. Твердофазную экстракцию проводили на вакуумной установке для ТФЭ (Манифолд М6, Россия). Картридж кондиционировали 2 мл ацетонитрила и 3 мл деионизованной воды. Перед элюированием картридж промывали 3 мл деионизованной воды, а затем элюировали аналиты 2 мл ацетонитрила. Элюаты упаривали в атмосфере азота при  $40^{\circ}\text{C}$  досуха, вновь растворяли в 0.5 мл смеси подвижных фаз А и Б (80 : 20) и использовали для

**Таблица 1.** Основные характеристики продуктов дериватизации метаболитов нитрофуранов с 5-нитро-2-фуральдегидом при определении методом ВЭЖХ-МС/МС в режиме мониторинга множественных реакций

Метаболит	Нитрофуран (продукт дериватизации)	$t_R$ , мин	$Q_1$ , $m/z$	$Q_3$ , $m/z$	ПД*, В	ЭС**, эВ
АМОЗ	ФД	2.18	325.0(+)	252.0/281.0	60/60	25/19
АОЗ	ФТ	3.67	226.0(+)	122.0/113.0	60/60	18/19
АГД	НФТ	3.43	236.8(-)	151.9/123.8	-100/-100	-17/-21
СЕМ	НФ	3.32	196.8(-)	149.9/123.8	-100/-100	-13/-14
АМОЗ-D <sub>5</sub>	ФД-D <sub>5</sub>	2.18	330.0(+)	286.0	60	19
АОЗ-D <sub>4</sub>	ФТ-D <sub>4</sub>	3.67	230.0(+)	117.0	60	19
АГД- <sup>13</sup> C <sub>3</sub>	НФТ- <sup>13</sup> C <sub>3</sub>	3.43	239.8(-)	151.9	-100	-17
СЕМ- <sup>15</sup> N <sub>2</sub> <sup>13</sup> C	НФ- <sup>15</sup> N <sub>2</sub> <sup>13</sup> C	3.32	199.8(-)	152.9	-100	-13

\* Потенциал декластеризации, \*\* энергия соударений.

дальнейшего ВЭЖХ-МС/МС-анализа. Пробоподготовку куриных печени, сердца и желудков проводили аналогичным образом.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Традиционную длительную пробоподготовку образцов пищевых продуктов при определении в них метаболитов нитрофуранов (инкубация в водяной бане 16 ч, 37°C), как показано в нескольких работах, можно сократить до 4 ч [20] и 2 ч [21, 22] за счет повышения температуры до 55 и 60°C соответственно. При этом, как отмечается в работах [21, 22], повышение температуры приводит не только к сокращению времени, но и к повышению выхода продуктов дериватизации [21, 22]. Еще более эффективным оказалось одновременное воздействие температуры и ультразвукового или микроволнового излучения. При проведении термостатического ультразвукового гидролиза-дериватизации это время удалось снизить с 16 до 2 ч (45 кГц, 60°C) [24] и даже до 20 мин (45 кГц, 50°C) [25]. При проведении процедуры в микроволновой печи это время составляет 4 (65°C) [26], 6 (95°C) [27, 28], 7.2 (90°C) [29, 25] и 20 (70°C) мин [30, 24], но при этом часто уменьшается выход продуктов дериватизации за счет разложения нитрофенильных производных некоторых нитрофуранов [26]. Напротив, в работе [23] сообщается о значительном снижении времени гидролиза-дериватизации (до 5 мин) при комнатной температуре за счет повышения концентрации соляной кислоты и количества метанола в реакционной смеси.

Столь неоднозначные и зачастую противоречивые сведения о влиянии температуры на процесс гидролиза-дериватизации, по-видимому, связаны с тем, что при выборе условий не всегда использовали образцы пищевых продуктов, по-

лученные после воздействия на животных нитрофуранами, как это было сделано в работах [20, 22, 24, 26], а использовали модельные образцы, приготовленные путем добавления метаболитов нитрофуранов к анализируемым пищевым продуктам [20, 21, 23, 25, 27–30]. Очевидно, что гидролиз метаболитов нитрофуранов из образцов, полученных естественным путем в процессе воздействия на животных, будет отличаться от гидролиза в модельных образцах. Кроме того, в качестве дериватирующего агента в цитируемых выше работах использовали не только 2-НБА [20–24, 26–28], но и другие дериватирующие агенты [25, 29, 30], что также могло повлиять на время дериватизации, при этом исследования проводили при разных концентрациях соляной кислоты.

В настоящей работе с целью снижения времени анализа изучено влияние температуры и концентрации соляной кислоты на ВЭЖХ-МС/МС-определение метаболитов нитрофуранов в курином мясе с использованием 5-нитро-2-фуральдегида при проведении пробоподготовки в термостатированной ультразвуковой ванне. Ранее нами доказано, что продуктами дериватизации метаболитов нитрофуранов с этим новым дериватирующим агентом являются соответствующие исходные нитрофураны [31, 32].

**Предварительные испытания.** Для оценки содержания метаболитов нитрофуранов в образцах мяса кур-бройлеров, получавших в течение 10 дней нитрофураны, провели их определение в виде нитрофенилпроизводных по официальной методике, регламентированной действующим ГОСТ 32014–2012 [33], с использованием в качестве дериватирующего агента 2-НБА и по разработанной нами ранее методике [31] в виде исходных нитрофуранов с использованием в качестве дериватирующего агента 5-НФА. Гидролиз и дериватизацию в этой серии экспериментов проводили

**Таблица 2.** Результаты (мкг/кг) определения метаболитов нитрофуранов в образцах куриного мяса кур-бройлеров, получавших в течение 10 дней нитрофураны ( $n = 3$ ,  $P = 0.95$ )

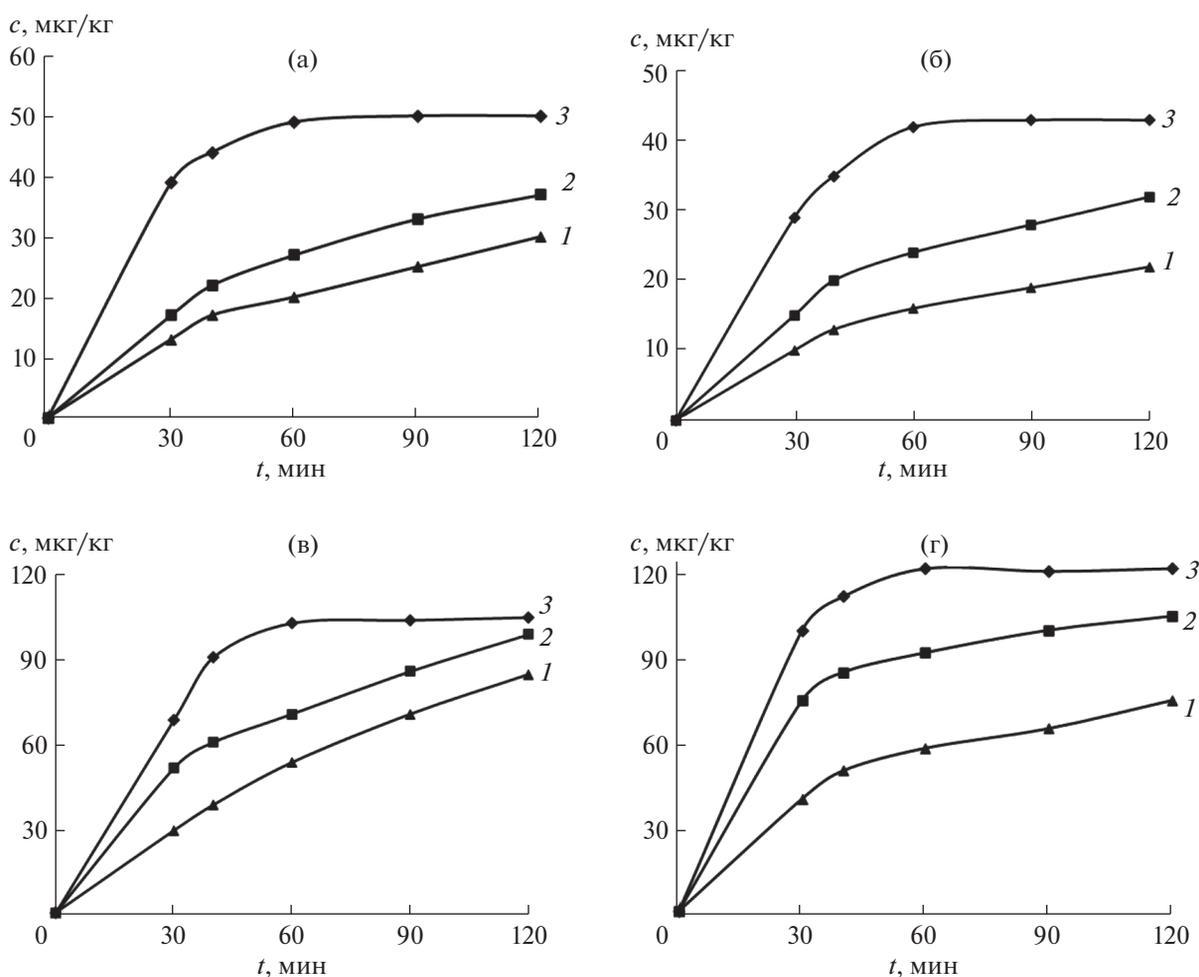
Дериватизирующий агент, условия проведения гидролиза и дериватизации	АМОЗ	АОЗ	АГД	СЕМ
2-Нитробензальдегид, 0.1 М HCl, 40°C, водяная баня, 16 ч (ГОСТ 32014-2012)	40 ± 6 (0.06)*	31 ± 4 (0.05)	88 ± 11 (0.05)	110 ± 10 (0.04)
5-Нитро-2-фуральдегид, 0.1 М HCl, 40°C, водяная баня, 16 ч	41 ± 5 (0.05)	30 ± 3 (0.04)	91 ± 9 (0.04)	105 ± 13 (0.05)

\* В скобках приведены значения  $s_r$ .

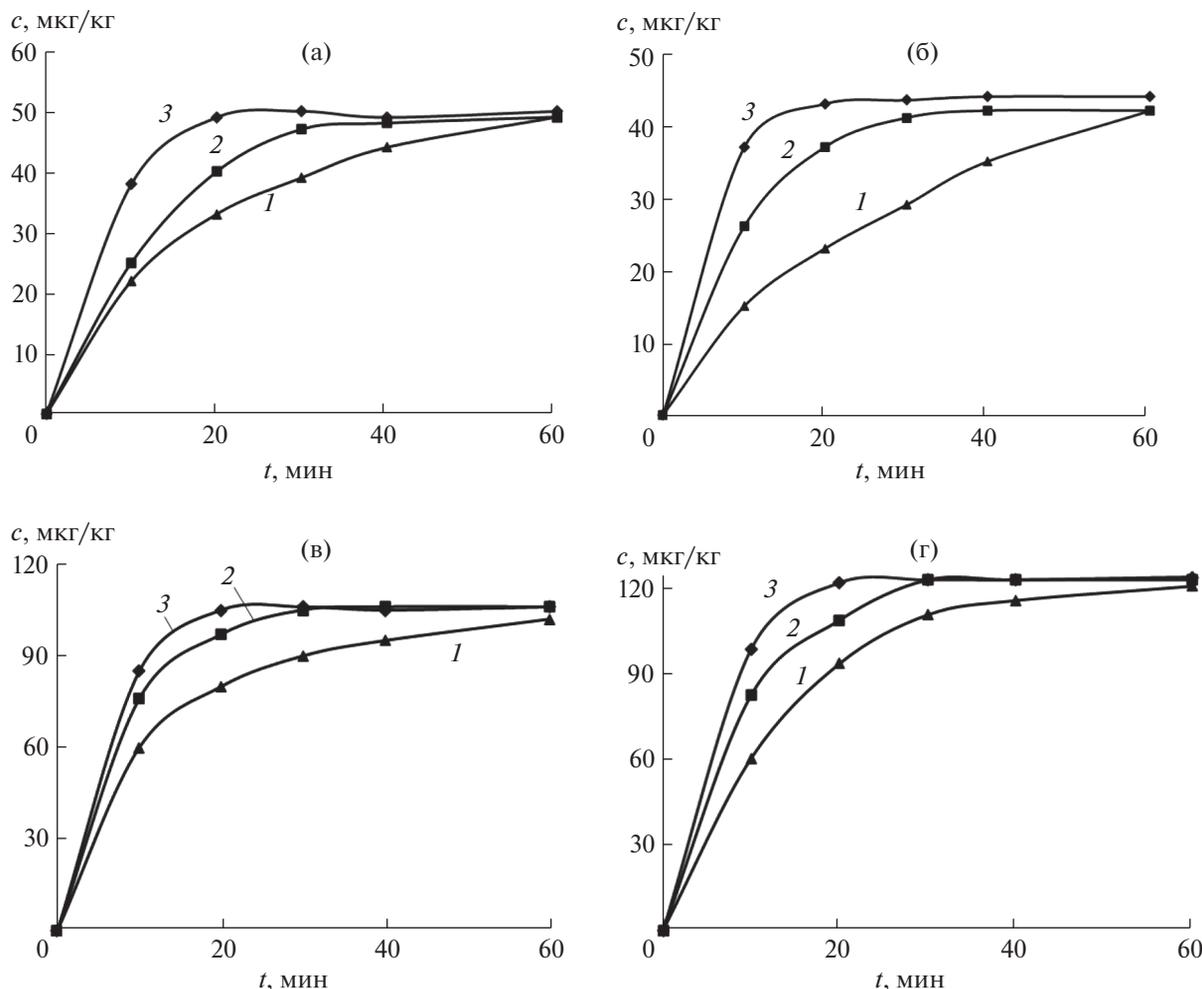
одновременно в соответствии с официальной методикой путем нагревания образцов на водяной бане в присутствии 0.1 М HCl в течение 16 ч. Установлено, что результаты, полученные с использованием разных дериватизирующих агентов (табл. 2), не различаются между собой. Следует отметить, что найденные количества метаболитов нитрофуранов не коррелируют с введенным брой-

лерам количеством, что может указывать на разные пути метаболизма нитрофуранов в организме животных, о чем сообщалось ранее [34, 35].

Кроме того, с учетом дальнейших исследований оценили термостабильность 5-НФА и четырех нитрофуранов в 0.1, 0.2 и 0.5 М растворах соляной кислоты и установили, что повышение температуры от 40 до 80°C при нагревании образ-



**Рис. 1.** Влияние температуры на выход продуктов дериватизации метаболитов нитрофуранов АМОЗ (а), АОЗ (б), АГД (в) и СЕМ (г) с 5-нитро-2-фуральдегидом в зависимости от времени проведения гидролиза-дериватизации в термостатированной ультразвуковой бане.  $c_{\text{HCl}} = 0.1 \text{ M}$ ; 40°C (1), 60°C (2), 80°C (3).



**Рис. 2.** Влияние концентрации соляной кислоты на выход продуктов дериватизации метаболитов нитрофуранов АМОЗ (а), АОЗ (б), АГД (в) и СЕМ (г) с 5-нитро-2-фуральдегидом в зависимости от времени проведения гидролиза-дериватизации в термостатированной ультразвуковой бане при 80°C.  $c_{\text{HCl}}$ , М: 0.1 (1), 0.2 (2), 0.3 (3).

цов в термостатированной ультразвуковой бане не приводит к разрушению этих соединений.

**Влияние температуры и времени** изучали на примере четырех образцов куриного мяса, содержащих известные количества метаболитов АОЗ, АМОЗ, АГД и СЕМ. В этой серии экспериментов гидролиз-дериватизацию проводили в термостатированной ультразвуковой бане (37 кГц) в присутствии 0.1 М  $\text{HCl}$  при 40, 60 и 80°C в течение 30, 60, 90 и 120 мин. Как видно из рис. 1, максимальный выход продуктов дериватизации, коррелирующий с содержанием этих метаболитов в анализируемых образцах (табл. 2), достигается при 80°C. Полученные результаты указывают на то, что повышение температуры от 40 до 80°C позволяет снизить время гидролиза-дериватизации в 0.1 М  $\text{HCl}$  до 60 мин.

**Влияние концентрации соляной кислоты и времени.** В этой серии экспериментов гидролиз-дериватизацию проводили в термостатированной

ультразвуковой бане (37 кГц) при 80°C в присутствии 0.1, 0.2 и 0.5 М  $\text{HCl}$  в течение 10, 20, 30, 40 и 60 мин. Данные рис. 2 указывают на то, что увеличение концентрации соляной кислоты от 0.1 до 0.2 и далее до 0.5 М приводит к сокращению времени от 60 до 30 и далее до 20 мин соответственно. Таким образом, в присутствии 0.5 М  $\text{HCl}$  при 80°C время гидролиза-дериватизации можно снизить до 20 мин.

**Сравнение результатов определения метаболитов нитрофуранов в курином мясе и субпродуктах.** В выбранных условиях (0.5 М  $\text{HCl}$ ; 80°C; термостатированная ультразвуковая баня, 37 кГц; 30 мин) определяли содержание метаболитов нитрофуранов в четырех образцах куриного мяса и субпродуктов (печень, желудки, сердце). Полученные результаты приведены в табл. 3. Там же представлены результаты анализа этих образцов с использованием официальной методики пробоподготовки (0.1 М  $\text{HCl}$ , 40°C, водяная баня, 16 ч)

**Таблица 3.** Результаты (мкг/кг) определения метаболитов нитрофуранов в курином мясе и субпродуктах с использованием официальной методики пробоподготовки и 2-нитробензальдегида (1); официальной методики пробоподготовки и 5-нитро-2-фуральдегида (2); ускоренной методики пробоподготовки и 5-нитро-2-фуральдегида (3) ( $n = 3$ ,  $P = 0.95$ )

Дериватирующий агент, условия проведения гидролиза и дериватизации	АМОЗ	АОЗ	АГД	СЕМ
Мясо				
(1) 2-НБА, 0.1 М HCl, 40°C, водяная баня, 16 ч (ГОСТ 32014-2012)	40 ± 6 (0.06)*	31 ± 4 (0.05)	88 ± 11 (0.05)	110 ± 10 (0.04)
(2) 5-НФА, 0.1 М HCl, 40°C, водяная баня, 16 ч	41 ± 5 (0.05)	30 ± 3 (0.04)	91 ± 9 (0.04)	105 ± 13 (0.05)
(3) 5-НФА, 0.5 М HCl, 80°C, УЗ-баня, 30 мин	50 ± 6 (0.05)	43 ± 5 (0.05)	104 ± 13 (0.05)	122 ± 21 (0.05)
Печень				
(1) 2-НБА, 0.1 М HCl, 40°C, водяная баня, 16 ч (ГОСТ 32014-2012)	149 ± 30 (0.08)	62 ± 10 (0.07)	120 ± 24 (0.08)	128 ± 20 (0.06)
(2) 5-НФА, 0.1 М HCl, 40°C, водяная баня, 16 ч	143 ± 21 (0.06)	64 ± 9 (0.06)	125 ± 22 (0.07)	122 ± 21 (0.07)
(3) 5-НФА, 0.5 М HCl, 80°C, УЗ-баня, 30 мин	216 ± 43 (0.08)	92 ± 16 (0.07)	153 ± 30 (0.08)	147 ± 21 (0.08)
Желудки				
(1) 2-НБА, 0.1 М HCl, 40°C, водяная баня, 16 ч (ГОСТ 32014-2012)	96 ± 17 (0.07)	67 ± 10 (0.06)	96 ± 17 (0.06)	115 ± 20 (0.07)
(2) 5-НФА, 0.1 М HCl, 40°C, водяная баня, 16 ч,	92 ± 18 (0.08)	64 ± 11 (0.07)	100 ± 18 (0.07)	123 ± 18 (0.06)
(3) 5-НФА, 0.5 М HCl, 80°C, УЗ-баня, 30 мин	120 ± 21 (0.07)	98 ± 15 (0.06)	126 ± 16 (0.06)	178 ± 31 (0.07)
Сердце				
(1) 2-НБА, 0.1 М HCl, 40°C, водяная баня, 16 ч (ГОСТ 32014-2012)	104 ± 21 (0.08)	53 ± 9 (0.07)	125 ± 19 (0.06)	97 ± 17 (0.07)
(2) 5-НФА, 0.1 М HCl, 40°C, водяная баня, 16 ч,	109 ± 19 (0.07)	52 ± 10 (0.08)	134 ± 27 (0.08)	103 ± 20 (0.08)
(3) 5-НФА, 0.5 М HCl, 80°C, УЗ-баня, 30 мин	126 ± 22 (0.07)	75 ± 15 (0.08)	152 ± 26 (0.07)	143 ± 25 (0.07)

\* В скобках приведены значения  $s_r$ .

и двух дериватирующих агентов – 2-НБА и 5-НФА. Установили, что результаты, полученные с использованием официальной методики пробоподготовки, не различаются между собой для двух указанных выше дериватирующих агентов, тогда как при использовании ускоренного метода гидролиза-дериватизации для всех типов анализируемых образцов получены более высокие значения. Таким образом, при повышении температуры до 80°C и концентрации соляной кислоты до 0.5 М удается не только значительно сократить время гидролиза-дериватизации с 16 ч до 30 мин, но и повысить выход продуктов дериватизации на 11–49%.

Авторы выражают благодарность Министерству науки и высшего образования Российской Федерации и Совету по грантам Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых и по государственной поддержке ведущих научных школ Российской Федерации за финансовую поддержку исследований (проект МД-1448.2021.1.3).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hird S.J., Lau, B.P.-Y., Schuhmacher R., Kraska R. Liquid chromatography-mass spectrometry for the determination chemical contaminants in food // Trends Anal. Chem. 2014. V. 59. P. 59.
- Wang B., Xie K., Lee K. Veterinary drug residues in animal-derived foods: Sample preparation and analytical methods // Foods. 2021. V. 10. № 3. P. 555.
- Sun R., Chen J., Pan C., Sun Y., Mai B., Li Q.X. Antibiotics and food safety in aquaculture // J. Agric. Food Chem. 2020. V. 68. P. 11908.
- Ture M., Fentie T., Regassa B. Veterinary drug residue: the risk, public health significance and its management college of veterinary medicine and animal science // J. Vet. Sci. 2019. V. 13. № 2. Article 555856.
- Guardone L., Tinacci L., Armani A., Trevisani M. Residues of veterinary drugs in fish and fish products: An analysis of RASFF data over the last 20 years // Food Control. 2022. V. 135. Article 108780.
- Vass M., Hruska K., Fránek M. Nitrofurantoin antibiotics: A review on the application, prohibition and residual analysis // Vet. Med. 2008. V. 53. № 9. P. 469.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. Scientific Opinion on nitrofurans and their metabolites in food // EFSA J. 2015. V. 13. № 6. Article 4140.

8. *McCalla D.R.* Mutagenicity of nitrofurans derivatives: Review // *Environ. Mutagen.* 1983. V. 5. P. 5745.
9. Commission Regulation (EC) 1995/1442/EC (1995) // *Off. J. Eur. Commun.* 1995. V. 38. № 143. P. 26.
10. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю). 2010. С. 391.
11. *Закревский В.В., Лелеко С.Н.* Скрининг нитрофурановых соединений в импортном мясном сырье // *Гигиена и санитария.* 2014. Т. 5. С. 121.
12. *Points J., Burns D.T., Walker M.J.* Forensic issues in the analysis of trace nitrofurans veterinary residues in food of animal origin // *Food Control.* 2015. V. 50. P. 92.
13. *Sniegocki T., Giergiel M., Sell B., Posyniak A.* New method of analysis of nitrofurans and nitrofurans metabolites in different biological matrices using UHPLC-MS/MS // *J. Vet. Res.* 2018. V. 62. № 2. P. 161.
14. *Cooper K.M., Mulder P.P.J., van Rhijn J.A., Kovacsics L., McCracken R.J., Young P.B., Kennedy D.G.* Depletion of four nitrofurans antibiotics and their tissue-bound metabolites in porcine tissues and determination using LC-MS/MS and HPLC-UV // *Food Addit. Contam.* 2005. V. 22. № 5. P. 406.
15. *Куликовский А.В., Горлов И.Ф., Сложеникина М.И., Вострикова Н.Л., Иванкин А.Н., Кузнецова О.А.* Определение нитрофуранов в мышечной ткани методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 75. № 8. С. 703. (*Kulikovskii A.V., Gorlov I.F., Slozhenkina M.I., Vostrikova N.L., Ivankin A.N., Kuznetsova O.A.* Determination of nitrofurans metabolites in muscular tissue by high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection // *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. № 9. P. 906.)
16. *Alkan F., Kotan A., Özdemir N.* Development and validation of confirmatory method for analysis of nitrofurans metabolites in milk, honey, poultry meat and fish by liquid chromatography–mass spectrometry // *Maced. Vet. Rev.* 2016. V. 39. № 1. P. 15.
17. *Øye B.E., Couillard F.D., Valdernes S.* Complete validation according to current international criteria of a confirmatory quantitative method for the determination of nitrofurans metabolites in seafood by liquid chromatography isotope dilution tandem mass spectrometry // *Food Chem.* 2019. V. 300. Article 125175.
18. *Ryu E., Park J.S., Giri S.S., Park S.C.* Development and validation of a LC-MS/MS method for the determination of nitrofurans metabolites in soft-shell turtle powder health food supplement // *Int. J. Anal. Chem.* 2021. Article 8822448.
19. *Guichard P., Laurentie M., Hurtaud-Pessel D., Verdon E.* Confirmation of five nitrofurans metabolites including nifursol metabolite in meat and aquaculture products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: validation according to European Union decision 2002/657/EC // *Food Chem.* 2021. V. 342. Article 128389.
20. *Verdon E., Couedor P., Sanders P.* Multi-residue monitoring for the simultaneous determination of five nitrofurans (furazolidone, furaltadone, nitrofurazone, nitrofurantoin, nifursol) in poultry muscle tissue through the detection of their five major metabolites (AOZ, AMOZ, SEM, AHD, DNSAH) by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry — In-house validation in line with Commission Decision 657/2002/EC // *Anal. Chim. Acta.* 2007. V. 586. № 1. P. 336.
21. *Chen D., Delmas J.-M., Hurtaud-Pessel D., Verdon E.* Development of a multi-class method to determine nitroimidazoles, nitrofurans, pharmacologically active dyes and chloramphenicol in aquaculture products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *Food Chem.* 2020. V. 311. Article 125924.
22. *Johnston L., Croft M., Murby J.* Fortified versus incurred residues: Extraction of furazolidinone metabolite from prawn // *Anal. Bioanal. Chem.* 2015. V. 407. P. 4535.
23. *Wu S., Yang B., Yu H.* A rapid derivatization method for analyzing nitrofurans metabolites in fish using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *Food Chem.* 2020. V. 310. Article 125814.
24. *Wang K., Kou Y., Wang M., Ma X., Wang J.* Determination of nitrofurans metabolites in fish by ultra-performance liquid chromatography-photodiode array detection with thermostatic ultrasound-assisted derivatization // *ACS Omega.* 2020. V. 5. № 30. P. 18887.
25. *Wang K., Wang M., Kou Y., Guo C., Ma X., Tian B., Qi Y., Wang W., Wang J.* Determination of nitrofurans metabolites in meat products by UHPLC-fluorescence with ultrasonic-assisted derivatization // *J. Food Compos. Anal.* 2022. V. 107. Article 104375.
26. *Regan G., Moloney M., Di Rocco M.* Development and validation of a rapid LC-MS/MS method for the confirmatory analysis of the bound residues of eight nitrofurans drugs in meat using microwave reaction // *Anal. Bioanal. Chem.* 2022. V. 414. P. 1375.
27. *Palaniyappan V., Nagalingam A.K., Ranganathan H.P., Kandhikuppam K.B., Kothandam H.P., Vasu S.* Microwave-assisted derivatization and LC-MS/MS determination of nitrofurans metabolites in farm-raised prawns (*Penaeus monodon*) // *Food Addit. Contam. Part A.* 2013. V. 30. № 10. P. 1739.
28. *Veach B.T., Baker C.A., Kibbey J.H., Fong A., Broadway B.J., Drake C.P.* Quantitation of chloramphenicol and nitrofurans metabolites in aquaculture products using microwave-assisted derivatization, automated SPE, and LC-MS/MS // *J. AOAC Int.* 2015. V. 98. № 3. P. 588.
29. *Luo X., Yu Y., Kong X., Wang X., Ji Z., Sun Z., You J.* Rapid microwave assisted derivatization of nitrofurans metabolites for analysis in shrimp by high performance liquid chromatography–fluorescence detector // *Microchem. J.* 2019. V. 150. Article 104189.
30. *Luo X., Sun Z., Wang X., Yu Y., Ji Z., Zhang S., Li G., You J.* Determination of nitrofurans metabolites in marine products by high performance liquid chromatography–fluorescence detection with microwave-assisted derivatization // *New J. Chem.* 2019. V. 43. P. 2649.
31. *Мелехин А.О., Толмачева В.В., Шубина Е.Г., Дмитриенко С.Г., Аяри В.В., Грудев А.И., Золотов Ю.А.* Новый дериватизирующий агент для определения метаболитов нитрофуранов в яйцах методом

- ВЭЖХ-МС/МС // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 11. С. 1012. (*Melekhin A.O., Tolmacheva V.V., Shubina E.G., Dmitrienko S.G., Apyari V.V., Grudev A.I., Zolotov Yu.A.* A new derivatizing agent for determining nitrofurans metabolites in chicken eggs by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry // *J. Anal. Chem.* 2021. V. 76. № 11. P. 1312.)
32. *Melekhin A.O., Tolmacheva V.V., Shubina E.G., Dmitrienko S.G., Apyari V.V., Grudev A.I.* Determination of nitrofurans metabolites in honey using a new derivatization reagent, magnetic solid-phase extraction and LC–MS/MS // *Talanta*. 2021. V. 230. Article 122310.
33. ГОСТ 32014–2012. Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания метаболитов нитрофуранов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (с Изменением № 1, с Поправками). М.: Стандартинформ, 2013.
34. *McCracken R.J., Kennedy D.G.* Detection, accumulation and distribution of nitrofurans residues in egg yolk, albumen and shell // *Food Addit. Contam.* 2007. V. 24. № 1. P. 26.
35. *McCracken R.J., van Rhijn J.A., Kennedy D.G.* The occurrence of nitrofurans metabolites in the tissues of chickens exposed to very low dietary concentrations of the nitrofurans // *Food Addit. Contam.* 2005. V. 22. № 6. P. 567.

УДК 543.51

## СКРИНИНГ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КРОВИ МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ИОНИЗАЦИЕЙ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ЛАЗЕРНОЙ ПЛАЗМОЙ ПРИ АТМОСФЕРНОМ ДАВЛЕНИИ

© 2022 г. К. Ю. Кравец<sup>а</sup>, С. И. Тимакова<sup>а</sup>, А. А. Гречников<sup>а</sup>\*, А. С. Бородков<sup>а</sup>, П. К. Лаптинская<sup>б</sup>, В. С. Кузьмин<sup>с</sup>, Я. О. Симановский<sup>б</sup>

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

<sup>б</sup>Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук  
ул. Вавилова, 38, Москва, 119991 Россия

<sup>с</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет  
ул. Ленинские горы, 1, стр. 12, Москва, 119234 Россия

\*e-mail: grechnikov@geokhi.ru

Поступила в редакцию 08.12.2021 г.

После доработки 24.02.2022 г.

Принята к публикации 03.03.2022 г.

Предложен способ скрининга лекарственных соединений методом масс-спектрометрии высокого разрешения с ионизацией, индуцированной лазерной плазмой при атмосферном давлении (APLPI). Аналитические характеристики метода изучены на примере пяти лекарственных соединений: лидокаина, бендазола, папаверина, хлоропирамина и карбамазепина. Получены градуировочные зависимости при анализе модельных растворов и образцов крови, определены коэффициенты чувствительности. Найдено, что величины относительного стандартного отклонения результатов анализа находятся в интервале 20–27%. Показано, что метод APLPI позволяет оперативно и надежно обнаружить факт присутствия в пробе исследованных лекарственных соединений с концентрациями на уровне 0.5–6 нг/мл. Установлено, что по чувствительности метод APLPI превосходит метод электрораспылительной ионизации при атмосферном давлении в 4–16 раз.

**Ключевые слова:** масс-спектрометрия с ионизацией при атмосферном давлении, лазерно-индуцированная плазма, скрининг лекарственных соединений.

**DOI:** 10.31857/S0044450222100085

В середине 2000-х годов в практику масс-спектрометрии вошли и получили интенсивное развитие новые методы ионизации органических соединений при атмосферном давлении. К настоящему времени разработано большое число таких методов, которые принято обозначать как “ambient ionization mass spectrometry” [1–4]. Их отличительная особенность заключается в возможности анализа твердых, жидких и газообразных образцов сложного состава в естественных (лабораторных или полевых) условиях без или с минимальной предварительной пробоподготовкой. При проведении анализа проба находится вне масс-анализатора, генерация ионов определяемых соединений осуществляется обычно перед устройством ввода ионов в масс-спектрометр, а масс-спектры регистрируются в режиме реального времени. Процесс ионизации аналитов, как правило, является последовательностью ионно-молекулярных реакций, приводящих к образованию

ионов определяемого соединения. Способ генерации первичных реагентов (ионов или возбужденных атомов и молекул) является одним из ключевых факторов, определяющих аналитические характеристики методов ионизации в атмосферном воздухе.

Ранее нами показано [5], что эффективным средством для создания высокой концентрации первичных реагентов в воздухе может служить лазерно-индуцированная плазма, образующаяся за счет воздействия наносекундными и субнаносекундными лазерными импульсами на поверхность металлической мишени. Оценка температуры плазмы, создаваемой с помощью Nd:YAG-лазера (длина волны 1.06 мкм, длительность импульса 0.5 нс с энергией в импульсе 0.25 мДж) в воздухе, показала, что в первые несколько наносекунд температура плазмы превышает  $5.5 \times 10^4$  К [6]. Высокие значения начальной температуры, жесткое УФ-излучение плазмы, а также высокие

значения концентрации электронов (до  $10^{20} \text{ см}^{-3}$ ) [7, 8] создают условия для эффективной генерации первичных ионов и возбужденных молекул, которые затем обеспечивают “мягкую” ионизацию широкого круга как полярных, так и неполярных органических соединений [5, 6, 9, 10]. В зависимости от химических свойств аналитов в масс-спектрах положительных ионов регистрируются протонированные молекулы, аддукты с катионами (обычно с  $\text{NH}_4^+$  и  $\text{H}_3\text{O}^+$ ) и молекулярные ионы (катион-радикалы). В режиме регистрации отрицательных ионов наблюдаются депротонированные молекулы, аддукты с анионами и молекулярные ионы (анион-радикалы) [11]. Метод, основанный на использовании лазерно-индуцированной плазмы в качестве ионного источника для масс-спектрометрии с ионизацией на воздухе, получил название “atmospheric pressure laser plasma ionization” (APLPI) [12]. Такие отличительные особенности APLPI, как универсальность, простота и экспрессность анализа, совместимость с серийными масс-анализаторами, оборудованными ионным источником с ионизацией при атмосферном давлении, определяют высокий потенциал метода для решения широкого круга аналитических задач.

Цель данной статьи — изучение аналитических характеристик метода APLPI в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения и исследование возможности применения метода для решения задачи скрининга лекарственных соединений в крови. Стандартный подход к масс-спектрометрическому определению физиологически активных веществ в биологических жидкостях базируется на использовании методов хромато-масс-спектрометрии, обеспечивающих высокую чувствительность и селективность анализа. Основным ограничением этих методов является длительная и трудоемкая процедура пробоподготовки, которая обычно включает в себя несколько последовательных стадий (например, гидролиз, экстракцию, концентрирование, дериватизацию, хроматографическое разделение) [13, 14]. В связи с этим традиционные методы анализа все чаще предваряются аналитическими скрининговыми методами, позволяющими в минимальный срок ответить на вопрос, необходим ли последующий полноценный количественный анализ пробы. Можно выделить следующие требования к скрининговым методам определения лекарственных соединений:

- минимальная пробоподготовка;
- высокая производительность анализа по сравнению с подтверждающим методом;
- простота интерпретации результатов, так как часто результат необходимо получить сразу после анализа;

– чувствительность определения, сравнимая с подтверждающим методом;

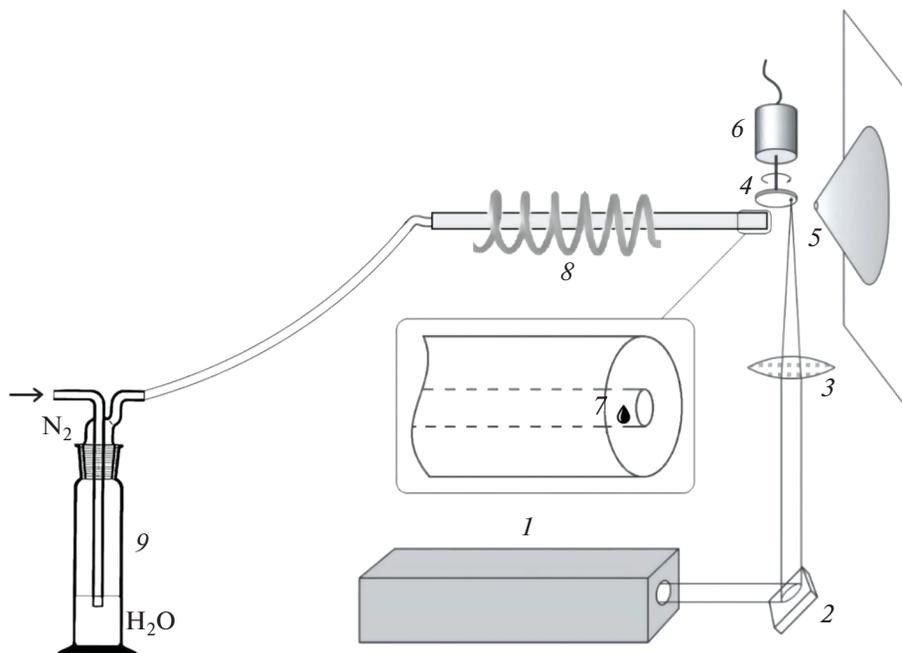
– возможность обнаружения многих компонентов одновременно в одной пробе.

В данной статье представлены результаты исследования соответствия метода APLPI этим требованиям на примере определения лекарственных соединений папаверина, хлоропирамина, дибазола, карбамазепина и лидокаина.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Оборудование.** Использовали масс-спектрометр Exactive (Thermo Scientific, Германия), оборудованный орбитальной ионной ловушкой Orbitrap. В экспериментах с ионизацией на основе лазерно-индуцированной плазмы штатный ионный источник с ионизацией электрораспылением заменили на разработанный нами источник APLPI. Схема ионного источника APLPI приведена на рис. 1. Излучение импульсного лазера 1 с помощью поворотного зеркала 2 и линзы 3 с фокусным расстоянием 50 мм фокусировали на поверхности металлической мишени 4, помещенной вблизи входного отверстия атмосферного интерфейса масс-спектрометра 5. Фокусировка излучения приводит к образованию лазерной плазмы вблизи поверхности мишени. Для генерации плазмы использовали твердотельный Nd:YAG-лазер с диодной накачкой RL-03/355 (ООО “ЭЛС-94”, Россия) с длиной волны 1.06 мкм, длительностью импульса 0.5 нс, энергией в импульсе 400 мкДж и частотой повторения импульсов 100 Гц. Зеркало 2 и линза 3 установлены в держателях, обеспечивающих их перемещение таким образом, чтобы можно было менять положение фокального пятна на мишени относительно входного отверстия масс-спектрометра. Это расстояние в экспериментах составляло примерно 5 мм. Мишень 4 выполнена в виде диска из нержавеющей стали диаметром 12 мм и закреплена на валу электродвигателя 6, обеспечивающего ее вращение с частотой примерно 1 оборот/с. Вращение позволяет минимизировать влияние эрозии материала мишени на формирование плазмы.

Для ввода аналита в зону ионизации использовали термодесорбционный способ. Анализируемые жидкие пробы объемом 2–10 мкл помещали в кювету из нержавеющей стали 7. После испарения растворителя кювету позиционировали на расстоянии примерно 1 см от входного отверстия масс-спектрометра 5. Положение испарительной кюветы существенным образом влияет на величину ионного сигнала, поэтому на предварительном этапе исследований нашли оптимальные геометрические параметры, при которых регистрируемый ионный ток аналитов принимал максимальные значения. Для быстрого нагрева испа-



**Рис. 1.** Схема ионного источника APLPI: 1 – лазер, 2 – поворотное зеркало, 3 – фокусирующая линза, 4 – металлическая мишень, 5 – входное отверстие масс-спектрометра, 6 – электродвигатель, 7 – кювета с анализируемым образцом, 8 – индукционный нагреватель, 9 – склянка Дрекслера с бидистиллированной водой.

рительной кюветы использовали индукционный нагреватель 8, который позволял нагревать кювету до 270–280°C примерно за 20 с. Кювета представляет собой трубку из нержавеющей стали, сквозь которую можно подавать поток газа-носителя. Источником газа-носителя является азотная станция Genius NM32LA (Peak Scientific, Великобритания). Для насыщения парами воды азот пропускали через склянку Дрекслера с бидистиллированной водой.

Для анализа растворов методом электрораспыления использовали штатный ионный источник HESI-II. В экспериментах использовали следующие условия ионизации: напряжение распыления 3.8 кВ, температура капилляра 300°C, напряжение на капилляре 50.0 В, поток анализа 10 мкл/мин, давление азота 70 кПа. В анализируемые пробы добавляли муравьиную кислоту, концентрация которой составляла 0.1%.

Все исследования проводили в режиме регистрации положительных ионов. Масс-спектры записывали в диапазоне величин  $m/z$  140–1000. Разрешающая способность масс-анализатора в экспериментах составляла  $6 \times 10^4$  (для пика с  $m/z$  195). Перед каждой серией экспериментов проводили калибровку прибора по четырем внешним стандартам в диапазоне масс 80–380 а.е.м., что обеспечивало точность определения  $m/z$  в этом диапазоне на уровне 1 ppm. Время инъекции ионов в C-trap выставляли равным 100 мс.

**Реагенты.** Использовали товарные лекарственные препараты: лидокаин (АО “Органика”, Россия), супрастин (Эгис, Венгрия), бендазол (Биосинтез, Россия), папаверин (Мосхимфарм препараты, Россия) в форме растворов для инъекций, а также карбамазепин (Финлепсин ретард, “Teva Operations Poland”, Польша), выделенный из твердой таблетированной формы. Растворы для инъекций растворяли в смеси метанол–вода (1 : 1) в необходимое число раз. Твердый препарат предварительно измельчали, помещали в дистиллированную воду, подщелачивали гидроксидом натрия до pH 14 и подвергали трехкратной экстракции диэтиловым эфиром. После расслоения фаз из раствора отбирали верхний эфирный слой с экстрагированным карбамазепином, растворитель выпаривали, после чего сухой остаток вновь растворяли в смеси метанол–вода (1 : 1) и готовили рабочий раствор.

Исследованные препараты широко используются в медицинской практике и могут служить хорошими индикаторами применимости метода APLPI для скрининга лекарственных соединений.

В качестве растворителей использовали метанол (Merck, Германия); хлороформ, диэтиловый эфир, ацетонитрил (Баум-Люкс, Россия); муравьиную кислоту (Argos, Бельгия) и бидистиллированную воду. Чистота всех использованных в работе растворителей была не ниже х. ч. Модель-

ные растворы лекарственных соединений готовили разбавлением в системе хлороформ–ацетонитрил (1 : 1) или метанол–вода (1 : 1). Использовали также хлорид аммония ч. д. а. и гидроксид натрия ч. д. а. (Баум-Люкс, Россия).

**Пробоподготовка.** Образцы венозной крови (5 мл) собирали асептически у ненаркотизированных кроликов из краевой вены уха с помощью инфузионной канюли G21 (Vacuette), предварительно заполненной раствором гепарина (100 U/кг) в охлажденные 5 мл гематологические стерилизованные пробирки с ЭДТА (K2/K3 2 мг) для цельной крови. После забора образцы немедленно замораживали в жидком азоте и хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$ . Все манипуляции выполняли в соответствии с актуальными требованиями руководств и этических норм по работе с лабораторными животными.

Перед проведением исследования в размороженную кровь вводили известное количество определяемого соединения. Параллельно анализировали пробы крови без дополнительного введения аналита. Для выделения лекарственных препаратов из крови использовали известную методику пробоподготовки, применяемую при хроматографическом определении аминов и других высокоосновных соединений, которая основана на жидкостной экстракции аналитов в систему хлороформ–ацетонитрил (1 : 1) с добавлением 10% по объему насыщенного раствора  $\text{NH}_4\text{Cl}$  [15]. Методика состояла в следующем: к 45 мкл пробы плазмы крови добавляли 5 мкл раствора определяемых соединений в смеси метанол–вода и перемешивали на лабораторном встряхивателе в течение 2 мин. После этого в кровь добавляли 450 мкл приготовленной заранее экстрагирующей смеси. Затем образцы перемешивали на встряхивателе в течение 1 мин, центрифугировали при скорости 15000 об/мин в течение 3 мин и отбирали органическую фракцию. Для концентрирования аналитов использовали ток сухого азота до полного испарения органического растворителя, после чего сухой остаток растворяли в 50 мкл смеси метанол–вода (1 : 1).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Аналитические характеристики метода APLPI при анализе модельных растворов.** Оценка воспроизводимости при определении лекарственных соединений в лабораторном воздухе показала, что величины относительного стандартного отклонения ионного сигнала аналитов  $s_r$  во всех экспериментах превышали 70% (для пяти последовательных анализов одного и того же раствора). Очевидная причина низкой воспроизводимости заключается в неконтролируемом влиянии присутствующих в воздухе мешающих соединений на процессы ионизации

и последующего транспорта ионов аналитов к детектору. Относительно высокая эффективность и универсальность ионизации в условиях воздействия лазерно-индуцированной плазмы в воздухе обуславливают высокие значения фонового ионного сигнала, что влияет и на чувствительность анализа. При детектировании большого числа ионов масс-спектрометром Orbitrap лимитирующим фактором становится емкость ловушки C-trap, используемой для фокусировки и инъекции пакета ионов в орбитальную ионную ловушку [16]. Быстрое заполнение ловушки C-trap ионами мешающих соединений приводит к уменьшению времени накопления ионов аналита и, как следствие, к уменьшению его ионного сигнала [17, 18]. Негативно влияют на аналитические характеристики также матричные эффекты и главным образом эффект подавления ионизации молекул аналита.

В разработанном ионном источнике с термодесорбционным вводом пробы аналиты подаются в зону ионизации в потоке азота с насыщенными парами воды (рис. 1). Такое решение позволяет значительно снизить величину фонового сигнала и улучшить воспроизводимость результатов анализа по сравнению с ионизацией в лабораторном воздухе. Добавление паров воды в газ-носитель обусловлено тем, что молекулы воды играют ключевую роль в процессах образования ионов органических соединений в методе APLPI, являясь одним из основных источников протонов [5]. Как показали эксперименты, добавление насыщенных паров воды в чистый азот увеличивает ионный сигнал аналитов более чем на порядок величины. Величина ионного сигнала зависит также от скорости потока газа-носителя. Исследование чувствительности от расхода азота показало, что при увеличении расхода с 0 до 30 мл/мин ионный сигнал аналитов возрастает примерно в три раза, а в диапазоне величин расхода 30–100 мл/мин сигнал меняется незначительно. Дальнейшие эксперименты проводили при скорости потока азота 30 мл/мин.

Основным каналом ионизации всех изученных в работе соединений является протонирование с образованием ионов состава  $[\text{M} + \text{H}]^+$ . Примером могут служить масс-спектры лидокаина и хлоропирамина (действующее вещество лекарственного препарата супрастин), приведенные на рис. 2. Несмотря на достаточно “жесткие” условия на начальных стадиях своего развития, лазерно-индуцированная плазма при атмосферном давлении обеспечивает “мягкую” ионизацию органических соединений с низкой степенью фрагментации ионов. Среди исследованных соединений фрагментные ионы наблюдались только в масс-спектрах хлоропирамина. Фрагментация протонированных молекул хлоропирамина обусловлена разрывом связи C–N с элиминировани-

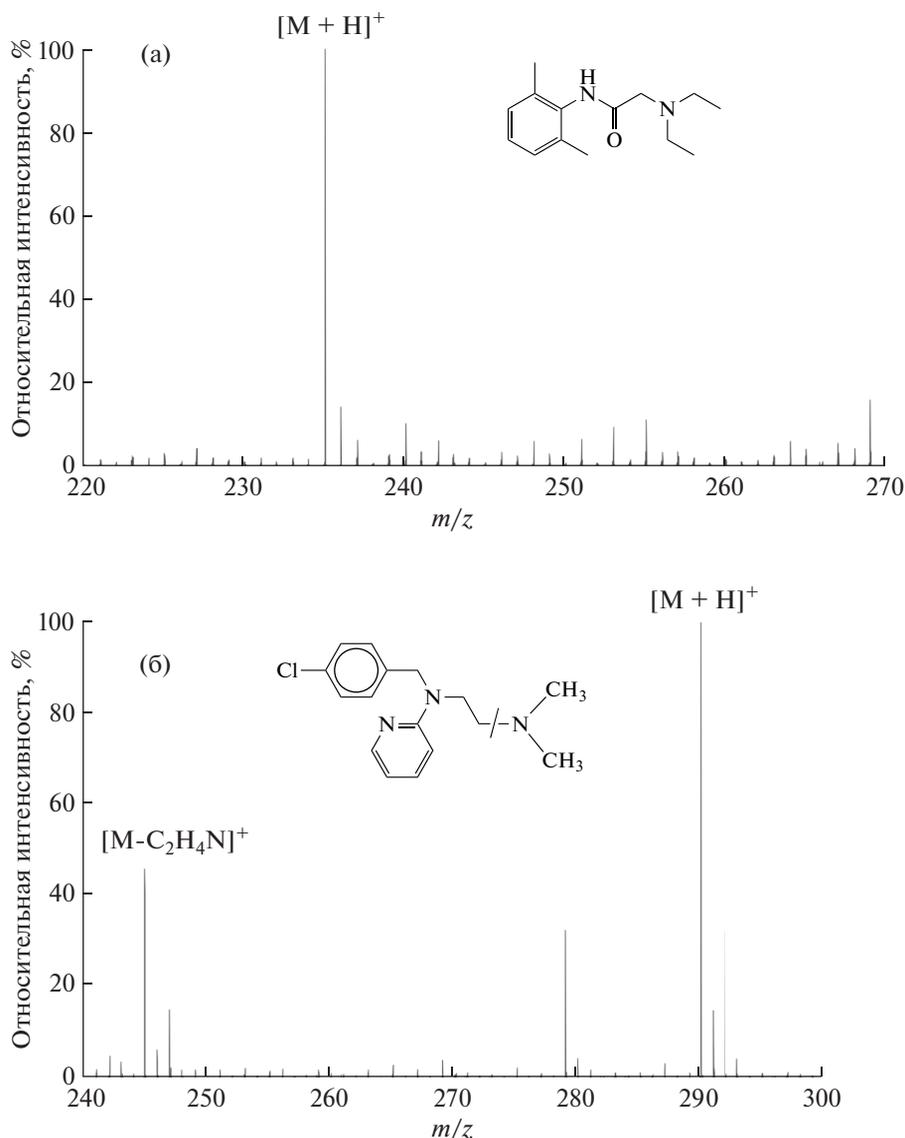


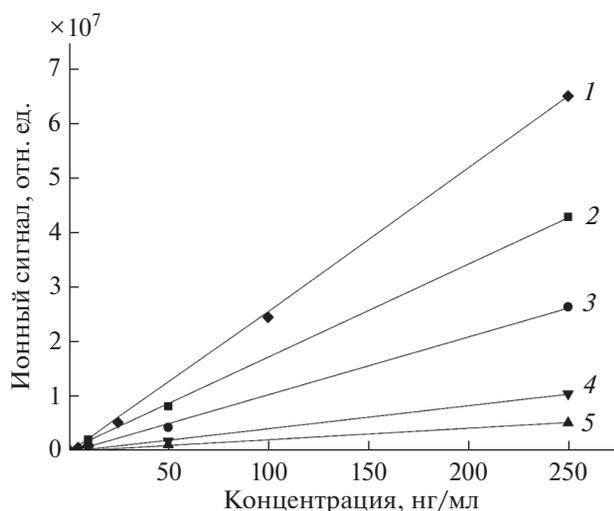
Рис. 2. Масс-спектры лидокаина (а) и хлоропирамина (б), полученные методом APLPI.

ем амина  $C_2H_6NH$  (рис. 2б). При этом степень фрагментации много ниже по сравнению с такими методами, как электронная ионизация [19] и SALDI [20]. Сравнение APLPI с электрораспылительной ионизацией при атмосферном давлении (ЭРИАД) показало, что оба метода дают сходные масс-спектры.

На рис. 3 представлены градуировочные зависимости ионного тока протонированных молекул аналита от его концентрации в модельном растворе. Каждая точка на приведенных зависимостях представляет собой среднее значение для трех последовательных измерений при анализе одного и того же раствора. Объем пробы, введенной в микрокювету, составлял 5 мкл. Видно, что полученные зависимости линейны в исследован-

ном диапазоне концентраций. Коэффициенты чувствительности, определенные как тангенс угла наклона градуировочных графиков, различны для различных соединений. В ряду исследованных лекарственных веществ коэффициент чувствительности имеет максимальное значение при определении лидокаина и минимальное — при определении хлоропирамина.

Значения относительного стандартного отклонения ионного сигнала аналитов, рассчитанные на основе результатов трех последовательных анализов в различных сериях экспериментов, лежат в интервале 20–27%. Для скрининговых методов анализа одной из основных аналитических характеристик является пороговая концентрация  $c_{\min}$  (cut-off concentration) — минимальная кон-



**Рис. 3.** Градуировочные зависимости для определения лидокаина (1), папаверина (2), дибазола (действующее вещество лекарственного препарата бендазол) (3), карбамазепина (4) и хлоропирамина (5) в модельных растворах.

центрация аналита в пробе, при определении которой вероятность получения ложноотрицательного результата не превышает заранее заданного значения, обычно 0.05 [21]. В табл. 1 приведены данные, полученные при оценке пороговой концентрации исследованных соединений, из которых следует, что величины  $c_{\min}$  лежат в диапазоне 0.4–5 нг/мл.

**Скрининг лекарственных соединений в образцах крови.** Предварительные исследования показали,

что при прямом анализе крови чувствительность и воспроизводимость много ниже по сравнению с анализом модельных растворов, поэтому скрининг образцов крови без пробоподготовки методом APLPI целесообразно использовать только для относительно высоких концентраций лекарственных веществ (более 1 мкг/мл). Анализ проб с более низкими концентрациями требует применения процедуры пробоподготовки, в качестве которой в работе использовали известную методику, основанную на экстракции аналитов в систему хлороформ–ацетонитрил (1 : 1) с добавлением 10% по объему насыщенного раствора  $\text{NH}_4\text{Cl}$ .

В результате экстракции происходит разбавление пробы, что соответственно увеличивает минимальную определяемую концентрацию аналита в крови. Чувствительность можно увеличить, добавив стадию концентрирования аналита путем испарения растворителя в потоке сухого азота и последующего растворения сухого остатка. В экспериментах объемы проб крови и конечного раствора были равны и составляли 50 мкл. Длительность процедуры пробоподготовки не превышала 20 мин.

В табл. 1 приведены данные по оценке пороговой концентрации при определении лекарственных соединений в крови после экстракции и концентрирования. Сравнение с результатами анализа модельных растворов показало, что пороговая концентрация при анализе образцов крови выше, однако не более чем в 1.5 раза. Оценка воспроизводимости результатов анализа крови показала, что относительные стандартные отклонения результатов анализа крови лежат примерно

**Таблица 1.** Минимальные концентрации исследованных лекарственных соединений, при определении которых вероятность получения ложноотрицательного результата не превышает 0.05

Лекарственное соединение	Брутто-формула	Характеристический ион, $m/z$	Минимальная (пороговая) концентрация, нг/мл	
			в модельных растворах	в крови
Лидокаин	$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}$	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 235.1805	0.5	0.7
Папаверин	$\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{NO}_4$	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 340.1543	1	1.2
Бендазол	$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2$	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 209.1073	0.7	1
Карбамазепин	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 237.1022	3	3.5
Хлоропирамин	$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{ClN}_3$	$[\text{M} + \text{H}]^+$ 290.1419	5	6

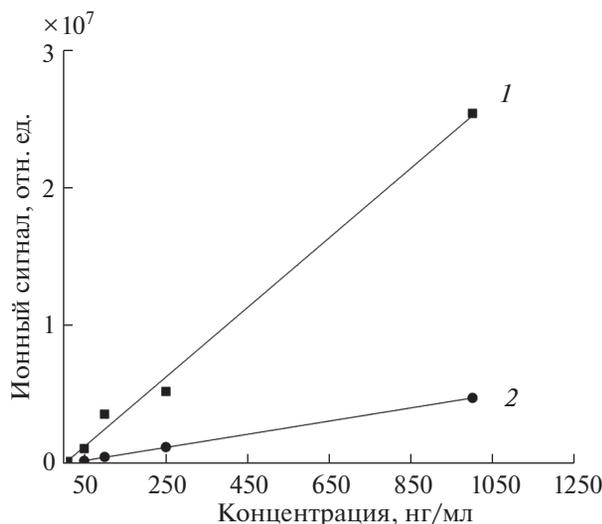


Рис. 4. Градуировочные зависимости для определения лидокаина в экстракте крови без концентрирования методами APLPI (1) и ЭРИАД (2).

в том же диапазоне, что и для модельных растворов. Полученные данные свидетельствуют о том, что метод APLPI позволяет оперативно обнаружить факт присутствия в пробе исследованных лекарственных соединений с концентрациями на уровне 6 нг/мл и ниже.

В настоящее время одним из основных методов подтверждающего количественного анализа при определении лекарственных соединений в биологических жидкостях является метод хромато-масс-спектрометрии с электрораспылительной ионизацией при атмосферном давлении. Представляло интерес сравнение аналитических характеристик двух методов ионизации — APLPI и ЭРИАД — при анализе одних и тех же проб с использованием одного масс-спектрометра. На рис. 4 приведены зависимости ионного сигнала лидокаина от его концентрации в крови, зарегистрированные в экстрактах крови (без концентрирования) методами APLPI и ЭРИАД. Видно, что при одинаковых количествах введенного в прибор аналита ионный сигнал при использовании метода APLPI выше примерно в четыре раза. Однако относительное стандартное отклонение ионного сигнала в методе ЭРИАД не превышало 5%, что более чем в четыре раза ниже, чем в методе APLPI. Для других исследованных лекарственных соединений чувствительность метода APLPI была также выше — от 4 до 16 раз. Различие ионных сигналов аналитов максимально при определении бендазола (рис. 5).

Дополнительным преимуществом метода APLPI по сравнению с ЭРИАД является малый объем пробы, необходимый для анализа, что может быть важно для решения многих задач медицины, фармацевтики и других дисциплин. Ма-

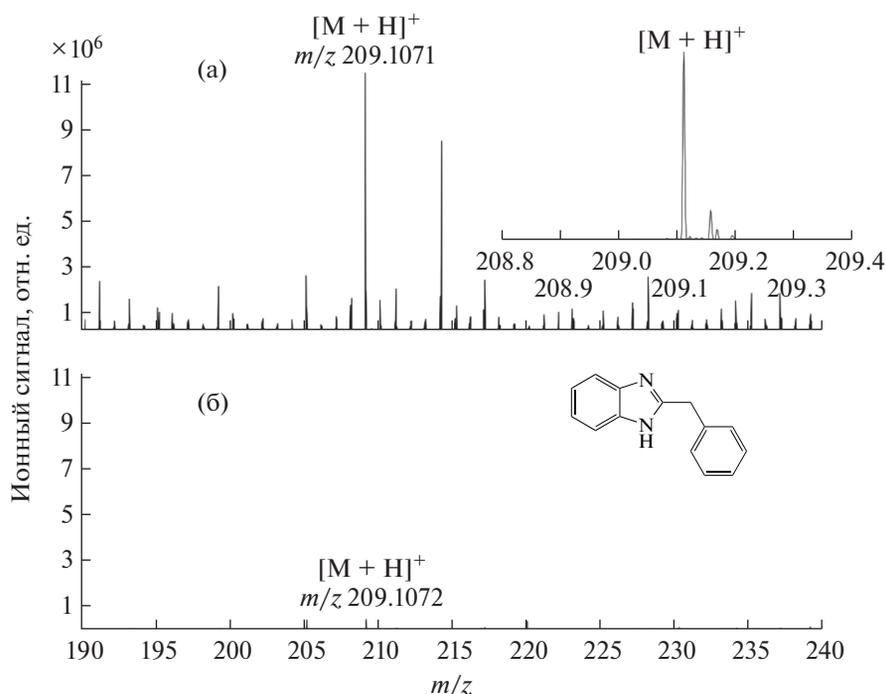


Рис. 5. Масс-спектры бендазола в экстракте крови без концентрирования, зарегистрированные методами APLPI (а) и ЭРИАД (б). Количество введенного в прибор аналита одинаково. На вставке приведен участок масс-спектра APLPI в окрестности пика протонированных молекул бендазола.

льный объем пробы предполагает также возможность концентрирования аналита на стадии пробоподготовки.

Следует отметить принципиально важную роль, которую играет высокая разрешающая способность масс-спектрометра при анализе проб сложного состава методом APLPI. На вставке к рис. 5 приведен участок масс-спектра в окрестности пика протонированных молекул бендазола. Видно, что наряду с аналитом на этом участке регистрируются восемь пиков индивидуальных соединений. Высокая разрешающая способность масс-спектрометра в сочетании с возможностью определения молекулярной массы ионов с высокой точностью позволяет избежать ошибочных ложноположительных результатов при анализе крови.

\* \* \*

Метод ионизации органических соединений, основанный на использовании лазерно-индуцированной плазмы при атмосферном давлении, исследован в приложении к задаче скрининга лекарственных соединений. Инструментальная реализация метода основана на его сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения. Для подачи аналита в ионный источник реализован термодесорбционный ввод пробы в потоке азота с насыщенными парами воды. Аналитические характеристики, полученные на примере определения лидокаина, бендазола, папаверина, хлоропирамина и карбамазепина в модельных растворах и крови, показали, что масс-спектрометрия высокого разрешения с ионизацией, индуцированной лазерной плазмой при атмосферном давлении, является эффективным методом скрининга лекарственных препаратов. Метод характеризуется высокой производительностью анализа, простой интерпретации результатов, возможностью обнаружения многих компонентов одновременно в одной пробе и высокой чувствительностью, превышающей чувствительность подтверждающего метода с ионизацией электрораспылением.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Harris G.A., Nyadong L., Fernandez F.M.* Recent development in ambient ionization techniques for analytical mass spectrometry // *Analyst*. 2008. V. 133. № 10. P. 1297.
2. *Domin M., Cody R.* Ambient Ionization Mass Spectrometry. Cambridge: Royal Society of Chemistry. Cambridge, 2014. 508 p.
3. *Лебедев А.Т.* Масс-спектрометрия с ионизацией на воздухе // *Успехи химии*. 2015. Т. 84. № 7. С. 665. (*Lebedev A.T.* Ambient ionization mass spectrometry // *Russ. Chem. Rev.* 2015. V. 84. № 7. P. 665.)
4. *Venter A.R., Douglass K.A., Shelley J.T., Hasman Jr G., Honarvar E.* Mechanisms of real-time, proximal sample processing during ambient ionization mass spectrometry // *Anal. Chem.* 2014. V. 86. № 1. P. 233.
5. *Пенто А.В., Никифоров С.М., Симаковский Я.О., Гречников А.А., Алимпиев С.С.* Лазерная абляция и ионизация излучением лазерной плазмы при атмосферном давлении в масс-спектрометрии органических соединений // *Квантовая электроника*. 2013. Т. 43. № 1. С. 55. (*Pento A.V., Nikiforov S.M., Simanovsky Y.O., Grechnikov A.A., Alimpiev S.S.* Laser ablation and ionisation by laser plasma radiation in the atmospheric-pressure mass spectrometry of organic compounds // *Quantum Electron.* 2013. V. 43. № 1. P. 55.)
6. *Pento A.V., Bukharina A.B., Nikiforov S.M., Simanovsky Y.O., Sartakov B.G., Ablizen R.S., Fabelinsky V.I., Smirnov V.V., Grechnikov A.A.* Laser-induced plasma on a metal surface for ionization of organic compounds at atmospheric pressure // *Int. J. Mass Spectrom.* 2021. V. 461. Article 116498.
7. *Liu H.C., Mao X.L., Yoo J.H., Russo R.E.* Early phase laser induced plasma diagnostics and mass removal during single-pulse laser ablation of silicon // *Spectrochim. Acta B*. 1999. V. 54. P. 1607.
8. *Farid N., Harilal S.S., Ding H., Hassanein A.* Emission features and expansion dynamics of nanosecond laser ablation plumes at different ambient pressure // *J. Appl. Phys.* 2014. V. 115. Article 033107.
9. *Bierstedt A., Riedel J.* Airborne laser-spark for ambient desorption/ionization // *Eur. J. Mass Spectrom.* 2016. V. 22. P. 105.
10. *Bierstedt A., Kersten H., Glaus R., Gornushkin I., Panne U., Riedel J.* Characterization of an airborne laser-spark ion source for ambient mass spectrometry // *Anal. Chem.* 2017. V. 89. P. 3437.
11. *Кравец К.Ю., Гречников А.А., Симаковский Я.О.* Ионизация органических соединений в условиях воздействия излучением лазерной плазмы при атмосферном давлении // *Масс-спектрометрия*. 2020. Т. 17. № 4. С. 217. (*Kravets K.Yu., Grechnikov A.A., Simanovsky Ya.O.* Ionization of organic compounds affected by laser plasma radiation at atmospheric pressure // *J. Anal. Chem.* 2021. V. 76. № 14. P. 217.)
12. *Алимпиев С.С., Гречников А.А., Никифоров С.М.* Новые подходы в лазерной масс-спектрометрии органических объектов // *Успехи физ. наук*. 2015. Т. 185. № 2. С. 207. (*Alimpiev S.S., Grechnikov A.A., Nikiforov S.M.* New approaches to the laser mass spectrometry of organic samples // *Physics-Uspekh.* 2015. V. 58. № 2. P. 191.)
13. *Мелентьев А.Б.* Практическое руководство по скринингу лекарственных, наркотических веществ и их метаболитов методом газовой хроматографии с масс-селективным детектором для целей судебной токсикологии. Челябинск: Челябинское областное бюро СМЭ, 2001. 62 с.
14. *Maurer H.H.* Perspectives of liquid chromatography coupled to low- and high-resolution mass spectrometry for screening, identification, and quantification of drugs in clinical and forensic toxicology // *Ther. Drug Monit.* 2010. V. 32. № 3. P. 324.
15. *Hori T., Fujinaga T.* Analytical use of solvent extraction with acetonitrile/water/chloroform and 1-propanol/water/cyclohexane mixtures // *Talanta*. 1985. V. 32. № 8 (2). P. 735.

16. *Makarov A., Denisov E., Kholomeev A., Balschun W., Lange O., Strupat K., Horning S.* Performance evaluation of a hybrid linear ion trap/orbitrap mass spectrometer // *Anal. Chem.* 2006. V. 78. № 7. P. 2113.
17. *Makarov A., Denisov E., Lange O., Horning S.* Dynamic range of mass accuracy in LTQ Orbitrap hybrid mass spectrometer // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2006. V. 17. № 7. P. 977.
18. *Makarov A.* Practical aspects of ion trap mass spectrometry. V. IV: Theory and Instrumentation. USA: CRC Press (Taylor & Francis), 2009. P. 922.
19. NIST. <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C59325&Units=SI&Mask=200#Mass-Spec> (07.12.2021).
20. *Alimpiev S., Grechnikov A., Sunner J., Karavanskii V., Simanovsky Y., Nikiforov S.* Surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry with a rotating ball interface // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2011. V.25. № 1. P. 140.
21. *Bertil M., Örnemark U.* The fitness for purpose of analytical methods: A laboratory guide to method validation and related topics Middlesex, UK: LGC, Teddington, 2014. P. 62.

УДК 543

## АНТРОПОГЕННЫЙ ИСТОЧНИК ЗОЛОТА В МОСКОВСКОЙ ГОРОДСКОЙ ПЫЛИ

© 2022 г. М. С. Ермолин<sup>а, \*</sup>, А. И. Иванеев<sup>а</sup>, А. С. Бржезинский<sup>а</sup>, В. К. Карандашев<sup>б</sup>, А. В. Мохов<sup>а</sup>, П. С. Федотов<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>б</sup>Институт проблем технологии микроэлектроники и особо чистых материалов Российской академии наук  
ул. Осипьяна, 6, Черноголовка, Московская обл., 142432 Россия

\*e-mail: ermolin@geokhi.ru

Поступила в редакцию 02.03.2022 г.

После доработки 25.04.2022 г.

Принята к публикации 25.04.2022 г.

Оценка содержания и распределения золота в пыли, почве, донных отложениях и технологических отвалах является важной задачей аналитической химии, решать которую необходимо не только при использовании вторичных ресурсов. Определение золота имеет и экологический аспект, поскольку данный металл признан аллергеном. В настоящей работе более восьмидесяти образцов московской городской пыли исследованы при помощи взаимодополняющих аналитических методов – масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и сканирующей электронной микроскопии с энергодисперсионной рентгеновской спектроскопией. Выявлено, что в ряде образцов содержание золота превышает 1 мкг/г, а в отдельных случаях достигает 30–35 мкг/г. Показано, что золото присутствует в пыли в виде микрочастиц размером не более 2–3 мкм. Высокое содержание золота в частицах (порядка 99%) практически исключает в качестве его источника ювелирные изделия. Изучение карты отбора образцов позволяет предположить, что с высокой вероятностью основным антропогенным источником золота в московской городской пыли является постепенный износ куполов церквей, покрытых высокопробным сусальным золотом.

**Ключевые слова:** золото, пыль, микрочастицы, Москва.

**DOI:** 10.31857/S0044450222100048

Золото является благородным металлом, среднее содержание которого в земной коре по оценкам составляет 2–4 нг/г [1–5]. Как правило, повышенное содержание золота в окружающей среде связывают с его добычей и переработкой [6]. В настоящее время лидерами по мировой добыче золота являются Китай, Австралия, Россия, США и Канада [7]. В работе [6] обобщены данные о содержании золота в воздухе, в поверхностной, дождевой и морской воде, в донных отложениях, снеге и почвах. Максимальные концентрации золота в пресноводном ручье вблизи места золотодобычи достигают 19 мкг/л, в аллювиальной почве в районе золотодобычи в Неваде – 843 нг/г (по сравнению с <29 нг/г до процесса добычи), 2.53 мкг/г в снеге вблизи медеплавильного завода в Мончегорске (по сравнению с <0.35 мкг/г во французско-итальянских Альпах), в донных отложениях сточных вод – 4.5 мкг/г, в пресноводных отложениях возле хвостохранилища золотого рудника – 256 мкг/г (по сравнению с <5 нг/г до процесса добычи).

Таким образом, добыча и переработка золота действительно может оказывать заметное влияние на его распространение в окружающей среде. Несмотря на это, в городах, находящихся вдали от районов золотодобычи, также обнаружены повышенные концентрации золота в почвах, а также в атмосферной и осевшей пыли, что, вероятно, свидетельствует о наличии других антропогенных источников золота. В табл. 1 обобщены данные о содержании золота в городских пыли и почве. Например, повышенное содержание золота (440 нг/г) обнаружено в городской атмосферной пыли, отобранной вблизи дороги с интенсивным движением во Франкфурте-на-Майне (Германия) [8]. Исследование дорожной пыли в Шеффилде (Великобритания) показало содержание золота в пыли в диапазоне 6–36 нг/г [9]. Авторы предположили, что золото в пыли не является результатом износа каталитических конвертеров, поскольку корреляции между содержанием золота и элементами платиновой группы в пыли выявлено не было [9]. В следующем исследова-

нии [10] авторы показали, что содержание золота в дорожной пыли и в пыли придорожной канавы колеблется соответственно в диапазонах 2–610 нг/г (в среднем 116 нг/г) и 8–382 нг/г (в среднем 81 нг/г). Корреляции между содержанием золота и платиновых металлов также не было выявлено, из чего сделан вывод, что источником золота являются не каталитические конвертеры автомобилей [10]. Авторы предположили, что источником золота в городской пыли может быть износ ювелирных украшений горожан [10]. Авторы показали, что золото накапливается в осадках сточных вод (в среднем 910 нг/г), а также сообщили об очень высоких содержаниях золота в осадках вод в ювелирном квартале Бирмингема [13]. Сравнительное изучение дорожной пыли Гилфорда (Великобритания) и Кувейта методом электронной микроскопии показало присутствие частиц золота в пыли размером менее 0.5 мкм вплоть до нанометрового уровня [17], тогда как в работе [13] были обнаружены частицы золота размером 2–3 мкм.

В дорожной пыли города Мессина (Италия) обнаружены повышенные концентрации золота в диапазоне 20–850 нг/г в зависимости от размера частиц пыли [11]. Показано, что концентрации золота во фракциях дорожной пыли размером 500–250, 250–125, 125–63, 63–40, 40–20, 20–10 и 10–2.5 мкм составили 20, 100, 70, 440, 850, 210, и 220 нг/г соответственно [11]. Авторы связали повышенное содержание золота в дорожной пыли с выбросами дизельных двигателей, поскольку распределение золота в пыли коррелирует с плотностью автомобильных потоков [11]. В работе [11] авторы сообщают о концентрации золота 2500 нг/г в атмосферной пыли Палермо (Италия). Анализ хвои пинии (*Pinus pinea* L.) в Палермо также показал загрязнение городской атмосферной пыли золотом, что авторы также связали с выбросами дизельных двигателей [18].

Повышенные концентрации золота обнаружены в дорожной пыли Гонконга, Шэньчжэня и Гуанчжоу (Китай), концентрации варьировались в диапазоне 42–453, 148–1345 и 2.86–31 нг/г соответственно [12]. Авторы отмечают, что повышенные содержания золота в Гонконге и Шэньчжэне, вероятно, связаны с выбросами автомобильных катализаторов, поскольку содержание золота коррелирует с содержанием платины, а промышленность как потенциальный источник данного металла в местах отбора пыли отсутствует [12]. Отмечено, что золото может использоваться как экономически выгодная альтернатива платиновым металлам в автомобильных катализаторах для окисления монооксида углерода [19]. Для Гуанчжоу характерны значительно более низкие содержания золота в дорожной пыли, при этом не выявлено корреляции между содержанием золота и платины [12].

Помимо пыли, городские почвы также могут являться резервуаром для антропогенных выбросов золота. Например, анализ почв Гонконга и Шэньчжэня показал содержание золота в диапазонах 3.9–51.4 и 1.47–52.5 нг/г, что превышает фоновые показатели для данных городов 0.72–1.44 и 1.26–1.45 нг/г соответственно, при этом содержание золота в почве значительно ниже его содержания в дорожной пыли [12]. Долгосрочный мониторинг содержания золота в верхних слоях почвы в Берлине (Германия) показал увеличение его содержания с <0.5–29.5 нг/г в 1992 г. до 0.23–99.1 нг/г в 2013 г. [14]. Авторы связывают такое увеличение (310%) за 20 лет с увеличением количества автотранспорта и, соответственно, выбросов из катализаторов [14]. Мониторинг элементного состава почв Праги (Чехия) показал варьирование содержания золота в диапазоне <0.2–1742 нг/г, при этом наиболее высокие концентрации обнаружены в центре города, где загруженность дорог наибольшая [15]. Установлено, что концентрации золота достигают максимального уровня на расстоянии <50 м от дорог и уменьшаются с увеличением расстояния [15]. Однако в работе [16] показано, что содержание золота ( $18.98 \pm 0.98$  нг/г) в придорожной почве не изменяется с увеличением расстояния от дороги (до 5 м), что, в свою очередь, продемонстрировано для платиновых металлов. Авторы предположили, что золото может попадать в почву вследствие износа содержащей золото автомобильной электроники (контроль зажигания, антиблокировочная система тормозов и электронный впрыск топлива) [16].

Повышенное содержание золота в окружающей среде неизбежно приводит к его поглощению и накоплению растениями и животными. В работе [6] обобщены данные о содержании золота в растениях, произрастающих вблизи мест добычи золота, в тканях рыб и водных беспозвоночных. Что касается людей, повышенные концентрации золота обнаружены в моче зубных техников (вследствие использования в работе золотых искусственных зубов), в грудном молоке матерей (вследствие ношения золотых украшений и наличия зубных пломб), в волосах ювелиров, в крови и почках пациентов с ревматоидным артритом, принимающих содержащие золото препараты [6]. Долгое время золото считалось безопасным для здоровья человека, однако в настоящее время известно, что золото на самом деле является достаточно распространенным аллергеном, вызывающим дерматит на лице и веках, а также в местах прямого контакта с кожей [20–24]. К профессиям, подверженным контактному дерматиту, обычно относят производителей золотых зубных имплантатов, ювелиров, а также художников-декораторов и реставраторов [6]. Например, показано, что контактному дерматиту были подвержены реставраторы Флорентийской ре-

Таблица 1. Содержание золота в городских пыли и почве

Образец	Метод определения (пробоподготовка)	Содержание золота, нг/г	Город, страна	Литература
Атмосферная пыль	РФА с полным внешним отражением (соосаждение с ртутью)	440	Франкфурт-на-Майне, Германия	[8]
Дорожная пыль	МС-ИСП (пробирная плавка)	6–36 (среднее 15)	Шеффилд, Великобритания	[9]
	МС-ИСП (пробирная плавка)	2–610 (среднее 116)	Шеффилд, Великобритания	[10]
	МС-ИСП (пробирная плавка)	20–850, в зависимости от размера частиц пыли: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 20 (500–250 мкм)</li> <li>• 100 (250–125 мкм)</li> <li>• 70 (125–63 мкм)</li> <li>• 440 (63–40 мкм)</li> <li>• 850 (40–20 мкм)</li> <li>• 210 (20–10 мкм)</li> <li>• 220 (10–2.5 мкм)</li> </ul>	Мессина, Италия	[11]
Пыль в придорожной канаве	МС-ИСП (кислотное разложение в трубках Кариуса)	42–453 (среднее 209)	Гонконг, Китай	[12]
	МС-ИСП (кислотное разложение в трубках Кариуса)	148–1345 (среднее 471)	Шэньчжэнь, Китай	[12]
	МС-ИСП (кислотное разложение в трубках Кариуса)	2.86–31 (среднее 13.1)	Гуанчжоу, Китай	[12]
Осадки сточных вод	МС-ИСП (пробирная плавка)	8–382 (среднее 81)	Шеффилд, Великобритания	[10]
	МС-ИСП (пробирная плавка)	910	Бирмингем, Великобритания	[13]
	МС-ИСП (кислотное разложение в трубках Кариуса)	3.9–51.4 (среднее 19.4)	Гонконг, Китай	[12]
Почва	МС-ИСП (кислотное разложение в трубках Кариуса)	1.47–52.5 (среднее 14.7)	Шэньчжэнь, Китай	[12]
	МС-ИСП (кислотное разложение в трубках Кариуса)	0.54–53.8 (среднее 11.1)	Гуанчжоу, Китай	[12]
	МС-ИСП (микроволновое разложение, соосаждение с теллуrom)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1992 г.: &lt;0.5–29.5 (среднее 1.42)</li> <li>• 2013 г.: 0.23–99.1 (среднее 4.02)</li> </ul>	Берлин, Германия	[14]
Почва	МС-ИСП (кислотное разложение)	<0.2–1742 (среднее 25.5)	Прага, Чехия	[15]
	МС-ИСП (микроволновое разложение)	18.98 ± 0.98	Оксфорд и Лондон, Великобритания	[16]

ставрационной школы, использующие в работе золотой порошок и фольгу, а также методы гальванического и огневого золочения [25].

В условиях окружающей среды золото может растворяться, а затем, восстанавливаясь, повторно осаждаться в виде наночастиц, образуя так называемое вторичное золото [26, 27]. Процесс растворения золота в данном случае является лимитирующей стадией, тогда как осаждение происходит достаточно быстро с участием различных органических веществ (например, клеток/биопленок, гуминовых веществ, внеклеточных полимерных веществ) и неорганических (например, глины, оксидов железа и марганца) веществ в качестве восстановителей [28–31]. Необходимо отметить, что бактерии могут играть важную роль в растворении и мобилизации золота в окружающей среде, поскольку выделяемые ими вещества могут выступать в качестве комплексобразующих лигандов для неустойчивых в водной среде Au(I/III)-ионов [26, 27].

В целом оценка содержания и распределения золота в геологических образцах, технологических отвалах, донных отложениях, почве и пыли необходима при решении задач геологоразведки, экомониторинга, переработки вторичных ресурсов. При этом определение золота является достаточно сложной аналитической задачей вследствие его низкого содержания и неравномерного распределения в полидисперсных образцах окружающей среды. Для определения золота используются высокочувствительные методы анализа, такие как масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП), в сочетании с методами концентрирования (табл. 1). Необходимо отметить, что при МС-ИСП-определении золота результаты могут быть искажены вследствие образования в плазме полиатомных ионов ( $^{180}\text{Hf}^{16}\text{O}^+\text{H}^+$  и  $^{181}\text{Ta}^{16}\text{O}^+$ ). Проблемы определения золота в геологических объектах методом МС-ИСП и подходы к их решению подробно рассмотрены в работе [32].

Цель настоящей работы – оценка содержания и выявление источников золота в московской городской пыли с использованием взаимодополняющих аналитических методов – МС-ИСП и сканирующей электронной микроскопии с энергодисперсионной рентгеновской спектроскопией (СЭМ-ЭДС).

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Отбор образцов** пыли в Москве проводили с территории, ограниченной крупной автомагистралью – Третьим транспортным кольцом (ТТК). Карта отбора образцов пыли приведена на рис. 1. Образцы пыли отбирали с крупных и второстепенных автодорог, в рекреационных зонах (парках, лесопарках), вблизи промышленных предприятий и жилых массивов; всего было ото-

брано 78 образцов пыли. Отбор проб пыли проводили с 10 по 14 июля 2021 г. в сухую безветренную погоду. В течение двух недель до начала и в ходе отбора проб осадков на территории, ограниченной ТТК, не наблюдалось, температура воздуха была экстремально высокой и достигала рекордных  $34^\circ\text{C}$ , атмосферное давление составляло в среднем 750 мм рт. ст., влажность атмосферного воздуха варьировалась от 40 до 75%, ветер преимущественно южный, юго-западный со средней скоростью 1 м/с. В каждой точке отбирали три параллельных образца. Для этого пыль аккуратно (избегая переноса частиц во взвешенное состояние в атмосферу) сметали полипропиленовой щеткой с трех поверхностей одинаковой площади (около 1 кв. м) и расположенных на расстоянии 5–15 м друг от друга. Отобранные таким образом три образца объединяли в одном полипропиленовом пакете, перемешивали и выдерживали при комнатной температуре в течение 48 ч в лаборатории. Затем образцы взвешивали и просеивали через сито (100 мкм) для отделения крупных частиц и мусора, после чего их снова взвешивали. Средняя масса отобранных образцов пыли составила  $124 \pm 44$  г. Средняя масса образцов после просеивания составила  $18 \pm 9$  г, что составляет в среднем 14% от исходной массы отобранных образцов.

Дополнительный отбор образцов пыли проводили 9 октября 2021 года на территории пяти храмов Москвы:

1. Храм Николая Чудотворца в Хамовниках;
2. Храм Николая Чудотворца на Берсеневке;
3. Храм Воскресения Христова в Кадашах;
4. Храм священномученика Антипы на Колымажном дворе;
5. Храм Архангела Михаила при клиниках на Девичьем поле.

Первые три храма отличаются наличием пяти больших и одного–двух маленьких куполов, покрытых сусальным золотом. Храмы священномученика Антипы и храм Архангела Михаила имеют соответственно три и шесть небольших куполов, также покрытых сусальным золотом. Образцы пыли сметали в местах накопления пыли: в углах вдоль стен храмов, вдоль бордюрных камней, на лестничных ступенях. К храмам Николая Чудотворца на Берсеневке и Архангела Михаила при клиниках прилегали небольшие автомобильные парковки, где также были сделаны отборы пыли. У храма Николая Чудотворца в Хамовниках пыль отбирали также в ливневом стоке с крыши храма. Образцы высушивали, перемешивали и просеивали (100 мкм).

**Определение золота в образцах пыли** проводили с использованием метода МС-ИСП. Для разложения образцов пыли применяли две методики разложения в открытой системе. Первая методика основана на полном разложении образца мас-

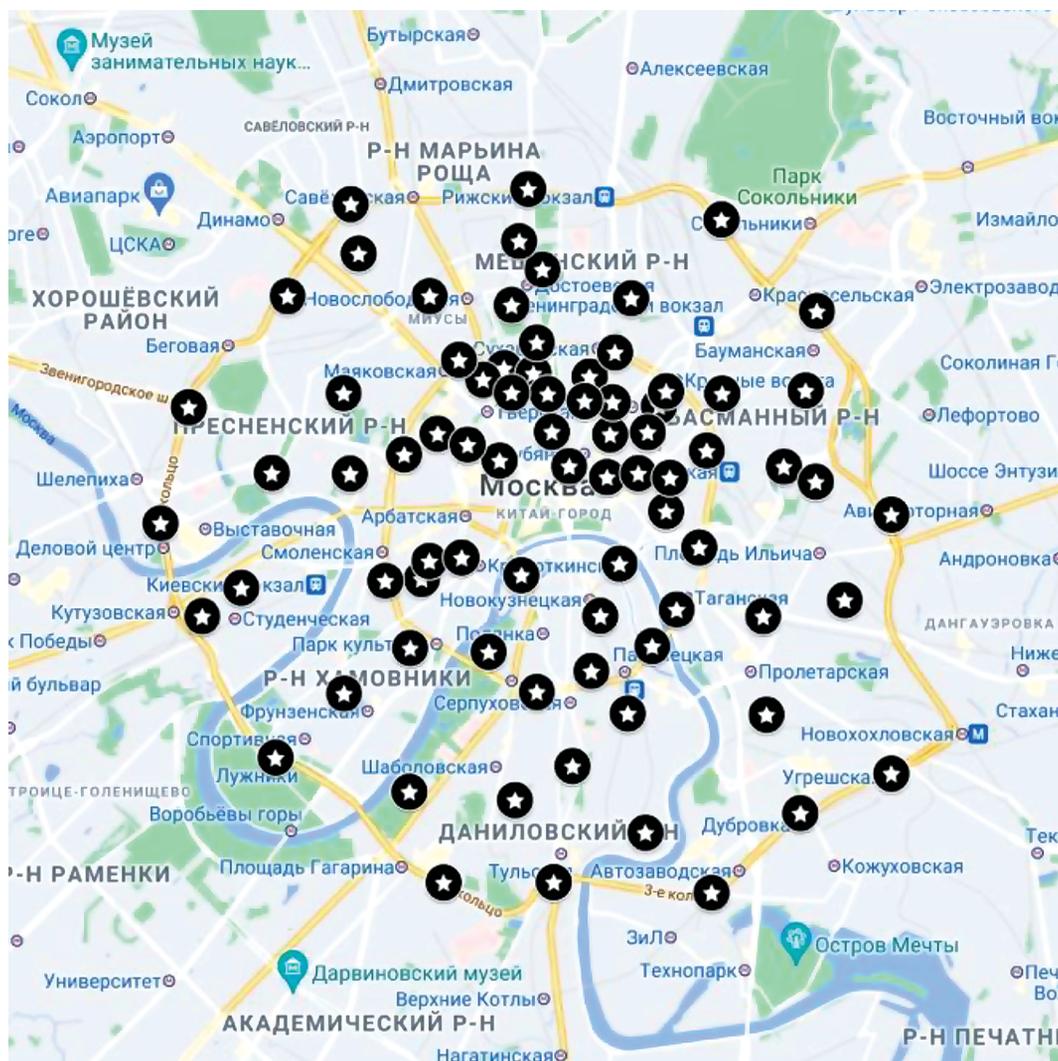


Рис. 1. Карта отбора образцов городской пыли Москвы.

сой 100 мг в открытой системе при действии фтороводородной кислоты в сочетании с азотной, хлорной и соляной кислотами и подробно описана в работе [33]. Вторая методика основана на частичном разложении образца пыли кипящей царской водкой [34]. Для этого образцы пыли массой от 100 до 200 мг помещали в тефлоновые стаканы, заливали 3 мл кипящей царской водки (смесь соляной и азотной кислот 3 : 1) и кипятили 5 мин. Затем добавляли 5–10 мл воды и раствор переносили в полиэтиленовые бюксы, добавляли внутренний стандарт (индий), разбавляли водой для анализа до 20 мл. После осаждения взвешенных частиц нерастворенной части анализируемого образца (обычно требуется не более 1 ч) в полученном растворе проводили определение золота.

Для определения золота методом МС-ИСП использовали масс-спектрометр XSeries (Thermo Scientific, США) при стандартных настройках:

выходная мощность генератора 1250 Вт, распылитель концентрический PolyCon, кварцевая охлаждаемая распылительная камера (3°C), расход плазмообразующего потока аргона 13 л/мин, расход вспомогательного потока аргона 0.9 л/мин, расход потока аргона в распылителе 0.89 л/мин, расход анализируемого образца 0.8 мл/мин, разрешение 0.8 М. Предел обнаружения (ПО) рассчитывали как  $ПО = 3s$ , где  $s$  – стандартное отклонение для  $^{197}\text{Au}$  при анализе контрольных (холостых) образцов.

Для контроля правильности анализа образцов пыли использовали стандартные образцы AMIS0192 (Certified Reference Material. Platinum (PGM), Merensky Ore. Bushveld Complex, South Africa), AMIS0395 (Certified Reference Material. Platinum (PGM) Platreef Ore. Bushveld Complex, South Africa) и DGPM-1 (US Geological Survey, Pinson Mine Disseminated Gold). Результаты анализа

**Таблица 2.** Результаты (мкг/г) определения золота в стандартных геологических образцах после частичного разложения царской водкой ( $n = 3$ ,  $P = 0.95$ )

Стандартный образец	Найдено	Аттестованное значение
AMIS0192	$1.3 \pm 0.1$	$1.61 \pm 0.12$
DGPM-1	$0.65 \pm 0.06$	$0.73 \pm 0.06$
AMIS0395	$0.067 \pm 0.020$	$0.089^* \pm 0.020^*$

\* Для AMIS0395 приведено условно аттестованное содержание.

стандартных образцов представлены в табл. 2. Как видно, наблюдается хорошая сходимость результатов для содержаний золота менее 1 мкг/г и небольшое занижение результатов (до 20%) для более высоких содержаний золота. Содержание Ta и Hf в анализируемых образцах не превышало 1 и 6 мкг/г соответственно. В данном случае при стандартных настройках масс-спектрометра экспериментально определенный вклад  $^{181}\text{Ta}^{16}\text{O}^+$  в  $m/z = 197$  не превышал величины, соответствующей 0.03 мкг/г Au, а вклад от  $^{180}\text{Hf}^{16}\text{O}^+\text{H}^+$  в  $m/z = 197$  не превышал величины, соответствующей 0.005 мкг/г Au. Тем не менее при определении золота путем полного разложения анализируемых проб этот вклад учитывали расчетным путем. При использовании процедуры частичного разложения образцов пыли кипящей царской водкой Ta и Hf в раствор практически не переходят, и поэтому их мешающим влиянием можно пренебречь.

**Характеризация частиц городской пыли методом сканирующей электронной микроскопии.** Для поиска частиц золота в образцах пыли использовали сканирующий электронный микроскоп Tescan MIRA-3 с энергодисперсионным спектрометром (ЭДС) Oxford X-MAX-100 Aztec. Приготовление образцов заключалось в нанесении на электропроводящий углеродный скотч каплю суспензии. После высыхания осажденную суспензию напыляли углеродом для создания проводящего покрытия. Поиск осуществляли просмотром образцов в отраженных электронах и оценкой их состава с помощью ЭДС у самых ярких, т.е. тяжелых, частиц.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Содержание золота в московской городской пыли.** Из 78 отобранных образцов пыли золото обнаружили в 17 образцах. Концентрации золота в этих 17 образцах представлены в табл. 3. Необходимо отметить, что содержание золота в образцах пыли №№ 12, 22, 30, 31, 37 колеблется в диапазоне 0.04–0.05 мкг/г и находится практически на уровне предела обнаружения (0.03 мкг/г). Для образцов пыли №№ 32, 45, 75 и 77 результаты парал-

лельных определений значительно отличаются, что, вероятно, связано с неравномерным распределением золота в образцах. Это, скорее всего, говорит о недостаточной представительности анализируемых навесок (100 мг) для перечисленных образцов; для них результаты в табл. 3 представлены в виде диапазона концентраций. Образцы пыли №№ 32, 45, 75, 77 отличаются чрезвычайно высоким содержанием золота, достигающим 20 мкг/г в образце пыли № 45. В целом, за исключением образцов №№ 32, 45, 75, 77, содержание золота в московской городской пыли соизмеримо с его содержанием в дорожной пыли других городов (см. табл. 1).

В упомянутых выше работах среди основных источников золота в городской пыли авторы выделяли или ювелирные украшения, или выбросы автотранспорта. В нашей работе образцы пыли, отобранные на наиболее загруженных автодорогах (ТТК и Садовом кольце), показали относительно низкие содержания золота в диапазоне 0.04–0.11 мкг/г, из чего можно сделать вывод, что выбросы автотранспорта не являются основным источником золота в московской дорожной пыли. В Москве к потенциальным источникам золота в городской пыли можно также отнести химические лаборатории и Московский завод по обработке специальных сплавов.

Для выявления вероятных источников золота в городской пыли рассмотрим образцы пыли №№ 32, 45, 75, 77. Мы предположили, что источниками золота в московской городской пыли могут быть храмы, купола и кресты которых покрываются золотом. Купола могут являться наиболее вероятным источником, поскольку они покрываются сусальным золотом, тогда как на кресты золото, как правило, наносят гальваническим способом, что обеспечивает более высокую прочность золотого покрытия. На рис. 2 отображены места отбора образцов пыли, содержащих золото, а также расположение близлежащих храмов. Образец пыли № 32 (содержание золота 0.4–2.3 мкг/г) отобран на Рождественском бульваре, где в непосредственной близости расположены Сретенский, Рождественский и Высоко-Петровский монастыри. Образец пыли № 45 (содержание золота 1.7–35.3 мкг/г) отобран на ул. Дубининской рядом с Храмом Флора и Лавра на Зацепе, также имеющим позолоченный купол. Образец пыли № 77 (содержание золота 0.2–1.2 мкг/г) отобран рядом с Храмом Успения Пресвятой Богородицы на Могильцах и недалеко от Храма священномученика Власия в Старой Конюшенной Слободе. Что касается образца пыли № 75 (содержание золота 0.2–4.0 мкг/г), то непосредственно вблизи места отбора нет храмов, однако примерно в 900 м южнее располагается Данилов монастырь и примерно в 700 м севернее – Храм Вознесения Господня за Серпуховскими Воротами, которые так-

**Таблица 3.** Содержание золота в московской городской пыли

№ образца	Место отбора		Содержание*, мкг/г
12	ТТК	ТТК в районе Лужников	0.04
20	Садовое кольцо	Зубовский б-р	0.11
21		ул. Валовая	0.07
22		ул. Нижняя Краснохолмская	0.04
30	Бульварное кольцо,	Страстной б-р	0.04
31	Болотный остров	Петровский б-р	0.04
32		Рождественский б-р	0.4–2.3
37		ул. Серафимовича, 2	0.05
43	Между ТТК и Садовым кольцом	ул. Усачева, 4	0.07
45		ул. Дубининская, 25	1.7–35.3
46		ул. 1-я Дубровская, 6	0.20
59		Малый Власьевский пер., 5	0.17
62	Внутри Садового кольца	ул. Мясницкая, 13, с. 2	0.08
63		ул. Неглинная, 12	0.29
67		Малый Спасоглинищевский пер., 2, с. 2	0.15
75		ул. Большая Серпуховская, 60	0.2–4.0
77		Большой Левшинский пер., 1/11	0.2–1.2

\* Предел обнаружения – 0.03 мкг/г.

**Таблица 4.** Содержание золота в отобранных на территории храмов образцах пыли

№ образца	Название храма	Содержание*, мкг/г
X1	Храм Николая Чудотворца в Хамовниках	26.9–32.0
X2	Храм Николая Чудотворца на Берсеневке	1.5–5.8
X3	Храм Воскресения Христова в Кадашах	0.34–2.3
X4	Храм священномученика Антипы на Колымажном дворе	0.49–0.85
X5	Храм Архангела Михаила при клиниках на Девичьем поле	0.07–0.20

\* Предел обнаружения – 0.03 мкг/г.

же могут являться источником золота в образце пыли № 75 вследствие переноса частиц золота ветром.

**Содержание золота в пыли на территории храмов.** Для подтверждения предположения о том, что храмы могут являться источником золота в московской городской пыли, проанализировали образцы пыли, отобранные непосредственно на территории пяти храмов, результаты анализа представлены в табл. 4. Как видно, пыль, отобранная на территории храмов, отличается очень высоким содержанием золота, достигающим 32 мкг/г. Наибольшее содержание золота обнаружено в образце пыли № X1. Возможно, такое высокое содержание золота в этом образце связано с тем, что он частично отобран в ливневом стоке, где могут накапливаться частицы золота с куполов.

**Результаты исследования частиц пыли методом электронной микроскопии.** Для визуализации ча-

стиц золота в пыли образцы с наибольшими содержаниями золота (№№ X1 и 45) характеризовали методом СЭМ-ЭДС. На рис. 3 представлены микрофотографии и ЭДС-спектры частиц золота в образце пыли № X1. На рис. 3а показана частица золота длиной около 3 мкм и шириной около 1.5 мкм. На рис. 3б представлена частица золота длиной около 2.5 мкм и шириной около 0.8 мкм. Размер обнаруженных частиц золота в пыли № X1 соизмерим с размерами частиц золота (2–3 мкм), обнаруженных в работе [11]. На рис. 4 показан агломерат частиц золота общим диаметром около 0.5 мкм, обнаруженный в образце пыли № 45. В пределах чувствительности метода примесей, которые можно было бы отнести к составу золота, не зафиксировано, за исключением одной частицы (рис. 3б), в которой выявлена примесь серебра менее 1%. Все найденные частицы золота находятся внутри агломератов силикатных и карбонатных частиц в тесном срастании с ними.

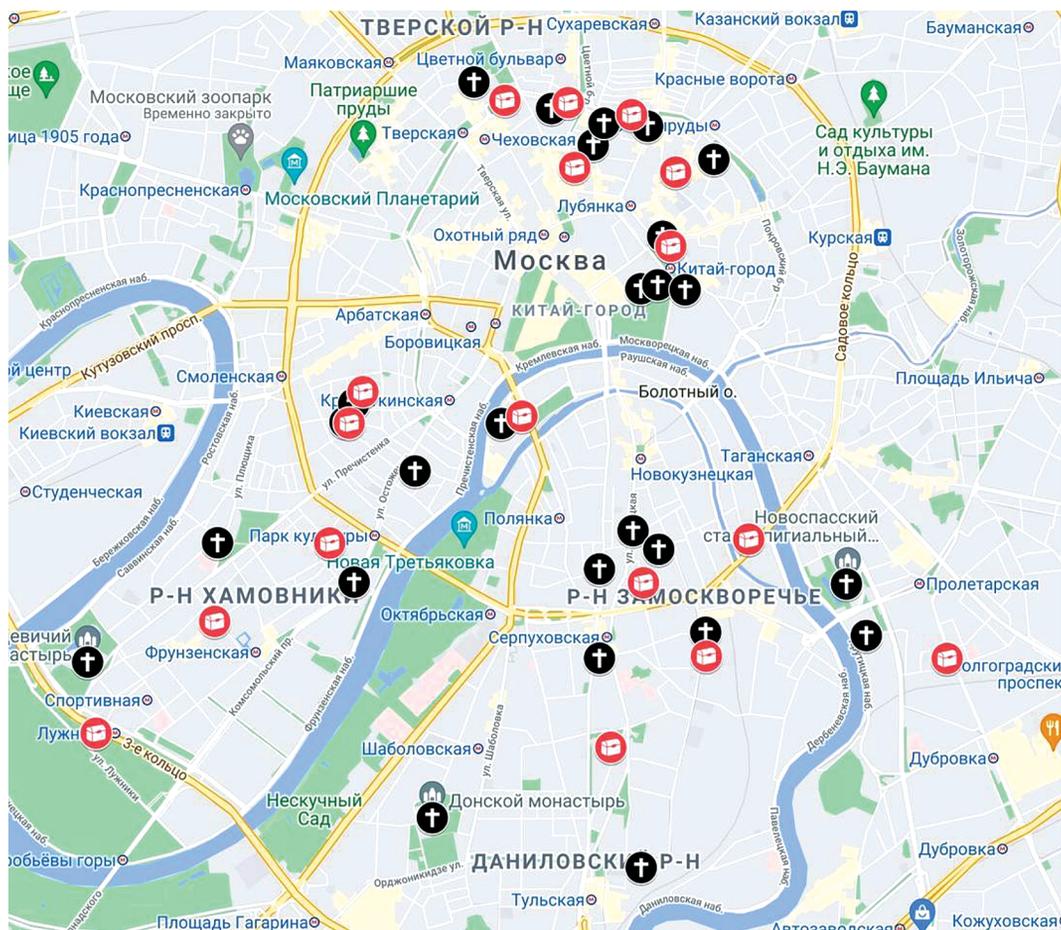


Рис. 2. Места отбора пыли, содержащей золото, и расположение близлежащих храмов.

Необходимо отметить высокую чистоту всех обнаруженных частиц золота. Для сусального золота используется сплав  $ZlSrM\ 960-30$ , в котором содержание золота достаточно высокое и варьируется в диапазоне 95.7–96.3% (а также 2.5–3.5% серебра) [35, 36]. Для ювелирных украшений, как правило, используется золото меньшей чистоты (585 и 750 пробы) для придания изделиям прочности и износостойкости. Московский завод по обработке специальных сплавов, где производят сплавы с высоким содержанием золота (до 99.99%), также может быть источником высокочистых частиц золота. Однако данный завод находится в Москве на улице Обручева и никак не может внести заметного вклада в содержание золота в исследуемых образцах.

Таким образом, основным источником золота в московской городской пыли, вероятно, являются купола храмов, покрытые сусальным золотом.

\* \* \*

Анализ литературы показал, что вероятными источниками золота в городской (дорожной) пы-

ли могут быть выбросы автотранспорта и износ ювелирных украшений. В настоящей работе установлено, что содержание золота в московской городской пыли велико и может достигать 35 мкг/г. При этом образцы пыли, отобранные на наиболее загруженных автодорогах, показали относительно низкие содержания золота в диапазоне 0.04–0.11 мкг/г, следовательно, выбросы автотранспорта не являются основным источником золота в московской пыли. Показано, что частицы золота в московской пыли отличаются высокой чистотой (более 99%). Золото столь высокой пробы не используют в ювелирных изделиях, поэтому этот источник происхождения золота в пыли также можно исключить. Высокую чистоту золота можно ожидать при биогенном вторичном происхождении частиц, однако в этом случае частицы были бы нанометрового размерного диапазона. Таким образом, наиболее вероятным источником золота являются покрытые высокопробным сусальным золотом купола храмов, откуда частицы золота могут смываться дождем, снегом или градом. Высокое содержание золота в пыли, отобранной

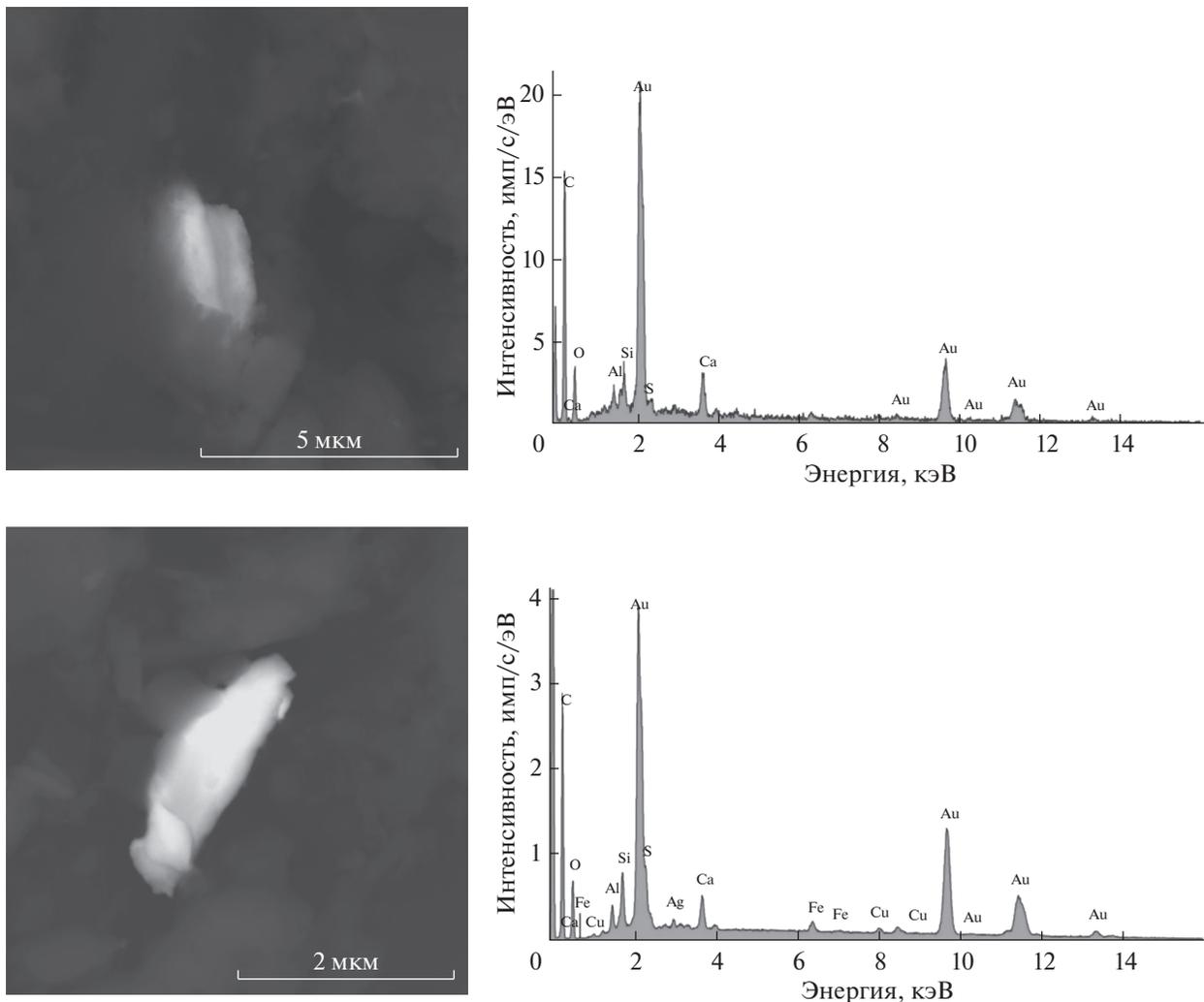


Рис. 3. Микрофотографии и ЭДС-спектры микрочастиц золота в образе пыли № X1.

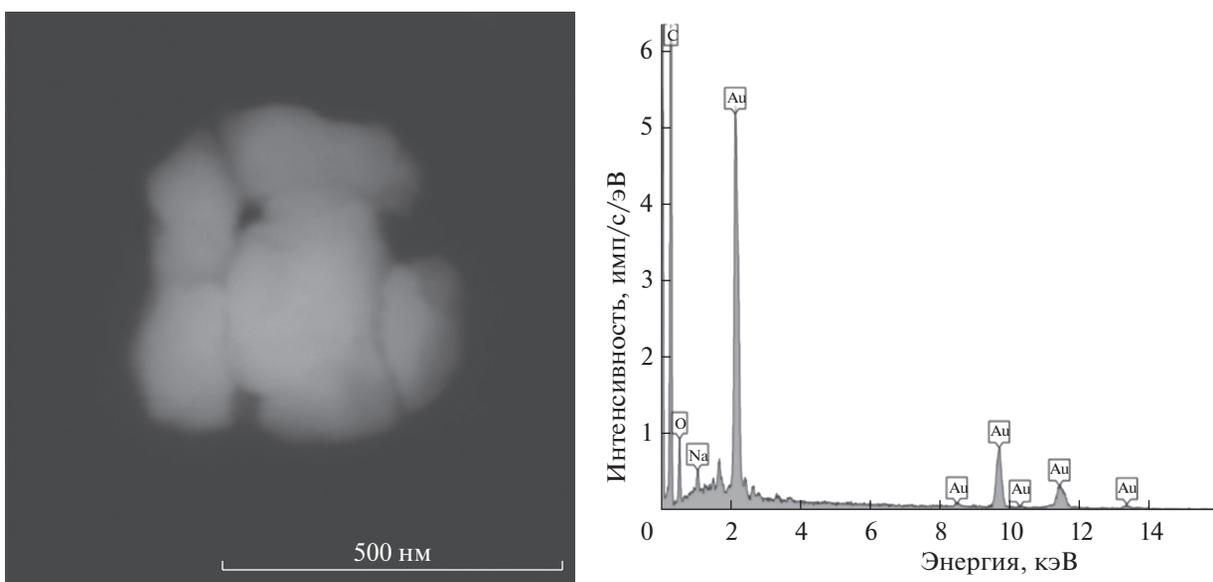


Рис. 4. Микрофотографии и ЭДС-спектр агломерата частиц золота в образе пыли № 45.

на территории храмов, подтверждает данное предположение.

*Исследование соответствует Госзаданию ГЕОХИ РАН. Отбор и элементный анализ образцов пыли методом МС-ИСП выполнен при поддержке гранта РФФИ № 21-33-70091.*

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Виноградов А.П.* Среднее содержание химических элементов в главных типах изверженных пород земной коры // Геохимия. 1962. № 7. С. 555.
2. *Taylor S.R.* Abundance of chemical elements in the continental crust: A new table // *Geochim. Cosmochim. Acta.* 1964. V. 28. № 8. P. 1273.
3. *Taylor S.R.* The Continental Crust: Its composition and Evolution. Oxford: Blackwell Sci. Publ., 1985. 330 p.
4. *Григорьев Н.А.* Распределение цинка в верхней части континентальной коры // Уральский геологический журнал. 2010. Т. 3. № 75. С. 85.
5. *Rudnick R.L., Gao S., Rudnick R.L., Gao S.* Composition of the continental crust // *Treatise Geochem.* 2003. V. 3. P. 659.
6. *Eisler R.* Gold concentrations in abiotic materials, plants, and animals: A synoptic review // *Environ. Monit. Assess.* 2004. V. 90. № 1–3. P. 73.
7. U.S. Geological Survey. Mineral commodity summaries 2021. Reston, Virginia: U.S. Geological Survey, 2021. 200 p.
8. *Messerschmidt J., Von Bohlen A., Alt F., Klockenkämper R.* Separation and enrichment of palladium and gold in biological and environmental samples, adapted to the determination by total reflection X-ray fluorescence // *Analyst.* 2000. V. 125. № 3. P. 397.
9. *Prichard H.M., Jackson M.T., Sampson J.* Dispersal and accumulation of Pt, Pd and Rh derived from a roundabout in Sheffield (UK): From stream to tidal estuary // *Sci. Total Environ.* 2008. V. 401. № 1–3. P. 90.
10. *Prichard H.M., Sampson J., Jackson M.* A further discussion of the factors controlling the distribution of Pt, Pd, Rh and Au in road dust, gullies, road sweeper and gully flusher sediment in the city of Sheffield, UK // *Sci. Total Environ.* 2009. V. 407. № 5. P. 1715.
11. *Dongarrà G., Sabatino G., Triscari M., Varrica D.* The effects of anthropogenic particulate emissions on roadway dust and Nerium oleander leaves in Messina (Sicily, Italy) // *J. Environ. Monit.* 2003. V. 5. № 5. P. 766.
12. *Qi L., Zhou M.F., Zhao Z., Hu J., Huang Y.* The characteristics of automobile catalyst-derived platinum group elements in road dusts and roadside soils: A case study in the Pearl River Delta region, South China // *Environ. Earth Sci.* 2011. V. 64. № 6. P. 1683.
13. *Prichard H.M., Wedin F., Sampson J., Jackson M.T., Fisher P.C.* Precious metals in urban waste // *Water Environ. J.* 2016. V. 30. № 1–2. P. 151.
14. *Birke M., Rauch U., Stummeyer J., Lorenz H., Keilert B.* A review of platinum group element (PGE) geochemistry and a study of the changes of PGE contents in the topsoil of Berlin, Germany, between 1992 and 2013 // *J. Geochem. Explor.* 2018. V. 187. № September 2017. P. 72.
15. *Poňavič M., Wittlingerová Z., Čoupek P., Buda J.* Soil geochemical mapping of the central part of Prague, Czech Republic // *J. Geochem. Explor.* 2018. V. 187. P. 118.
16. *Hooda P.S., Miller A., Edwards A.C.* The distribution of automobile catalysts-cast platinum, palladium and rhodium in soils adjacent to roads and their uptake by grass // *Sci. Total Environ.* 2007. V. 384. № 1–3. P. 384.
17. *Alsubaie A., Jaafar M., Al-Dabbous A.N., Alomairy S., Altowairqi Y., Daar E., Alkhorayef M., Alsulaiti L., Almuqren K.S., Ward N.I., Bradley D.A.* A comparison of elemental presence in UK and Kuwait road dust // *Radiat. Phys. Chem.* 2019. V. 155. P. 341.
18. *Dongarraá G., Varrica D., Sabatino G.* Occurrence of platinum, palladium and gold in pine needles of *Pinus pinea* L. from the city of Palermo (Italy) // *Appl. Geochem.* 2003. V. 18. № 1. P. 109.
19. *Mellor J.R., Palazov A.N., Grigorova B.S., Greyling J.F., Reddy K., Letsoalo M.P., Marsh J.H.* The application of supported gold catalysts to automotive pollution abatement // *Catal. Today.* 2002. V. 72. № 1–2. P. 145.
20. *Ehrlich A., Belsito D.V.* Allergic contact dermatitis to gold. // *Cutis.* 2000. V. 65. № 5. P. 323.
21. *Tous-Romero F., Andrés-Lencina J.J., Calleja-Algarra A., Ortiz-de Frutos F.J.* Allergic contact dermatitis to gold weight upper-eyelid implant // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2019. V. 33. № 5. P. e203.
22. *Tammara A., Tuchinda P., Persechino S., Gaspari A.* Contact allergic dermatitis to gold in a tattoo: A case report // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2011. V. 24. № 4. P. 1111.
23. *Pozjomkowska-Gęsicka I., Summer B., Sokołowska M., Thomas P., Kurek M.* Allergic contact dermatitis caused by hypersensitivity to gold – description of a clinical case // *Contact Dermatitis.* 2018. V. 78. № 5. P. 363.
24. *Watsky K.L.* Occupational allergic contact dermatitis to platinum, palladium, and gold // *Contact Dermatitis.* 2007. V. 57. № 6. P. 382.
25. *Giorgini S., Tognetti L., Zanieri F., Lotti T.* Occupational airborne allergic contact dermatitis caused by gold // *Dermatitis.* 2010. V. 21. № 5. P. 284.
26. *Reith F., Lengke M.F., Falconer D., Craw D., Southam G.* The geomicrobiology of gold // *ISME J.* 2007. V. 1. P. 567.
27. *Sanyal S.K., Shuster J., Reith F.* Cycling of biogenic elements drives biogeochemical gold cycling // *Earth-Science Rev.* 2019. V. 190. P. 131.
28. *Karthikeyan S., Beveridge T.J.* Pseudomonas aeruginosa biofilms react with and precipitate toxic soluble gold // *Environ. Microbiol.* 2002. V. 4. № 11. P. 667.
29. *Lengke M.F., Ravel B., Fleet M.E., Wanger G., Gordon R.A., Southam G.* Mechanisms of gold bioaccumulation by filamentous cyanobacteria from gold(III)-chloride complex // *Environ. Sci. Technol.* 2006. V. 40. № 20. P. 6304.
30. *Ta C., Brugger J., Pring A., Hocking R.K., Lenahan C.E., Reith F.* Effect of manganese oxide minerals and complexes on gold mobilization and speciation // *Chem. Geol.* 2015. V. 407–408. P. 10.

31. *Cohen D.R., Waite T.D.* Interaction of aqueous Au species with goethite, smectite and kaolinite // *Geochem. Explor. Environ. Anal.* 2004. V. 4. № 3. P. 279.
32. *Кубракова И.В., Гребнева-Балюк О.Н.* Определение элементов платиновой группы в геологических объектах методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой: возможности и ограничения // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. № 3. С. 195.
33. *Карандашев В.К., Хвостиков В.А., Носенко С.Ю., Бурмий Ж.П.* Использование высокообогащенных стабильных изотопов в массовом анализе образцов горных пород, грунтов, почв и донных отложений методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой // *Заводск. лаборатория. Диагностика материалов.* 2016. Т. 82. № 7. С. 6. (*Karandashov V.K., Khvostikov V.A., Nosenko S.V., Burmii Z.P.* Stable highly enriched isotopes in routine analysis of rocks, soils, grounds, and sediments by ICP-MS // *Inorg. Mater.* 2017. V. 53. № 14. P. 1432.)
34. *Chao T.T., Sanzolone R.F.* Decomposition techniques // *J. Geochem. Explor.* 1992. V. 44. № 1–3. P. 65.
35. ГОСТ 6835-2002 Золото и сплавы на его основе. Марки (с Изменением № 1) от 30 сентября 2002. Москва: Стандартиформ, 8 с.
36. ГОСТ 6902-2018 Золото и серебро сусальные. Технические условия от 05 октября 2018. Москва: Стандартиформ, 12 с.