Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего профессионального образования
«Кубанский государственный университет»

На правах рукописи

Анисимович Полина Владимировна

СОРБЦИОННО-СПЕКТРОСКОПИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНАЛИТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЖЕЛАТИНОВЫХ ПЛЕНОК, МОДИФИЦИРОВАННЫХ 3,4,5-ТРИГИДРОКСИФЛУОРОНАМИ

02.00.02 – Аналитическая химия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
Темердашев Зауаль Ахлоович,
доктор химических наук, профессор

Краснодар – 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ……5
ГЛАВА 1 АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР……10
1.1 Сорбенты в методах сорбционно-спектроскопического анализа…….10
1.2 Желатин как матрица для проведения твердофазного концентрирования и определения аналитов..……19
1.3. Влияние организованных сред на химико-аналитические свойства органических реагентов……..33
1.3.1 Влияние организованных сред на протолитические свойства органических реагентов……..33
1.3.2 Влияние организованных сред на комплексообразующие свойства органических реагентов……..…42
1.4 Пирогаллоловый красный и бромпирогаллоловый красный как представители 3,4,5-тригидроксифлуоронов, их свойства и применение….46
1.5 Выводы к аналитическому обзору и постановка задач исследования….59
ГЛАВА 2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ……..62
2.1 Материалы, реактивы, растворы и использованное оборудование……..62
2.2 Методическое обеспечение экспериментальных исследований……...65
2.2.1 Влияние различных факторов на процессы сорбции ПГК и БПГК в отвержденный желатиновый гель……..65
2.2.2 Изучение модифицирующего действия среды желатинового геля на оптические и протолитические свойства иммобилизованных реагентов…..68
2.2.3 Взаимодействия ПГК и БПГК с белком в растворах……70
2.2.4 Изучение реакции между белком в растворе и ПГК, иммобилизованным в желатиновую матрицу……..73
2.2.5 Установление состава и прочности комплексов ПГК и БПГК с Pb(II) и Cu(II)……...73
2.2.6 Оптимизация условий гетерофазных реакций Pb(II) и Cu(II) с ПГК и БПГК, иммобилизованными в отвержденный желатиновый гель……..74

2.2.7 Установление состава и устойчивости комплексов, образующихся в двухфазной системе «раствор/желатиновая пленка»……..….76

2.2.8 Исследование суммарного аналитического сигнала модифицированных желатиновых пленок на примере бинарной системы Pb(II)–Cu(II)……..……78

ГЛАВА 3 СОРБЦИЯ 3,4,5-ТРИГИДРОКСИФЛУОРОНОВ В ОТВЕРЖДЕННЫЙ ЖЕЛАТИНОВЫЙ ГЕЛЬ И ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЖЕЛАТИНОВОЙ СРЕДЫ НА ПРОТОЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РЕАГЕНТОВ……79

3.1 Исследование сорбции ПГК и БПГК в отвержденный желатиновый гель……79

3.2 Исследование влияния желатиновой матрицы на протолитические свойства реагентов……..87

ГЛАВА 4 ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ В ЖЕЛАТИНОВЫЙ ГЕЛЬ 3,4,5-ТРИГИДРОКСИФЛУОРОНОВ С ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ……96

4.1 Взаимодействие твердофазных реагентов на основе ПГК и БПГК с Pb(II) и Cu(II)……..96

4.2 Влияние среды желатинового геля на комплексообразующие свойства 3,4,5 – тригидроксифлуоронов……102

4.3 Оптимизация условий сорбционно-спектроскопического определения Pb(II)……115

4.4 Оптимизация условий визуального тест-определения свинца (II) и оценка метрологических характеристик методики……118

ГЛАВА 5 ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ В ЖЕЛАТИНОВЫЙ ГЕЛЬ 3,4,5-ТРИГИДРОКСИФЛУОРОНОВ С БЕЛКАМИ……..125

5.1 Взаимодействие ПГК и БПГК с белком в растворах……...126

5.2 Взаимодействие ПГК, иммобилизованного в отвержденный желатиновый гель, с белком……135

ГЛАВА 6 АНАЛИТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЖЕЛАТИНОВЫХ ПЛЕНОК……141

6.1 Сорбционно-спектроскопическое определение Pb(II)....……141

6.2 Визуальное тест-определение Pb(II)…….....144

6.3 Сорбционно-спектрофотометрическое определение белка……...147

ВЫВОДЫ……...151

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ……153

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ……154

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Сочетание концентрирования и определения аналитов с использованием органических реагентов, иммобилизованных в твердой фазе, позволяет улучшить метрологические характеристики методик сорбционно-спектроскопического и тест-определения аналитов. [241]. Особенно интересны оптически прозрачные сорбенты, позволяющие регистрировать спектры поглощения с помощью несложных аналитических приборов; прозрачные твердофазные реагенты в виде пленок пригодны для визуальной колориметрии и могут быть использованы как чувствительные элементы сенсорных устройств. [238, 245].

Одним из перспективных прозрачных полимерных материалов, используемых для этих целей, является отвержденный желатиновый гель, нанесенный на прозрачную полимерную основу [134]. Развитая поверхность и наличие функциональных групп кислотной и основной природы в структуре желатина способствуют иммобилизации аналитических реагентов, апрозрачность твердого носителя и механическая прочность готовых пленок [166] позволяют создавать на их основе чувствительные оптические сенсоры для тест-определения веществ и применять желатиновые пленки для разработки чувствительных методик сорбционно-спектроскопического определения аналитов [134–136, 138, 215, 219, 220, 227, 275].

К настоящему времени число органических аналитических реагентов, иммобилизуемых в отвержденный желатиновый гель для последующего определения аналитов, относительно невелико. Представляется перспективным создание оптически прозрачных пленочных материалов с иммобилизованными в отвержденный желатиновый гель 3,4,5-тригидроксифлуоронами – пирогаллоловым красным (ПГК) и бромпирогаллоловым красным (БПГК), обладающими кислотными свойствами по сульфо- и гидрокси-группам и используемыми для спектрофотометрического определения тяжелых металлов и

белков. Для разработки чувствительных элементов необходимы исследования влияния среды желатинового геля на химико-аналитические свойства реагентов, изучение сорбционной способности желатина по отношению к важнейшим аналитическим реагентам, особенностей аналитических реакций, протекающих в желатиновой среде, и оценка возможности применения полученных модифицированных пленок в сорбционно-спектроскопическом и визуально-тестовом анализе.

Работа выполнена в рамках Госзадания Минобрнауки РФ в рамках базовой части государственного задания (проект 359) и гранта РФФИ № 13-03-96505-р_юг_а с использованием научного оборудования ЦКП «Эколого-аналитический центр».

Цель работы – создание на основе отвержденного желатинового геля, модифицированного 3,4,5-тригидроксифлуоронами, оптически прозрачных чувствительных элементов и исследование возможности их применения для сорбционно-спектроскопического и тест-определения аналитов.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

– изучение сорбционной способности желатина по отношению к 3,4,5-тригидроксифлуоронам, получение и исследование свойств желатиновых пленок, модифицированных 3,4,5-тригидроксифлуоронами;

– исследование модифицирующего действия желатиновой среды на оптические, кислотно-основные и комплексообразующие свойства иммобилизованных реагентов;

– изучение взаимодействия модифицированных желатиновых пленок с белками и тяжелыми металлами на примере Pb(II) и Cu(II);

– получение оптически прозрачных чувствительных элементов на основе модифицированного 3,4,5-тригидроксифлуоронами желатинового геля для сорбционно-спектроскопического и визуального тест-определения аналитов и оптимизация условий проведения индикаторных реакций;

– разработка методик определения Pb(II) и белков в реальных объектах.

Научная новизна. Получены и исследованы оригинальные прозрачные индикаторные пленки на основе отвержденного желатинового геля, модифицированного ПГК и БПГК, для создания чувствительных элементов для определения аналитов различной природы.

Изучено влияние среды желатинового геля на химико-аналитические свойства 3,4,5-тригидроксифлуоронов – ПГК и БПГК, оценены константы диссоциации реагентов, иммобилизованных в желатиновый гель, установлен состав комплексов и константы равновесия процессов комплексообразования с участием твердофазных реагентов на примере Pb (II) и Cu (II). Получен оптически прозрачный чувствительный элемент для сорбционно-спектроскопического и тест-определения свинца.

На основании исследований взаимодействия иммобилизованного в желатиновую пленку ПГК с белком разработан оптически прозрачный чувствительный элемент для сорбционно-спектроскопического определения белка в биологических жидкостях.

Практическая значимость. На основе иммобилизованных в желатиновую пленку ПГК и БПГК получены прозрачные, механически прочные, простые в изготовлении, стабильные при длительном хранении чувствительные элементы для определения Pb (II) и белков. Индикаторные желатиновые пленки позволяют снизить трудоемкость, способствуют повышению экспрессности анализа, позволяют проводить испытания вне лаборатории и могут многократно использоваться для получения градуировочных зависимостей и построения цветовых шкал сравнения.

Разработана и апробирована методика сорбционно-спектроскопического определения общего белка в биологических жидкостях с использованием чувствительного элемента на основе ПГК, иммобилизованного в отвержденный желатиновый гель.

Разработан способ определения свинца (II) в водных средах с бромпирогаллоловым красным, иммобилизованным в желатиновую пленку, способ защищен патентом РФ.

Отдельные результаты диссертационной работы внедрены в образовательный процесс в КубГУ.

Автор выносит на защиту:

– результаты исследования сорбции ПГК и БПГК в отвержденный желатиновый гель, сорбционные характеристики желатина по отношению к ПГК и БПГК;

– результаты исследований по синтезу и изучению свойств твердофазных реагентов на основе желатиновых пленок, модифицированных 3,4,5-тригидроксифлуоронами (сорбционная способность и морфология их поверхностей);

– оптические и протолитические свойства ПГК и БПГК, иммобилизованных в желатиновую матрицу, а также данные по их комплексообразующим свойствам по отношению к тяжелым металлам на примере Pb (II) к Cu (II);

– методики сорбционно-спектроскопического и визуального тест-определения свинца (II) в водных средах, их метрологические характеристики;

– результаты изучения взаимодействия иммобилизованного в желатиновую матрицу ПГК с белком;

– методику сорбционно-спектроскопического определения белка в биологических жидкостях с использованием прозрачного чувствительного элемента на основе ПГК, иммобилизованного в желатиновую матрицу.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на VIII Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды “Экоаналитика-2011» (2011 г., Архангельск); III Всероссийском симпозиуме «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием (2011 г., Краснодар); Всероссийской конференции по аналитической спектроскопии с международным участием (2012 г., Краснодар); Школе молодых ученых по аналитической химии (2012 г., Краснодар); II съезде аналитиков России (2013 г., Москва); IV Всероссийском симпозиуме «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием (2014 г., Краснодар).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 7 статей, 11 тезисов докладов, получен 1 патент на изобретение.

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 186 страницах машинописного текста, содержит 20 таблиц и 60 рисунков, состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, 4 глав обсуждения результатов, общих выводов и списка цитируемой литературы из 419 наименований.

Личный вклад автора состоял в постановке и выполнении экспериментальных исследований, интерпретации данных, написании статей, подготовке докладов и выступлениях на конференциях, практической апробации полученных результатов.

ГЛАВА 1 АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

1.1 Сорбенты в методах сорбционно-спектроскопического анализа

Твердофазные реагенты, полученные на основе иммобилизованных в твердой фазе хромогенных органических красителей, позволяют сочетать в одной операции концентрирование и прямое определение аналитов [235, 239, 241]. Чувствительность и селективность сорбционно-спектроскопического метода при этом зависят от способа закрепления реагента на носителе, условий сорбции и анализа, состава образующихся соединений, их поведения в растворе и твердой фазе, кинетики всех процессов с участием твердой фазы, а также ряда других факторов [4, 11, 12, 42, 68, 77, 95, 156, 162, 180, 193, 210, 211, 258, 259, 278, 324, 380, 411, 414].

Сорбционно-спектроскопические методы определения аналитов в зависимости от используемого способа измерения аналитического сигнала разделяют на спектроскопию диффузного отражения, твердофазную спектрофотометрию, твердофазную люминесценцию и цветометрию [26, 44–46, 71, 79, 80, 86, 95, 96, 100–102, 104, 129, 130, 141, 156, 170, 171, 229, 237, 238, 241, 245, 246, 250, 267, 273, 272, 278, 282, 287, 315, 329, 342, 393, 411]. Наряду с сорбционно-спектроскопическими методами твердофазные аналитические формы нашли широкое применение в тест-методах с визуальным детектированием [1, 3–12, 72, 73, 78, 86–89, 93, 97, 107, 128, 145, 169, 172, 190, 192, 214, 218, 219, 267, 348, 381], а также в качестве распознающих элементов для оптических сенсоров [32, 43, 115, 122, 128, 137, 138, 157, 202, 220, 227, 231, 232, 238, 248, 256, 288–291, 294, 296, 304–306, 314, 327, 337, 338, 347, 360, 369, 376, 378, 383, 387, 398–400, 402, 416, 419]. По сравнению с фотометрией в растворах, эти методы за счет концентрирования реагентов в тонком слое сорбента характеризуются большей чувствительностью и избирательностью.

Для получения твердофазных реагентов в качестве сорбентов используют различные материалы: целлюлозу, пенополиуретаны, кремнезем, ионообменники, поливинилхлоридные мембраны, ткани, силикагели, триацетилцеллюлозу, полистирол, полиметилметакрелат, отвержденный желатиновый гель и др.[3-12, 26, 42–46, 68, 71–73, 76–80, 93, 95–98, 107, 124, 125, 128–138, 143–147, 153, 155, 168–173, 180, 193, 215–227, 233, 238, 241, 242, 258, 282 –285, 289, 305, 309, 320–322, 327, 342, 343, 355, 356, 376, 380, 381, 395, 411, 416]. Сорбционные характеристики этих материалов в первую очередь определяются их химической природой, а также в определенной степени зависят от физических и химических свойств аналита и условий проведения сорбции.

Существуют практически неограниченные возможности направленного изменения химико-аналитических свойств сорбентов посредством модификации их различными реагентами [235]. Для закрепления аналитического реагента на матрице используют ряд приемов. Один из них, синтетический, представляет собой так называемую ковалентную прививку модифицирующего реагента [12, 77, 137, 189, 193, 258, 272, 284]. Основным преимуществом модифицированных сорбентов, созданных таким образом, является их химическая и механическая устойчивость [146, 147, 238, 247, 258, 259, 284, 303, 342, 411]. К недостаткам подобных систем следует отнести сложность и трудоемкость процессов модификации и регенерации. Наиболее удобный способ заключается в иммобилизации (или закреплении) на поверхности носителя модификатора посредством адсорбции, электростатического взаимодействия, образования водородных связей или других видов взаимодействия [4, 77, 134, 138, 172, 194, 284]. Способ является менее трудоемким, однако получаемые сорбенты малопригодны для работы в динамических условиях, отличаются низкой стабильностью и, соответственно, не обеспечивают достаточной воспроизводимости аналитических результатов [4, 78, 95, 238, 285].

Из всех материалов, используемых в сорбционно-спектроскопических и тест-методах анализа, для создания твердофазных реагентов чаще всего

используют целлюлозу и комбинированные с ней материалы [3, 4, 6, 12, 48, 97, 125, 156, 189–198, 235, 258, 258, 272].

Наличие в целлюлозе активных групп глюкопиранозидных колец в сочетании с пористостью структуры обуславливает широкие возможности как сорбции на целлюлозе различных органических аналитических реагентов, так и химической ее модификации с получением твердофазной матрицы с разнообразными функционально-аналитическими группами [189]. В ряде обзорных публикаций и монографий отмечены преимущества и недостатки, а также особенности использования целлюлозы в качестве сорбента для сорбционно-спектроскопического анализа [7, 11, 86, 97, 156, 189]. Однако наибольшую популярность в качестве твердого носителя целлюлоза получила в тест-методах анализа при разработке реактивных индикаторных бумаг для экспресс-контроля различных объектов [3, 4, 12, 48, 95–98, 189–196].

Значительный интерес представляют также пенополиуретаны [76–79, 241], особенностью которых является неограниченная возможность направленного изменения химико-аналитических свойств посредством модификации их поверхности различными аналитическими реагентами. На основании предложенной классификации сорбционных систем с участием пенополиуретанов [77] их обычно рассматривают как многофункциональные сорбенты, на которых могут реализоваться взаимодействия сорбент-сорбат различного типа. Это открывает возможности разработки эффективных и простых методов разделения и концентрирования многих химических соединений. Достоинствами пенополиуретанов является наличие мембранной структуры, которая обеспечивает хорошие гидродинамические характеристики сорбентов и позволяет концентрировать микроэлементы и органические соединения из больших объемов проб, а также относительно низкая стоимость и доступность материала [76, 77].

Сорбционное концентрирование и разделение элементов и органических соединений на пенополиуретанах можно проводить в статическом и динамическом режимах [77, 97]. Методы сорбционно-спектроскопического определения аналита с использованием в качестве сорбента пенополиуретана

включают как минимум три стадии: концентрирование определяемого компонента на сорбенте, проведение химической реакции с участием аналитического реагента, сопровождающееся изменением спектральных характеристик, и регистрацию этого изменения [77]. При использовании пенополиуретана в качестве твердой фазы возможен выбор способа не только получения окрашенного соединения в фазе сорбента, но и способа регистрации аналитического сигнала. Ввиду высокой эффективности сорбционного концентрирования различных соединений наблюдается достаточно интенсивная окраска полученного сорбента, что также способствует применению ППУ в тест-методах анализа и успешному решению различных задач экспресс-анализа [77–79, 214, 227].

Для концентрирования и разделения элементов в сорбционно-спектроскопических методах в качестве сорбентов давно применяются ионообменные материалы [72, 131, 153, 238, 239, 241, 393]. Обзор работ по селективности адсорбции ионов металлов на данных материалах представлен в монографии [153]. Комплексообразующие сорбенты на их основе получают синтетически путем введения в молекулу полимера химически связанных функциональных групп или сорбционного модифицирования органическими реагентами ионообменных и неионных смол по механизму адсорбции или ионного обмена [238]. Сорбенты с привитыми хелатообразующими группами нашли широкое применение для концентрирования и разделения элементов с целью их последующего определение непосредственно в фазе сорбента спектральными методами, однако они имеют ряд недостатков, связанных со сложностью их синтеза, невысокой обратимостью и длительностью процесса сорбции-десорбции. В обзоре [241] приведены различные характеристики ионообменных материалов, полученных сорбцией органических реагентов простыми ионообменниками, а также указаны факторы, влияющие на аналитические характеристики полученных твердофазных реагентов.

В случае использования ионообменных материалов отмечены различные возможные варианты концентрирования определяемых ионов: сорбция иона

непосредственно из анализируемого раствора с последующим проявлением органическим реагентом; сорбция иона на носителе с иммобилизованным реагентом; концентрирование образованного в растворе комплексного соединения определяемого иона с реагентом; сорбция на анионите катионов металлов в виде анионных бесцветных или слабоокрашенных комплексов с последующим их проявлением наиболее контрастным цветным реагентом [241]. Во всех случаях продукты реакции детектируются непосредственно на твердой фазе. Достоинствами окрашенных твердофазных сорбентов с иммобилизованным реагентом являются полная готовность чувствительного элемента к анализу, простая конструкция, отсутствие необходимости приготовления растворов реагентов; к недостаткам можно отнести ограниченные сроки и определенные условия хранения, а также не всегда возможная регенерация [238]. Неокрашенный носитель позволяет разработать новый подход к проведению реакций для определения катионов на твердой фазе, заключающийся в сорбции катионов металлов на анионите в виде анионных бесцветных или слабоокрашенных комплексов с последующим их детектированием с помощью контрастной цветной реакции [237–243]. Преимущества наполненных ионообменниками волокнистых материалов, как основы сенсорных элементов, состоят в возможности варьировать степень их наполнения в процессе приготовления, а также природу ионообменника и реагента в зависимости от конкретных требований к анализу по чувствительности и избирательности [235, 238, 309]. На начальном этапе при разработке химических оптических сенсоров с использованием в качестве матрицы волокнистого материала, наполненного ионообменниками, предпринимались попытки создания легко регенерируемых систем с иммобилизованным реагентом [71, 72, 98, 130, 131]. Оказалось, что органический реагент, иммобилизованный на носителе, не всегда способен к аналитической реакции или при иммобилизации меняет свою окраску, а регенерация оптического сенсора с иммобилизованным реагентом представляет собой весьма сложную задачу. Органический реагент при неоднократной регенерации разрушается или смывается с носителя регенерирующим раствором. Тем не менее, эти особенности

не помешали созданию разнообразных чувствительных элементов на основе ионообменников [238, 239, 282, 283].

Более перспективной твердофазной матрицей для сорбции комплексов по сравнению с ионообменниками является силикагель [73, 97, 128, 241, 320, 348, 349], который обладает рядом преимуществ, в частности, развитой поверхностью, устойчивостью к действию органических растворителей, жестким каркасом, ненабухаемостью и т.д. Можно отметить большое количество публикаций, в которых отмечается перспективность использования в качестве сорбентов силикагелей и ксерогелей в спектроскопии диффузного отражения, цветометрии и сорбционно-люминесцентных методов анализа [26, 73, 80, 95–98, 128, 172, 172, 246, 303, 320, 324, 349, 350]. В настоящее время интенсивно развиваются методы анализа на модифицированных силикагелях [26, 172, 173, 235, 246, 303, 320, 322, 350, 356, 356, 371, 411].

Отдельно можно выделить в качестве сорбционных материалов кремнеземы с химически привитыми молекулами органических соединений (ХМК), которые широко применяют в аналитической химии, биохимии [93, 95, 107, 141, 146, 147, 171, 233, 239, 260, 268]. Наиболее подробно изучены и широко используются на практике кремнеземы с привитыми алкильными группами, их используют для анализа биологически важных высокомолекулярных соединений. Кремнеземы с привитыми арильными группами применяют реже, хотя они часто обладают более высокой селективностью, чем кремнеземы с алкильными группами [168, 171]. Для извлечения металлов из растворов используют преимущественно ХМК с комплексообразующими группами [95, 141, 146, 147, 171, 235, 268]. Исследования последних лет [268, 340, 350] показали, что химико-аналитические свойства иммобилизованных реагентов, в особенности их комплексообразующая способность, зачастую заметно отличаются от их свойств в растворе.

Наибольшая общая проблема, возникающая при использовании всех упомянутых сорбционных материалов, связана с их неоднородностью и непрозрачностью, что мешает инструментально фиксировать оптическую плотность твердофазного реагента и ухудшает метрологические характеристики

методик. В связи с этим особый интерес представляют оптически прозрачные полимерные материалы, например, триацетилцеллюлоза, полистирол, полиметакрилат [42–46, 68, 132, 137, 188, 201, 203, 204, 238, 245, 248, 250, 284, 289, 305, 327, 342, 376, 381]. Прозрачность и отсутствие собственной окраски носителя облегчает визуальную оценку изменения окраски сорбента, а также обеспечивает возможность спектрофотометрического измерения оптического сигнала, формирующегося в результате взаимодействия аналита с иммобилизованным в полимер реагентом.

Триацетилцеллюлозные пленки являются основным веществом при изготовлении подложки фото- и киноплёнок. Они имеют однородную микропористую структуру, напоминающую микроскопическую губку, со средним диаметром пор, равным нескольким микронам [238, 289, 305, 327, 342, 343, 376, 381]. Однако, несмотря на несомненный практический интерес к этому материалу, системы на основе триацетилцеллюлозы пока еще не достаточно разработаны, вероятно, из-за трудностей иммобилизации реагентов синтетического характера [238, 376, 381]. Некоторых трудностей при изготовлении прозрачных оптических сенсоров с прогнозируемыми свойствами можно избежать, воспользовавшись для оценки их свойств методом искусственных нейронных сетей [238]. Наибольшее химическое наполнение этого математического приема дает анализ матриц весовых коэффициентов, но подобные оптические прозрачные матрицы не нашли широкого применения в связи с трудностями выполнения процедуры иммобилизации органических реагентов [238].

Можно сформулировать ряд важнейших требований к оптически прозрачным сорбентам: способность к иммобилизации органического реагента, прозрачность и изотропность оптических свойств в видимой области спектра, возможность варьирования гидрофильно-гидрофобного баланса поверхности материала сорбента и др.

Определенный интерес с этой точки зрения могут представлять полимерные пленки на основе полистирола [132, 137, 238, 284].Сорбционные материалы на основе полистирола - продукта полимеризации стирола - относятся к полимерам

класса термопластов [252]. Возможность изготовления пленок прессованием из гранулированного полимера позволяет получать удовлетворительную во всех отношениях, прежде всего без потери оптической прозрачности, основу [238]. Основное достоинство оптически прозрачного полистирола, используемого для изготовления чувствительных элементов оптических сенсоров, связано с особенностями химического строения этого полимерного материала, прежде всего, наличием ароматических ядер и, следовательно, возможностью введения в них заместителей [238].

Иммобилизация реагентов на поверхности полистирола может быть осуществлена, например, за счет образования азогрупп, что подтверждено публикациями по синтезу полимерных хелатообразующих сорбентов [137]. Предложена химическая схема иммобилизации реагента, основанная на нитровании полистирола, восстановлении нитрогрупп до аминогрупп, их диазотировании и последующем азосочетании с подходящими органическими реагентами-моноазосоединениями. В технологическом отношении необходимо осуществлять эти процедуры таким образом, чтобы поверхностная концентрация иммобилизованного реагента, определяемая количеством введенных нитро- и аминогрупп, была наибольшей, а оптическая прозрачность чувствительных элементов с иммобилизованным реагентом оставалась высокой. Основной стадией контроля параметров чувствительных элементов такого рода является процедура нитрования [137, 284].

Оптические свойства иммобилизованных реагентов и образуемых ими комплексов с ионами определяемых металлов практически идентичны свойствам соединений, образующихся в растворах [132, 137]. Учитывая совпадение спектров поглощения и молярных коэффициентов поглощения свободных и иммобилизованных реагентов, можно сделать вывод об их гидратации при контакте с растворами. Однако химизм взаимодействия в двухфазной системе «определяемое вещество в растворе - аналитический реагент», закрепленный на поверхности твердого носителя, в рассматриваемом случае изучен в недостаточной степени [137].

Достаточно перспективными и, прежде всего, наиболее доступными для иммобилизации реагентов являются прозрачные полимерные полиметакрелатные матрицы [42–46, 188, 201, 203, 204, 214, 245, 250, 306]. Полиметакрилат выпускается в форме гомополимера или сополимеров метилметакрилата с акрилонитрилом, бутадиеном или стиролом в виде твердого оптически прозрачного сорбента [95, 252]. Листовой полиметакрилат получают блочной полимеризацией. Публикации о применимости данной среды для иммобилизации реагентов и последующего определения аналитов показывают, что иммобилизованные реагенты в полиметакрелат не теряют способность вступать в аналитические реакции с определяемыми элементами, сопровождающиеся оптическими эффектами [43, 214, 245, 306]. С использованием полиметакрелатной матрицы как среды для иммобилизации реагентов разработаны методики твердофазной экстракции и спектрофотометрического определения меди, железа, серебра [44–46, 201]; разработан оптический сенсор для определения аскорбиновой кислоты [43, 250], а также показана возможность использования термолинзовой спектрометрии для полученных чувствительных элементов [245]. Кроме того, полимерная матрица с иммобилизованным реагентом может использоваться в качестве готовой аналитической формы для визуально-тестового определения и в качестве распознающего элемента для оптических сенсоров [42, 43, 214].

Перечисленные твердые сорбенты, хотя и позволяют сконцентрировать определяемый аналит и провести экспрессный анализ, обладают и рядом существенных недостатков, которые, главным образом, связаны с определенными трудностями выполнения процедуры иммобилизации реагентов на прозрачной полимерной подложке.

1.2 Желатин как матрица для проведения твердофазного концентрирования и определения аналитов

При проведении аналитических реакций комплексообразования между органическими реагентами, иммобилизованными в твердофазные среды, с аналитами в растворах особый интерес в качестве оригинальной среды представляет отвержденный желатиновый гель, нанесенный на подложку, изготовленную из прозрачного полимера [124, 134–136, 143, 144, 162–166, 214–227, 238, 284, 348, 366]. В этом случае матрицей для иммобилизации реагентов может быть собственно желатин. Известно, что по своей химической природе желатин представляет собой полидисперсную смесь полипептидов, молекулярная масса которых составляет 40000-100000 [75, 164, 331, 354]. Макромолекулы желатина содержат около 500-600 аминокислотных остатков и имеют локально упорядоченную структуру [75, 149].

Усредненный аминокислотный состав этого природного полимера сохраняется при его получении из коллагена, независимо от процесса трансформации [149]. Однако используемые методы перевода коллагена в желатин определяют его химический состав и физико-механические свойства [99, 199]. Все методы приводят к тому, что необратимо разрушается трехспиральная молекула коллагена с образованием трех одиночных полипептидных цепей макромолекул [149, 159, 162] (рисунок 1). Сохранение незначительного числа ковалентных связей между двумя полученными макромолекулами приводит к образованию двух фракций желатина, одна из которых мономерная с α–компонентой, а другая димерная с β–компонентой. Если эти связи остаются между всеми тремя макромолекулами, то сохраняется трехмолекулярная фракция, называемая тримерной γ–компонентой [123].

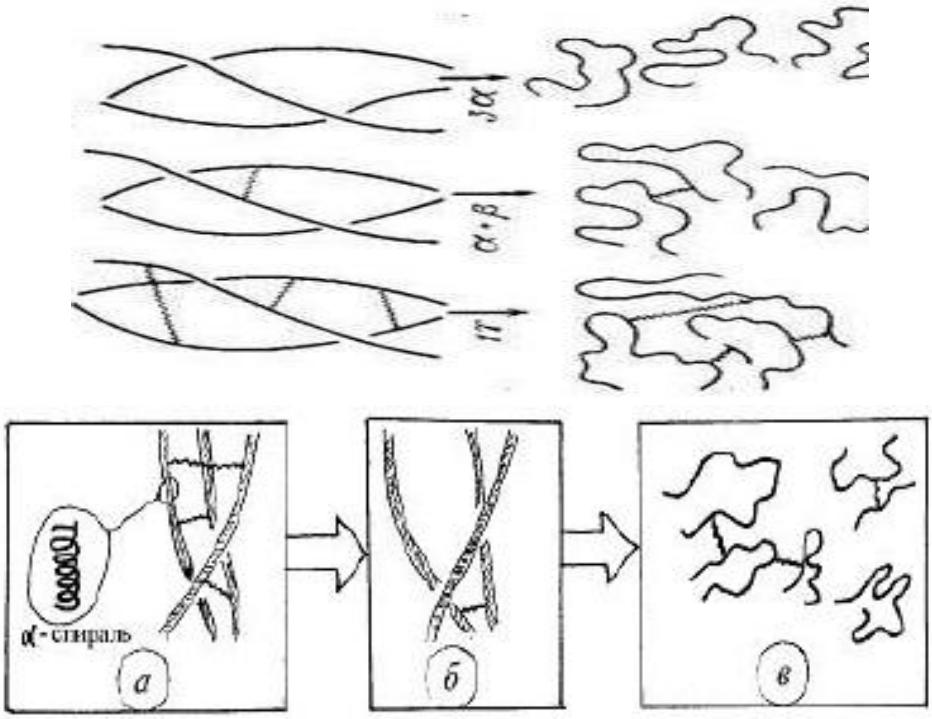


Рисунок 1 – Схема превращения коллагена в желатин при денатурации:
а) трехспиральная молекула коллагена; б) разрыв нековалентных связей в молекуле коллагена; в) полипептидная спираль превращается в отдельные клубки (тримеры, димеры и одиночные цепи желатина) [149]

Присутствие всех трех сильно различающихся по молекулярной массе фракций желатина свидетельствует о полимолекулярности и неоднородности его свойств [149]. Температура комформации оказывает влияние на количественное содержание этих фрагментов, с ее увеличением возрастает доля мономерных α-цепей, что приводит к получению желатина высшего качества с более однородными свойствами [159, 331, 354]. Разнообразие видов желатина обусловлено, прежде всего, отличающимся ассортиментом содержащихся в макромолекулах пептидных группировок и порядком их следования друг за другом. Пептидный фрагмент характеризуется сопряжением π-электронов атомов азота, кислорода и углерода, результатом которого является наличие плоской структуры всей группировки [164].

Сведения об аминокислотном составе желатина представлены в целом ряде работ [25, 75, 159, 164], в которых отмечается, что для обеих разновидностей

желатина (кислотный или щелочной) преобладающая часть аминокислотных звеньев является «остатком» простейшей из аминокислот – глицина; вторым по распространенности оказывается «остаток» пролина, третьим с немного меньшим содержанием – гидроксипролина [164].Однако во всех публикациях по этому поводу отмечается практически полное отсутствие в желатине аминокислотных фрагментов, которые содержат серу (цистина и цистеина)[75, 162].

В настоящее время установлено, что макромолекулы любой разновидности желатина независимо от природы слагающих их аминокислотных остатков составлены преимущественно из трёх полипептидных цепей α-типа с почти одинаковой молекулярной массой, из которых две обычно одинаковы по набору и последовательности расположения аминокислотных фрагментов (α1-цепи), а третья, α2-цепь отличается от них. Изредка встречаются и такие молекулы желатина, в которых все три цепи одинаковы – (α1)- структура. Цепи α2 характеризуются теми же общими свойствами, что и цепи α1, однако в α2-цепях преобладают группы тирозина, валина, гистидина, лейцина и гидроксилизина. Любопытно, что в отличие от других белков, в молекулах которых расположение пептидных фрагментов по длине молекулы имеет хоть и не произвольный, но и не регулярный характер, для желатина характерна на удивление строгая регулярность расположения аминокислотных остатков. В макромолекуле желатина глицин (Gly), начиная с 17-го по счету аминокислотного остатка, неизменно занимает каждое третье место, за ним чаще всего следует пролин (Pro) и гидроксипролин (Hyp), так что состав полипептидных звеньев α1-цепи с хорошим приближением может быть записан как $(Gly - Pro – Hyp)_n$. Однако это относится лишь к α1-цепи, последовательность остатков α2-цепи до сих пор нельзя считать полностью установленной [149, 159, 164]. Аминокислоты, образующие цепи макромолекул желатина, условно разделяют на две группы, соотношение между которыми определяет гидрофильно-гидрофобный баланс макромолекул белка [66, 75, 264, 280], в которых, как правило, ионогенные высокополярные боковые группы находятся на поверхности спиралей, а

малополярные углеводородные радикалы располагаются во внутренней сфере структур[264, 280].

В состав макромолекул желатина входят как «кислотные» (-COOH), так и основные (-NH_2) группы, так что в соответствии с протолитической теорией Брэнстеда – Лоури желатин является типичным амфолитом, изоэлектрическая точка которого определяется видом используемого желатина: для щелочного она находится в интервале pH 4.8−5.1, кислотного - в диапазоне pH 7.0–9.5 [85, 159, 164]. При этой кислотности все основные группы желатина несут положительный заряд, а большинство карбоксильных групп диссоциированы и несут столько же отрицательных зарядов. Между макромолекулами желатина наблюдается сильное межмолекулярное взаимодействие, которое характеризуется тремя основными видами связей: водородными дисперсионными, между малополярными и неполярными группами и диполь – дипольным взаимодействием [99, 133, 344]. Все перечисленные виды взаимодействия имеют электростатический характер. Если межмолекулярное взаимодействие двух соседних молекул белка сильнее, чем взаимодействие между отдельными участками внутри одной структурной единицы, то образуются линейные фибриллярные структуры [109]. Фибриллярные структуры доминируют в тонких желатиновых пленках и придают им высокую прочность и эластичность [123]. Высокая эластичность желатиновых пленок обусловлена образованием длинных цепных макромолекул, соединенными между собой ограниченным числом поперечных связей [207]. Такая структура препятствует формированию в полимерном слое жестких кристаллических блоков и способствует приему и фиксации молекул иммобилизуемого вещества в массив полимера ячеистой структуры [25, 164, 284, 297]. Таким образом, полимер фактически содержит объёмную сетку зарядов, в которой существует и некоторое количество свободных ионов, связанных с этой сеткой [164]. В этой связи желатин обладает весьма значительной поверхностью и развитой системой микропор, благодаря которым при его контакте с водным раствором реагента обеспечивается проникновение в массив полимера как растворителя, так и растворенного в нем химического реагента [134, 164].

Размеры подобных ячеек дают возможность для внедрения в полимер довольно больших по размеру молекул иммобилизуемого вещества [134].

Имея в распоряжении полимерный массив с подобной структурой, можно получать матричные системы, характеризующиеся достаточно однородным распределением иммобилизованного вещества и хорошей стерической доступностью к молекулам, что создает благоприятные условия для протекания различных химических процессов с участием иммобилизованного реагента [164].

Внедрение воды в межмолекулярное пространство белка и адсорбция ее на анионных и катионных группах желатина, расположенных на участках со специфической спиральной структурой, приводит к образованию гидратной оболочки вокруг них и способствует его набуханию [49, 75, 91, 99, 134, 164, 224]. Самопроизвольное поглощение воды по адсорбционному механизму приводит к уменьшению межмолекулярного взаимодействия в желатине и стабилизации его спиралевидных конформаций за счет межмолекулярных водородных связей с участием адсорбционной воды [332]. Гидратная оболочка макромолекулы имеет локально упорядоченную или квазикристаллическую структуру, часто называемую кластратной. В работе [134] представлены определенные гравиметрическим методом численные значения соответствующих «чисел гидратации». Полученные результаты свидетельствуют о высокой «оводненности» геля, что, как указывают авторы, по-видимому, должно приблизить условия осуществления реакций к условиям для водных растворов [134]. Как уже отмечалось, наличие заряженных групп в макромолекулах желатина способствует электростатической иммобилизации реагентов. Вследствие этого создается большая концентрация реагентов в полимерном слое по сравнению с их концентрацией в растворе [134, 220, 224]. Следует также отметить, что успех иммобилизации зависит от внутренних осмотических эффектов, связанных с зарядами полимера и противоионов, эффект максимального набухания оказывается тем значительней, чем выше заряд на макромолекулах желатина [164, 265]. Наиболее благоприятными для обеспечения эффективного проникновения молекул реагентов в массив полимера оказываются

как низкие, так и высокие значения pH. Степень набухания желатинового геля сильно зависит от pH раствора, для кислотного желатина она минимальна в широком диапазоне pH от 5.0–11.0, а для щелочного желатина наблюдается вблизи изоэлектрической точки [164, 209](рисунок 2)

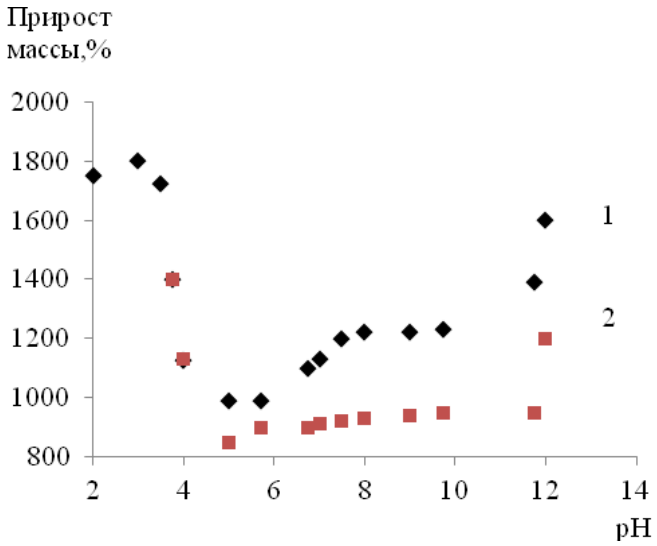


Рисунок 2 – Кривые набухания «щелочного» (1) и «кислотного» (2) желатина в зависимости от pH [209]

При pH<3.0 иммобилизация проходит по остаткам лизина и аргинина, когда все имеющиеся аминогруппы макромолекулы протонированы и имеют положительный заряд, а карбоксильные группы не ионизированы. При этом электростатическая иммобилизация анионных реагентов оказывается возможной вплоть до pH ≈ 8 [134]. В более кислых средах частичное протонирование амидного азота или гидроксильных групп серина и треонина, фенольных групп тирозина, должно приводить к возрастанию степени извлечения анионных форм реагентов. Однако в публикациях по этому вопросу в ряде случаев отмечается обратный эффект, связанный, возможно, с протонированием кислотных групп реагентов при pH<2.0, что приводит к вытеснению иммобилизованного вещества из фазы геля обратно в раствор [134, 164].

На процесс набухания и, как следствие, на сорбцию реагентов значительное специфическое влияние оказывает присутствие в составе раствора некоторых

катионов, анионов и ряда органических веществ. Изучено действие широкого круга химических соединений на процессы набухания желатина, однако строгих закономерностей влияния этих веществ на процессы набухания выявлено не было. Составлен лиотропный ряд, который качественно характеризует степень подобного влияния [163, 164, 266]. Отмечено, что концентрация в растворе компонента, контактирующего с желатиновой пленкой, может оказывать влияние на степень набухания желатина и изменять положение одного и того же соединения в данном лиотропном ряду. Этот эффект связан с дестабилизацией фрагментов макромолекулярной цепи и изменением ее комформации, а также заряда желатиновой сетки [164].

Таким образом, специфические свойства отвержденного желатинового геля, нанесенного на триацетилцеллюлозную пленку, предполагают перспективность использования этого носителя в химическом анализе.

Создание подходящих условий для проведения различных аналитических реакций с участием иммобилизованного реагента способствовали развитию интересного направления в координационной химии: низкотемпературного темплатного синтеза в металлгексацианоферрат(II)ных желатин-иммобилизованных матричных системах (МГФ-ЖИМ) [164, 166]. Михайловым О.В. подробно исследованы процессы комплексообразования в так называемых металлсодержащих иммобилизованных системах, отличительной особенностью которых является достаточно жесткая фиксация исходных веществ и продуктов реакции в полимерном массиве. Автор отмечает два варианта возможной иммобилизации [166]. В первом случае участвуют функциональные группы полимера. Матричные системы, полученные этим способом, хорошо изучены и широко применимы в металлокомплексном катализе [209]. Во втором случае взаимодействие желатина с иммобилизуемым компонентом происходит за счет межмолекулярных сил, при этом фиксация вещества предусматривает его закрепление в массиве полимера вследствие дисперсионного, ориентационного, индукционного взаимодействий наряду с формированием химических связей [165, 166].

Все эти системы, равно как и комплексообразование в них, к настоящему времени весьма хорошо изучены, им посвящен целый ряд монографий и обзорных статей [162-166, 209]. Однако возможен и третий случай, когда закрепление достигается благодаря действию лишь физических сил и не сопровождается образованием химических связей металла с полимером. Такой вариант можно реализовать посредством как сугубо физико-механических (напылением, адсорбцией, импрегнированием), так и физико-химических (осаждением вещества в полимере) операций [164, 165].

Михайловым О.В. на базе гомоядерных гексацианоферратов(II) d- и f-элементов контактировавших с водными растворами (N, O, S)-донорных органических соединений были изучены и обобщены данные о реакциях комплексообразования и темплатного синтеза в металлсодержащих желатин-иммобилизованных матрицах [166]. Автор исследований выделил наиболее общие закономерности процессов нуклеофильного и электрофильного замещения в МГФ-ЖИМ. Также была реализована идея проведения в указанных матричных системах темплатного синтеза и обсуждены их синтетические возможности, изучены процессы комплексообразования с участием функциональных групп желатина, характер и состав полученных продуктов. Наряду с работами, подтверждающими возможность иммобилизации за счет комплексообразования в металлгексацианоферрат(II)ных желатин-иммобилизованных матрицах (d)гомоядерных гексацианоферратов(II) d-и f-элементов, существует много работ, связанных с получением и (dd)гетероядерных гексацианоферратов(II) [163,165]. К настоящему времени получено более трех десятков желатин-иммобилизованных соединений указанного типа и рассмотрена специфика их иммобилизации в ходе ионообменных процессов [163]. Группой исследователей во главе с Михайловым О.В. были изучены металлокомплексы желатин-иммобилизованных имплантов, полученных в результате темплантного синтеза с участием желатин-иммобилизованных гексацианоферратов(II) 3d-элементов $M_2[Fe(CN)_6]$ с водно-щелочными растворами, содержащими органические соединения с тионной (C=S) и карбонильной (C=O) группами, с использованием метода сканирующей

электронной микроскопии высокого разрешения. Исследования проводились при ускоряющем напряжении 5кВ, что позволяло получать оптимальную сохранность образца при воздействии электронов и наилучший контраст при данном режиме детектирования [161]. Картирование образцов проводили с использованием детектора энергетической дисперсии, а элементный анализ образцов ренгенофлуоресцентным методом. Авторами этой работы было отмечено, что иммобилизованные частицы имеют однородный размер, который варьируется в диапазоне от 30–50 нм. Микрозондовый элементный анализ в зоне образования частиц показал, что они содержат химические элементы, присутствовавшие в исходных $M_2[Fe(CN)_6]$–ЖИМ, следовательно, представляют собой именно частицы иммобилизованных металлокомплексов.

На основе желатиновых слоев современных галогеносеребрянных фотоматериалов были получены желатин-иммобилизованные металлокомплексы с известными аналитическими реагентами, которые нашли свое применение в качестве стандартов при изучении электронных спектров поглощения комплексов [161].

Дальнейшее применение желатиновые матрицы нашли после исследований процессов, протекающих в среде геля, и изучения влияния способа иммобилизации реагентов на химико-аналитические характеристики реакций. В ряде работ [134–134, 238, 284] указывается на наиболее простой способ закрепления органических реагентов в полимерной матрице посредством электростатической иммобилизации и отмечается перспективность применения желатиновых пленок для целей химического анализа.

Желатин при взаимодействии с водными растворами образует гомогенный трехмерный гель, прозрачный в видимой области спектра. Многообразие функциональных групп остатков аминокислот, входящих в структуру геля, позволяет варьировать степень набухаемости матрицы, исключить ее бактериальную деградацию и расширить способы ее модификации различными органическими реагентами [134]. Кузнецовым В.В. и Шереметьевым С.В. исследованы реакции диазотирования и азосочетания ароматических сульфонатов

азо-и диазосоставляющих, электростатически иммобилизованных в желатиновом геле [285]. Способность некоторых функциональных групп полимера к протонированию обуславливает эффективную электростатическую иммобилизацию ароматических сульфонатов с амино- и оксигруппами. В качестве азосоставляющих авторами были выбраны соединения с наличием протяженной системой сопряжения, способные сочетаться в кислой среде: нафтолсульфонаты, нафтиламинсульфонаты, хромотроповая и Аш- кислоты [284, 285]. Максимумы поглощения спектров соединений, синтезированных в растворе и в слое геля, не совпадают. Однако авторы отмечают полное совпадение спектров поглощения азосоединений в растворе и в пленке в том случае, когда заранее синтезированные азосоединения были иммобилизованы в слой желатинового геля. При изучении кинетических особенностей реакции диазотирования и азосочетания в отвержденном желатиновом геле было показано, что во всех случаях скоростьопределяющей стадией является внешняя диффузия [285].

Рассматривая данный биополимер, можно отметить, что наряду с группами, способными к протонированию и к иммобилизации реагентов, желатиновый гель образует структурированную коллоидную систему с жидкой дисперсной водной средой [134, 162]. Механические свойства этой системы аналогичны свойствам твердых тел, этот эффект авторы работы [164] объясняют объединением частиц дисперсной фазы в организованную пространственную сетку, в ячейках которой содержится вода. Изучение протолитических и комплексообразующих свойств некоторых индикаторов, иммобилизованных в желатиновую пленку, позволило авторам данного исследования [216, 217, 224] обнаружить сходство эффектов среды желатинового геля с эффектами среды для мицеллярных растворов ионогенных поверхностно-активных веществ. Было показано, что иммобилизация индикаторов бромфенолового синего, бромкрезолового зеленого, нейтрального красного, малахитового зеленого в отвержденный желатиновый гель приводит к изменению их протолитических и комплексообразующих свойств [224]. Аналитические реакции комплексообразования в отвержденном желатиновом

геле для ряда электростатически иммобилизованных органических реагентов с ионами металлов в растворе представлены в работе [134].

Авторы этих работ обращают внимание на то, что концентрация в геле для каждого исследованного реагента на порядки выше, чем в растворах. Величины сечения поглощения фотонов σ изменяются симбатно с молярными коэффициентами поглощения ε, аналогичный эффект наблюдался и для водных растворов, что свидетельствует о структурно-стохастическом характере иммобилизации [134]. Регулярность в компоновке протонированных групп желатина обуславливает определенный порядок в размещении анионов иммобилизованных реагентов: будучи прикрепленными к матрице, они остаются в гидрофильно-гидратированном состоянии, при котором не происходит ассоциации и агрегации частиц реагентов. Локальные концентрации реагентов в пересчете на объем фазы геля оказываются очень высокими, система реагент – желатиновая матрица наследует гидратные свойства полимера. С учетом размеров и конфигурации ячеек в желатиновом геле авторы оценили свойства поверхности геля, несущего анионообменные группы, и объяснили состояния иммобилизованных реагентов с привлечением элементов геометрии фракталов и подхода Хаусдорфа-Безиковича [134, 284]. Численное значение фрактальной размерности поверхности геля, полученное авторами, позволило сделать вывод о том, что желатиновая матрица в изготавливаемых пленках имеет свойства объемной фазы, содержащей пустоты, количество которых тем больше, чем меньше их размер. Отмечены особенности поведения реагентов в фазе геля: так, с ростом концентрации реагентов положение максимумов их спектров поглощения не изменяется, что свидетельствует об отсутствии ассоциации реагента в желатиновой матрице и подтверждает выводы о фрактально-ячеистой природе желатина. Таким образом, сделан вывод о том, что исчерпывающая емкость матрицы по отношению к органическим реагентам-сульфонатам [134, 238], отличающимся различным числом сульфогрупп и геометрическими размерами молекул, связана со специфическими особенностями желатиновой матрицы и ее фрактальными свойствами поверхности. При проведении реакций

комплексообразования в фазе желатинового геля заметное влияние оказывает природа металла, органического реагента и диффузионный фактор. Образование комплексов в фазе геля определяется внутренней и внешней диффузией; так, было отмечено, что внешняя диффузия практически не зависит от природы иона металла, и высокие коэффициенты внутренней диффузии обусловлены высокими скоростями реакции внутри пор геля. Установлено, что условия протекания реакций образования и разрушения комплексов иммобилизованных реагентов в отвержденном желатиновом геле идентичны реакциям в водных растворах [134, 284].

При выборе оптимальных условий электростатической иммобилизации органических реагентов в желатиновую пленку авторы работ [224] учитывали заряд реагентов, их кислотно-основные и гидрофильно-гидрофобные свойства. Для улучшения извлечения в желатиновую пленку гидрофобных органических реагентов в модифицирующие солянокислые растворы добавляли анионные поверхностно-активные вещества.

Результаты исследований хромогенных реакций комплексообразования в среде отвержденного желатинового геля позволили создать чувствительные элементы (ЧЭ), а также разработать более простые и экспрессные методики фотометрического и/или визуального определения металлов в водных средах. За последние годы появился ряд публикаций, авторы которых описывали применение готовых желатиновых слоев в качестве среды при разработке чувствительных элементов для определения различных соединений [134–136, 138, 144, 215–220, 227, 238, 257, 284]

Предложена методика тест-определения суммарной концентрации ионов тяжелых металлов в водных средах с использование желатиновых пленок, модифицированных пиридилазорезорцином (ПАР) [224]. Способность данного органического реагента образовывать со многими ионами металлов окрашенные и устойчивые комплексы, а также близость максимумов поглощения их металлокомплексов позволили проводить суммарную оценку содержания тяжелых металлов в растворе. В работе [223] исследована возможность

применения желатиновых пленок, модифицированных ПАР, для визуального полуколичественного определения суммы металлов (Cu^{2+}, Co^{2+}, Cd^{2+}, Pb^{2+}, Ni^{2+}, Zn^{2+}). Статистическими методами авторами были оценены значения предела обнаружения и нижней границы определяемых концентраций суммы металлов.

Логиновой Л.П. и Нестеренко О.Ю. предложены новые тест-средства с иммобилизованными в желатиновые пленки ванилином и п-диметиламинобензальдегидом для обнаружения, фотометрического и визуального определения первичных ароматических аминов (новокаина, стрептоцида) [124, 145]. Оптимальные условия иммобилизации реагентов в желатиновые пленки были выбраны с учетом конечного аналитического сигнала, полученного для пленок после контакта с раствором новокаина. Введение анионного поверхностно-активного вещества в растворы альдегидов при модификации пленок привело к усилению аналитического сигнала. Оценены метрологические характеристики данной методики определения новокаина и стрептоцида в лекарственных препаратах с использованием цветовой шкалы. Этими же авторами предложены в качестве новых тест-средств желатиновые пленки с иммобилизованным комплексом $Co_2[Fe(CN)_6]$, которые предлагается использовать для обнаружения и полуколичественного определения нитроксолина в фармацевтическом препарате 5-НОК. [144]

Кузнецовым В.В с соавторами описан способ определения сульфатов в водах [135] с использованием оптически прозрачных чувствительных элементов на основе желатинового геля, нанесенного на прозрачную полимерную подложку из триацетилцеллюлозы. Предлагаемый способ заключается в осуществлении реакции между комплексом бария с нитхромазо и сульфат-ионами непосредственно в желатиновых матрицах. При определении сульфатов происходит необратимое разрушение комплекса, предварительно иммобилизованного в пленку, что приводит к изменению окраски пленки после ее контакта с раствором. Полученные чувствительные элементы характеризуются высокой чувствительностью, минимально определяемая концентрация сульфат-ионов в растворе равна 0.1 мкг SO_4^{2-}/0.5 мл. Подобным образом авторы

предлагают определять фториды, используя в качестве реагента иммобилизованный комплекс Th(IV) с арсеназо III [134]. Разработаны чувствительные элементы для визуального тестирования и полуколичественной оценки при определении U(VI) и La(III) с иммобилизованным арсеназо III [134, 238].

Предложены новые чувствительные элементы на Ca^{2+} и Mg^{2+} на основе электростатически иммобилизованных в отвержденный желатиновый гель реагентов арсеназо III и магнезон ИРЕА [136, 138]. Разработанные ЧЭ были использованы для изготовления тест-средств с визуальной индикацией, для этого были получены цветовые шкалы для тест-определения ионов кальция и магния. Возможности аналитического применения ЧЭ показаны при определении кальция в ряде реальных объектов: питьевых и минеральных вод, соков, кефира, фармацевтических препаратов, а также проиллюстрированы на примерах определения магния в питьевых, минеральных водах и в вытяжках из почв. Преимуществами предлагаемых тест-средств является их экспресность, простота выполнения, возможность хранения полученной информации в течение длительного времени [134, 136, 138]. Аналитические характеристики полученного чувствительного элемента на Mg^{2+} впоследствии были улучшены, и результаты представлены в работе [275]. Эти тест-средства пригодны для полуколичественного определения кальция и магния в диапазоне концентраций от 5 до 300 мкг/мл и от 0.5 до 50 мкг/мл соответственно.

Полученные индикаторные пленки с иммобилизованными комплексами Fe(III) с гетероциклическими аминами 2,2’-дипиридилом или с 1,10-фенантролином в желатиновых слоях фотографических пленок применяются для визуального обнаружения и фотометрического определения анальгина и аскорбиновой кислоты. Предложенные системы позволяют проводить определение и в мутных средах [143].

Осуществление синтеза азокрасителей в отвержденном желатиновом геле позволило авторам исследований разработать чувствительные элементы для

визуального полуколичественного определения нитритов в варианте тест-метода[285].

Решетняк Е.А. с соавторами показана возможность применения нитхромазо, иммобилизованного в отвержденном желатиновом геле, в качестве твердофазного реагента для косвенного фотометрического определения сульфатов в водных средах [220]. Косвенное фотометрическое определение сульфатов основано на оценивании избытка бария, оставшихся в растворе после образования сульфата бария, по реакции с иммобилизованным в пленке нитхромазо. Результаты исследования позволили разработать чувствительный элемент, с помощью которого можно упростить уже существующую фотометрическую методику определения и значительно расширить диапазон определяемых содержаний сульфат-ионов.

Этой же группой исследователей предложен оптически прозрачный твердофазный аналитический реагент для фотометрического и визуально-тестового определения алюминия(III) в водных средах. Путем физической иммобилизации металлоиндикатора эриохромцианина R в желатиновой слой получена индикаторная пленка, установлен состав продукта реакции, оценены количественные характеристики процесса комплексообразования в гетерогенной системе вода/желатиновая пленка и определены метрологические характеристики фотометрического и визуального определения Al(III) в водных средах [215, 219].

1.3. Влияние организованных сред на химико-аналитические свойства органических реагентов

1.3.1 Влияние организованных сред на протолитические свойства органических реагентов

К настоящему времени наиболее подробно изучено влияние организованных сред на кислотно-основные и комплексообразующие свойства

органических реагентов, являющихся протолитическими индикаторами [41, 113, 114, 175–179, 235, 236, 240, 243, 244, 249]. Эффекты среды, возникающие при переходе органических реагентов к организованным растворам или после сорбции на твердой матрице, позволяют варьировать химико-аналитические свойства полученных аналитических форм [185, 186, 276–279, 293, 345, 346, 357, 358]. Равновесия аналитических реакций с участием твердофазных реагентов необходимо рассматривать особым образом, с учетом свойств, характерных как для гомогенных, так и гетерогенных систем [81, 82, 176, 178, 240]. Влияние организованной среды на свойства органических красителей обусловлено их электростатическим взаимодействием с заряженными микроагрегатами и выражается в сдвиге индикаторного равновесия. Появление ассоциатов в результате связывания индикатора отрицательно заряженными микроагрегатами чаще всего приводит к кажущемуся снижению кислотных свойств или усилению основных свойств [128, 176, 178]. Обратный эффект, то есть усиление кислотных свойств, можно наблюдать в среде микроагрегатов с преобладающим положительным зарядом [175, 176, 178, 179, 292, 295, 325]. Данные процессы сопровождаются сдвигом максимумов поглощения сопряженных форм индикатора. Протолитическое равновесие в данных системах описывается константой двухфазного кислотно-основного равновесия, которая называется «кажущейся» константой диссоциации индикатора.

В рамках электростатической теории влияние различных факторов на константу диссоциации K_a^a отражает уравнение [178, 179] (1):

$$pK_a^{ac} = pK_a^w + \lg\frac{\gamma_R}{\gamma_{HR}} + \lg\frac{f_R^m}{f_{HR}^m} - \frac{\psi F}{2.302RT} \qquad (1)$$

где γ_i – коэффициенты активности переноса соответствующих форм индикатора из воды в псевдофазу; Ψ – потенциал слоя Штерна (мВ); f_i – концентрационные коэффициенты активности частиц, адсорбированных на мицеллах. Слагаемое, содержащее величины γ_i, отражает эффекты, обусловленные свойствами поверхности мицеллы, не связанными с ее зарядом.

Из уравнения (1) видно, что в случае положительного электрического потенциала поверхности среды значение pK_a^{ac} должно снижаться, а в случае отрицательного значения – увеличиваться.

В процессе взаимодействия отрицательно заряженных ионов органических красителей с противоположно заряженной поверхностью микроагрегата возникают ионные ассоциаты с гидрофильной частью ближайшего иона поверхностно-активного вещества. Специфика функциональных групп органических красителей, заряды частиц, образующихся при ионизации, а также способность к таутомерным превращениям, – все эти факторы влияют на формирование эффектов среды в растворах ИПАВ [176]. Характер изменения максимумов поглощения и констант протолиза в мицеллярных растворах ИПАВ по сравнению с водными указывает на локализацию красителей в мицеллах, при этом наиболее вероятным является нахождение красителей в слое Штерна, а не внутри мицеллы [40, 176].

На рисунке 3 [40] схематично показана гидратированная область Штерна мицелл ионных ПАВ и положение, в котором преимущественно локализованы органические красители.

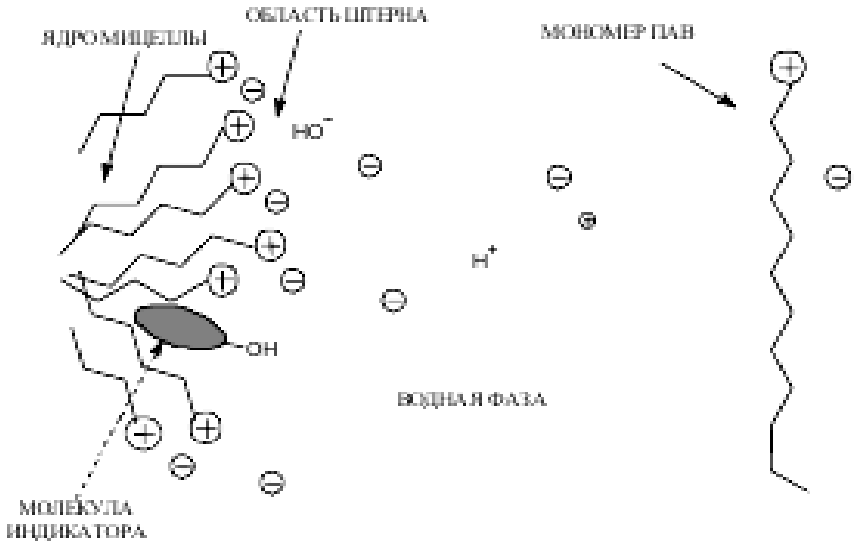


Рисунок 3 – Фрагмент мицеллы катионного ПАВ и кислотно-основного индикатора [40]

Мицеллы катионного поверхностно-активного вещества обладают дифференцирующим действием по отношению к кислотной ионизации ряда красителей, в том числе трифенилметанового ряда, для которых наблюдалось усиление кислотных свойств органических реагентов в микроэмульсиях, стабилизированных катионными поверхностно-активными веществами [178,179], а также в растворах водорастворимых катионных каликсаренов [121, 175, 274, 292, 295]. В таблице 1 представлены значения pK_a и эффекты среды при введении в систему органических компонентов для ряда трифенилметановых красителей.

Таблица 1 – Значения pK_a и эффекты среды ряда трифенилметановых красителей [175, 176, 178, 179]

Органический краситель	pK^w_a	Эффект среды			
		$\Delta pK_a = pK^a_a - pK^w_a$			
		КПАВ	Мицеллы	Микроэмульсии	Катионный каликсарен
Тимоловый синий	9.2	-0.37	-0.4	-0.83	-
Крезоловый пурпуровый	8.7	-0.70	-0.7	-0.81	-
Крезоловый красный	8.5	-0.94	-	-0.62	-
Феноловый красный	8.0	-0.92	-	-0.95	-0.52
Бромтимоловый синий	7.3	-0.94	-0.9	-0.63	-
Бромкрезоловый пурпуровый	6.4	-1.32	-1.3	-1.5	-
Бромкрезоловый зеленый	4.9	-1.68	-1.7	-1.67	-
Бромфеноловый синий	4.2	-2.16	-2.2	-1.8	-1.56

Можно отметить, что для всех рассматриваемых реагентов переход в организованные среды приводит к уменьшению значений показателя кажущейся константы pK_a^{ac} то есть к усилению кислотных свойств реагента.

Аналогичные эффекты среды в случае метилового оранжевого наблюдались в пленках Ленгмюра-Блоджетт, синтезированных на основе соли полиамидокислоты и октадецилдиметиламина [120, 295]. В формируемой пленке Ленгмюра-Блоджетт краситель находится в окружении гидрофильных групп

полиамидокислоты, а также гидрофильных и гидрофобных групп октадецилдиметиламина. Данное окружение схоже с состоянием реагента в мицеллах КПАВ. Характер изменения спектров поглощения метилового оранжевого под влиянием среды объясняется образованием гидрофобно-гидратированных ионных пар или солюбилизацией реагента мицеллами КПАВ [240]. Под влиянием КПАВ происходит снижение величины pK_a метилового оранжевого, в случае пленки это изменение проявляется в меньшей степени по сравнению с растворами. Причина этого явления может заключаться в образовании ионных пар красителя с КПАВ и уменьшении полярности среды в гидрофобном микроокружении реагента, находящегося в монослое поверхностно-активного полимера [295].

Увеличение значений pK_a. для различных реагентов наблюдается и для липосомных суспензий [178], состоящих из фосфатидилхолина и дифосфатидиглицерола, а также для пленок Ленгмюра-Блоджетт на основе арахиновой кислоты [128] (таблица 2).

Таблица 2 – Значения pK_a и эффекты среды ряда трифенилметановых красителей [176, 178, 179, 224]

Органический краситель	pK^w_a	Эффект среды				
		$\Delta pK_a = pK^a_a - pK^w_a$				
		АПАВ	НФ-12	Микроэмульсии	Бутаноле-1	Ацетон
Тимоловый синий	9.2	1.07	1.54	1.8	3.53	1.61
Крезоловый пурпуровый	8.7	-	-	-	-	1.23
Крезоловый красный	8.5	-	-	-	-	1.12
Феноловый красный	8.0	-	-	0.8	2.70	1.19
Бромтимоловый синий	7.3	3.11	1.84	2.3	3.61	1.10
Бромкрезоловый пурпуровый	6.4	-	1.14	1.3	2.68	0.98
Бромкрезоловый зеленый	4.9	-	1.27	1.7	3.20	0.96
Бромфеноловый синий	4.2	0.61	0.87	1.2	2.92	0.55

Существенное изменение химико-аналитических свойств органических реагентов может происходить и под влиянием среды твердых сорбентов, например, полимерных материалов, кремнеземов, ППУ и др. Особенно наглядно изменение свойств реагентов проявляется при химической иммобилизации. Так, в работе [259] отмечается, что ковалентная иммобилизация пирогаллолового красного на эпоксидированной целлюлозе приводит к исчезновению каталитического действия свинца (II) на скорость реакции между пирогаллоловым красным и персульфатом аммония, что, видимо, можно объяснить связыванием активных групп реагента с функциональными группами целлюлозы.

Иммобилизация на целлюлозной матрице реагентов 2,3,7-триоксифлуоровнов приводит к изменению их протолитических и комплексообразующих свойств по сравнению с аналогичными свойствами в растворе[3]. Эффект депротонирования тригидроксифлуоронов, адсорбированных на целлюлозной матрице, аналогичен действию КПАВ. Изменение локального микроокружения для молекул триоксифлуоронов в целлюлозе, как и в случае КПАВ, приводит к усилению кислотных свойств.

Спектральные характеристики сульфофталеиновых красителей иммобилизованных на пенополиуретане, исследованы в работах [77], в которых указывается на изменение вида спектра диффузного отражения ионных ассоциатов на ППУ; положение максимума и форма спектра при этом сильно зависит от влажности образцов, что, возможно, связано с изменением состава сорбатов на поверхности сорбента.

При исследовании кремнеземов с привитыми аминогруппами можно наблюдать ослабление основных свойств по сравнению с исходными алифатическими аминами [268]. Образование водородных связей между органическими реагентами (ксиленоловым оранжевым, 1-(2-пиридилазо)-2-нафтолом, 4-(2-пиридилазо)резорцином и др) и депротонированными силанольными группами ксерогеля приводит к иммобилизации реагентов и сопровождается усилением их кислотных свойств [97, 172]. Ксерогели,

модифицированные фосфорномолибденовой гетерополикислотой, ее аммонийной солью и реактивом Вавеле, использовались при проведении реакций с гидразинами, аскорбиновой кислотой, гидрохиноном, ионами железа(II) и олова(II). В спектре поглощения наблюдается коротковолновый сдвиг полос поглощения «синей», образующихся в ксерогеле, по сравнению с «синями», образующимися в растворе, что косвенно свидетельствует об увеличении потенциала пары Mo(VI)/Mo(V) при иммобилизации. При иммобилизации гетерополисоединений в ксерогели увеличивается их окислительная способность. [173].

В настоящее время находят все более широкое применение сорбенты, характеризующиеся прозрачностью в видимой области спектра и изотропностью оптических свойств [134]. Иммобилизация на подобных матрицах неодинаково влияет на оптические и кислотно-основные свойства различных индикаторов. В работе [238] представлены результаты исследования влияния триацетилцеллюлозной матрицы на протолитические свойства индикаторов, содержащих амино- и 4-аминофенилазогруппы и было отмечено, что протолитические и хромофорные свойства индикаторов при переходе из раствора в полимерную матрицу практически не изменились. Однако этот эффект не является характерным для сорбентов на основе триацетилцеллюлозы: так, иммобилизация в триацетилцеллюлозную пленку конго красного и 4-аминофлуоресцеина приводит не только к увеличению контрастности перехода их окраски, но и к заметному изменению значения величины pK_a. С использованием теории специфических взаимодействий проведен расчет термодинамических значений констант ионизации индикаторов в растворах и в иммобилизованном состоянии в растворах [341]. Представленные расчеты показывают, что при иммобилизации реагентов в триацетилцеллюлозе происходит «кажущееся» увеличение кислотных свойств. Авторы показали, что протолитические свойства иммобилизованных индикаторов и реагентов адекватно описываются с использованием модели «полимерного реагента» [69]. Авторы [285] проводили сравнительный анализ свойств ряда красителей, в том

числе арсеназо I, антраниловой и хромотроповой кислот и др., после их иммобилизации в полистирол со свойствами специально синтезированных мономерных аналогов. Совпадение спектров модельных и иммобилизованных реагентов свидетельствует об идентичности хромофорных структур красителей как в растворе, так и в полимерной матрице.

Авторами [42] установлено уменьшение констант кислотности и формальных потенциалов 2,6-дихлорфенолиндофенола после иммобилизации в полиметакрелатную матрицу.

Изменения протолитических свойств иммобилизованных на полиакриламидном волокне реагентов наблюдались в случае флуоресцеина [360]. и фенолового красного [372]. Для иммобилизации родамина Б, родамина 6Ж, малахитового зеленого был использован полистирольный латекс, который также выступает в роли модификатора протолитических свойств исследуемых органических реагентов [362]. Результаты исследования сорбции и десорбции анионных красителей реактивного фиолетового 5, прямого красного 28 и кислотного синего 74, иммобилизованных на хитиновом геле [395] позволили авторам предположить наряду с электростатическими взаимодействиями красителей с гелем возможность гидрофобных взаимодействий и образования водородных связей.

Наблюдаемые протолитические и спектральные эффекты при иммобилизации целого ряда индикаторов (бромтимолового и бромфенолового синего, фенолового и хлорфенолового красного, ализарина и др.) на сшитом сополимере стирола и дивинилбензола объясняются преимущественным удерживанием нейтральных форм индикаторов на поверхности и в объеме незаряженного полимера [310, 369].

Своеобразной матрицей для иммобилизации органических реагентов является желатиновый гель. Наличие в структуре полипептидов, составляющих желатин, большого разнообразия функциональных групп кислотной и основной природы, в частности, амино-, гидрокси- и карбоксигрупп, а также гуанидиниевых, фенольных и серосодержащих остатков аминокислот, позволяет

поводить иммобилизацию стандартных аналитических реагентов катионного и анионного типа в определенном диапазоне pH [134, 238]. В одной из первых работ [311] по изучению влияния желатина на свойства иммобилизованных эозина, этилэозина, метилэозина и уранина показан эффект среды, схожий с эффектами в мицеллярных растворах ПАВ. При иммобилизации ряда реагентов наблюдался батахромный сдвиг максимумов поглощения, связанный с электростатическим взаимодействием ионных форм индикаторов с сеточным зарядом геля.

В более поздних работах [216, 217, 224, 311] в среде желатинового геля исследованы кислотно-основные свойства ксантеновых красителей – эозина, этилэозина, децилэозина и децилфлуоресцеина; сульфофталеинов – бромкрезолового зеленого, бромфенолового синего, малахитового зеленого и азокрасителя нейтрального красного. Максимумы поглощения кислой и основной форм всех индикаторов, иммобилизованных в желатиновую пленку, сместились по сравнению с их водными растворами, при этом спектры кислотных форм индикаторов эозина, этилэозина и децилфлуоресцеина характеризовались низкой интенсивностью поглощения [311]. Для нейтральной формы эозина при иммобилизации в желатиновую пленку отмечается сдвиг таутомерного равновесия в сторону бесцветного лактона. Для кислых форм бромкрезолового зеленого, бромфенолового синего, нейтрального красного и этилэозина авторы наблюдали гипсохромные сдвиги, для основных форм всех индикаторов и кислой формы малахитового зеленого и децилфлуоресцеина − батохромные сдвиги максимумов поглощения [224]. Эффект среды, обусловленный смещением максимумов поглощения, является доказательством взаимодействия красителей со средой желатинового геля. В случае суммарного сеточного заряда желатиновой матрицы, близкого к нулю, было отмечено увеличение второй константы ионизации эозина, наблюдаемый эффект аналогичен влиянию неионогенных ПАВ. Для децилэозина и децилфлуоресцеина наряду с электростатическими наблюдаются и гидрофобные взаимодействия. Благодаря наличию длинного гидрофобного радикала эти красители удерживается в желатиновой матрице во

всем диапазоне pH. Полученная разность значений pK_a индикаторов в пленке и в водном растворе (ΔpK_a) (таблица 3) коррелируют с эффектами среды, которые наблюдались для тех же индикаторов в растворах КПАВ, катионного каликсарена и в липосомных суспензиях.

Таблица 3 – Влияние среды желатинового геля на константы диссоциации органических реагентов [224, 311]

Органический реагент	λ, нм		pK^w_a	Эффект среды
	раствор	желатин		$\Delta pK_a = pK^a_a - pK^w_a$
Децицэозин	490	480	1.80	0.43
Эозин	518	535	3.63	0.84
Нейтральный красный	534	505	6.50	2.30
Малахитовый зеленый	613	630	11.94	0.50
Этилэозин	492	482	1.90	-0.24
Бромкрезоловый зеленый	443	433	4.90	-1.36
Бромфеноловый синий	440	416	4.20	-1.98

Оптические и кислотно-основные свойства органических реагентов катионного типа (бриллиантовый зеленый, кристаллический фиолетовый, фуксин) и/или анионного типа (реагенты группы арсеназо III, нитхромазо, карбоксиарсеназо, ксиленоловый оранжевый, эриохромцианин Р, ализариновый красный С и др.) исследованы в работе [284].

1.3.2 Влияние организованных сред на комплексообразующие свойства органических реагентов

Иммобилизация органических реагентов на твердых матрицах различной природы может приводить к изменению не только протолитических, но и комплексообразующих свойств реагентов, однако строгих закономерностей в характере изменения прочности комплексов, образующихся с участием

твердофазных реагентов, не выявлено. Как правило, иммобилизация реагентов в фазу твердого сорбента сопровождается уменьшением прочности образующихся комплексных соединений, глубина этого изменения зависит от природы сорбента и органического красителя, условий проведения аналитической реакции, а также природы металла. В ряде случаев заметного изменения комплексообразующих свойств органических реагентов под влиянием среды твердого сорбента не выявлено. Следует отметить, что для иммобилизованных комплексов может наблюдаться не только изменение прочности комплексов, но и изменение числа координируемых частиц реагента [3, 5, 8, 10, 137, 138, 215–217, 224].

Особенности комплексообразующих свойств фенилкарбоновых кислот трифенилметанового ряда, иммобилизованных на тканях, исследованы в работе [8]; отмечено, что комплексы образуются непосредственно в порах матрицы, реагенты диффундируют вглубь интермицеллярного пространства матрицы, теряя при этом свою гидратную оболочку, таким образом, реагенты из гидрофильно-гидратированного состояния переходят в гидрофобно-гидратированное. Это явление приводит к ослаблению взаимодействия ионов металла с водой, что увеличивает число координированных металлом лигандов (таблица 4).

Таблица 4 – Стехиометрический состав и максимумы поглощении комплексов Me-Хромазурол S (**ХАЗ**) в растворах и иммобилизованных на тканях [8]

Me	R	Раствор				Ткань (бязь,вискоза)			
		-		КПАВ (ЦП)		-		КПАВ (ЦП)	
		λ нм	Me:R	λ нм	Me:R	λ нм	Me:R	λ нм	Me:R
AI	ХАЗ	540 570	1:1	640	1:3	630	1:3	630	-
Be		560	2:1	620	1:2	610	1:2	610	-
Cu		590	1:1	600	1:3	660	1:3	660	-
Fe		570	1:1	670	1:3	650	1:3	650	-

Ковалентная иммобилизация органических реагентов (хромазурол S, сульфохром, эриохромцианин) на кремнеземах и целлюлозе также приводит к

снижению устойчивости комплексов, при этом происходит изменение стехиометрии комплексов в сторону уменьшения числа лигандов [129–131] .

При иммобилизации комплекса никеля с 1-(2-тиазолилазо)-2-нафтол-3,6-дисульфокислотой на анионообменнике константа устойчивости комплекса уменьшается на несколько порядков по сравнению с константой устойчивости комплекса в растворе [224]. Иммобилизованные на кремнеземе комплексы меди (II) и цинка (II) с 1-(2-тиазолилазо)-2-нафтолом характеризуются стехиометрическим составом 1:1 и 1:2, для высшего комплекса при переходе из раствора в сорбент наблюдается снижение устойчивости иммобилизованных комплексов. Аналогичный эффект был отмечен в случае комплексообразования между ПАР, иммобилизованным на ксерогеле, с ионами свинца (II), кобальта(II) и цинка(II) [93, 96, 172, 189, 224]

При переводе реакции 2,2-дипиридина и 1,10-фенантролина с Fe(II) из раствора в среду полиметакрелата авторы [42] наблюдали уменьшение значений молярных коэффициентов поглощения комплекса по сравнению с растворами и также отмечали снижение констант устойчивости комплексов на несколько порядков по сравнению с растворами.

В работе [224] исследованы процессы комплексообразования ПАР, иммобилизованного в желатиновую пленку, с рядом металлов, определены условные константы полученных комплексов в фазе геля. Авторы работы отмечают, что комплексы в желатиновой матрице характеризуются меньшими значениями констант устойчивости по сравнению с комплексами в водных растворах. Комплексы Pb (II), Cd (II) и Cu (II) с ПАР в двухфазной системе вода/желатиновая пленка, имели состав 1:1, 1:2 и 1:2, а логарифмы значений констант устойчивости равнялись 4.2 ± 0.2, 7.0 ± 0.2, 6.5 ± 0.2 соответственно [224]. Оптические свойства некоторых иммобилизованных реагентов и образующихся комплексов в гетерогенной системе раствор/желатиновая пленка представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Состав и прочность комплексов, образованных иммобилизованными в желатиновый гель органическими реагентами [134, 138, 215–217, 219, 224, 227]

Органический реагент	λ_{Me}, нм	Me	λ_{MeR}, нм	Me:R	$Lg\beta'_{(желатин)}$
Арсеназо III	550	La(III)	622,668	-	-
Арсеназо I	516		592	-	-
Арсеназо Б	563	Ca(II)	650	-	-
Эриохромцианин R	510	Al(III)	610	1:2	7.3±0.3
	530		562	-	-
Пирокатехиновый фиолетовый	440		680	1:2	6.2±0.2
Ализариновый красный S	435		505	1:2	4.7±0.4
Ксиленоловый оранжевый	444		562	-	-
Нитрозо-Р-соль	370	Co(II)	490	1:3	6.7±0.3
		Cu(II)		1:2	8.0±0.2
		Fe(III)		1:3	8.6±0.3
		Ni(II)		1:3	6.4±0.3
Нитхромазо	590,642	Ba(II)	604,654	-	-
	590	Ba(II),Sr(II)	675	-	-
Карбоксиарсеназо	556	Pb(II)	630,678	-	-
4-(2-Пиридилазо)-резорцин	410	Cu(II)	520	1:2	6.5±0.2
		Co(II)		1:2	6.9±0.2
		Cd(II)		1:2	7.0±0.2
		Zn(II)		1:2	7.6±0.8
		Ni(II)		1:3	9.9±0.3
		Pb(II)		1:1	4.2±0.2

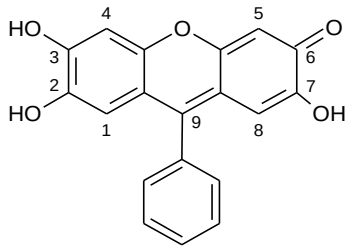
Несмотря на снижение прочности образующихся в гетерофазной системе раствор/желатиновая пленка комплексов, разработанные к настоящему времени твердофазные реагенты и чувствительные элементы на основе отвержденного желатинового геля оказались удобными для сорбционно-спектроскопического и тест-определения ряда аналитов. В настоящее время количество органических аналитических реагентов, иммобилизуемых в отвержденный желатиновый гель

для последующего определения аналитов, постоянно пополняется. Однако систематизированные сведения о закономерностях иммобилизации в желатиновую матрицу различных групп аналитических реагентов отсутствуют. Не изучены, в частности, особенности поведения в среде желатинового геля перспективных реагентов группы тригидроксифлуоронов, широко используемых для фотометрического определения металлов.

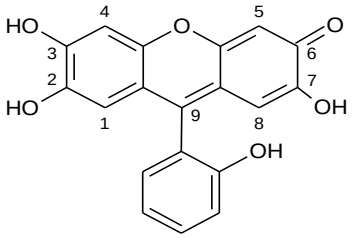
1.4 Пирогаллоловый красный и бромпирогаллоловый красный как представители 3,4,5-тригидроксифлуоронов, их свойства и применение

В настоящее время ассортимент твердофазных реагентов на основе органических реагентов, иммобилизованных в отвержденный желатиновый гель для последующего определения аналитов, постоянно пополняется. С этой точки зрения теоретический и практический интерес представляют хорошо известные и зарекомендовавшие себя в аналитической практике органические реагенты трифенилметанового ряда [112]. Трифенилметановые красители, в частности, тригидроксифлуороны, широко используются как эффективные высокочувствительные аналитические реагенты для спектрофотометрического определения различных металлов [22, 103, 182, 183]. Отличительная особенность тригидроксифлуоронов связана с наличием ксантенового цикла, который обеспечивает молекулам реагентов дополнительную жесткость [103, 182, 183]. Ксантеновые органические красители этого ряда (рисунок 4) представлены группами 2,3,7-тригидрокси-9R-флуоронов-6 (**I**) с различными заместителями у углерода C_9 и 3,4,5-тригидрокси-9R-флуоронов-6 с 2'-сульфофенильной (**II**) или 2'-карбоксифенильной группой (**III**) у углерода C_9 [103].

(I)

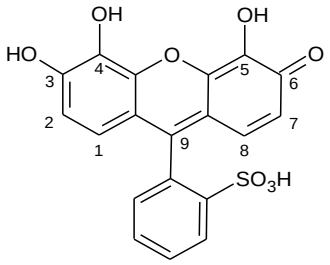


(а)

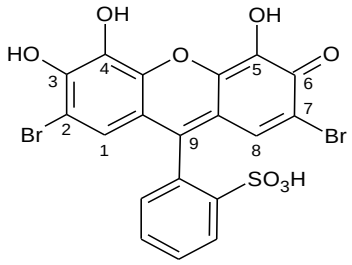


(б)

(II)

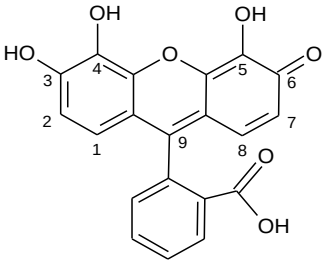


(а)

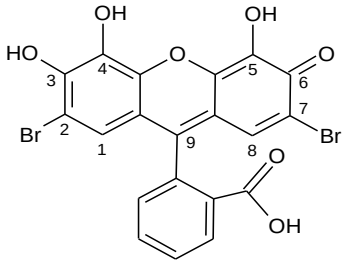


(б)

(III)



(а)



(б)

Рисунок 4 – Ксантеновые органические красители:
(I) 2,3,7-тригидрокси-9R-флуороны-6: а) фенилфлуорон (**ФФ**); б) салицилфлуорон (**СФ**); **(II)** 3,4,5-тригидрокси-9R-флуороны-6 с 2'-сульфофенильной группой: а)пирогаллоловый красный (**ПГК**); б) бромпирогаллоловый красный (**БПГК**); **(III)** 3,4,5-тригидрокси-9R-флуороны-6 с 2'-карбоксифенильной группой: а) галлеин (**ГА**); б) дибромгаллеин (**ДБГ**)

Положение гидроксильных групп в ксантеновом ядре 3,4,5-тригидроксифлуоронов по сравнению с 2,3,7- тригидроксифлуоронами приводит к иному распределению электронной плотности в молекуле реагента и различию в их аналитических свойствах [182]. В данной работе рассмотрены 3,4,5-тригидроксифлуороны-6 с 2'-сульфофенильной группой у углерода C_9 – пирогаллоловый красный и бромпирогаллоловый красный.

Расчеты пространственного строения этих органических реагентов, полученные методом теоретического структурного анализа в приближении атом-атомных потенциалов, приведенные в работах [62, 174], показывают ортогональное расположение сульфобензольного кольца относительно плоскости ксантеновой системы и идентичность строения молекул. Наличие в молекулах ПГК и БПГК трех гидроксигрупп и карбонильной группы, а также присутствие кислорода в составе ксантенового цикла обеспечивает хромофорный эффект для этих соединений [63].

Рассматриваемые органические реагенты являются четырехосновными слабыми кислотами, способными в зависимости от кислотности среды к диссоциации с отщеплением протона от сульфогруппы и трех гидроксильных групп. В работе [389] указывается на присутствие шести ионизированных форм реагентов, предлагаемая схема ионизации основана на предположении о большей кислотности сульфогруппы по сравнению с протонированной карбонильной группой. Отмечается, что в сильно кислых средах (5М серная кислота) реагенты протонированы не по ксантеновому атому кислорода, а по карбонильной группе, при этом сульфогруппа остается не диссоциированной. С увеличением pH происходит диссоциация сульфогруппы с образованием формы (H_3R^-), последовательное отщепление протонов от оксигрупп в положениях 3(H_2R^{2-}), 4(HR^{3-}), 5(R^{4-}) приводит к увеличению цепи сопряжения хромофоров за счет появления свободных неподеленных электронных пар и постепенному батохромному сдвигу [103]. Наблюдаемый батохромный сдвиг максимумов поглощения всех возможных форм для БПГК сопровождается одновременным повышением интенсивности полос поглощения, что можно объяснить присутствием в составе молекулы атомов брома, неподеленные электронные пары которого взаимодействуют с π-электронами цепи сопряжения [21, 62].

Спектрофотометрические характеристики пирогаллолового красного и бромпирогаллолового красного достаточно подробно изучены и широко представлены в ряде работ [21, 103, 108, 182, 389], авторы которых спектрофотометрически оценили константы диссоциации ПГК и БПГК.

Определенные трудности возникали при определении констант диссоциации формы (HR^{3-}), что связанно с разложением реагентов в сильнощелочной среде, а также констант диссоциации катионной формы реагентов H_5Ind^+ ввиду высокой кислотности среды её существования. Возможность определения всех пяти констант для бромпирогаллолового красного с использованием метода факторного анализа целевой трансформации была показана в работе [385]. Установлено незначительное усиление кислотных свойств реагентов с увеличением ионной силы раствора [21, 103, 389]. Оба реагента характеризуются ограниченной растворимостью в воде, поэтому при их приготовлении чаще всего используют различные органические растворители [21, 52, 53, 58, 167, 253, 254, 323, 374], присутствие которых оказывает влияние на оптические и протолитические свойства ПГК и БПГК. Наиболее заметное изменение физико-химических свойств реагентов отмечено при добавлении поверхностно-активных веществ [19, 235, 236, 239, 240, 244]. Взаимодействие органических реагентов, содержащих кислотные группы, с катионами ПАВ приводит к образованию ионных ассоциатов [17, 19, 58, 182, 234, 240, 243, 244, 253, 281], что в свою очередь дает возможность получать реагенты с новыми более эффективными химико-аналитическими свойствами. Исследования, проведенные авторами [49, 101, 103–105, 108, 150–153, 181, 183, 234, 253], показали, что спектры поглощения этих органических красителей изменяются в присутствии катионного поверхностно-активного вещества уже в сильнокислых средах. Установлено, что при повышении кислотности раствора увеличивается количество цетилпиридиния, необходимого для депротонирования реагента [234]. Эффект депротонирования преимущественно связан с электростатическим взаимодействием диссоциированной сульфогруппы и положительно заряженного КПАВ, что приводит к образованию ионного ассоциата, при этом характер спектра поглощения этой формы не изменяется [234, 240, 414]. Ассоциация по оскигруппам, связанным с системой сопряженных связей реагентов, сопровождается батохромным смещением полос поглощения соответствующих диссоциированных форм. Авторами было отмечено, что особое влияние на

изменение электронных спектров реагентов оказывает природа и длина углеводородного радикала присоединяемого ПАВ [234, 243, 244]. Присутствие в растворах ПГК и БПГК неионных и анионных ПАВ не оказывало влияние на их протолитические свойства [19, 58]. Исследования влияния КПАВ с различным строением и различной длиной гидрофильной группы показали, что батохромный эффект можно наблюдать только для КПАВ с длиной углеводородной цепи больше 10, при ее уменьшении происходит значительное снижение интенсивности полосы поглощения; напротив, характер гидрофильной группы никоим образом не влияет на данный эффект [234]. Наряду с электростатическими отмечаются и гидрофобные взаимодействия, в результате которых образуются гидрофобно-гидратированные контактные ионные пары [19, 240, 243, 276, 277]. Это явление приводит к локальному уменьшению полярности среды в микроокружении молекулы органического реагента. Данные эффекты подробно представлены в обобщающей монографии по аналитическому применению ПАВ и теории их воздействия на протолитические и комплексообразующие свойства реагентов [240]. Широкое использование КПАВ в анализе связано с особенностями комплексообразования хромофорных хелатообразующих лигандов, модифицированных ПАВ, с различными металлами [19, 20, 22, 49–53, 56, 103–105, 150–152, 167, 181–183, 208, 234, 236, 243, 244, 252–255, 276, 277, 374, 375, 386, 405, 409, 413]. В механизм многоцентрового взаимодействия вовлекаются как функционально-аналитические, так и аналитико-активные группировки. Таким образом, осуществляется многоцентровое взаимодействие с участием π-электронной системы хромофоров, это приводит к увеличению числа координированных лигандов многозарядными катионами металлов и повышению чувствительности реакции [19, 21, 240].

Комплексообразующие свойства пирогаллолового красного и бромпирогаллолового красного обусловлены наличием в молекулах этих реагентов четырех атомов кислорода, образующих функционально-аналитические группы. Взаимодействия в кислых средах с участием наиболее реакционноспособных ионных форм реагентов характеризуются высокой

контрастностью реакции; в зависимости от природы металла и диссоциированной формы реагента образуются комплексы различного состава [103].

Пирогаллоловый красный и бромпирогаллоловый красный не являются селективными реагентами и характеризуются высокой реакционной способностью к образованию комплексных соединений. К настоящему времени подробно изучены реакции комплексообразования ПГК и БПГК с рядом металлов и определены их химико-аналитические характеристики. Известны реакции взаимодействия данных хромогенных реагентов с ионами Cu(II), Co(II), Fe(II), Ni(II), Al(III), Fe (III), Sc(III), Ti(IV), Sb(V), V(V), Mo(VI), W(VI) и некоторых др. [17, 19, 20, 22, 49–53, 103–105, 150–152, 167, 181–183, 208, 234, 236, 243, 244, 252–255, 276, 277, 374, 375, 386, 405, 409, 413]. Можно также отметить, что круг металлов, взаимодействующих с бромпирогаллоловым красным, шире, что, вероятно, обусловлено более высокими значениями молярных коэффициентов поглощения, обеспечивающими увеличение чувствительности реакции.

Полученные авторами [255, 261, 406, 408] результаты исследований процессов коплексообразования алюминия с ПГК и БПГК показывают, что комплекс Al-БПГК образуется в более кислых средах (pH 2.5-3.5), чем комплекс Al-ПГК (pH 4.7-5.2), стехиометрическое соотношение для обоих комплексов равно 1:2, максимумы поглощения наблюдаются при λ=525-530 нм. Линейная зависимость аналитического сигнала от концентрации алюминия в растворе характеризуется узким диапазоном определяемых концентраций.

С использованием спектрофотометрического метода изучены комплексы титана и циркония с ПГК [52, 53, 240] и БПГК [323, 370]. Стехиометрический состав комплексов Ti(IV)–БПГК и Zr(IV)–БПГК равен 1:1 при pH 1.5-2.5, а для комплексов ПГК - 1:2 (pH 2.0 – 2.8). В случае, когда монодентатные реагенты занимают свободные координационные места комплексообразователя, стехиометрический состав комплекса равен 1:1. Данное соотношение получено и для комплекса Ga(IV)–БПГК при pH 3.0-4.0, характеризующимся высоким значением молярного коэффициента поглощения при длине волны 525 нм [408]. Процессы комплексообразования ПГК и БПГК с V(V), Mo(VI), W(VI), и РЗЭ

достаточно хорошо изучены, исследования по данным реакциям опубликованы в работах [13, 53, 167, 315, 333, 335]. Несмотря на достаточно большое число публикаций о свойствах и применении триоксифлуоронов для определения аналитов, исследования в этой области продолжаются.

Ранее уже было отмечено, что возможности использования пирогаллолового красного и бромпирогаллолового красного в качестве комплексообразующих реагентов могут быть значительно расширены при введении в систему поверхностно-активных веществ. Аналитические реакции элементов с реагентами, модифицированными ПАВ, существенно превосходят ранее известные реакции по контрастности реакции, пределу обнаружения и селективности. Литературные данные указывают на то, что присутствие ионогенных поверхностно-активных веществ или их смесей с неионогенными ПАВ приводит к возрастанию скорости комплексообразования между ионами металлов и реагентами (ПГК и БПГК), а также значительному увеличению молярных коэффициентов поглощения комплексов [103].

Весомый вклад в исследование комплексообразующих свойств полидентатных лигандов, модифицированных поверхностно-активными веществами, внесен группой ученых Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского. Исследования, выполненные рядом авторов [234, 240, 243, 244, 276, 277] при изучении влияния модифицирующего действия ПАВ, показывают, что изменение гидратации функционально-аналитических групп приводит к появлению совершенно новых химико-аналитических свойств реагентов. В монографии [240] описаны факторы, влияющие на чувствительность и селективность реакций комплексообразования полидентатных реагентов с металлами в присутствии ПАВ. Отмечено, что метрологические характеристики методик улучшаются с увеличением числа координированных лигандов в аналитических формах, проведении комплексообразования в сильнокислых средах и повышении устойчивости хелатов. Данные особенности могут проявляться в большей или меньшей степени,

но, как правило, их действие на различные системы Me–R–ПАВ носит аддитивный характер.

Исследованию процессов комплексообразования ПГК и БПГК с алюминием в присутствии различных КПАВ посвящен ряд публикаций, в которых отмечено, что комплексы Al(III)–ПГК–ЦТМА, Al(III)–БПГК–ЦТМА [408], а также Al(III)–БПГК–ЦП, Al(III)–БПГК–ЦП–ОП-7 и Al(III)–БПГК–ЦП–ОП-10 [152, 255, 408, 409], характеризуются интенсивными полосами поглощения с максимумами в области 610-620 нм. Отмечено, что образующиеся комплексы имеют большое число координированных лигандов.

Wyganowski C. изучено комплексообразование пирогаллолового красного и бромпирогаллолового красного с ионами Ga(III) в присутствии ЦТМА [408], отмечено, что полученные комплексы Ga(III)–ПГК–ЦТМА и Ga(III)–БПГК–ЦТМА имеют максимумы поглощения при λ=615 нм и λ=625 нм соответственно. Диапазон определяемых концентраций Ga(III) по реакции с БПГК в присутствии цетилтриметиламмония бромида составляет 0.1-0.4 мкг/мл. Изучены разнолигандные комплексы галлия с бромпирогаллоловым красным и бромидом цетилпиридиния, комплекс Ga(III)–БПГК–ЦП имеет максимум поглощения при длине волны 620 нм, стехиометрическое соотношение в составе равно 1:2:2 [50]. Японскими учеными был получен и исследован комплекс висмута (III) с пирогаллоловым красным в присутствии ЦТМА, стехиометрический состав комплекса Bi(III)–ПГК–ЦТМА равен 1:1:2, максимум поглощения наблюдается при λ=615 нм [413]. Разработана методика определения висмута (III) с использованием БПГК и ЦП . Максимальный выход комплекса Bi(III)–БПГК–ЦП состава 1:1:1 наблюдается в диапазоне pH 1.5–3.0 с максимумом поглощения при длине волны 630 нм. Линейная зависимость светопоглощения комплекса от концентрации висмута(III) сохраняется в диапазоне 0.2-5.5 мкг/мл [364].

Еще одним примером реакции комплексообразования с увеличением числа координированных лигандов является система Mo(VI)–БПГК–КПАВ [234]. Установлено, что БПГК взаимодействует с Mo(VI) с образованием двух продуктов комплексообразования: Mo(VI):БПГК=1:1 при (540 нм) и

Mo(VI):БПГК=1:2 при (630 нм). При добавлении КПАВ характер комплексообразования существенно изменяется, и в спектре преобладает одна интенсивная полоса поглощения при длине волны 630 нм. Образование ионного ассоциата БПГК–ЦП за счет присоединения КПАВ к диссоциированной сульфогруппе БПГК приводит к гидрофобизации частиц реагента и изменению состояния растворителя в ближайшем ее окружении. Известно, что молекулы воды являются конкурирующим лигандом при реакциях комплексообразования с органическими реагентами в водных растворах, изменение структуры воды приводит к изменению ее протолитических свойств. Так как ионы молибдена(VI) гидратированы, то вблизи ассоциата БПГК–ЦП происходит разрыхление гидратной оболочки молибдат иона и вытеснение воды лигандом, что способствует более легкой координации двух ионов БПГК [240, 276].

Для данной системы Mo(VI)–БПГК–КПАВ отмечается и эффект многоцентрового взаимодействия, основанный на присоединении большого числа КПАВ к реагенту, связанному в комплекс с ионом Mo(VI). При комплексообразовании иона металла по о–оксихиноновой группировке происходит разрыхление связи О–Н гидроксильной группы в положении 3, что способствует присоединению еще одного иона КПАВ в этом положении. Таким образом, в данной системе взаимодействие осуществляется как по функционально-аналитическим группировкам, так и по аналитико-активным, что позволяет максимально раскрыть предельные возможности увеличения контрастности реагентов [240].

Для ксантеновых красителей, к которым относятся ПГК и БПГК, характерна активация комплексообразования в сильнокислых средах в присутствии ПАВ. Данный эффект наблюдается для ряда легкогидролизирующихся ионов Ti(IV), Ge(IV), Sn(IV), Mo(VI), W(VI) и имеет наибольший практический интерес, так как в присутствии КПАВ существенно увеличиваются контрастность и чувствительность реакции.

Гонаго Л.И и соавтр. исследованы системы Ti(IV)–ПГК–ЦП и Ti(IV)–БПГК–ЦП [52, 53]. Механизм получения этих соединений в кислых средах (pH

2.1-2.9 и 1.5-3.5 соответственно) основан на образовании гидрофобного ассоциата по отрицательно заряженным сульфогруппам и взаимодействии титана с реакционноспособной депротонированной формой реагента с образованием хелатного ассоциата Ti:R:ЦП=1:2:2. Такой стехиометрический состав возможен только в том случае, когда титан координирует две молекулы реагента по о–оксихиноновой группировке. Координация металла приводит к разрыхлению гидроксильной группы в положении 3, что способствует присоединению по данной оксигруппе катиона ПАВ. Другими авторами исследована реакция взаимодействия Ti(IV) с ПГК в присутствии ЦТМА. Комплекс Ti(IV)–ПГК–ЦТМА получен при pH 2.0-2.5 и имеет максимум поглощения при λ=640 нм. Предложена методика определения титана(IV) в чугуне и сплавах, диапазон определяемых содержаний равен 0.04-0.40 мкг/мл [270].

Оптические эффекты, возникающие при образовании хелатов с участием модифицированных ПАВ реагентов, можно разделить на два типа. В первом случае наблюдается резкое возрастание в присутствии ПАВ интенсивности полосы поглощения, которая совпадает с полосой одного их бинарных комплексов Me–R_x, имеющего максимальное число координированных лигандов. Во втором случае могут наблюдаться и гипер-, и батохромные эффекты в присутствии ПАВ [240].

Для комплексов Mo(VI)–R–ПАВ и W(VI)–R–ПАВ повышение устойчивости хелатов сопровождается эффектами первого типа. Полученные комплексы характеризуются максимумами поглощения в диапазоне длин волн 590 – 630 нм [181, 183, 253]. В таблице 6 приведен состав комплексов ПГК и БПГК с металлами и диапазон значений pH существования этих соединений.

Таблица 6 – Состав комплексных соединений ПГК и БПГК с металлами

Металл	Система	$pH_{(опт)}$	λ_{max},нм	Me:R:X:Y	Литература
1	2	3	4	5	6
Пирогаллоловый красный					
Cu(II)	Cu(II)-ПГК	4.4-4.9	550	1:1	[151]
	Cu(II)-ПГК-ЦП	3.2-4.5	580		
	Cu(II)-ПГК-ЦП-ОП	3.5-4.5	570		
Al(III)	Al(III)-ПГК	4.9-5.1	525	-	[261]
		4.8-5.2	525	1:2	[408]
		3.6-4.1	470	-	[19]
	Al(III)-ПГК-ЦП	5.6	615	1:3:12	[418]
		3.5-3.9	600	1:3:9	[152]
	Al(III)-ПГК-ЦТМА	6.8-7.2	610	-	[408]
	Al(III)-ПГК-ЦП-ОП-7	3.5-3.9	600	1:3:9	[152]
Ga(III)	Ga(III)-ПГК	4.2-5.5	530	1:1	[408]
	Ga(III)-ПГК-ЦТМА	-	615	-	[408]
Ti(IV)	Ti(IV)-ПГК	2.6-2.8	460	1:2	[53]
		5.0-5.1	590	1:2	[370]
		3.1-3.9	510	1:2	[151]
	Ti(IV)-ПГК-ЦП	2.1-2.9	620	1:2:4	[48]
		2.5-2.7	630	-	[151]
	Ti(IV)-ПГК-ЦТМА	2.0-2.5	640	1:2:2	[240]
	Ti(IV)-ПГК-ЦП-ОП-7	2.5-3.0	630		[151]
Ge(IV)	Ge(IV)-ПГК	5.0	500	1:2	[240]
Sn(IV)	Sn(IV)-ПГК	1.5-2.0	470	1:2	[152]
	Sn(IV)-ПГК-ЦП	1.5-2.0	550	1:2:2	
	Sn(IV)-ПГК-ЦП-ОП-7	1.5-2.0	540	1:2:2	
V(V)	V(V)-ПГК	4.6-5.0	470	-	[361]
		-	460	1:1	[335]
	V(V)-ПГК-ЦП	2.0-3.0	575	1:1:1	[103]
	V(V)-ПГК-ЦП- ОП-7	2.0-3.0	575		
Mo(VI)	Mo(VI)-ПГК	-	475	1:1	[53]
		1.0	570	1:2	[167]

1	2	3	4	5	6
Mo(VI)		1.0	550	1:1	[167]
			470	1:2	[105]
	Mo(VI)-ПГК-ЦП	0.2-0.3	610	1:2:2	[53]
		6.2-7.5	580	-	[53]
		1.6-1.8	620	1:2:2	[105]
	Mo(VI)-ПГК-ЦТМА	3.5-4.4	600	1:2:4	[405]
	Mo(VI)-ПГК-ЦП-ОП-7	1.6-1.8	620	1:2:2	[105]
W(VI)	W(VI)-ПГК	0.5-1.3	420	-	[183]
	W(VI)-ПГК	-	470	1:1	[105]
	W(VI)-ПГК-ЦТМА	4.7	576	-	[386]
	W(VI)-ПГК-ЦП	1.6-1.7	610	1:1:1	[105]
	W(VI)-ПГК-ЦП-ОП-7	1.6-1.7	600	1:1:1	
Бромпирогаллоловый красный					
Cu(II)	Cu(II)-БПГК	3.7-4.3	610	1:1	[151]
	Cu(II)-БПГК-ЦП	3.5-5.0	620		
	Cu(II)-БПГК-ЦП-ОП	3.5-5.0	630		
Al(III)	Al(III)-БПГК	2.4-2.6	525	1:2	[19]
		2.4-3.3	560	1:2	[255]
		2.5-4.0	530	1:1	[406]
		2.2-3.9	525	-	[152]
	Al(III)-БПГК- ЦП	2.8-3.0	600	1:3:9	[240]
		2.8-3.0	600	1:3:9	[152]
	Al(III)-БПГК- ЦП-ОП-7	2.8-3.0	595	1:3:9	[152]
	Al(III)-БПГК- ЦП-ОП-10	5.8-6.5	620	1:3:3	[255]
	Al(III)-БПГК-ЦТМА	5.3-5.7	623	1:2:4	[408]
		5.3-5.7	627	1:2	[409]
Ga(III)	Ga(III)-БПГК	3.0	525	1:1	[50]
		2.0-4.0	525	1:1	[407]
	Ga(III)-БПГК-ЦП	2.2-2.9	620	1:2:2	[50]
	Ga(III)-БПГК-ЦТМА	4.8-5.2	625	1:3	[365]
Ti(IV)	Ti(IV)-БПГК	1.0-4.2	600	1:2	[52]
		2.4-2.6	620	1:1	[323]

1	2	3	4	5	6
Ti(IV)	Ti(IV)-БПГК	1.3-1.5	560	1:1	[370]
	Ti(IV)-БПГК-ЦП	1.5-3.5	620	1:3:3	[323]
Ge(IV)	Ge(IV)-БПГК	5.0	630	1:2	[51]
	Ge(IV)-БПГК-ЦТМА	0.1	500	1:3	[19]
Sn(IV)	Sn(IV)-БПГК	2.2-2.6	490	1:1	[412]
	Sn(IV)-БПГК-ЦП	0.9-1.3	550	1:1:1	[19]
		1.1-1.3	570	1:2:2	[152]
	Sn(IV)-БПГК-ЦП-ОП-7	1.1-1.3	565	1:2:2	
Sb(IV)	Sb(IV)-БПГК	6.6-6.8	615	1:1	[318]
V(V)	V(V)-БПГК	-	525	1:1	[103]
	V(V)-БПГК-ЦП	1.3-2.1	610	1:1:1	
	V(V)-БПГК-ЦП- ОП-7	1.3-2.1	580	1:1:1	
Mo(VI)	Mo(VI)- БПГК	-	425	-	[105]
		1.0	620	1:2	[234]
	Mo(VI)-БПГК-ЦП	1.1-1.2	625	1:2:2	[105]
		1.0	630	1:2:2	[13]
		1.0	630	1:2:2	[234]
	Mo(VI)-БПГК-ЦП-ОП-7	1.1-1.2	630	1:2:2	[105]
	Mo(VI)- БПГК-ЦТМА	1.0	630	1:2:2	[13]
	Mo(VI)- БПГК-Тритон Х-114	1.0-2.0	660	1:1:1	[49]
W(VI)	W(VI)-БПГК	3.0	540	1:1	[13]
			480	1:1	[105]
	W(VI)-БПГК-ЦП	1M HCl	610	1:1:2	[13]
	W(VI)-БПГК-ЦП		610	1:1:1	[105]
	W(VI)-БПГК-ЦП-ОП-7		620	1:1:1	
	W(VI)-БПГК-ОП-7	3.0	600	-	[13]

Можно также отметить, что в ряде случаев модифицирующее действие ПАВ может быть усилено применением различных добавок или смеси поверхностно-активных веществ. Так, предложен оригинальный подход к стабилизации малоустойчивых ассоциатов, образованных ПАВ, путем добавления

карбоксиметилцеллюлозы [375]. Для повышения устойчивости продуктов взаимодействия, контрастности реакции и увеличения диапазона pH комплексообразования чаще всего используют смеси ионногенных и неионогенных поверхностно-активных веществ [56, 58, 63, 253–255, 302, 319, 333, 335, 336, 339], этот прием позволил разработать методики определения ряда элементов в различных объектах [14, 20, 79, 80, 84, 97, 111, 118, 139, 213, 252, 270, 286, 307, 308, 315–318, 326, 328, 330, 333–336, 339, 340, 352, 353, 361, 364, 374, 377, 384, 388, 390, 391, 394, 403–410, 412, 415, 418].

Таким образом, многочисленные литературные данные свидетельствуют о значительном улучшении химико-аналитических характеристик комплексов в присутствии ПАВ, однако основная область этих исследований ограничена фотометрией в растворах. Варьирование свойств аналитических реагентов под влиянием организованных сред при иммобилизации реагентов в твердые матрицы может быть использовано для разработки методик сорбционно-спектроскопического и тест-определения аналитов с улучшенными метрологическими характеристиками.

1.5 Выводы к аналитическому обзору и постановка задач исследования

Как показывают литературные данные, твердофазные реагенты находят все более широкое применение при разработке сорбционно-спектроскопических и тест-методов определения аналитов различной природы. Весьма ценным свойством этих реагентов является возможность получать материалы с новыми аналитическими характеристиками за счет протекания процесса сорбции на твердых матрицах различной природы, приводящего к изменению протолитических и комплексообразующих свойств органических реагентов.

Наибольший интерес для иммобилизации реагентов представляют оптически прозрачные полимерные материалы, которые обеспечивают возможность спектрофотометрического измерения оптического сигнала,

формирующегося в результате взаимодействия аналита с иммобилизованным в полимер реагентом, а также позволяют проводить визуальную оценку окраски сорбента. Среди известных и успешно зарекомендовавших себя прозрачных сорбентов особый интерес представляет отвержденный желатиновый гель, нанесенный на прозрачную полимерную основу. Перспективность использования этого носителя в химическом анализе была отмечена и экспериментально подтверждена в ряде публикаций, авторы которых описывали применение готовых желатиновых слоев в качестве среды при разработке чувствительных элементов для определения различных соединений [135, 137, 138, 227, 275]. В настоящее время количество органических аналитических реагентов, иммобилизованных в отвержденный желатиновый гель для последующего определения аналитов, относительно невелико и постоянно пополняется. Не изучены, в частности, особенности поведения в среде желатинового геля перспективных реагентов ряда 3,4,5-тригидроксифлуоронов, в том числе пирогаллолового красного и бромпирогаллолового красного, широко используемых для фотометрического определения металлов.

Представляет интерес создание на основе отвержденного желатинового геля, модифицированного 3,4,5-тригидроксифлуоронами, оптически прозрачных чувствительных элементов для сорбционно-спектроскопического и визуального тест-определения аналитов.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

– изучение сорбционной способности желатина по отношению к 3,4,5-тригидроксифлуоронам, получение и исследование свойств желатиновых пленок, модифицированных 3,4,5-тригидроксифлуоронами;

– исследование модифицирующего действия желатиновой среды на оптические, кислотно-основные и комплексообразующие свойства иммобилизованных реагентов;

– изучение взаимодействия модифицированных желатиновых пленок с белками и тяжелыми металлами на примере Pb(II) и Cu(II);

– получение оптически прозрачных чувствительных элементов на основе модифицированного 3,4,5-тригидроксифлуоронами желатинового геля для сорбционно-спектроскопического и визуального тест-определения аналитов и оптимизация условий проведения индикаторных реакций;

– разработка методик определения Pb(II) и белков в реальных объектах.

ГЛАВА 2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Материалы, реактивы, растворы и использованное оборудование

Для выполнения экспериментальных исследований были использованы следующие средства измерений, устройства, материалы, реактивы:

– спектрофотометр UV-1800, «Shimadzu», Япония;

– волнодисперсионный рентгенофлуоресцентный анализатор ARL-Perform'X. Thermo Fisher Scientific, США;

– атомно-абсорбционный спектрометр АА-6800, «Shimadzu», Япония;

– автоэмиссионный сканирующий (растровый) электронный микроскоп сверхвысокого разрешения JEOL JSM-7500F, Япония;

– печь муфельная;

– электроаспиратор ПУ-3Э, Россия;

– иономер «Эксперт-001», Россия;

– электроплитка бытовая по ГОСТ 14919-83;

– весы аналитические лабораторные, ГОСТ 24104-80, класс точности 1, 2 WA-34 (Польша);

– колбы мерные 2-25-2, 2-50-2, 2-100-2, 2-250-2, 2-500-2, 2-1000-2, ГОСТ 1770-74;

– пипетки 1-1-2-1, 1-2-2-1, 1-2-2-5, 1-2-2-10, 2-2-2-5, 2-2-2-10, 2-2-2-25, 3-1-2-1, 3-1-2-2, 3-2-2-5, 3-2-2-20, ГОСТ 29227-91;

– дозаторы переменного объема Biohit 5–50, 50–200, 100–1000 мкл, 1–5 мл, «Biohit», Sartorius, США;

– воронки стеклянная типа В, ГОСТ 25336;

– кюветы кварцевые с толщиной поглощающего слоя 10.0 мм;

– фильтры беззольные синяя лента, ТУ 6-09-1678-95;

– фильтры АФА-ВП-18;

– фотографическая пленка для офсетной печати фирмы AGFA с толщиной желатинового слоя ~ 20 мкм, из которого полностью удаляли галогениды серебра, используя коммерческие растворы Agfa Graphics NV (Belgium);

– кислота соляная о.с.ч., ГОСТ 14261-77;

– кислота азотная о.с.ч., ГОСТ 11125-84;

– этанол перегнанный, ГОСТ 18300-72;

– натрия хлорид х.ч., ГОСТ 4233-77;

– калия хлорид х.ч., ГОСТ 4234-77;

– калия бромид х.ч., ГОСТ 4160-74;

– калия сернокислый х.ч., ГОСТ 4145-74;

– калия фосфат х.ч., ГОСТ 4190-75;

– калия гидроокись х.ч., ГОСТ 24363-80;

– кальций хлористый х.ч., ГОСТ 450-77;

– натрия гидроокись х.ч., ГОСТ 4328-77;

– натрий молибденовокислый 2-водный ч.д.а., ГОСТ 10931-74;

– натрий щавелевокислый ч.д.а., ГОСТ 5839-77;

– магний(II) сернокислый 7-водный х.ч., ГОСТ 4523-77;

– хлорид меди(II), «Fluka», purum > 98%;

– кобальт(II) сернокислый 7-водный х.ч. ГОСТ 4462-78;

– никеля(II) ацетат 4-водный х.ч. ТУ 6-09-02-516-91;

– кадмий(II) сернокислый 8/3-водный х.ч., ТУ 6-09-02-272-88;

– цинк(II) сернокислый 7-водный х.ч., ГОСТ 4174-77;

– свинца(II) нитрат х.ч., ГОСТ 1027-67;

– железа(III) хлорид, «Merck», purum > 99%;

– алюминий азотнокислый 9-водный ч.д.а, ГОСТ 3757-75;

– натрия ацетат х.ч., ГОСТ 2080-76;

– кислота уксусная х.ч., ГОСТ 61-75;

– соль динатриевая этилендиамин-N,N,N',N' – тетрауксусной кислоты, 2-водная (ЭДТА) х.ч., ГОСТ 10652-73;

– натрия тиосульфат 5-водный, ГОСТ 244-76;

– калия тетраоксалат х.ч., ГОСТ 8.135-2004;

– калия гидротартрат х.ч., ГОСТ 8.135-2004;

– калия гидрофталат чда.; ГОСТ 8.135-2004;

– натрия тетраборат 10-водный х.ч. ГОСТ 4199;

– тиомочевина х.ч., ГОСТ 6344-73;

– янтарная кислота х.ч., ГОСТ 6341-75;

– пирогаллоловый красный ч.д.а., «Нева Реактив»,ТУ 6-09-3265-66;

– бромпирогаллоловый красный ч.д.а., «Нева Реактив»,ТУ 6-09-07-279-74;

– hexadecylpyridinium chloride monohydrate, «Sigma», purum > 98.0% NT;

– додецилсульфат натрия ч.д.а., ТУ 6-09-10-1405-79;

– калибратор «Альбумин» 50г/л, ООО «Агат-Мед» сер. 11409/230514;

– калибратор «Общий белок» 60г/л, ООО «Агат-Мед» сер. 11409/230514;

– набор реагентов для определения содержания общего белка в сыворотке и плазме крови человека «ОБЩИЙ БЕЛОК ДиаС», ТУ 9398-002-78067494-2010, ЗАО «Диакон-ДС».

Значения pH рабочих буферных растворов контролировали на иономере «Эксперт-001» с помощью откалиброванного комбинированного стеклянного электрода ЭСК-10601/7.

Оптическую плотность растворов и пленок измеряли на спектрофотометре UV-1800, «Shimadzu», Япония.

Концентрацию свинца в растворе определяли на атомно-абсорбционном спектрометре (ААС) АА-6800 Shimadzu (лампа с полым катодом на свинец, дейтериевая лампа с полым катодом для коррекции фонового излучения, длина волны 283.3 нм).

Поверхностный слой желатина изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа JEOL JSM-7500F и волнодисперсионного рентгенофлуоресцентного анализатора ARL-Perfom'X.

Озоление фильтров с пробами проводили в муфельной печи при 500 °С.

Исходные растворы металлов готовили растворением точных навесок их солей в дистиллированной воде. Стандартизацию полученных растворов проводили

титриметрическим методом [263]. Рабочие растворы металлов с меньшей концентрацией готовили непосредственно в день анализа путем разбавления исходного раствора дистиллированной водой.

Растворы бромпирогаллолового красного и пирогаллолового красного готовили растворением точной навески реагентов квалификации «ч.д.а» в 1000 мл дистиллированной воды. Полученные растворы отфильтровывали. Растворы ПАВ готовили растворением точной навески в дистиллированной воде [57]. Растворы 1М HCl, 0.1М $Na_2S_2O_3$ и 0,05М ЭДТА готовили из фиксанала. Приготовление буферных растворов (500 мл) осуществляли по методике [85, 148]. Раствор оксалата натрия с концентрацией 3.0 мМ готовили растворением точной навески соли. Аналогичным образом готовили раствор янтарной кислоты с концентрацией 50мМ. Сукцинатный буферный раствор готовили путем смешивания растворов оксалата натрия и янтарной кислоты.

2.2 Методическое обеспечение экспериментальных исследований

2.2.1 Влияние различных факторов на процессы сорбции ПГК и БПГК в отвержденный желатиновый гель

Время наступления гетерогенного равновесия в системе «раствор/желатиновая пленка» изучали путем погружения прозрачных желатиновых пленок в растворы реагентов с концентрацией $2.0 \cdot 10^{-4}$ М при pH 4.5, пленки выдерживали в течение фиксированного времени, затем извлекали и высушивали. Оптическую плотность модифицированных желатиновых пленок измеряли на спектрофотометре UV-1800 фирмы SHIMADZU при длинах волн 580 нм в случае БПГК и 540 нм для ПГК, соответствующих максимумам поглощения пленок при заданных pH модифицирующих растворов. Пленки закрепляли в держателе непосредственно в кюветном отделении прибора.

Влияние кислотности среды на процесс сорбции устанавливали путем выдерживания сорбента в течение 50 минут в растворах красителей при различных pH, после высушивания модифицированные пленки фотометрировали. Необходимую кислотность растворов создавали добавлением едкого кали или азотной кислоты к исходному буферному раствору. Измерения pH проводили на pH-метре «Эксперт-001» с комбинированным электродом, предварительно проградуированным по стандартным буферным растворам.

Зависимость степени извлечения (R,%) и сорбционной емкости (а) желатина от времени устанавливали по оптической плотности пленок после их выдерживания в течение определенного времени в растворе красителя. Растворы органического реагента также фотометрировали до и после сорбции.

Степень извлечения (R,%) рассчитывали по формуле:

$$R,(\%)=(A_{исх}-A_{кон})/A_{исх}\times 100, \quad (2)$$

где $A_{исх}$ – оптическая плотность растворов до погружения прозрачных желатиновых пленок, $A_{кон}$ – оптическая плотность растворов после выдерживания желатиновых пленок.

Сорбционную емкость желатина (а) рассчитывали по формуле:

$$a(моль/г)= C_{исх}\times R\times V_{желатина}/m_{желатина}, \quad (3)$$

где $C_{исх}$ – исходная концентрация реагента, (моль/л); V – объём раствора, (л); R – степень извлечения реагента; $m_{желатина}$ – масса желатина, $m_{желатина}=S\times h\times \rho$ (г); ρ – плотность желатина, равная 1.35, (г/см^3); S – площадь плёнки, (см^2); h – толщина желатинового слоя ~ 0.002, (см).

Зависимость степени извлечения (R,%) и сорбционной емкости (а) желатина от концентрации реагента в модифицирующем растворе исследовали в условиях равновесия системы «раствор/желатиновая пленка». Прозрачные желатиновые пленки помещали в растворы красителя с различной концентрацией, выдерживали фиксированное время, после извлечения и высушивания фотометрировали. Растворы красителя также фотометрировали до и после сорбции. Рассчитывали количество сорбированного желатином реагента (а) по формуле (3) и его равновесную концентрацию в растворе. Влияние концентрации

реагентов на сорбционную способность желатиновых пленок описывали изотермами адсорбции.

Влияние этилового спирта на сорбцию ПГК и БПГК изучали, погружая прозрачные желатиновые пленки на 50 минут в растворы с постоянной концентрацией красителя и различным содержанием этилового спирта, после высушивания измеряли оптическую плотность модифицированных пленок.

Для изучения влияния ИПАВ на сорбционную способность желатина по отношению к ПГК и БПГК в колбы на 25.0 мл вносили 5.0 мл ацетатного буферного раствора, 10.0 мл органического красителя с концентрацией $5.0 \cdot 10^{-4}$ М и различный объем поверхностно – активных веществ с концентрацией $7.0 \cdot 10^{-3}$ М, объем доводили до метки. Аликвоту полученного раствора объемом 5.0 мл переносили в пробирки и погружали в них прозрачные желатиновые плёнки. После выдерживания в растворах в течение 50 минут пленки извлекали, высушивали и измеряли оптическую плотность твёрдых носителей.

Процесс десорбции реагентов изучали, погружая на 5 минут предварительно модифицированные ПГК или БПГК желатиновые пленки в растворы с различной концентрацией ПАВ и фиксированным значением pH объемом 5.0 мл, и после извлечения измеряли их оптическую плотность.

Степень удерживания органических красителей рассчитывали по формуле:

$$R^{*}(\%) = A_{исх}/A_{кон} \times 100, \qquad (4)$$

где R^{*} – степень удерживания реагента, %; $A_{исх}$ – оптическая плотность исходной пленки перед погружением в раствор; $A_{кон}$ – оптическая плотность пленки после выдерживания в растворе.

2.2.2 Изучение модифицирующего действия среды желатинового геля на оптические и протолитические свойства иммобилизованных реагентов

Для изучения влияния среды желатинового геля на протолитические свойства ПГК и БПГК были измерены константы кислотности этих реагентов в водных растворах и в желатиновом слое.

Для уточнения диапазонов преобладающего существования определённых форм реагентов в водных растворах проводили расчет мольных долей всех возможных форм этих четырехосновных кислот, используя значения констант кислотности ПГК ($К_{a1}=2.75\cdot10^{-3}$; $К_{a2}=5.25\cdot10^{-5}$; $К_{a3}=1.78\cdot10^{-10}$; $К_{a4}=1.15\cdot10^{-12}$) и БПГК ($К_{a1}=0.69$; $К_{a2}=4.07\cdot10^{-5}$; $К_{a3}=7.41\cdot10^{-10}$; $К_{a4}=5.37\cdot10^{-12}$), приведенные в [112, 389], вычисления проводили по формулам:

$$\alpha(H_4Ind) = \frac{\left[H^+\right]^4}{K_1K_2K_3K_4 + K_1K_2K_3\left[H^+\right] + K_1K_2\left[H^+\right]^2 + K_1\left[H^+\right]^3 + \left[H^+\right]^4} \quad (5)$$

$$\alpha(H_3Ind^-) = \frac{K_1\left[H^+\right]^3}{K_1K_2K_3K_4 + K_1K_2K_3\left[H^+\right] + K_1K_2\left[H^+\right]^2 + K_1\left[H^+\right]^3 + \left[H^+\right]^4}$$

$$\alpha(H_2Ind^{2-}) = \frac{K_1K_2\left[H^+\right]^2}{K_1K_2K_3K_4 + K_1K_2K_3\left[H^+\right] + K_1K_2\left[H^+\right]^2 + K_1\left[H^+\right]^3 + \left[H^+\right]^4}$$

$$\alpha(HInd^{3-}) = \frac{K_1K_2K_3\left[H^+\right]}{K_1K_2K_3K_4 + K_1K_2K_3\left[H^+\right] + K_1K_2\left[H^+\right]^2 + K_1\left[H^+\right]^3 + \left[H^+\right]^4}$$

$$\alpha(Ind^{4-}) = \frac{K_1K_2K_3K_4}{K_1K_2K_3K_4 + K_1K_2K_3\left[H^+\right] + K_1K_2\left[H^+\right]^2 + K_1\left[H^+\right]^3 + \left[H^+\right]^4}$$

Определение констант диссоциации ПГК и БПГК проводили спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность растворов реагентов с pH

в диапазоне от 1.0 до 12.0, при этом концентрации реагентов во всех растворах оставались постоянными. Для изучения влияния ПАВ на протолитические свойства реагентов аналогичный эксперимент проводили также в присутствии катионного (цетилпиридиний хлорид) или анионного (додецилсульфат натрия) ПАВ. Для приготовления растворов в мерные колбы объёмом 25.0 мл вносили 2.5 мл раствора ПГК или БПГК с концентрацией $5.0 \cdot 10^{-4}$ М, 5.0 мл буферного раствора, добавляли определенный объем кислоты или щелочи для создания растворов с соответствующими значениями pH и доводили объем до метки дистиллированной водой. Растворы, содержащие ПАВ, готовили аналогичным способом, добавляя 0.5 мл ПАВ с концентрацией $2.5 \cdot 10^{-5}$ М.

Влияние желатиновой матрицы на протолитические свойства ПГК и БПГК исследовали с использованием растворов с определенным значением pH, не содержащих ПАВ и в присутствии КПАВ или АПАВ, в растворы на 5 минут погружали предварительно модифицированные ПГК или БПГК желатиновые пленки и после их извлечения измеряли оптическую плотность относительно бесцветного образца. Уравнение реакции, описывающее кислотно-основное равновесие в гетерогенной системе «раствор/желатиновая пленка», представляли в общем виде:

$$\overline{HR} \Leftrightarrow \overline{R} + H^{+},$$

где чертой над формулами обозначены частицы, находящиеся в фазе желатина; заряд частиц красителя опущен.

Оценку константы равновесия, имеющей вид:

$$K_a^{ac} = 10^{-\mathrm{pH}} \cdot \frac{[\overline{\mathrm{R}}]}{[\overline{\mathrm{HR}}]}, \qquad (6)$$

проводили спектрофотометрическим методом [224]. Для подтверждения постоянства констант кислотности проверяли линейность зависимости логарифма индикаторного отношения Q от pH раствора; индикаторное отношение рассчитывали по формуле:

$$Q = \frac{[\overline{R}]}{[\overline{HR}]} = \frac{A - A_{HR}}{A_R - A}, \quad (7)$$

где A_R и A_{HR} – поглощение пленок, содержащих только форму R или HR; A – поглощение пленки, содержащей обе формы.

Расчет pK_a вели по уравнению:

$$p\text{К}_\text{a} = pH + \lg\frac{\text{A}_\text{R} - \text{A}}{\text{A} - \text{A}_\text{HR}}, \quad (8)$$

значения A_R и A_{HR} находили по ординатам горизонтальных участков зависимости оптической плотности пленки от pH раствора. Для каждого индикатора было получено 15 – 20 значений констант, которые усредняли.

2.2.3 Взаимодействия ПГК и БПГК с белком в растворах

Реакцию органических красителей с белком проводили в растворе сукцинатного буфера с pH 2.5 в присутствии различных добавок. К аликвоте 4.0 мл раствора определенного состава добавляли 0.1 мл стандартного раствора альбумина с концентрацией 50 г/л и 0.9 мл физиологического раствора и измеряли оптическую плотность полученного раствора. Составы растворов представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Составы исследуемых растворов

Компонент	Состав растворов				
	1	2	3	4	5
Сукцинатный буфер с pH 2.5	+	+	+	+	+
C_R ($6.0\cdot10^{-5}$ M)	+	+	+	+	+
$C_{Mo(VI)}$ ($4.0\cdot10^{-5}$M)	-	+	+	+	+
Этиловый спирт, 8.0 об.%	-	-	+	-	+
Тритон X-100, 0.03 масс.%	-	-	-	+	+

Выбор оптимального состава буферного раствора осуществляли по спектрам поглощения растворов с учетом различия в значениях оптической плотности растворов, содержащих альбумин, буфер и добавки, и оптической плотности раствора аналогичного состава, не содержащего альбумин.

Влияние pH среды на реакцию взаимодействия органических красителей с молекулами белка изучали в статических условиях. К 25 мл буферного раствора, содержащего органический реагент и молибдат–ионы с концентрациями $6.0 \cdot 10^{-5}$М и $4.0 \cdot 10^{-5}$М соответственно, вносили 50 мкл раствора альбумина с концентрацией 50 г/л. Кислотность растворов варьировали в диапазоне значений pH 1.5 – 4.5. Измеряли оптическую плотность полученных растворов относительно растворов сравнения при 600 нм.

Стехиометрическое соотношение в составе соединения, образующегося в результате реакции между комплексом R–Mo(VI) и молекулами белка, определяли методами Асмуса, молярных отношений (методом насыщения) и Бента–Френча (ограниченно–логарифмическим) [2, 24].

При использовании метода Асмуса готовили серию из 10 растворов с постоянной концентрацией комплексного реагента R–Mo(VI), содержащих сукцинатный буфер с pH 2.5. В каждый раствор добавляли определенный объем альбумина $V_{альбумина}$ и после доведения объемов растворов до метки в мерной колбе измеряли оптическую плотность A растворов в кювете с толщиной поглощающего слоя l см при 600 нм, после чего строили зависимости $\frac{1}{V_{альбумина}^{n}} \cdot 10^{-n}$ от отношения *l/A* при различных задаваемых значениях n. Прямая линия соответствует истинному значению n.

Для установления стехиометрии методом молярных отношений готовили серию растворов с pH 2.5, постоянной концентрацией комплексного реагента (R–Mo(VI)) и переменной концентрацией альбумина. После измерения оптической плотности полученных растворов относительно растворов комплексного реагента строили зависимость A от концентрации альбумина. Стехиометрический состав полученного соединения определяли по кривым насыщения, которые получали из

пяти серий параллельных измерений. Точка перегиба кривых, соответствующая отношению концентраций реагирующих компонентов, отвечает отношению стехиометрических коэффициентов в составе соединения R–Mo(VI):альбумин.

Логарифмическую зависимость оптической плотности A раствора от концентрации альбумина устанавливали методом Бента–Френча [2]. Для этого растворы комплексного реагента и альбумина смешивали таким образом, чтобы начальная концентрация реагента была постоянной, а концентрация альбумина непрерывно возрастала; общий объем смеси при этом оставался неизменным. Измеряли оптические плотности приготовленных растворов и строили график логарифмической зависимости lgA от $lgC_{альбумина}$. При постоянной концентрации комплексного реагента полученная зависимость выражается прямой линией, угловой коэффициент которой равен искомому стехиометрическому коэффициенту n.

Для построения градуировочного графика в пробирки вносили раствор реагента и соответствующий объем стандартного раствора белка. Растворы перемешивали и измеряли оптическую плотность в кювете с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения на спектрофотометре при 600 нм. Раствор сравнения готовили добавлением к реагенту соответствующего объема физиологического раствора. Строили графическую зависимость A от $C_{альбумина}$, оценивали диапазон определяемых концентраций и по 3S-критерию рассчитывали предел обнаружения [54]:

$$C_{min} = \frac{3S}{tg\alpha}, \quad (9)$$

где S – стандартное отклонение фонового значения,

$$S = \sqrt{\frac{\sum(\Delta_i^2)}{n-1}}, \quad (10)$$

tgα – тангенс угла наклона градуировочной кривой.

2.2.4 Изучение реакции между белком в растворе и ПГК, иммобилизованным в желатиновую матрицу

Изучение оптимального времени контакта фаз при проведении реакции между белком и реагентом, иммобилизованным в желатиновую пленку, проводили, погружая на различное фиксированное время предварительно модифицированные ПГК–пленки в растворы с постоянной концентрацией альбумина, после извлечения из растворов пленки фотометрировали при 600 нм. В качестве аналитического сигнала использовали ΔА – т.е. разность оптических плотностей фоновой пленки и пленки после выдерживания в растворе аналита.

Исследование концентрационной зависимости аналитического сигнала от содержания белка в растворе проводили с использованием пленок, модифицированных ПГК из растворов с различной концентрацией красителя. Индикаторные пленки погружали в растворы с различными концентрациями белка, содержащие сукцинатный буфер с pH 2.5 и молибдат натрия. Для изучения влияния этилового спирта на оптическую плотность пленок аналогичный эксперимент проводили с растворами, содержащими этанол 8.0 об.%. В качестве стандартного раствора белка использовали калибратор «Общий белок» и «Альбумин». Оптические плотности полученных пленок измеряли при 600 нм. Оценивали метрологические характеристики методики определения белка по реакции взаимодействия с твердофазным реагентом.

2.2.5 Установление состава и прочности комплексов ПГК и БПГК с Pb(II) и Cu(II)

Состав и устойчивость комплексов Me:ПГК и Me:БПГК, образующихся в растворах с различной кислотностью, устанавливали методами Асмуса и изомолярных серий [23, 24].

Для определения состава методом Асмуса готовили серию из 10 растворов с постоянной концентрацией металла (II) $2.0 \cdot 10^{-5}$ М, содержащих ацетатный буфер с

pH 4.5. В каждый раствор добавляли определенный объем реагента V_R и после доведения объемов растворов до метки измеряли оптическую плотность A растворов в кювете с толщиной поглощающего слоя l, после чего строили зависимости $\frac{1}{V_R^n} \cdot 10^{-n}$ от отношения l/A при различных задаваемых значениях n. Прямая линия соответствует истинному значению n.

Определение состава и констант устойчивости комплексов методом изомолярных серий для растворов с pH 3.5 и 4.5 проводили с использованием двух изомолярных серий растворов для каждого значения pH. Суммарные концентрации металла и красителя в растворах изомолярных серий были равны $1.0 \cdot 10^{-4}$ и $4.0 \cdot 10^{-4}$ М. Для приготовления растворов использовали исходные растворы металла и реагента равных концентраций и смешивали их в антибатных соотношениях от 0 : 10 до 10 : 0, сохраняя общий объем раствора постоянным. Строили кривую зависимости выхода комплекса от состава раствора, которая характеризуется экстремальной точкой, положение которой на оси абсцисс связано со стехиометрическими коэффициентами m и n и соответствует максимальному выходу образующегося комплексного соединения Me_mR_n.

2.2.6 Оптимизация условий гетерофазных реакций Pb(II) и Cu(II) с ПГК и БПГК, иммобилизованными в отвержденный желатиновый гель

Для изучения процесса комплексообразования, протекающего в желатиновом слое во времени, предварительно модифицированные желатиновые пленки опускали в растворы Pb(II) и Cu(II) с различной концентрацией, варьировали время контакта фаз. После извлечения измеряли оптическую плотность пленок при длине волны максимума поглощения комплексов относительно прозрачной пленки.

Выбор оптимального значения pH среды проводили, измеряя оптическую плотность индикаторных пленок после их выдерживания в течение 50 минут в

растворах с постоянным содержанием Pb(II) или Cu(II) и различным pH. Кислотность варьировали в диапазоне значений pH 1.2−10.0.

Зависимость аналитического сигнала от концентрации свинца для реакции, протекающей в пленках или в растворе, изучали с использованием серии растворов с концентрациями Pb(II) в диапазоне от $1\cdot10^{-5}$ до $1\cdot10^{-4}$М. В случае проведения гетерофазной аналитической реакции пленки, модифицированные БПГК, погружали в растворы на 50 минут, после чего их фотометрировали. Параллельно проводили эксперимент для водных растворов с 1.5-кратным избытком реагента. Оптическую плотность пленок и водных растворов измеряли при длине волны 610 нм, соответствующей максимуму поглощения комплекса.

Для построения градуировочного графика готовили серии растворов с различной концентрацией Pb(II) или Cu(II) в диапазоне от $1\cdot10^{-6}$ до $1\cdot10^{-4}$ М, pH растворов поддерживали постоянным добавлением ацетатного буфера с pH 4.5. В растворы опускали индикаторные пленки, выдерживали 50 минут, после чего пленки фотометрировали при длинах волн максимумов поглощения комплексов. Предел обнаружения рассчитывали по общепринятой формуле (9).

Поверхностный слой желатина с иммобилизованным бромпирогаллоловым красным и его комплексом со свинцом изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа JEOL JSM-7500F и волно-дисперсионного рентгенофлуоресцентного анализатора ARL-Perfom'X.

Для изучения влияния посторонних ионов на аналитический сигнал свинца по реакции с бромпирогаллоловым красным, иммобилизованным в желатиновый слой, путем последовательного разбавления готовили $5\cdot10^{-2}$, $5\cdot10^{-3}$, $5\cdot10^{-4}$, $5\cdot10^{-5}$, $5\cdot10^{-6}$ М растворы компонентов, мешающее влияние которых исследовалось. В мерную колбу на 25 $см^3$ вносили 2.5 $см^3$ $5\cdot10^{-4}$ М раствора свинца, 5 $см^3$ ацетатного буфера с pH 4.5 и такое количество раствора постороннего иона, чтобы соотношение свинец:посторонний ион в растворах было равно 1:0.01; 1:0.1; 1:1; 1:10, 1:100. В растворы опускали индикаторные пленки и после их выдерживания в течение 50 минут измеряли оптическую плотность при длине волны максимума поглощения комплекса Pb–БПГК 610 нм.

2.2.7 Установление состава и устойчивости комплексов, образующихся в двухфазной системе «раствор/желатиновая пленка»

Состав и устойчивость комплексов, образующихся в двухфазной системе «раствор/желатиновая пленка», устанавливали методом насыщения (молярных отношений) согласно методике, описанной в работах [216, 224]. Для получения кривой насыщения готовили две серии растворов с pH 3.5 и 4.5; каждая серия состояла из 7-8 растворов, концентрация металлов в которых варьировалась от $5.0 \cdot 10^{-7}$ до $5.0 \cdot 10^{-5}$ М. В растворы на 50 минут погружали образцы индикаторной пленки размером 0.7×2.0 см.

Общую концентрацию иммобилизованного в каждой пленке БПГК или ПГК, $\overline{C_R}$, находили по данным измерения оптической плотности реагента в водном растворе до и после иммобилизации. Растворы фотометрировали при длинах волн максимума поглощения реагентов.

Молярную концентрацию реагента в среде желатинового геля вычисляли по формуле:

$$\overline{C_R} = \frac{\left[C_{1R} - C_{2R}\right] \cdot V}{V_{ж}}, \qquad (11)$$

где C_{1R} и C_{2R} – концентрации ПГК или БПГК в растворе до и после погружения в него пленки; $V_ж$ – объем желатиновой фазы, вычисленный из геометрических размеров пленки; V – объем раствора, 5 мл.

Общую концентрацию металла в фазе желатинового геля, $\overline{C_{Me}}$, находили из соотношения (заряд иона металла опущен):

$$\overline{C_{Me}} = \frac{\left[C_{1Me} - C_{2Me}\right] \cdot V}{V_{ж}}, \qquad (12)$$

где C_{1Me} и C_{2Me} – начальная и остаточная концентрации иона Me в растворе до и после погружения в него пленки с реагентом. Концентрации C_{1Me} и C_{2Me} устанавливали методом атомно-абсорбционной спектроскопии.

По кривой насыщения, представляющей зависимость поглощения комплекса в пленке от величины $\overline{C_{Me}}$, находили значение $\overline{C_{Me}}'$, соответствующее абсциссе точки пересечения касательных к линейным участкам графика. Эта концентрация отвечает максимальной концентрации комплекса, который может образоваться в выбранных условиях в желатиновой матрице. Соотношение металл:реагент в составе комплекса приравнивали соотношению $\overline{C_{Me}}' : \overline{C_{Me}}$.

Из полученных кривых насыщения оценивали коэффициент распределения (*D*) металла в двухфазной системе «раствор/желатиновая пленка», степень извлечения металла (*R, %)* одним образцом индикаторной пленки площадью ~1.4 см^2 ($V_ж$~$2.8\cdot10^{-6}$дм^3) из 5 мл раствора, а также условную константу(β') равновесия процесса взаимодействия Me(II) с твердофазным реагентом (заряд частиц опущен):

$$Me + \overline{R} \Leftrightarrow \overline{MeR},$$

которую рассчитывали как:

$$\beta' = \frac{\overline{C_{MeR}}}{C_{Me} \cdot \overline{C_R}^*}, \qquad (13)$$

где C_{Me} – остаточная концентрация металла в растворе после извлечения пленок с реагентом, $\overline{C_{MeR}}$ и $\overline{C_R}^*$ – молярные концентрации комплекса и несвязанного в комплекс реагента в объемной фазе желатинового геля, $\overline{C_R}^* = \overline{C_R} - \{\overline{C_{MeR}}\}$.

Количественные характеристики *D* и *R* рассчитывали по уравнениям:

$$D = \frac{\overline{C_{Me}}}{C_{Me}}, \qquad R, \% = \frac{100D}{D + 1/r}, \qquad (14)$$

где C_{Me} – концентрация металла в растворе после извлечения одной пленки с реагентом, r= $V_ж$/ $V_{р\text{-}ра}$.

2.2.8 Исследование суммарного аналитического сигнала модифицированных желатиновых пленок на примере бинарной системы Pb(II) - Cu(II)

Аддитивность оптической плотности модифицированных желатиновых пленок после их выдерживания в растворах, содержащих 2 или более компонентов, изучали на примере бинарной системы Pb(II) – Cu(II) с использованием метода эквимолярных растворов. Готовили 8-10 растворов с различными суммарными эквимолярными концентрациями компонентов, в полученные растворы погружали предварительно модифицированные БПГК пленки и выдерживали в течение 50 минут. В одинаковых условиях измеряли светопоглощение пленок и получали выборку m. Среднее значение этой выборки есть – $A_{\sum}$, а ее дисперсия S^2_1.

Готовили также растворы компонентов с такими же концентрациями, как и в смеси, модифицированные пленки погружали в полученные растворы на 50 минут, после извлечения из растворов измеряли оптическую плотность пленок, полученные результаты складывали. Среднее значение этой выборки есть – $\sum A$, а ее дисперсия S^2_2. Полученные результаты статистически обрабатывали по 3S-критерию. При условии $\Delta A < 3S$ [27, 33, 35, 36, 38] систему считали аддитивной. Значения ΔA и $3S$ рассчитывали по формулам:

$$\Delta A = \sum A_i - A_{\sum}, \quad (15)$$

где ΣA_i – сумма оптических плотностей компонентов системы; A_{Σ} – оптическая плотность суммы компонентов системы.

$$3S = 3 \cdot \sqrt{\frac{\Sigma\left(A_{i\Sigma} - A_{\text{среднее }\Sigma}\right)^2}{n-1}}, \quad (16)$$

где $A_{i\sum}$ – отдельное значение; $A_{cp\sum}$ – среднее всех x_i; n – общее число измерений [74].

Эксперимент дублировали методом изомолярных отношений. Готовили ряд двухкомпонентных модельных смесей, в которых содержание Cu(II) уменьшали, а Pb(II) увеличивали, сохраняя постоянство суммарной концентрации обоих компонентов. Отдельно готовили растворы, содержащие только Cu(II) или только Pb(II). Полученные растворы и пленки фотометрировали в одинаковых условиях. Результаты обрабатывали по 3S-критерию, который находили для каждой точки.

ГЛАВА 3 СОРБЦИЯ 3,4,5 – ТРИГИДРОКСИФЛУОРОНОВ В ОТВЕРЖДЕННЫЙ ЖЕЛАТИНОВЫЙ ГЕЛЬ И ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЖЕЛАТИНОВОЙ СРЕДЫ НА ПРОТОЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РЕАГЕНТОВ

3.1 Исследование сорбции ПГК и БПГК в отвержденный желатиновый гель

Сорбционная способность отвержденного желатинового геля определяется рядом важнейших факторов, влияющих на процесс его набухания и структуру полимерной матрицы. Желатин является полярным высокомолекулярным полимером, процесс набухания которого, как известно, зависит главным образом от природы и полярности низкомолекулярного растворителя, величины pH раствора, а также от природы растворенных веществ [47, 75, 99, 123, 164, 271]. Наличие гидрофильных групп в молекулах ПГК и БПГК позволяет предположить высокую сорбционную способность желатина по отношению к этим реагентам. В данной работе исследовались закономерности сорбции пирогаллолового и бромпирогаллолового красного в отвержденный желатиновый гель.

Ранее было отмечено [223, 224], что сорбционная способность желатиновых матриц зависит от природы функциональных групп и заместителей в молекуле реагента. Молекулы реагентов, обладающие гидрофильными свойствами, в наибольшей степени способны к иммобилизации в желатиновый гель. Как показали наши исследования, сродство желатина к 3,9-ди(о-2,3-эпоксипропил)пирогаллоловому красному (вещество синтезировано и любезно предоставлено В.М.Островской), содержащему гидрофобные эпоксипропильные группировки (рисунок 5), значительно меньше по сравнению с его более гидрофильными аналогами – ПГК и БПГК (рисунок 6,7).

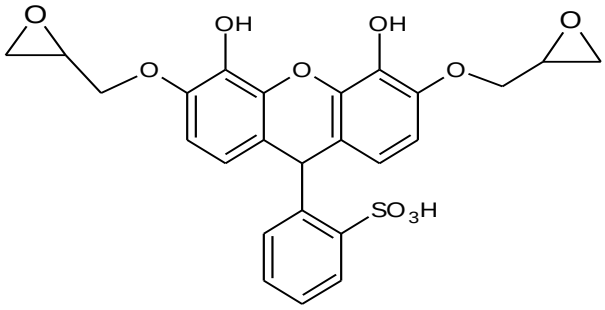


Рисунок 5 – 3,9-ди(о-2,3-эпоксипропил)пирогаллоловый красный

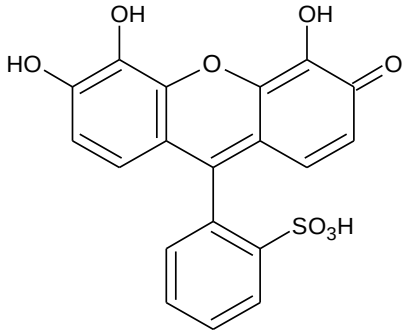


Рисунок 6 – Пирогаллоловый красный

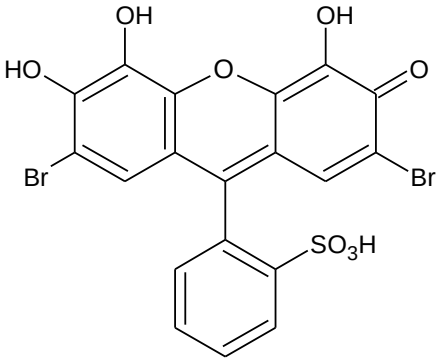


Рисунок 7 – Бромпирогаллоловый красный

Время установления гетерогенного равновесия в системе «раствор/желатиновая пленка», видимо, в большей степени определяется природой желатина и для обоих реагентов – ПГК и БПГК – одинаково и составляет около 50 минут (рисунок 8).

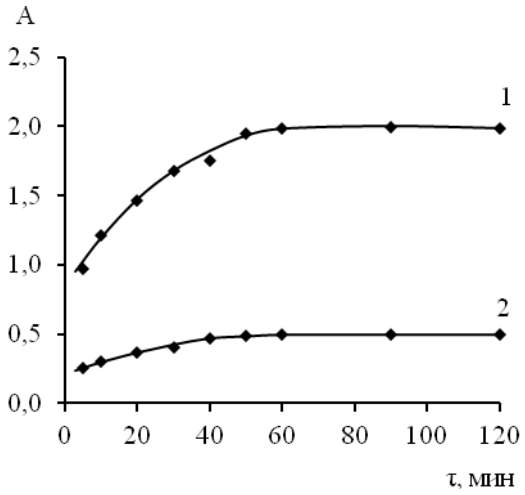


Рисунок 8 – Зависимость оптической плотности пленок от времени выдерживания в $2.0 \cdot 10^{-4}$ М растворах БПГК,580 нм (1) и ПГК, 540 нм (2), pH 4.5

Полученные нами данные показывают, что на сорбционную способность желатина по отношению к ПГК и БПГК заметно влияет pH среды [257]. На рисунке 9 представлены зависимости оптической плотности модифицированных ПГК и БПГК желатиновых пленок от кислотности среды.

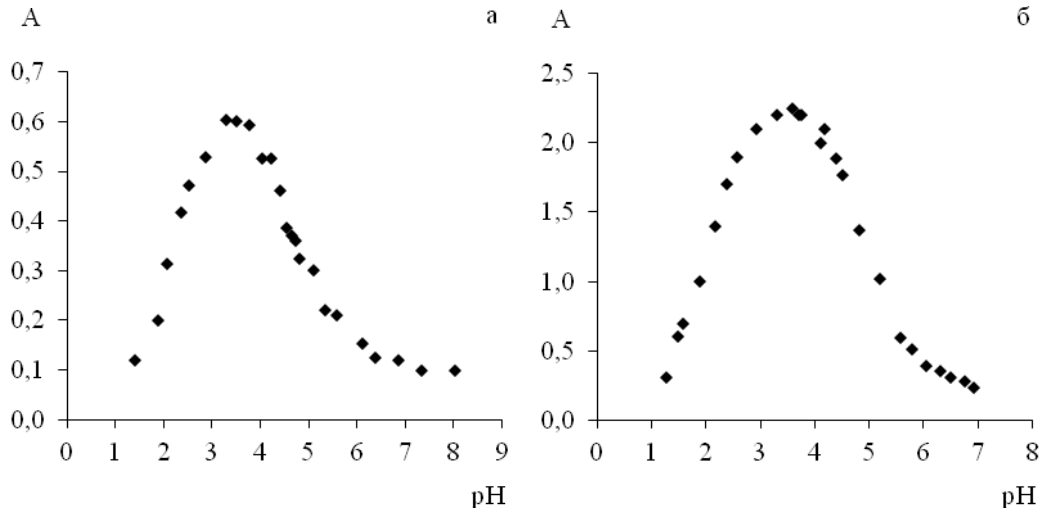


Рисунок 9 – Зависимость оптической плотности модифицированных желатиновых пленок от pH раствора после выдерживания в $2.0 \cdot 10^{-4}$М растворах реагентов в течение 50 минут: а) ПГК, λ 540 нм; б) БПГК, λ 580 нм

Оптическая плотность полученных пленок максимальна в диапазоне pH от 2.5 до 4.5. С учетом литературных данных о том, что набухание желатина минимально при значениях pH, близких к изоэлектрической точке желатина (в нашем случае 4.5), и максимально при значениях pH 3.2–3.5, [99, 149. 164, 301]дальнейшие исследования проводили при данных значениях pH растворов.

Для количественной оценки сорбции ПГК и БПГК в отвержденный желатиновый гель рассчитывали степень извлечения реагентов *(R)* и сорбционную емкость желатина *(a).* Степень извлечения обоих реагентов достигает предельного значения примерно через 50 минут контакта сорбента с растворами реагентов (рисунок 10).

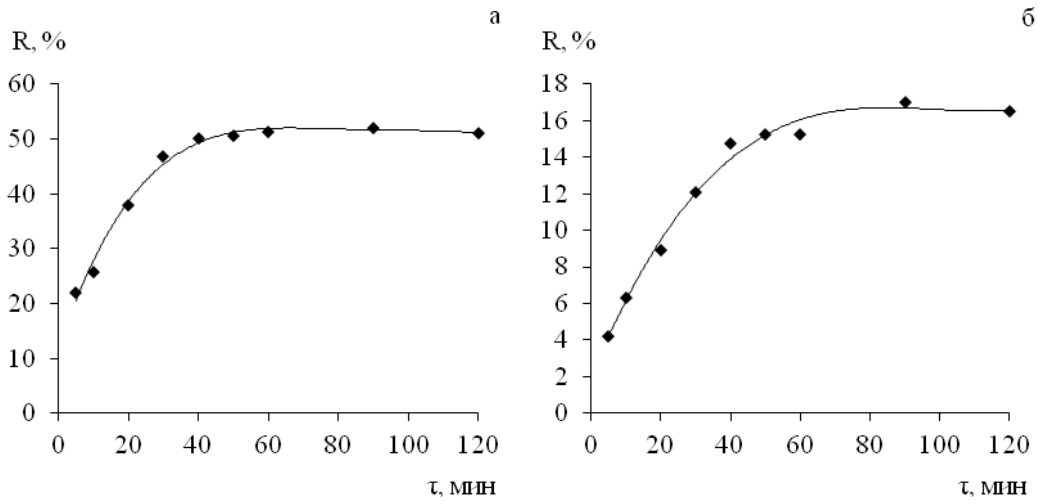


Рисунок 10 – Зависимость степени извлечения ПГК (а) и БПГК (б) от времени контакта желатиновых матриц с $2.0 \cdot 10^{-4}$ М растворами реагентов

Минимальные концентрации красителей ПГК и БПГК, сорбируемых в плёнку, составляют $1.0 \cdot 10^{-4}$М и $2.0 \cdot 10^{-5}$М соответственно. При меньшей концентрации сорбирующийся в желатиновый слой реагент инструментально не фиксируется. Максимальная концентрация ПГК и БПГК составляет соответственно $1.0 \cdot 10^{-3}$М и $8.5 \cdot 10^{-4}$М. При большей концентрации реагенты постепенно выпадают в осадок. В указанном диапазоне с увеличением

концентрации органических красителей степень их извлечения в желатиновую матрицу возрастает. Влияние концентрации реагентов на сорбционную способность желатиновых пленок описывали изотермами адсорбции, представляющими собой зависимость количества сорбированного реагента от его равновесной концентрации в растворе [228]. Примеры полученных графических зависимостей сорбционной емкости желатина от равновесной концентрации сорбируемого реагента представлены на рисунке 11.

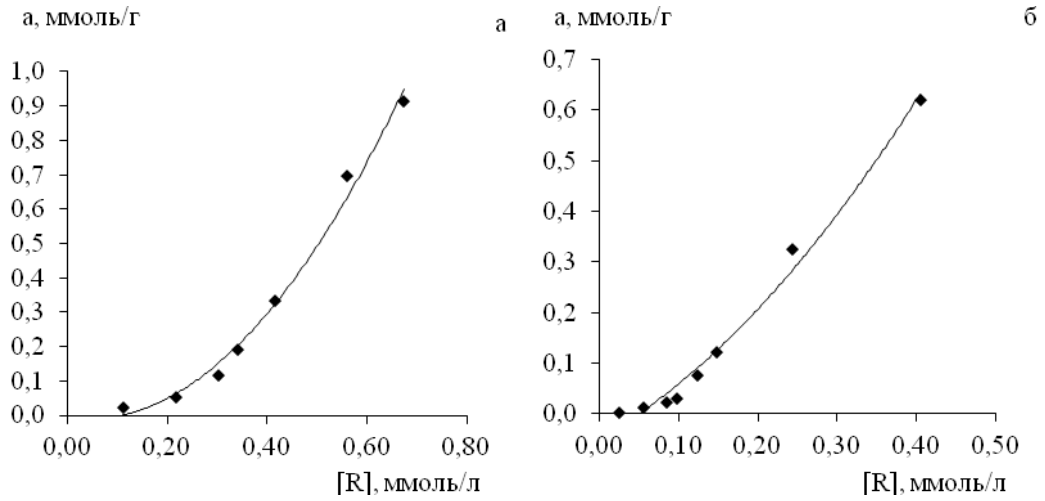


Рисунок 11 – Изотермы сорбции ПГК при pH 4.5 (а) и БПГК при pH 3.5 (б)

С учетом классификации изотерм адсорбции, предложенной С. Брунауэром [90, 116], полученные зависимости можно отнести к III типу изотерм, характерных для непористых сорбентов с однородной поверхностью. Вогнутый характер начального этапа кривой обычно связывают с полимолекулярной адсорбцией, а также с высокой степенью межмолекулярного взаимодействия адсорбированных молекул. На рисунке 12 изотермы адсорбции представлены в линейных координатах уравнения Фрейндлиха:

$$Ln(a)=LnK_f+1/\mathrm{n}\mathrm{Ln}C_p\,, \qquad (17)$$

где C_p – равновесная концентрация адсорбата (ммоль/л), а – количество сорбируемого реагента на единицу массы адсорбента в состоянии равновесия

(ммоль/г), K_f – константа изотермы Фрейндлиха (ммоль/г), 1/n – интенсивность адсорбции (сорбционный показатель). Полученные константы приведены в таблице 8.

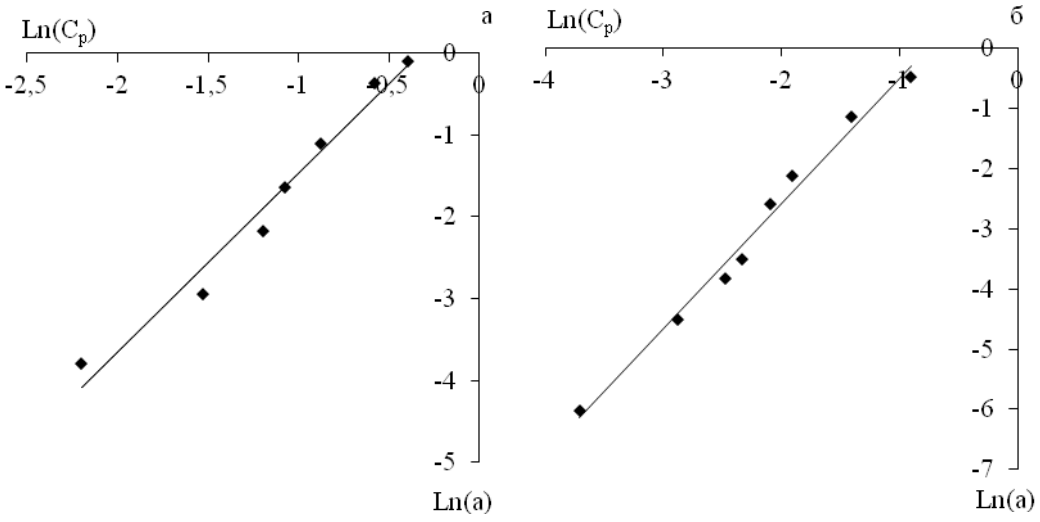


Рисунок 12 – Изотермы адсорбции в линейных координатах уравнения Фрейндлиха

Таблица 8 – Константы линейного уравнения Фрейндлиха и характеристики процесса сорбции

Органический реагент	K_f	n	$Ln(K_f)$	1/n
ПГК	4.90±0.01	0.46±0.02	0.72±0.01	2.2±0.1
БПГК	2.00±0.01	0.48±0.01	1.60±0.01	2.1±0.1

Из полученных результатов видно, что тангенсы угла наклона, характеризующие, в основном, природу адсорбата и его способность к сорбции, для обоих реагентов близки между собой. Значение константы LnK_f, зависит как от природы адсорбата, так и адсорбента и может варьироваться в широких пределах.

Как уже было отмечено выше, в процессе изучения сорбции ПГК и БПГК верхняя граница концентраций растворов, используемых для модификации

желатиновых пленок, ограничивалась растворимостью реагентов в воде. С целью повышения степени извлечения красителей нами изучалась возможность увеличения их предельной концентрации за счет изменения состава растворителя. Для увеличения растворимости красителей растворы ПГК и БПГК обычно готовят с добавлением спирта [22, 182, 374]. Однако, как показали результаты эксперимента, с увеличением объемной доли этилового спирта в растворе происходит уменьшение оптической плотности желатиновой матрицы (рисунок 13), что можно объяснить влиянием молекул спирта на структуру полипептидных цепей.

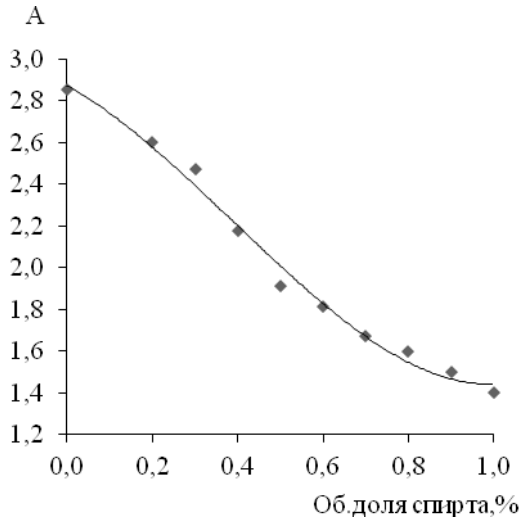


Рисунок 13 – Зависимость оптической плотности пленок от объемной доли спирта $C_{БПГК}=8.5\cdot10^{-4}$ М; τ=50 минут; λ 580 нм

Молекулы спирта, являясь более гидрофильными по сравнению с молекулами белков, входящих в состав желатина, лишают их водной оболочки за счет образования собственных гидратов с водой. [70, 140, 266, 297]. Кроме того, наличие молекул этанола может также способствовать формированию жестких кристаллических блоков, ухудшающих параметры матричной системы [164].

Изменить свойства красителей и степень их извлечения в желатиновую матрицу можно также путем добавления ПАВ. Как известно, в присутствии ПАВ

свойства ксантеновых красителей, в том числе 3,4,5 – тригидкоксифлуоронов, заметно изменяются [240]. Можно также предположить, что ПАВ могут влиять не только на свойства изучаемых реагентов, а также и на свойства и структуру желатиновый матрицы, выступая в роли модификаторов среды, а, значит, и на процесс сорбции ПГК и БПГК в желатиновую матрицу.

В качестве анионного ПАВ нами использован додецилсульфат натрия, в качестве катионного – цетилпиридиний хлорид. Для изучения влияния ПАВ на сорбцию ПГК и БПГК в желатиновую матрицу измеряли оптические плотности желатиновых пленок после выдерживания в растворах ПГК и БПГК, содержащих различные количества ПАВ. Полученные данные представлены на примере БПГК (рисунок 14).

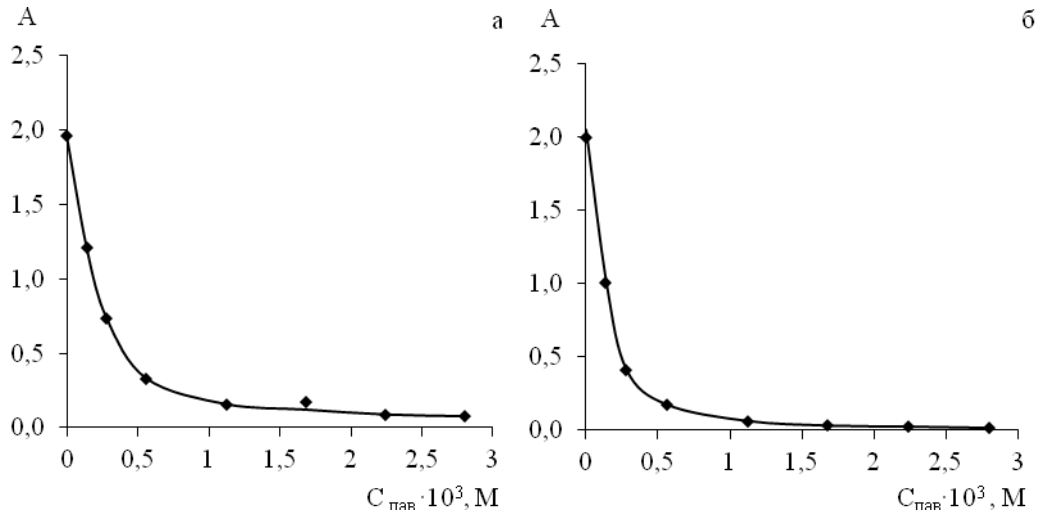


Рисунок 14 – Зависимость оптической плотности пленок при длине волны 580 нм от концентрации АПАВ (а) и КПАВ (б) в растворе при pH 3.5 после выдерживания в растворе в течение 50 минут

Как видно из рисунка 14, в присутствии и катионного, и анионного ПАВ происходит значительное уменьшение оптических плотностей желатиновых пленок, а, значит, и снижение сорбционной способности желатина по отношению к исследуемым реагентам. Оценка степени удерживания реагентов в желатиновой

матрице в процессе десорбции (рисунок 15) в присутствии ПАВ также свидетельствует о заметном влиянии ПАВ на процесс сорбции.

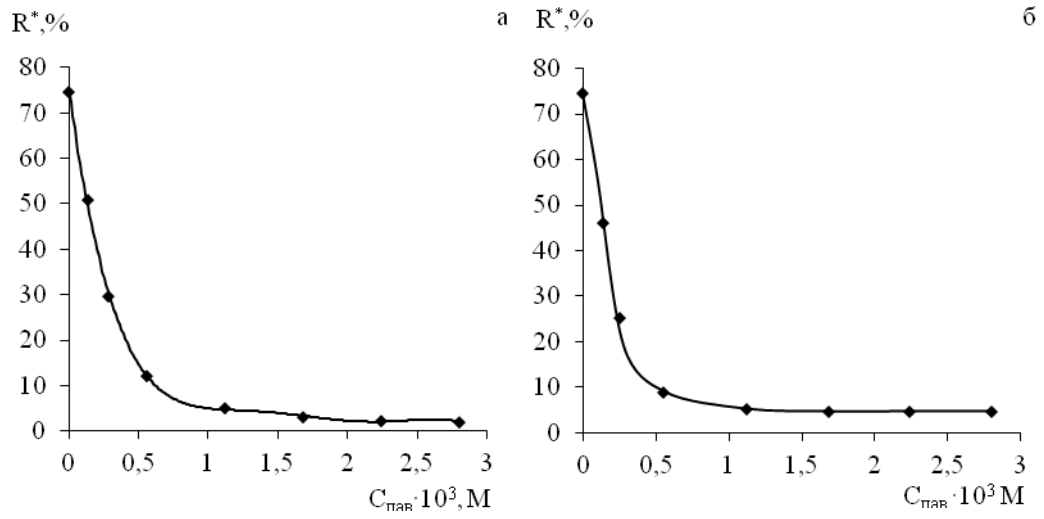


Рисунок 15 – Зависимость степени удерживания реагента в желатиновой матрице от концентрации АПАВ (а) и КПАВ (б) в растворе при pH 3.5

Можно предположить, что взаимодействие реагентов с ПАВ в растворе приводит к образованию более прочных связей по сравнению с электростатическими взаимодействиями реагента с функциональными группами макромолекул желатина. Присутствие ПАВ в гетерогенных системах «раствор/желатиновая пленка» может также влиять на структуру желатиновой матрицы и изменять протолитические свойства органических красителей.

3.2 Исследование влияния желатиновой матрицы на протолитические свойства реагентов

Для установления форм преобладающего существования реагентов в растворах с различной кислотностью нами были рассчитаны мольные доли всех возможных форм этих четырехосновных кислот (рисунок 16), образующихся в растворах с разной кислотностью по схеме:

$$H_4Y^{\pm} \xleftrightarrow{K_{a1}} H_3R^- \xleftrightarrow{K_{a2}} H_2R^{2-} \xleftrightarrow{K_{a3}} HR^{3-} \xleftrightarrow{K_{a4}} R^{4-}.$$

Для расчета использовали значения констант диссоциации ПГК и БПГК, приведенные в работе [112, 389].

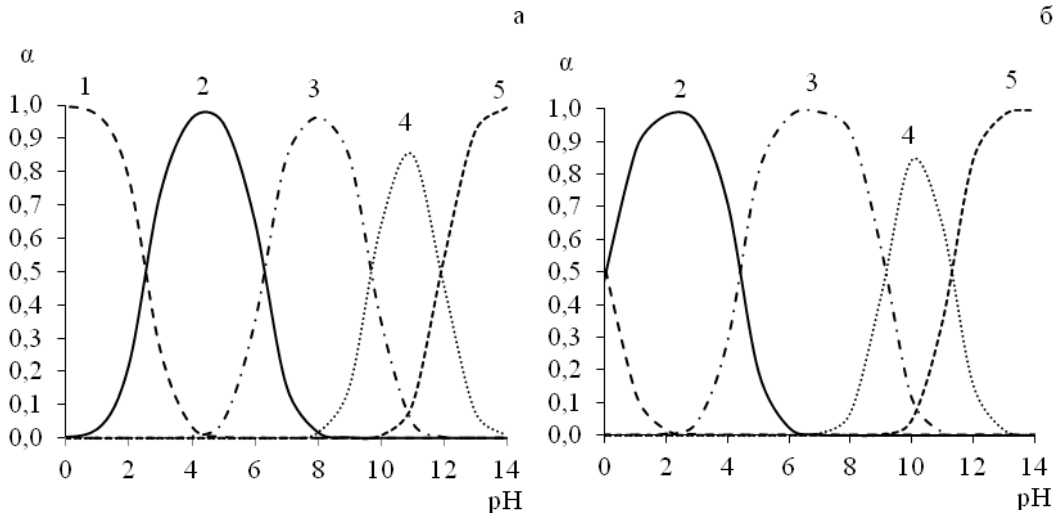


Рисунок 16 – Зависимости мольных долей различных форм ПГК (а) и БПГК (б) от pH раствора: 1–H_5R^+ и $H_4R^{\pm}$;2–H_3R^-; 3–H_2R^{2-};4–HR^{3-}; 5 –R^{4-}

Полученные данные позволяют оценить диапазоны преобладающего существования конкретных форм реагентов и, исходя из положения максимума зависимости оптических плотностей модифицированных пленок от кислотности раствора в области pH от 2.5 до 4.5, (см.рисунок 9), можно предположить, что в обоих случаях в желатиновую матрицу преимущественно сорбируется форма H_3R^- [257]. Тот факт, что максимальная сорбция анионных форм ПГК и БПГК в желатиновую пленку наблюдается при pH меньше 4.5, согласуется со значением изоэлектрической точки используемого желатина, равной 4.5±0.1[216]. Как указывают авторы [99, 108, 164], для кислотного желатина с данной изоэлектрической точкой в указанном диапазоне pH происходит максимальное набухание желатиновой сетки, при этом при pH ниже изоэлектрической точки у желатина преобладает положительный заряд, что обеспечивает закрепление

отрицательно заряженных частиц реагентов ПГК и БПГК. Учитывая, что белки, в том числе желатин, относятся к одной из групп ПАВ [240], модифицирующее действие желатина на органические реагенты может быть аналогичным влиянию ПАВ.

Анализ литературных данных показал перспективность применения ПАВ для получения новых модифицированных реагентов с улучшенными химико-аналитическими свойствами [19, 103, 181, 183, 240, 243, 244]. Кислотно–основные характеристики ПГК и БПГК изучены рядом авторов как при наличии в растворе ПАВ различной природы, так и при их отсутствии [104, 240, 389].

Как видно из полученных спектров поглощения БПГК (рисунок 17), в присутствии КПАВ наблюдается батохромный сдвиг максимума поглощения, а присутствие АПАВ приводит к снижению оптической плотности при неизменном положении максимума поглощения. Наблюдаемые нами эффекты изменения спектральных характеристик для БПГК в присутствии КПАВ были отмечены в целом ряде работ [19- 22, 104, 240].

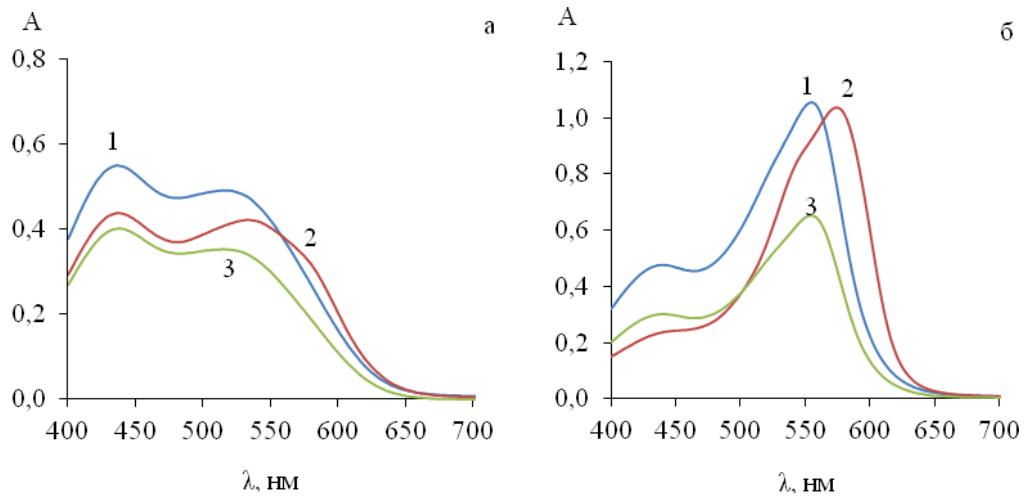


Рисунок 17 – Спектры поглощения растворов БПГК (1), ассоциатов БПГК с ЦП (2) и БПГК с ДДС (3) при pH 2.1 (а) и 4.5 (б) при $C_{(БПГК)}=C_{(ЦП)}=C_{(ДДС)}=5\cdot10^{-5}$ М

Батохромный сдвиг максимумов спектров различных диссоциированных форм реагента в присутствии КПАВ подтверждает образование в растворе ионного ассоциата. В работе [234] доказан факт электростатического взаимодействия органического катиона с молекулами диссоциированного органического красителя и установлено, что с повышением кислотности раствора увеличивается количество КПАВ, необходимого для депротонирования реагента. Отмечено, что длина цепи углеводородного радикала КПАВ и присутствие сульфогруппы в молекуле реагента оказывает существенное влияние на образование и устойчивость ассоциата [176, 243]. Исследования, проводимые авторами [19, 234, 240, 244] при изучении влияния АПАВ и НПАВ на протолитические свойства реагентов, показывают, что в ряде случаев наблюдается изменение их оптических характеристик, возможно, связанное с подавлением диссоциации, а также отмечается уменьшение поглощения ионизированных форм.

Иммобилизация реагентов в полимерные матрицы также вызывает протолитические и спектральные эффекты, которые могут быть связаны с электростатическим взаимодействием ионных форм индикаторов с сеточным зарядом геля [311, 395], удерживанием нейтральных форм индикаторов на поверхности и в массиве незаряженного полимера [310, 363], изменением конформации молекулы красителя [362], а также гидрофобными взаимодействиями и образованием водородных связей.

На рисунке 18 представлены спектры поглощения водных растворов и модифицированных желатиновых пленок на примере БПГК. Наблюдаемое батохромное смещение максимумов поглощения диссоциированных форм $\Delta \lambda \sim 20$ нм может свидетельствовать о взаимодействии желатиновой матрицы с реагентами и изменении их кислотно-основных свойств.

Как видно из таблицы 9, иммобилизация реагентов в желатиновую матрицу сопровождается незначительным увеличением молярных коэффициентов поглощения, этот эффект сохраняется в присутствии ионогенных ПАВ.

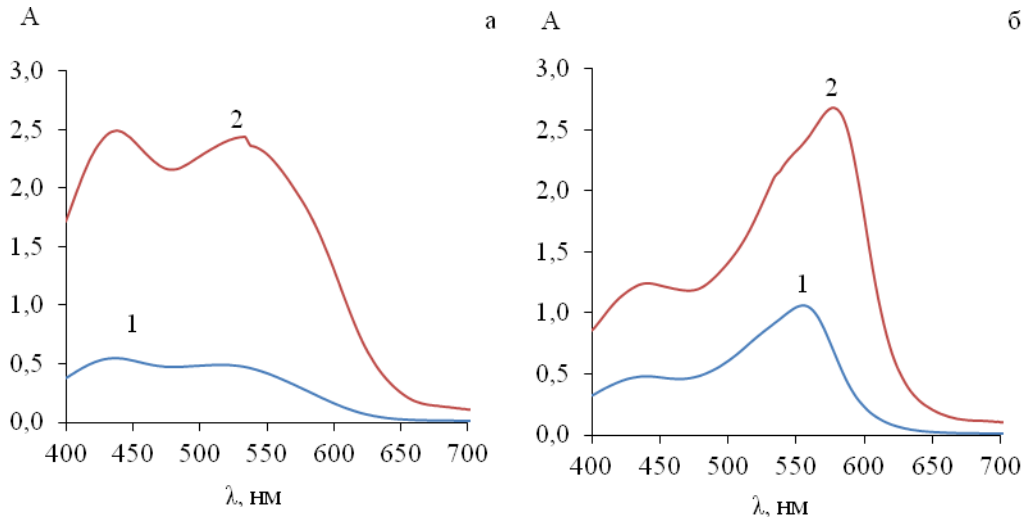


Рисунок 18 – Спектры поглощения БПГК в водных растворах с концентрацией $5 \cdot 10^{-5}$ М (1) и иммобилизованного в желатиновую пленку из $5 \cdot 10^{-4}$ М раствора (2) при pH pH 2.1 (а) и pH 4.5 (б)

Таблица 9 – Спектрофотометрические характеристики ПГК и БПГК, иммобилизованных в желатиновую матрицу при pH 4.5 (P=0.95, n=10)

Реагент	Форма	λ_{max}, нм	$\varepsilon_R \cdot 10^{-4}$	$\varepsilon_{R+ЦП} \cdot 10^{-4}$	$\varepsilon_{R+ДДС} \cdot 10^{-4}$
ПГК	H_3R^- раствор	440	0.74±0.02	0.78±0.03	0.94±0.03
		500	0.84±0.01	0.94±0.02	1.04±0.03
	желатиновая пленка	520	1.04±0.02	1.14±0.01	0.98±0.01
БПГК	H_3R^- раствор	550	2.07±0.01	1.78±0.02	1.29±0.02
	желатиновая пленка	580	2.56±0.02	2.65±0.01	2.47±0.03

Зависимости оптической плотности пленок от pH среды для обоих реагентов характеризуются максимумом в диапазоне pH от 2.5 до 4.5 (рисунок 19, 20)

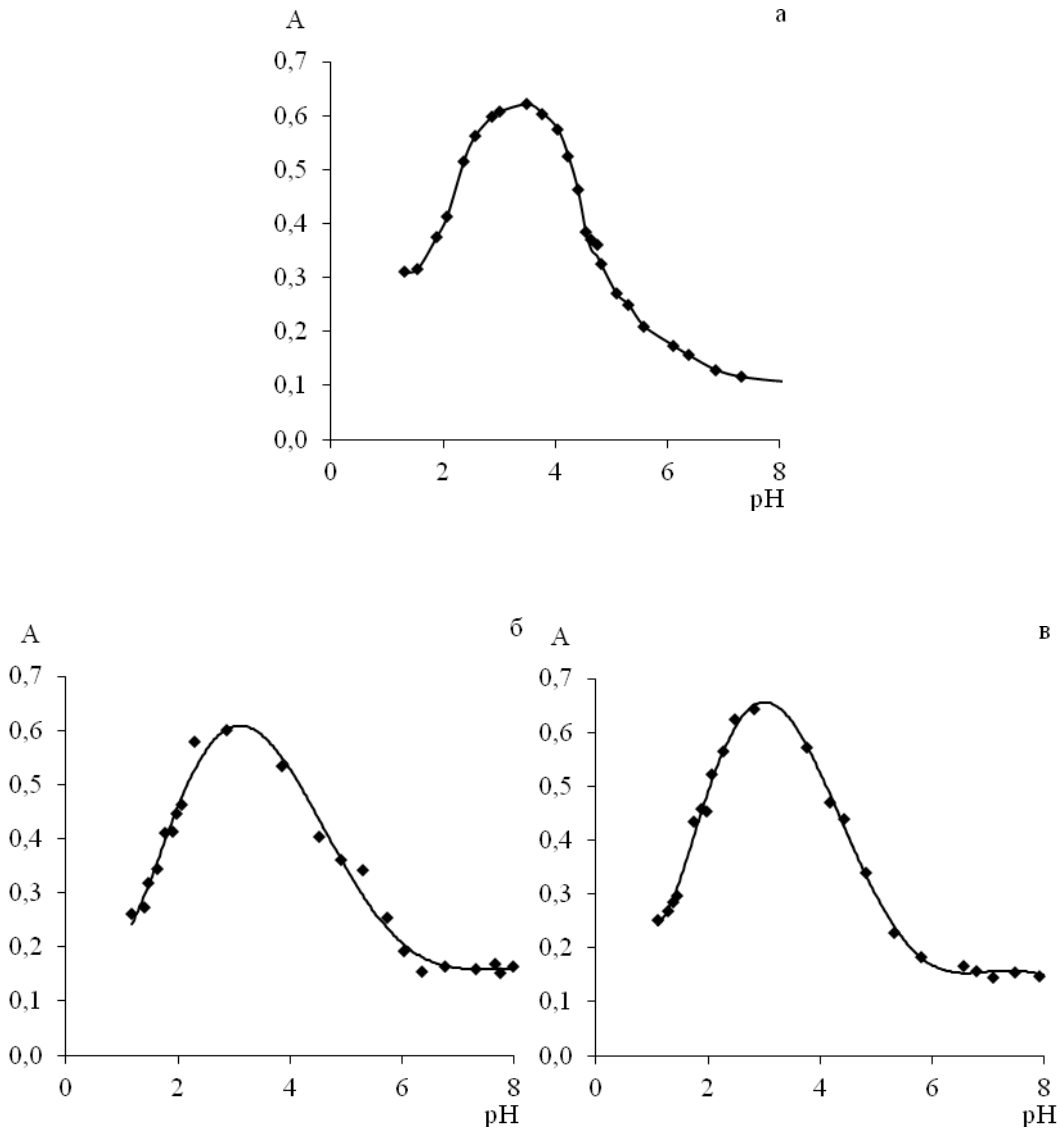


Рисунок 19 – Зависимость оптической плотности модифицированных ПГК желатиновых пленок от pH раствора, содержащего $C_{(ПГК)}=5\cdot10^{-5}$М (а), $C_{(ПГК)}=C_{(ЦП)}=5\cdot10^{-5}$М (б), $C_{(ПГК)}=C_{(ДДС)}=5\cdot10^{-5}$М (в)
при длинах волн 520 нм (а,в) и 540 нм (б)

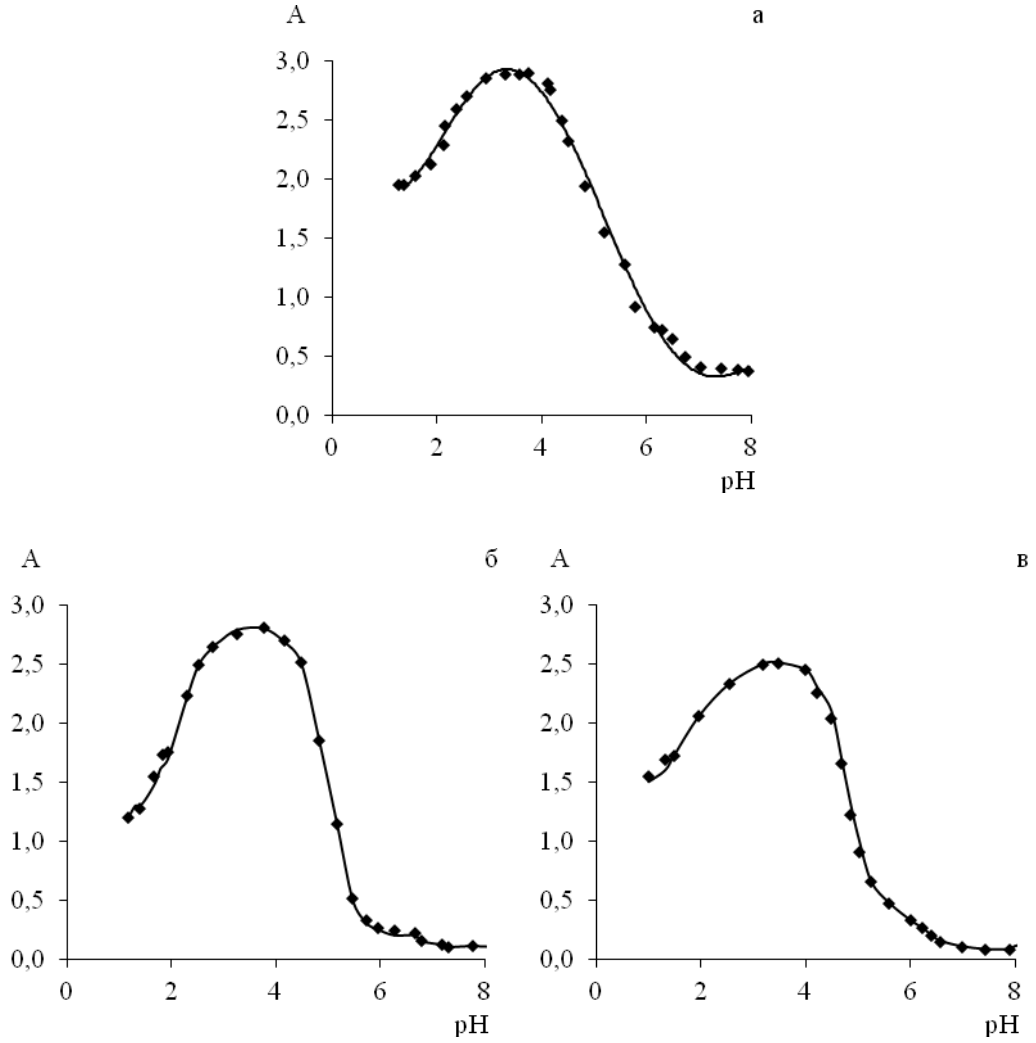


Рисунок 20 – Зависимость оптической плотности модифицированных БПГК желатиновых пленок от pH раствора, содержащего $C_{(БПГК)}=5\cdot10^{-5}$ М (а), $C_{(БПГК)}=C_{(ЦП)}=5\cdot10^{-5}$ М (б), $C_{(БПГК)}=C_{(ДДС)}=5\cdot10^{-5}$ М (в)
при длинах волн 550 нм (а,в) и 580 нм (б)

Для оценки влияния среды желатинового геля на протолитические свойства ПГК и БПГК рассчитаны значения «кажущихся» констант pK_a^{ac} диссоциации ПГК и БПГК в двухфазной системе «раствор/желатиновая пленка», константы диссоциации красителя в водных растворах, а также значения для реагентов в растворе и в пленке в присутствии катионного и анионного ПАВ. Полученные результаты приведены в таблице 10.

Таблица 10 – Константы диссоциации ПГК и БПГК в растворах и в двухфазной системе «раствор/желатиновая пленка» (P=0.95, n=15-20)

$pK_{a\,i}$	Среда	Значения pK_a реагентов в различных средах					
		Пирогаллоловый красный			Бромпирогаллоловый красный		
		Без ПАВ	КПАВ	АПАВ	Без ПАВ	КПАВ	АПАВ
$pK_{a\,1}$	раствор	2.8 ± 0.1	2.6 ± 0.1	3.1 ± 0.1	1.6 ± 0.2	–	–
	пленка	2.3 ± 0.1	2.2 ± 0.1	2.2 ± 0.2	–	–	–
$pK_{a\,2}$	раствор	6.6 ± 0.1	5.6 ± 0.3	6.6 ± 0.2	4.6 ± 0.1	4.0 ± 0.2	4.9 ± 0.2
	пленка	4.7 ± 0.1	4.8 ± 0.2	5.0 ± 0.2	2.4 ± 0.1	2.1 ± 0.2	2.3 ± 0.3
$pK_{a\,3}$	раствор	10.4 ± 0.3	10.8 ± 0.1	10.2 ± 0.1	9.3 ± 0.2	8.9 ± 0.3	9.4 ± 0.1
	пленка	–	–	–	4.9 ± 0.1	4.8 ± 0.1	5.1 ± 0.2
$pK_{a\,4}$	раствор	–	–	–	11.2 ± 0.2	11.0 ± 0.3	11.3 ± 0.1
	пленка	–	–	–	–	–	–

Значения $pK_a^{ac}{}_3$ для ПГК и $pK_a^{ac}{}_4$ для обоих реагентов в пленке измерить не представляется возможным в связи с тем, что при pH больше 7 желатин теряет способность сорбировать реагенты.

Проверку постоянства значений констант в растворе и в плёнке проводили путем построения зависимости логарифма индикаторного отношения (lg Q) от pH:

$$Lg\ Q = -pH + pK_a, \qquad (18)$$

где $Q = [HAn]/[An^-]$. Во всех случаях были получены линейные зависимости с коэффициентами регрессии, близкими к единице, что подтверждает постоянство значений pK_a как для растворов, так и для пленок (рисунок 21).

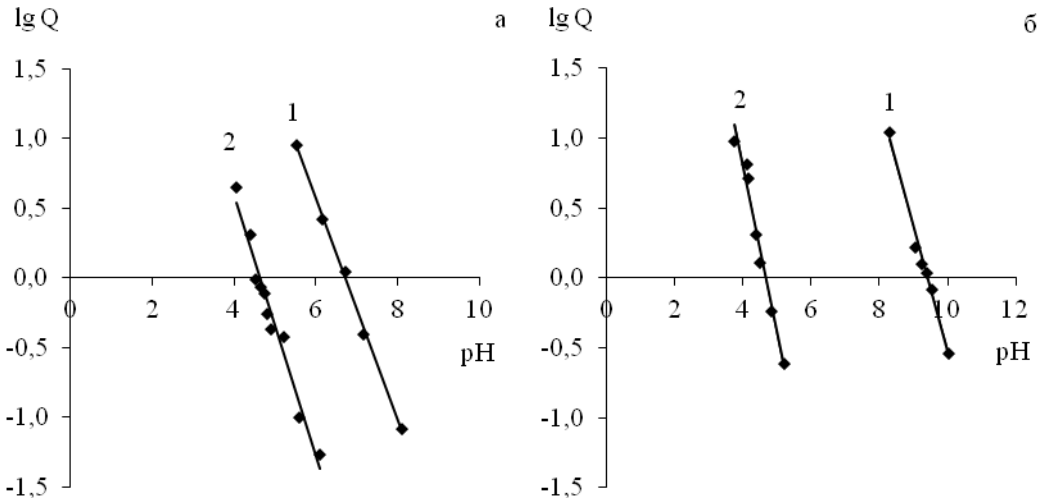


Рисунок 21 – Зависимости lg Q от pH для ПГК (а) и БПГК (б) в растворах и пленках: а) ПГК; pK_{a2}; 1) растворы, λ 520 нм;2) желатиновые пленки λ 540 нм; б) БПГК; pK_{a3}; 1) растворы, λ 550 нм;2) желатиновые пленки λ 580 нм

Можно отметить, что иммобилизация реагентов в отвержденный желатиновый гель приводит к уменьшению значений показателя кажущейся константы $pK_a^{ac}{}_{\text{i}}$, то есть к усилению кислотных свойств реагента. Этот эффект коррелирует с эффектом, наблюдаемым в присутствии катионного ПАВ: значение $pK_a^{ac}{}_{\text{i}}$ снижается в случае положительного электрического потенциала поверхности желатина.

ГЛАВА 4 ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ В ЖЕЛАТИНОВЫЙ ГЕЛЬ 3,4,5 – ТРИГИДРОКСИФЛУОРОНОВ С ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

Как отмечалось в аналитическом обзоре, широкое применение в аналитической химии для обнаружения и определения металлов нашли гидроксилсодержащие ксантеновые красители, среди которых наибольшую популярность получили пирогаллоловый красный и бромпирогаллоловый красный. Данные органические реагенты являются представителями группы триоксифлуоронов, но отличное от 9R-2,3,7-триокси-6-флуоронов расположение гидроксильных групп в молекулах этих органических красителей приводит к существенному изменению их аналитических свойств [182]. Способность к построению хелатных комплексов, обусловленная наличием в составе молекул этих реагентов двух функционально-аналитических групп, позволила исследователям изучить процессы комплексообразования ПГК и БПГК с рядом химических элементов [19-23, 49–53, 103–107, 150, 151, 181, 252–255, 370,404-409].

Можно предположить, что аналитические возможности ПГК и БПГК могут быть расширены за счет реакций комплексообразования с использованием закрепленных на желатиновой матрице данных хромогенных реагентов. Настоящее исследование направлено на более подробное изучение процессов комплексообразования иммобилизованных в желатиновую матрицу ПГК и БПГК с тяжелыми металлами на примере свинца(II) и меди (II).

4.1 Взаимодействие твердофазных реагентов на основе ПГК и БПГК с Pb(II) и Cu(II)

При погружении в растворы металлов модифицированные ПГК и БПГК желатиновые пленки приобретают синюю окраску за счет образования комплексных соединений. Интенсивность окраски с увеличением концентрации

металла в растворе закономерно увеличивается с выполнением закона светопоглощения. В спектрах (рисунок 22, 23) модифицированных ПГК и БПГК пленок после выдерживания в растворах свинца (II) наблюдаются максимумы поглощения при 580 нм и 610 нм соответственно. Выдерживание в растворах меди (II) приводит к появлению максимумов поглощения модифицированных пленок при 600 и 620 нм для ПГК и БПГК соответственно.

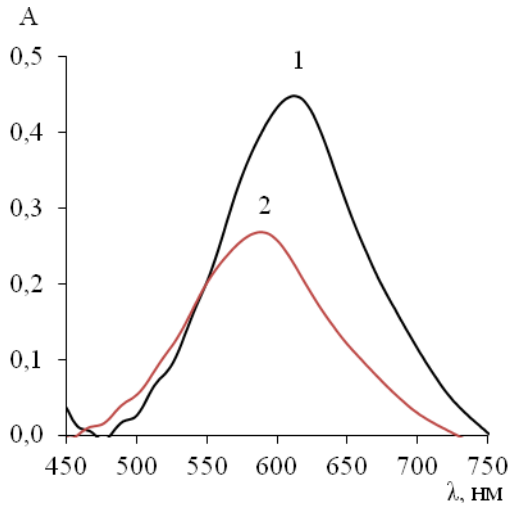


Рисунок 22 – Спектры поглощения модифицированных БПГК (1) и ПГК (2) пленок после выдерживания в растворах свинца (II)

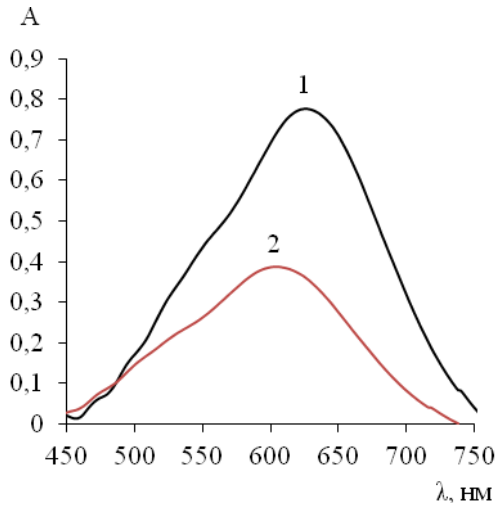


Рисунок 23 – Спектры поглощения модифицированных БПГК (1) и ПГК (2) пленок после выдерживания в растворах меди (II)

Независимо от природы металла для обоих реагентов после 40 минут контакта твердофазных реагентов с раствором оптическая плотность желатиновых пленок меняется незначительно, равновесие в гетерогенных системах с участием обоих реагентов наступает через 60 минут. Зависимости оптической плотности модифицированных БПГК пленок от времени контакта с растворами металлов представлены на рисунках 24 и 25.

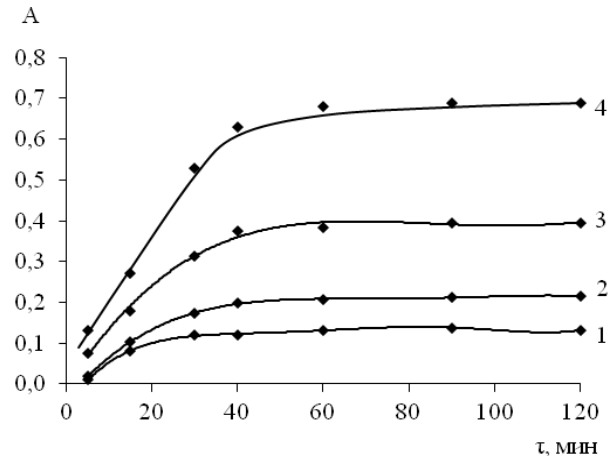


Рисунок 24 – Зависимость оптической плотности пленок от времени контакта с раствором свинца(II) при pH 4.5 и λ 610 нм ($C_{БПГК(исх)}$ = $8.5 \cdot 10^{-4}$, М; $C(Pb^{2+})$, М: 1 - $1 \cdot 10^{-5}$; 2 - $2 \cdot 10^{-5}$; 3 - $5 \cdot 10^{-5}$; 4 - $1 \cdot 10^{-4}$)

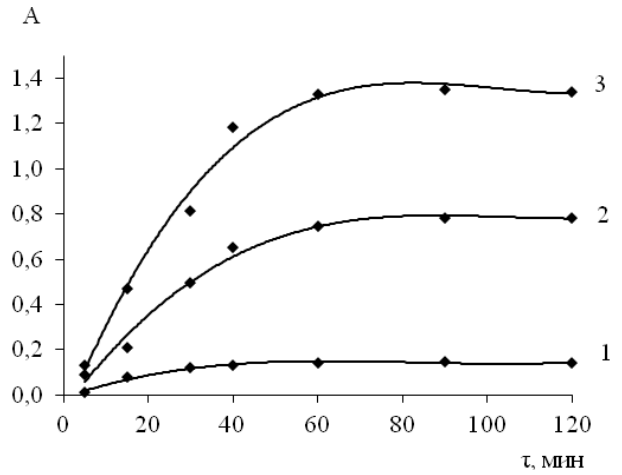


Рисунок 25 – Зависимость оптической плотности пленок от времени контакта с раствором меди (II) при pH 4.5 и λ 620 нм ($C_{БПГК(исх)}$ = $8.5 \cdot 10^{-4}$, М; $C(Cu^{2+})$, М: 1 - $1 \cdot 10^{-5}$; 2 - $5 \cdot 10^{-5}$; 3 - $1 \cdot 10^{-4}$)

На процесс комплексообразования в двухфазных системах «раствор металла/твердофазный реагент» заметное влияние оказывает кислотность среды. На рисунках 26 и 27 представлены зависимости оптической плотности модифицированных БПГК пленок после выдерживания в течение 50 минут в растворах свинца (II) и меди (II).

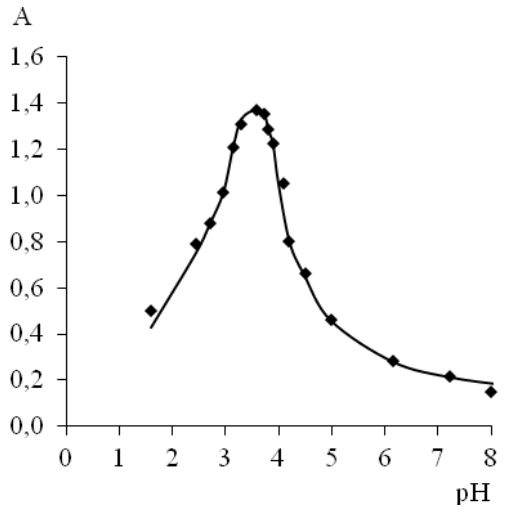


Рисунок 26 – Зависимость оптической плотности модифицированных БПГК пленок при 610 нм от pH раствора, содержащего $5.0 \cdot 10^{-5}$ M Pb(II)

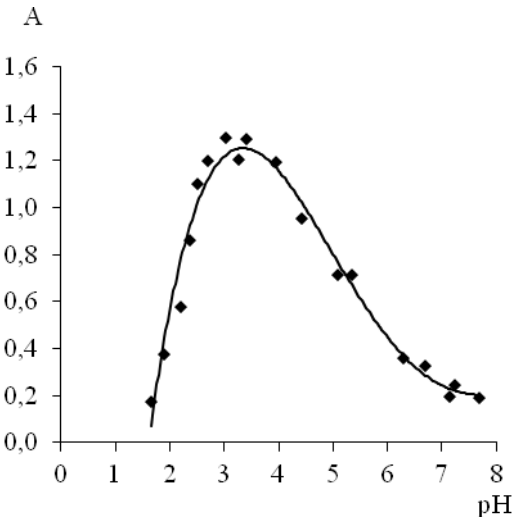


Рисунок 27 – Зависимость оптической плотности модифицированных БПГК пленок при 620 нм от pH раствора, содержащего $5.0 \cdot 10^{-5}$ M Cu(II)

Для всех изученных систем в сильнокислых и щелочных средах наблюдается значительное снижение поглощения модифицированных желатиновых пленок, оптическая плотность максимальна в интервале pH от 2.5 до 4.5. В указанном диапазоне преобладает положительный заряд желатиновой матрицы, что обеспечивает закрепление отрицательно заряженных частиц реагентов ПГК и БПГК и, таким образом, способствует комплексообразованию с участием твердофазных реагентов.

Было отмечено, что после выдерживания модифицированных пленок в растворах металлов с pH около 3.0–3.5 реагенты практически не вымываются из желатинового слоя и реакция с Pb(II) и Cu(II) протекает непосредственно в желатиновом геле. При pH раствора от 4.0 до 5.0 реакции протекают в растворе вблизи поверхности желатина, оптическая плотность фоновой пленки (пленки сравнения) в этом случае оказывается заметно ниже, и соотношение сигнал:фон улучшается. Поэтому оптимальным для проведения реакций был принят pH раствора, равный 4.5.

Поверхностный слой желатина с иммобилизованными реагентами и их комплексами с металлами изучали методами сканирующей электронной микроскопии и рентгенофлуоресцентного анализа.

Данные, полученные при изучении поверхностного слоя желатина, оказывают, что реагенты и их комплексы со свинцом и медью распределены равномерно по поверхности пленки. На рисунках 28 и 29 представлены микрофотографии поверхностного слоя желатина с иммобилизованным комплексом Pb–БПГК и фотографии пленок при сканировании волнодисперсионным рентгенофлуоресцентным анализатором [212, 256].

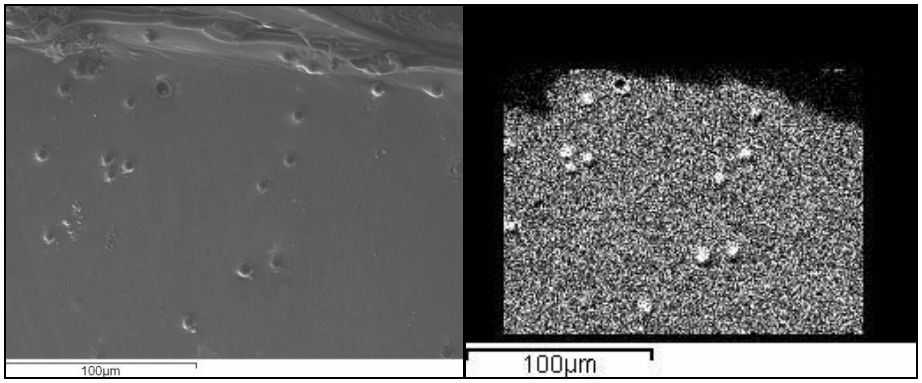


Рисунок 28 – Микрофотографии поверхностного слоя желатина с иммобилизованным комплексом Pb – БПГК

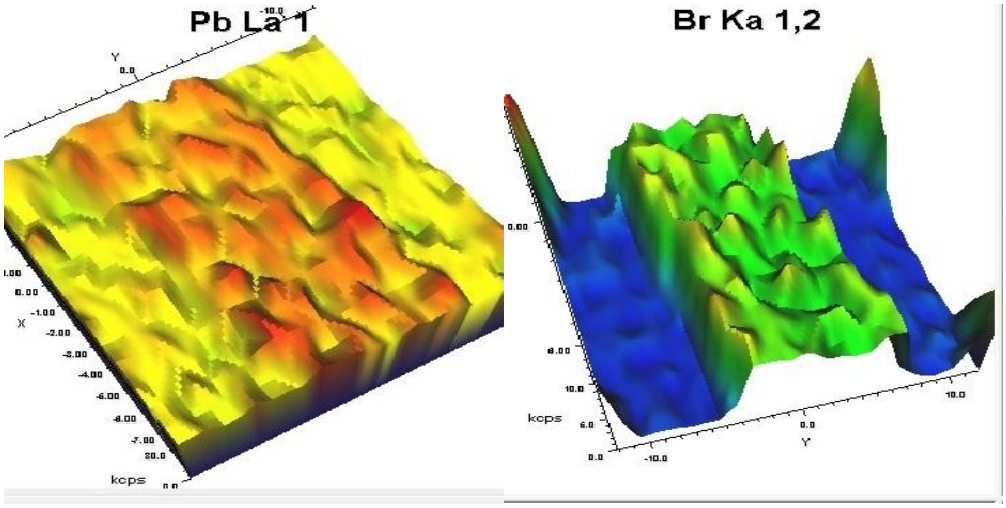


Рисунок 29 – Фотографии пленок при сканировании волно-дисперсионным рентгенофлуоресцентным анализатором ARL-Perfom'X (картирование – шаг 500мкм;количество точек 60; материал анода Rh; время экспозиции 2 с; Lα Pb-10.552 кэВ; Kα Br -11.908 кэВ)

Результаты исследований, полученных при поперечном сканировании желатиновых пленок, показали, что процесс комплексообразования происходит в большей степени в поверхностном слое и практически не затрагивает внутренний слой желатина (рисунок 30). Ни реагенты, ни их комплексы со свинцом(II) и

медью(II) не проникают в слой полимерной матрицы (триацетилцеллюлозы) [212].

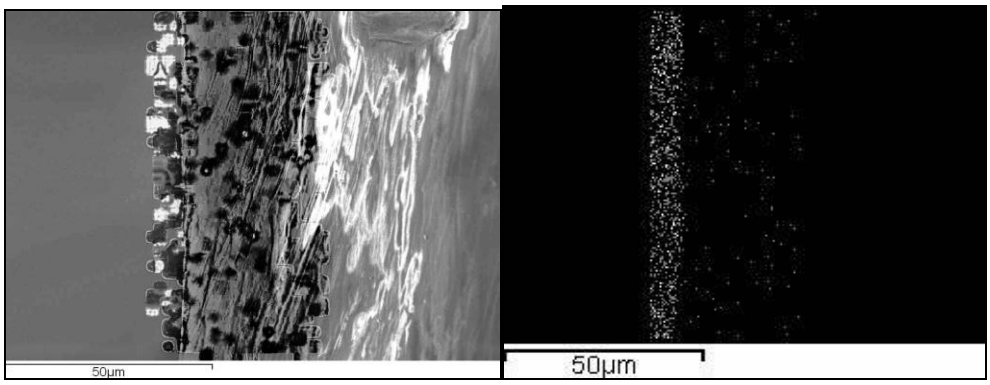


Рисунок 30 – Микрофотография желатинового слоя с иммобилизованным комплексом Pb – БПГК в разрезе

4.2 Влияние среды желатинового геля на комплексообразующие свойства 3,4,5 – тригидроксифлуоронов

Процессы комплексообразования меди(II) с ПГК и БПГК в растворах изучены в работе [151], в которой авторами уделено большее внимание исследованию спектральных характеристик полученного комплекса и факторов, на них влияющих. Установленный стехиометрический состав комплексов Cu:БПГК Cu:ПГК соответствует отношению 1:1. Процессы комплексообразования ПГК и БПГК с ионами свинца изучены в меньшей степени. Только в ряде работ [208, 301, 374] отмечена способность указанных реагентов к образованию комплексов со свинцом (II). Комплексы бромпирогаллолового красного со свинцом были получены [374] в присутствии сенсибилизаторов, а взаимодействие пирогаллолового красного со свинцом рассматривали только для целей его хелатометрического титрования [389].

Для установления характера влияния среды желатина на комплексообразующие свойства ПГК и БПГК необходимо было исследовать

состав и прочность образуемых комплексов с Pb(II) и Cu(II) в водных растворах и в среде желатинового геля в одинаковых условиях. Состав и устойчивость комплексов, образующихся в растворах с различной кислотностью и двухфазной системе «раствор/желатиновая пленка», устанавливали методами Асмуса, изомолярных серий и молярных отношений [24].

Экспериментально полученные для комплексных соединений свинца (II) графические зависимости в координатах $\frac{1}{V_R^n} \cdot 10^{-n}$ от l/A при различных задаваемых значениях *n (1,2,3,4)*, представлены на рисунке 31. Прямая линия соответствует истинному значению *n.*

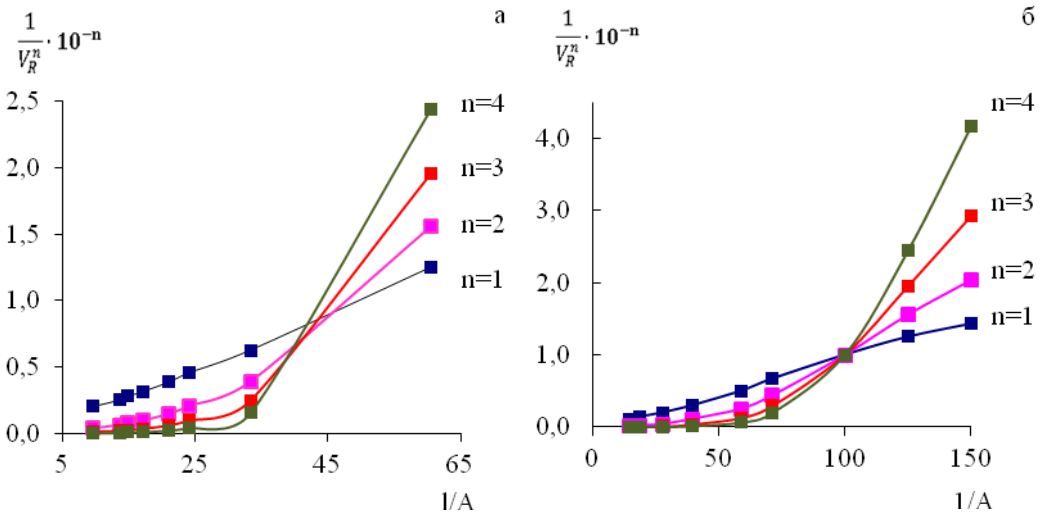


Рисунок 31 – Зависимость рассчитанных значений $\frac{1}{V_R^n} \cdot 10^{-n}$ от l/A при определении состава комплекса Pb(II) с ПГК при 580 нм (а) и БПГК при 610 нм (б) в водных растворах методом Асмуса при pH 4.5

Полученные графические зависимости для ПГК и БПГК при n=1 аппроксимируются прямыми линиями, что позволяет сделать вывод о стехиометрическом соотношении в составе комплексов Me:ПГК и Me:БПГК, равном 1:1 [15, 212].

Полученные данные о составе комплексов были подтверждены методом непрерывных изменений (изомолярных серий), основанным на определении

отношения концентраций реагирующих веществ, отвечающего максимальному выходу образующего комплексного соединения M_mR_n (рисунок 32).

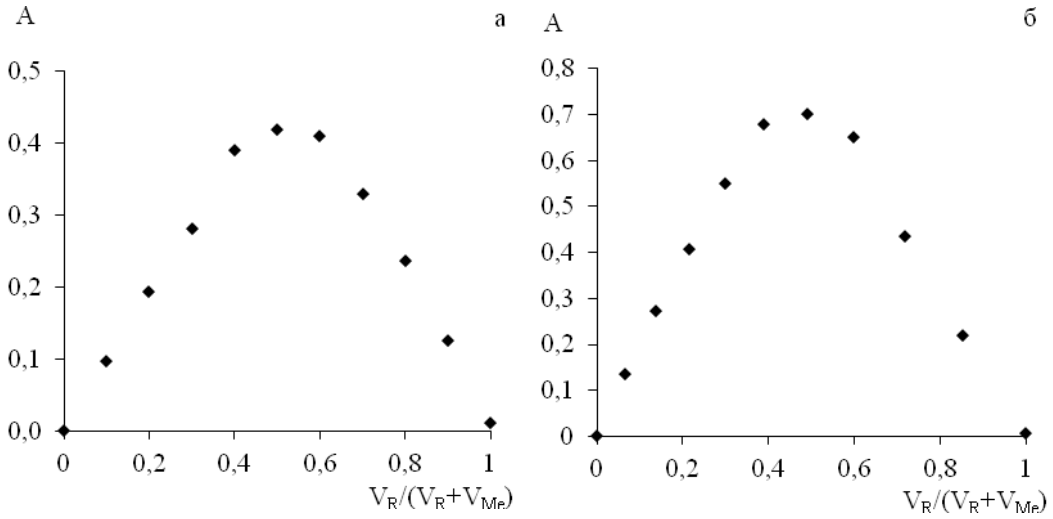


Рисунок 32 – Зависимость светопоглощения комплексов БПГК с Pb(II) при 610 нм (а) и Cu(II) при 620 нм (б) от состава изомолярного раствора с общей концентрацией $4.0 \cdot 10^{-4}$ М при pH 4.5

Экспериментально установленное положение точек экстремумов подтверждает, что в водном растворе при pH 4.5 стехиометрические соотношения Me:ПГК и Me:БПГК в составе комплексов равно 1:1. В более кислой среде (при pH 3.5) это стехиометрическое соотношение сохраняется.

Составы комплексов, образующихся в двухфазной системе «раствор/желатиновая пленка», определяли с использованием метода молярных отношений. Состав комплексов определяли по кривым насыщения, которые получали из трех серий параллельных измерений. Точка излома кривых, соответствующая отношению концентраций реагирующих компонентов, отвечает отношению стехиометрических коэффициентов в составе комплексов. На рисунках 33 и 34 представлены зависимости поглощения иммобилизованных металлокомплексов на примере Pb-БПГК и Cu-ПГК от общей концентрации Me(II) в желатиновой пленке.

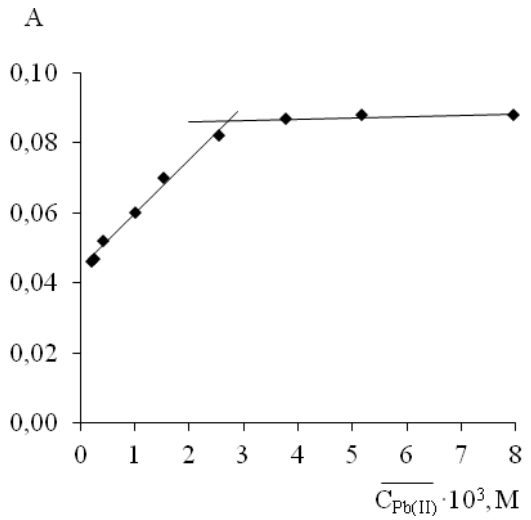


Рисунок 33 – Зависимость поглощения иммобилизованного металлокомплекса Pb-БПГК при длине волны 610 нм от общей концентрации Pb(II) в желатиновой пленке при pH 4.5

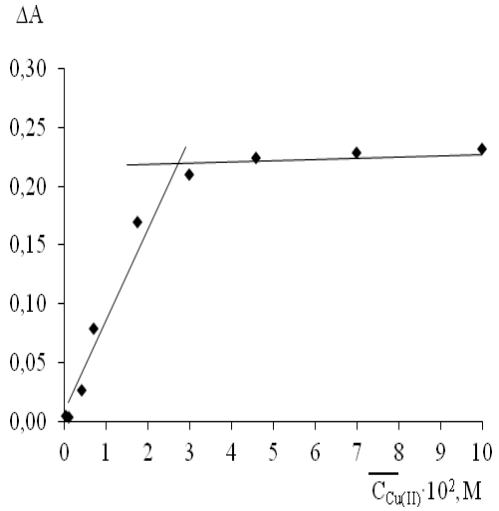


Рисунок 34 – Зависимость поглощения иммобилизованного металлокомплекса Cu-ПГК при длине волны 600 нм от общей концентрации Cu(II) в желатиновой пленке при pH 4.5

Графически находили значение $\overline{C_{Pb}}'$, соответствующее абсциссе точки пересечения касательных к линейным участкам графика. Так, при концентрации

БПГК в пленке $2.7\cdot10^{-3}$ М искомая концентрация металла в пленке равна $2.5\cdot10^{-3}$М, то есть соотношение Pb:БПГК в составе комплекса равно $\overline{C_{Pb}}':\overline{C_R}\approx1:1$. Соотношение компонентов в составе комплекса Cu:ПГК определяется как $\overline{C_{Cu}}':\overline{C_R}=2.7\cdot10^{-2}:2.8\cdot10^{-2}\approx1:1$ [15].

Аналогичный вывод об эквимолярном стехиометрическом соотношении компонентов получен и для комплексов, образующихся в гетерогенных системах Me-ПГК и Me-БПГК при pH 3.5. Таким образом, число координируемых Me^{2+} частиц реагента при извлечении металлокомплексов из раствора в желатиновую матрицу не изменяется.

С использованием диаграмм изомолярных серий были определены условные константы устойчивости комплексов MeR, образующихся в растворах. Условные константы равновесия процесса взаимодействия Me(II) с твердофазным реагентом по реакции

$$Me+\overline{R}\Leftrightarrow\overline{MeR}$$

рассчитывали с использованием точек на наклонной части кривой насыщения.

Для оценки эффективности извлечения металлов твердофазными реагентами рассчитывали также значения степени извлечения металла (R, %) одним образцом индикаторной пленки площадью 1.4 см^2 из 5 мл раствора и коэффициенты распределения (D) Me^{2+} в двухфазной системе «раствор/желатиновая пленка», полученные результаты представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Комплексообразующие свойства ПГК и БПГК, иммобилизованных в желатиновую пленку

Среда	Me	pH	D	R%	Me : R	$\varepsilon \cdot 10^{-4}$ (л/(моль·см))	lgβ´ (P=0.95;n=5-7)
БПГК							
Раствор	Pb	3.5	-	-	*1:1*	*0.32 ± 0.02*	*5.1 ± 0.1*
	Cu				*1:1*	*0.86 ± 0.07*	*5.7 ± 0.2*
	Pb	4.5	-	-	*1:1*	*0.34 ± 0.02*	*5.2 ± 0.2*
	Cu				*1:1*	*1.03 ± 0.03*	*6.0 ± 0.1*
Пленка	Pb	3.5	*112 ± 14*	*6.0 ± 0.8*	*1:1*	*0.63 ± 0.20*	*2.7 ± 0.2*
	Cu		*220 ± 4*	*11.0 ±1.0*	*1:1*	*0.97 ± 0.09*	*5.6 ± 0.1*
	Pb	4.5	*159 ± 17*	*8.3 ± 1.0*	*1:1*	*1.08 ± 0.12*	*3.2 ± 0.1*
	Cu		*323 ± 4*	*15.0 ±1.0*	*1:1*	*1.37 ± 0.10*	*5.9 ± 0.3*
ПГК							
Раствор	Pb	3.5	-	-	*1.1*	*0.030±0.004*	*4.2±0.1*
	Cu				*1:1*	*0.17 ± 0.04*	*4.6 ± 0.2*
	Pb	4.5	-	-	*1:1*	*0.040 ± 0.004*	*4.7 ± 0.1*
	Cu				*1:1*	*0.36 ± 0.04*	*5.1 ± 0.3*
Пленка	Pb	3.5	*134 ± 14*	*9.2 ± 0.9*	*1:1*	*0.14 ± 0.03*	*1.7 ± 0.2*
	Cu		*390 ± 9*	*18.0 ± 1.0*	*1:1*	*0.33 ± 0.09*	*4.5 ± 0.2*
	Pb	4.5	*243 ± 10*	*12.1 ± 2.0*	*1:1*	*0.16 ± 0.02*	*1.9 ± 0.1*
	Cu		*613±13*	*26.0 ± 1.0*	*1:1*	*0.44 ± 0.07*	*4.9 ± 0.2*

Результаты исследований показывают, что в растворах с pH 4.5 степень извлечения металлов, а также коэффициент распределения оказался выше по сравнению с аналогичными значениями, полученными при pH 3.5. Оба красителя обладают большим сродством к Cu(II), при этом молярные коэффициенты поглощения, степень извлечения и коэффициенты распределения меди выше, чем аналогичные характеристики для Pb(II). Влияние среды желатинового геля на константы равновесия в гетерогенных системах по-разному проявляется в случае свинца (II) и меди (II). Так, в пределах погрешности измерений иммобилизация триоксифлуронов в отвержденный желатиновый гель не приводит к заметным изменениям в константах комплексообразования с участием Cu (II). В случае Pb

(II) реакция комплексообразования в гетерогенной системе характеризуется меньшими значениями условных констант равновесия по сравнению с растворами. Бромпирогаллоловый красный образует более прочные комплексы с обоими металлами и в растворах, и в пленках [15]. Снижение устойчивости иммобилизованного в пленку комплекса со свинцом (II) коррелирует с данными других авторов [10, 132, 137, 193, 216, 224], которые наблюдали аналогичный эффект при иммобилизации органических реагентов в конденсированные среды, при этом для нековалентно связанных реагентов общих закономерностей в изменении состава и прочности комплексных соединений не выявлено.

Полученные нами результаты показывают, что, несмотря на «кажущееся» снижение устойчивости комплексов свинца при переходе реагентов из раствора в желатиновую матрицу, индикаторные пленки с иммобилизованными ПГК и БПГК способны эффективно извлекать и удерживать исследуемые ионы, что свидетельствует о перспективности использования указанных материалов в качестве оптически прозрачного твердофазного реагента. Вследствие большей прочности комплексов с БПГК полученные на его основе пленки являются более эффективными твердофазными реагентами для сорбционно-спектроскопического определения металлов.

Очевидно, что анализ проб, содержащих свинец и медь, должен предполагать определение одного из компонентов после маскирования второго с последующим определением их суммы при условии аддитивности аналитического сигнала. Как известно, при измерении оптической плотности бинарных и многокомпонентных растворов возможно возникновение погрешностей различного происхождения, которые могут приводить к отклонению от аддитивности аналитического сигнала. Следовательно, можно предположить, что для исследуемой фотометрической реакции, протекающей в желатиновом слое, также возможны ситуации, при которых возникают статистически значимые отклонения от аддитивности оптической плотности, поэтому представляло интерес изучение суммарного аналитического сигнала модифицированных желатиновых пленок на примере бинарной системы Pb(II) – Cu(II).

Рядом авторов исследована проблема аддитивности оптической плотности растворов некоторых многокомпонентных систем и предложены различные подходы к ее оценке [18, 27–30, 33–39, 64, 65, 92, 192, 205, 206, 223, 397]. Наиболее часто для анализа многокомпонентных растворов используют методы эквимолярных растворов и изомолярных серий. Для оценки аддитивности аналитического сигнала твердых сорбентов преимущественно используют метод эквимолярных растворов [223].

Аддитивность аналитического сигнала модифицированной желатиновой матрицы на примере бинарной системы Pb(II) – Cu(II) исследовали с использованием методов эквимолярных растворов и изомолярных серий.

На рисунке 35 для примера представлены спектры поглощения двухкомпонентных растворов (A_{Σ}), а также спектр, полученный в результате сложения спектров однокомпонентных растворов с такой же суммарной концентрацией (ΣA).

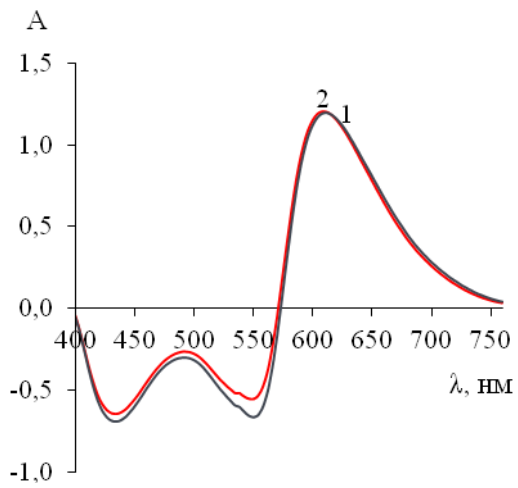


Рисунок 35 – Зависимости $A_{\Sigma Me}$ (1) и ΣA_{Me} (2) от длины волны при pH 4.5 для растворов изомолярной серии с концентрациями $C_{Pb(II)}=C_{Cu(II)}=5.0\cdot10^{-5}$M

Полученные спектры, а также проведенные расчеты показывают выполнение для исследуемой бинарной системы закона Фирордта во всем спектральном

диапазоне, что позволяет сделать вывод об аддитивности аналитического сигнала исследуемой системы в растворах.

Изучение аддитивности оптической плотности для реакции, протекающей в гетерогенной системе «раствор/желатиновая пленка», проводили методом эквимолярных растворов. На рисунке 36 представлены графические зависимости оптической плотности пленок от суммарной концентрации металлов в растворе. Кривая 1 соответствует оптической плотности пленок после контакта с растворами, содержащими одновременно Pb (II) и Cu (II), кривая 2 относится к сумме оптических плотностей пленок после их выдерживания в однокомпонентных растворах соответствующих концентраций.

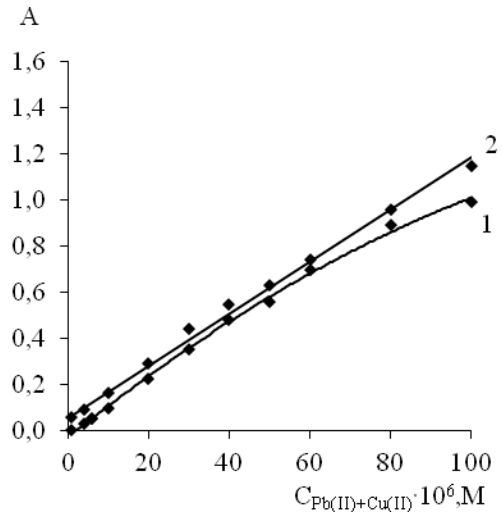


Рисунок 36 – Зависимость $A_{\sum Me}$ (1) и $\sum A_{Me}$ (2) пленок от суммарной концентрации Pb(II) и Cu(II) в растворе при pH 4.5 и λ 618 нм

Для оценки аддитивности аналитического сигнала исследуемой системы использовали 3S-критерий, поглощение считали аддитивным при выполнении неравенства $\Delta A < 3S$ [33]. Расчеты проводили в диапазоне аналитических длин волн, соответствующих максимумам поглощения комплексов.

На рисунке 37 представлена зависимость ΔA и 3S, рассчитанных для пленок, от суммарной концентрации металлов в растворе.

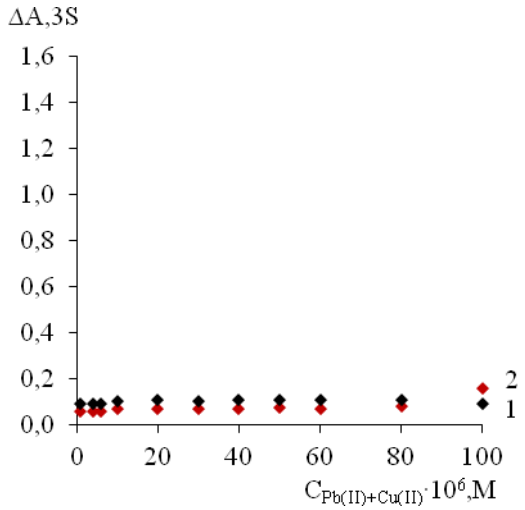


Рисунок 37 – Зависимость 3S (1) и ΔA (2) от суммарной концентрации Pb(II) и Cu(II) в растворе при pH 4.5 и λ 618 нм

В исследуемом диапазоне суммарных концентраций от $1.0\cdot10^{-6}$ до $1.0\cdot10^{-4}$ М поглощение металлокомплексов в пленках является аддитивным до суммарной концентрации металлов в растворах $8.0\cdot10^{-5}$ М. Подобная ситуация может возникнуть в том случае, когда концентрация реагента в желатиновой матрице недостаточна для полного связывания в комплексное соединение металлов из раствора. Поэтому, оценив предварительно количество вещества в твердом носителе и степень извлечения металла в иммобилизованную реагентом желатиновую пленку, можно получить то пороговое значение концентрации металла, начиная с которого возникает недостаток реагента в пленке, и, как следствие, отклонение от аддитивности. Интересно отметить, что отклонение от линейности градуировочной зависимости оптической плотности пленок от концентрации меди (II) в растворе наблюдается вблизи этой же концентрации, что, видимо, и приводит к неаддитивности оптической плотности исследуемой системы.

Авторами работы [35] было отмечено, что величина отклонения от аддитивности во многом зависит не только от природы исследуемой системы,

выбранной аналитической длины волны, но и от соотношения концентраций компонентов в системе.

Для приближения к реальным объектам, в которых концентрации компонентов могут заметно различаться, было проведено исследование данной системы методом изомолярных серий для нескольких суммарных концентраций в областях предполагаемой аддитивности и неаддитивности системы с использованием 3S- и t-критериев [74]. Полученные результаты согласуются с выводами, полученными методом эквимолярных растворов, и подтверждают выполнение закона Фирордта для всех соотношений компонентов до суммарной концентрации $8.0 \cdot 10^{-5}$ М.

Необходимо отметить, что при исследовании процессов в гетерогенных системах «раствор/желатиновая пленка» большое значение имеет правильный выбор аналитической длины волны. На рисунке 38 показана зависимость значений ΔA и 3S от длины волны для суммарной концентрации компонентов $1.0 \cdot 10^{-5}$М.

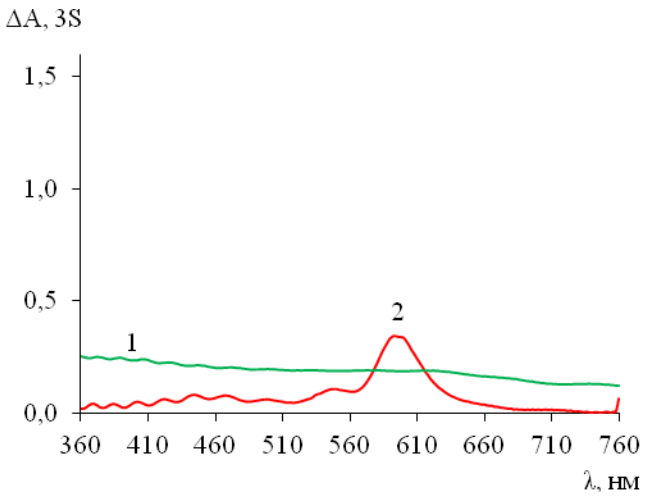


Рисунок 38 – Зависимость отклонения 3S (1) и ΔA (2) пленок от длины волны для суммарной концентрации компонентов в растворах $5.0 \cdot 10^{-5}$ М.

Как видно из рисунка 38, при длине волны максимума поглощения реагента, в данном случае 580 нм, сопоставление значений ΔA и 3S может привести к ошибочному заключению о неаддитивности поглощения бинарной системы. Этот факт можно объяснить тем, что в зависимости от концентрации металла, перешедшего в желатиновый гель, избыточная концентрация реагента в пленке оказывается каждый раз различной, что вносит вклад в суммарную ошибку измерения оптической плотности на этой длине волны.

Сопоставление полученных результатов позволяет предположить возможность применения для оценки аддитивности аналитического сигнала прозрачного полимерного сорбента приемов, используемых для многокомпонентных растворов. Стоит отметить, что метод изомолярных серий трудоемкий, но более информативный, так как позволяет оценить поведение системы в приближении к реальным объектам.

Особенность систем «реагент в желатиновом геле» состоит в том, что создаваемые в фазе геля концентрации реагентов в несколько раз превышают возможные для этих же реагентов в водных растворах. Как показали наши исследования, после сорбции реагентов в оптимальных условиях концентрация реагента в желатиновой матрице примерно в 1000 раз превышает его максимально возможную концентрацию в водном растворе, коэффициент концентрирования красителя приближается к 10^3, что позволяет ожидать возможный выигрыш в чувствительности методики сорбционно-спектроскопического определения металлов.

Это предположение подтверждено экспериментально на примере взаимодействия свинца(II) с ПГК и БПГК. Как видно из рисунков 39 и 40, реакция в желатиновом слое по чувствительности к свинцу превосходит аналогичную реакцию в растворе. Уравнения аппроксимации полученных экспериментальных данных представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Уравнения линии аппроксимации и величина ее достоверности

Среда	ПГК	БПГК	r
Желатиновые пленки	y=(0.040±0.002)x+(0.030±0.001)	y=(0.070±0.003)x+(0.060±0.002)	0.999
Растворы	y=(0.020±0.001)x+(0.010±0.001)	y=(0.030±0.002)x+(0.010±0.001)	0.999

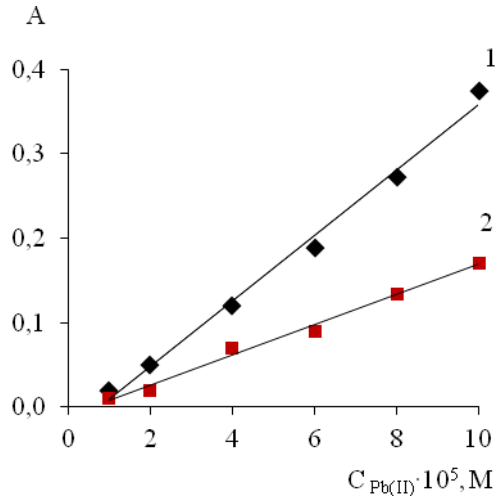


Рисунок 39 – Зависимость оптической плотности модифицированных ПГК пленок (1) и растворов (2) от концентрации свинца(II) при pH 4.5 (580 нм)

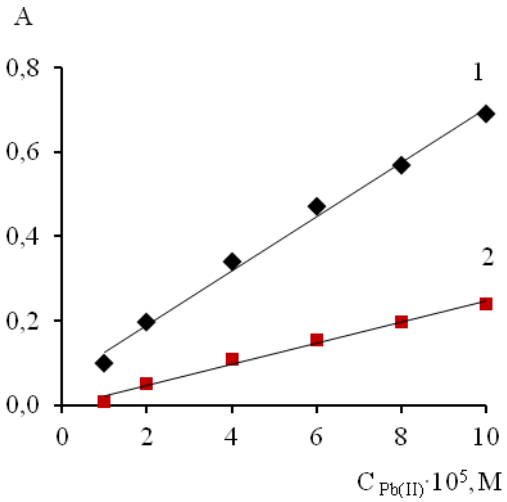


Рисунок 40 – Зависимость оптической плотности модифицированных БПГК пленок (1) и растворов (2) от концентрации свинца(II) при pH 4.5 (610 нм)

4.3 Оптимизация условий сорбционно-спектроскопического определения Pb(II)

По масштабам выброса в атмосферу свинец занимает ведущее место среди токсичных микроэлементов. Разработка научно-методических аспектов контроля за содержанием этого металла, токсичного во всех своих формах нахождения в окружающей среде – одна из актуальных задач в области охраны окружающей среды. Выбор того или иного метода определения обусловлен содержанием свинца в анализируемом объекте, а также необходимой точностью, временем определения и технической оснащенностью лаборатории. С учетом изложенных нами выше результатов по взаимодействию иммобилизованных в желатиновую матрицу 3,4,5-тригидроксифлуоронов с тяжелыми металлами на примере Pb (II) и Cu (II) нами изучена возможность сорбционно-спектроскопического определения свинца (II).

Как было отмечено ранее, с увеличением концентрации реагента в желатиновой матрице увеличивается количество извлекаемого твердофазным реагентом металла, что приводит к расширению диапазона линейности градуировочной зависимости. Насыщенный раствор БПГК при комнатной температуре имеет концентрацию $8.5 \cdot 10^{-4}$М, эта концентрация и является максимально возможной и оптимальной для модифицирования желатиновых пленок. Для получения воспроизводимых результатов необходимо проводить иммобилизацию красителя в равновесных условиях, то есть в течение не менее 50 минут. Оптическая плотность полученных модифицированных пленок сохраняется постоянной в течение не менее 5 лет при хранении пленок в сухом темном месте.

После выдерживания модифицированных пленок в растворе свинца (II) максимум поглощения иммобилизованного в желатин металлокомплекса Pb(II)–БПГК наблюдается при 610 нм. После 40 минут контакта модифицированных пленок с раствором свинца оптическая плотность желатиновых пленок меняется незначительно, равновесие в гетерогенной системе наступает через 60 минут; с целью сокращения времени анализа модифицированные пленки погружали в

растворы свинца(II) на 50 минут. Кислотность растворов поддерживали постоянной с помощью ацетатного буфера с pH 4.5, близкого к изоэлектрической точки желатина.

Градуировочная зависимость оптической плотности пленок от концентрации свинца имеет линейный характер в диапазоне от $1.0 \cdot 10^{-6}$ до $1.0 \cdot 10^{-4}$ М (рисунок 41).

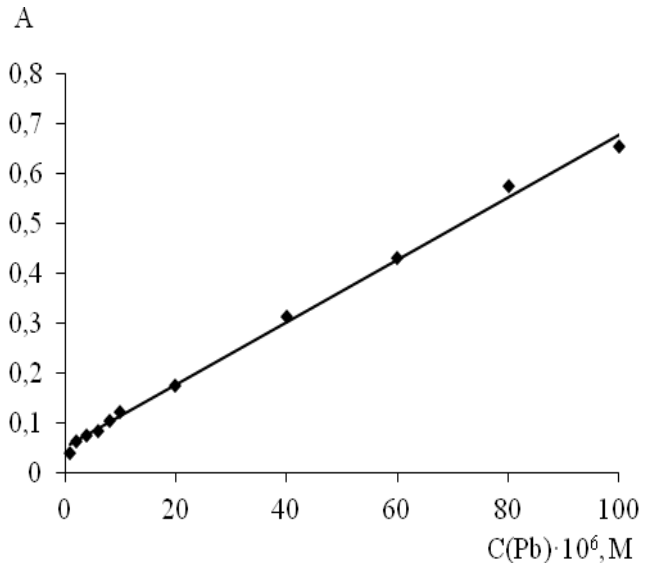


Рисунок 41 – Градуировочная зависимость оптической плотности плёнок от $C_{Pb(II)}$

Минимальная концентрация свинца в водных растворах, рассчитанная по 3S- критерию, составляет $3.8 \cdot 10^{-7}$М.

Для изучения мешающего влияния посторонних ионов на аналитический сигнал свинца при его определении по реакции с бромпирогаллоловым красным, иммобилизованным в желатиновый слой, были выбраны вещества, которые могут взаимодействовать с ионами свинца, реагентом или распространены в объектах окружающей среды [212]. Экспериментальные данные представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Оптическая плотность пленок в присутствии постороннего компонента (P=0.95, n=3)

Посторонний ион	Оптическая плотность пленок при соотношении Pb(II):посторонний ион				
	1:0.01	1:0.1	1:1	1:10	1:100
Na^+	0.42±0.01	0.42±0.02	0.41±0.03	0.41±0.02	0.40±0.02
K^+	0.43±0.02	0.44±0.01	0.44±0.01	0.43±0.01	0.43±0.01
Ca^{2+}	0.46±0.01	0.46±0.01	0.46±0.01	0.44±0.01	0.42±0.01
Mg^{2+}	0.44±0.01	0.47±0.01	0.47±0.01	0.45±0.01	0.40±0.03
Ni(II)	0.44±0.01	0.45±0.01	0.48±0.01	0.52±0.02	0.95±0.01
Cu(II)	0,44±0.02	0.53±0.03	0.91±0.02	1.66±0.03	2.27±0.02
Mn(II)	0.43±0.01	0.47±0.01	0.45±0.01	0.44±0.01	0.42±0.01
Cd^{2+}	0.45±0.02	0.52±0.02	0.53±0.02	0.54±0.02	1.29±0.01
Zn^{2+}	0.43±0.02	0.44±0.01	0.47±0.01	1.69±0.03	1.98±0.01
Fe(III)	0.46±0.01	0.77±0.03	1.34±0.02	1.81±0.02	2.16±0.02
Cr(III)	0.44±0.01	0.45±0.01	0.45±0.01	0.45±0.01	0.45±0.01
Al^{3+}	0.44±0.01	0.47±0.01	0.63±0.02	0.89±0.02	1.08±0.02
NO_3^-	0.41±0.02	0.45±0.01	0.44±0.01	0.43±0.01	0.44±0.01
Cl^-	0.45±0.01	0.49±0.01	0.48±0.01	0.44±0.01	0.49±0.01
Br^-	0.45±0.01	0.46±0.02	0.43±0.01	0.45±0.01	0.45±0.01
SO_4^{2-}	0.44±0.01	0.45±0.01	0.44±0.01	0.41±0.02	0.41±0.02
PO_4^{3-}	0.45±0.01	0.46±0.01	0.30±0.02	0.15±0.01	0.02±0.01

Оптическая плотность пленок после выдерживания в растворе свинца, не содержащего постороннее вещество, составляла 0.44 ± 0.03. Установлено, что Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}, NO_3^- , Cl^-, Br^-, SO_4^{2-} в исследуемом диапазоне концентраций не оказывают влияние на оптическую плотность пленок при определении свинца по реакции с бромпирогаллоловым красным. Мешающее влияние Ni^{2+} и Zn^{2+} проявляется при соотношении 1:10. Мешающее влияние фосфат-ионов и Al^{3+} проявляется при эквимолярном соотношении компонентов; Cu(II), Fe(III) и Cd^{2+} начинают оказывать мешающее влияние на аналитический сигнал свинца при соотношении 1:0.1. Наиболее заметное влияние на сигнал индикаторных пленок оказывают Cu(II) и Fe(III), поэтому при определении свинца в анализируемые

растворы необходимо вводить маскирующие компоненты (аскорбиновую кислоту, тиомочевину, фторид натрия).

4.4 Оптимизация условий визуального тест-определения свинца (II) и оценка метрологических характеристик методики

Прозрачность твердого носителя позволяет применять модифицированные желатиновые пленки не только для разработки чувствительных методик сорбционно-спектроскопического определения, но открывает возможности их применения в визуальной колориметрии или для тест-определения веществ. В основе методик визуального тест-определения аналитов с использованием твердофазных реагентов лежат химические реакции, протекающие на границе раздела фаз и сопровождающиеся легко измеряемым аналитическим сигналом. Тест-методы преимущественно решают задачи качественного обнаружения веществ в анализируемых объектах, однако возможна и количественная оценка содержания аналита в пробе с использованием цветовых шкал сравнения [15].

Подходы к оценке метрологических характеристик методик визуального тест-определения аналитов существенно отличаются от расчетов в инструментальных методах. В настоящее время проблемами метрологии качественного и полуколичественного тестового анализа занимается ряд авторов, ими предложены различные методики оценки метрологических характеристик [1, 143, 160, 188, 190, 197, 198, 214, 221, 225, 226, 269, 298, 299, 348]. В нашем исследовании оптимизированы условия проведения индикаторной реакции для визуального тест-определения свинца и проведена оценка метрологических характеристик тест-методики.

Построение и выбор цветовой тест-шкалы для полуколичественного определения свинца (II). Авторы [214, 221] отмечают, что использование тест-систем на основе прозрачных желатиновых пленок имеет ряд особенностей, и, в отличие от непрозрачных сорбентов, работоспособность шкалы на основе модифицированных желатиновых пленок можно проверить только визуальным

методом. Цветовая шкала готовится с увеличением в геометрической прогрессии концентрации определяемого компонента, что связано с особенностями цветовосприятия человеческим глазом и определенной зависимостью характеристик цвета от содержания аналита [192]. Оптимальный шаг геометрической прогрессии, равный 2, как правило, обеспечивает минимальный «разброс» результатов и более точную визуальную оценку концентрации аналита. В нашем случае для образцов цветовой шкалы с шагом геометрической прогрессии, равным 2, не менее 95% наблюдателей различали окраску соседних пленок на всем диапазоне концентраций шкалы.

Оптимизацию условий визуального тест-определения свинца (II) и выбор цветовой шкалы для визуального тестирования проводили, варьируя концентрацию раствора БПГК, используемого для получения твердофазного реагента, в диапазоне от $5.0 \cdot 10^{-5}$ до $8.5 \cdot 10^{-4}$ М и pH раствора свинца в пределах от 3.5 до 5.0. Готовили несколько серий растворов с одинаковыми концентрациями свинца в диапазоне от $1.0 \cdot 10^{-7}$ до $1.0 \cdot 10^{-4}$, в полученные растворы погружали модифицированные пленки и выдерживали 30 минут, в результате пленки приобретали синюю окраску различной интенсивности. В указанных условиях было получено 11 цветовых шкал, работоспособность которых проверяли визуальным методом с учетом ряда критериев, предложенных в работах [214, 218, 226].

В результате исследования было отмечено, что оптимальные условия проведения реакции для сорбционно-спектроскопического определения свинца (II) заметно отличаются от оптимальных условий визуального тестирования. Значительное влияние оказывает концентрация растворов органического красителя, используемого для получения твердофазных реагентов. Использование для визуального тест-определения Pb(II) индикаторных пленок, выбранных ранее для его сорбционно-спектроскопического определения, создавало трудности, связанные с высокой интенсивностью окраски тест-полос. Уменьшение концентрации органического реагента способствовало облегчению процесса визуального детектирования. Так, если оптимальной для методики сорбционно-

спектроскопического определения свинца являлась концентрация исходного раствора БПГК $8.5 \cdot 10^{-4}$М, то для визуального тест-определения свинца наилучший результат достигался в случае модифицирования пленок из $1.0 \cdot 10^{-4}$М раствора. Причина этого эффекта, по-видимому, заключается в различии способов получения аналитического сигнала.

Для сравнения двух цветовых шкал, полученных на основе модифицированных из $8.5 \cdot 10^{-4}$ М и $1.0 \cdot 10^{-4}$ М растворов БПГК желатиновых пленок были рассчитаны значения оттенка T_i и интенсивности U_i тест-полос. Оттенок T_i тест-полос, полученных после выдерживания в растворах с разной концентрацией свинца (II), рассчитывали по формуле:

$$T_i = A^i_{\lambda 610} / A^i_{\lambda 580}, \qquad (19)$$

где $A^i_{\lambda 610}$ – максимум поглощения комплекса Pb(II)–БПГК;

$A^i_{\lambda 580}$ – максимум поглощения БПГК в модифицированной пленке.

На рисунке 42 представлена зависимость оттенка двух серий тест-полос от концентрации свинца (II) в растворе.

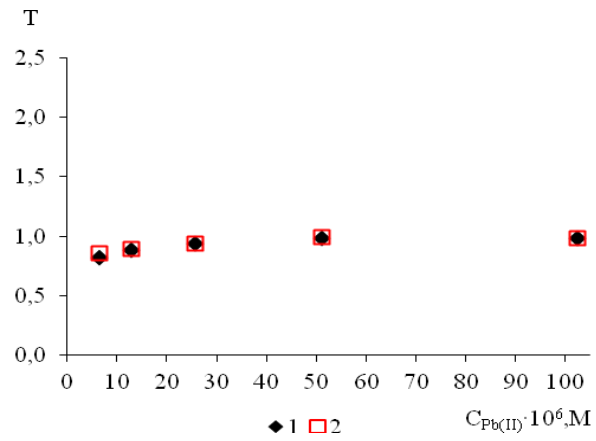


Рисунок 42 – Зависимость оттенка тест-полос, полученных модифицированием из $1.0 \cdot 10^{-4}$ М (1) и $8.5 \cdot 10^{-4}$ М (2) раствора БПГК, от концентрации свинца (II) в растворе при pH 4.5

Было отмечено, что рассчитанные значения оттенка T_i, как для светлых, так и для темных пленок были в обоих случаях практически одинаковы, то есть их оттенки имеют одинаковое положение в спектре и принадлежат одному тону.

Интенсивность окраски тест-полос рассчитывали по формуле:

$$U_i = A^i_{\lambda 610} + A^i_{\lambda 580}, \quad (20)$$

где $A^i_{\lambda 610}$ – максимум поглощения комплекса Pb(II)-БПГК;

$A^i_{\lambda 580}$ – максимум поглощения БПГК в модифицированной пленке.

Для индикаторных пленок, полученных из раствора с $C_{БПГК}$ = $8.5 \cdot 10^{-4}$ М, наблюдалась линейная зависимость интенсивности окраски U_i и оптической плотности пленок от концентрации свинца. Для образцов пленок, полученных из раствора с $C_{БПГК}$ = $1.0 \cdot 10^{-4}$ М и более удобных для визуального детектирования, наблюдается криволинейный характер зависимостей этих же величин от концентрации свинца (рисунок 43,44).

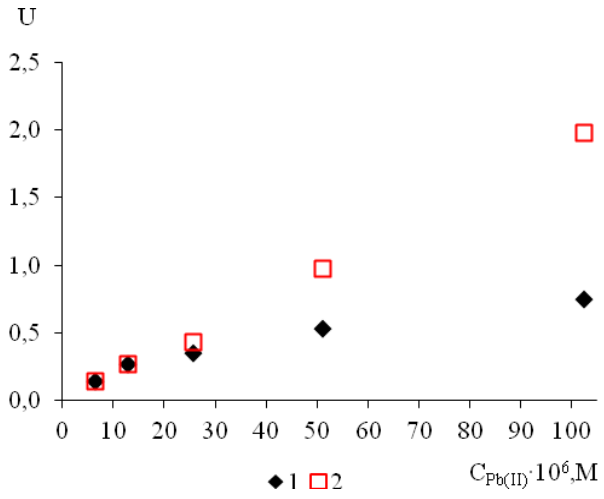


Рисунок 43 – Зависимость интенсивности окраски тест-полос от $C_{Pb(II)}$ при pH 4.5 для пленок, модифицированных из $1.0 \cdot 10^{-4}$ М (1) и $8.5 \cdot 10^{-4}$ М (2) растворов БПГК

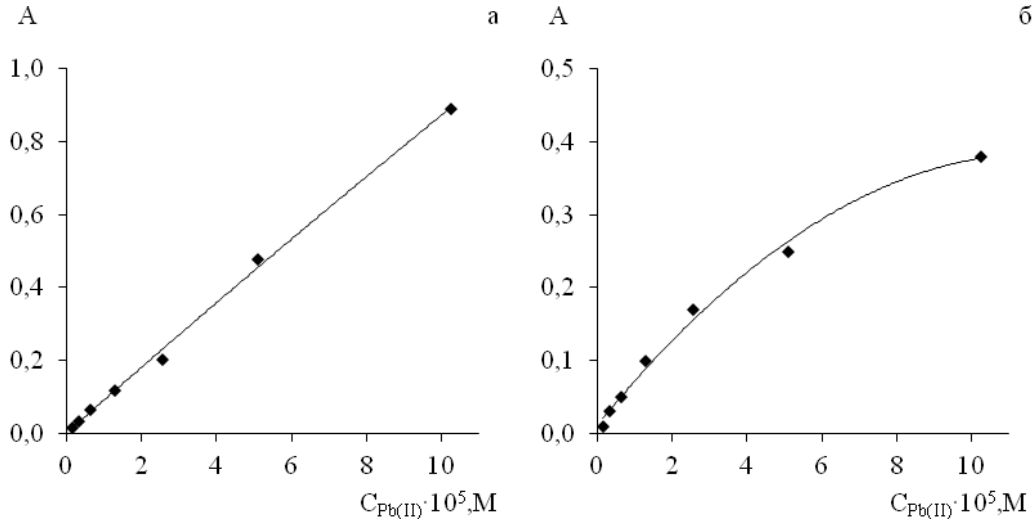


Рисунок 44 – Зависимость оптической плотности тест-полос от $C_{Pb(II)}$ при pH 4.5 и λ 610 нм для пленок, модифицированных из $8.5\cdot10^{-4}$ М (а) и $1.0\cdot10^{-4}$ М (б) растворов БПГК

Таким образом, при выборе оптимальных условий получения цветовой шкалы для визуальной колориметрии предпочтение следует отдавать визуальному методу.

Определение интервала ненадежности и предела обнаружения Pb(II) с использованием индикаторной БПГК–пленки. Определение области ненадежной реакции и оценку предела обнаружения C_{min} проводили методом, ранее применявшимся для различных тест-систем [192, 214, 218, 222]. Использовали модифицированные БПГК ($C_{БПГКисх}=1.0\cdot10^{-4}$М) желатиновые пленки, которые погружали в растворы свинца (II) с различной концентрацией при pH 4.5. После выдерживания в течение 30 минут полученные пленки извлекали и высушивали на воздухе. Предварительно с помощью группы независимых наблюдателей устанавливали интервал ненадежности обнаружения Pb(II) – диапазон концентраций металла, в котором имелись положительные и отрицательные результаты наблюдений появления синей окраски комплекса на фоне красного цвета индикаторной пленки; интервал ненадежности составил 1.9–3.7 мкМ. Относительная ширина интервала, равная отношению разности верхней

и нижней границ к значению нижней границы диапазона концентраций, соответствует значению 0.95. Узкий интервал ненадежности подтверждает хорошие аналитические свойства выбранной тест-реакции и свидетельствует об устойчивости тест-системы к внешним воздействиям.

Выявленный интервал ненадежности разбили на 7 уровней концентраций Pb(II) с шагом ΔC = 0.3мкМ. Для каждого значения концентрации получили 46 результатов трех серий наблюдений. Серия от серии отличалась повторением эксперимента с использованием новых порций растворов Pb(II) для получения новых образцов индикаторных БПГК–полос. Вычислили частоты обнаружения Pb(II) в каждой серии:

$$P(C_k)=n_k/N_k, \qquad (21)$$

где n_k – число положительных наблюдений, N_k – общее число испытаний для концентрации C_k в серии. Значения частот усреднили по сериям, вычисляя $\overline{P(C_k)}$ и стандартные отклонения частот.

Соответствие кривой эффективности (экспериментальной зависимости частоты обнаружения ионов свинца $\overline{P(C_k)}$ от концентрации Pb(II) в растворе), (рисунок 45) функциям известных распределений установили по статистическим критериям.

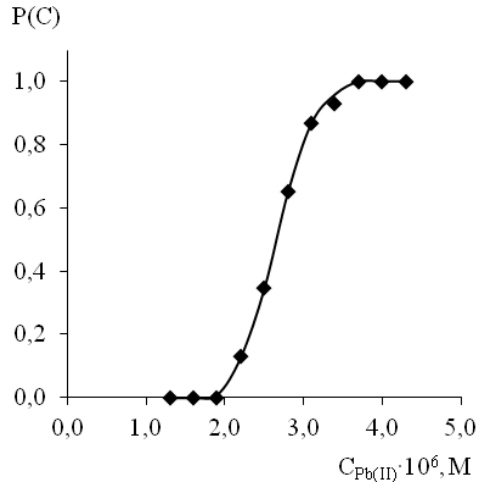


Рисунок 45 – Зависимость частоты обнаружения свинца(II) от его концентрации в интервале ненадежности

Экспериментальную кривую эффективности одинаково хорошо описали функции нормального, логнормального распределений и функция распределения Вейбулла, что характерно для тест-систем с узким интервалом ненадежности. При P(C)=0.95 во всех случаях было получено значение C_{min}=3.2 мкМ [15].

Расчет предела визуального определения Pb(II) с использованием индикаторной БПГК-пленки. Подход к оценке C_{lim} для методик тест-определений с использованием цветовой шкалы изложен в работе [192], он сводится к экспериментальной оценке стандартного отклонения визуального определения аналита (S_c) вблизи искомой концентрации, при этом утроенная величина S_c приравнивается значению C_{lim}. За ориентировочное значение предела определения свинца(II) приняли концентрацию, равную 3.7 мкМ (это значение ограничивало «сверху» интервал ненадежности). Трижды приготовили цветовую шкалу сравнения, соответствующую $C_{Pb(II)}$ в растворе 0, 3.5 и 7.0 мкМ, и контрольные образцы индикаторной пленки, отвечающие раствору с заданной концентрацией 6.4мкМ. Наблюдатели оценили содержание свинца(II) в растворе, используя цветовую шкалу. Из 48 результатов определения вычислили S_c и C_{lim}, величина искомого предела визуального определения Pb(II) составила 3.9мкМ (таблица 14).

Таблица 14 – Результаты оценки предела определения свинца(II) с использованием индикаторной БПГК–пленки (n=48)

Введено Pb(II), мкМ 6.4	Найдено Pb(II) с использованием цветовой шкалы, мкМ		
	3.5	5.25	7.0
Число определений	3	38	7
s_c=1.29 мкМ; $c_{lim} = 3s_c = 3.87 \approx 3.9$ мкМ			

Полученные результаты позволили оценить метрологические характеристики методики предлагаемого способа визуального тест-определения Pb(II) с использованием индикаторной пленки: интервал ненадежности обнаружения Pb(II) (1.9–3.7 мкМ), предел обнаружения (3.2 мкМ) и предел определения (3.9 мкМ) металла по цветовой шкале [15].

ГЛАВА 5 ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ В ЖЕЛАТИНОВЫЙ ГЕЛЬ 3,4,5 – ТРИГИДРОКСИФЛУОРОНОВ С БЕЛКАМИ

Наличие в составе белковой молекулы гидрофильных и гидрофобных группировок позволяет предположить, что физико-химические свойства белка по ряду признаков будут схожи со свойствами поверхностно-активных веществ. Отличительной особенностью макромолекул белков является то, что входящие в их состав аминокислоты своеобразно организованы: так, гидрофобные группировки расположены преимущественно во внутренней части глобулы, а гидрофильные – на поверхности белковой молекулы [70, 108, 266]. Гидрофильные структурные элементы чаще всего представлены группами – NH_2; – COOH; – SH; – OH, что позволяет существовать молекулам белка в растворе в виде заряженных частиц [297]. Соотношение основных (амидных) и кислотных (карбоксильных) группировок в составе белковой макромолекулы определяет ее заряд, однако количество ионизированных групп зависит от значения pH водного раствора [264].

Амфифильные свойства молекул белков позволяют предположить их аналогичную ПАВ способность к образованию ионных ассоциатов с органическими реагентами [240]. Белки животного происхождения, большинство из которых содержит в своем составе большое количество дикарбоновых аминокислот, в водных растворах чаще всего существуют в виде отрицательно заряженных частиц [70].

Анализ литературных данных показал, что среди органических красителей для определения белка в биологических жидкостях наиболее широко используется ПГК. Однако все исследования в этой области ограничены разработками методик [111, 118, 139, 184, 200, 213, 328, 368, 401, 403, 410, 415], при этом процессы взаимодействия белков с органическими 3.4.5-тригидроксифлуоронами изучены недостаточно подробно. Представляет интерес изучение взаимодействия белков с ПГК и БПГК и выявление факторов, влияющих на протекание этих процессов, в том числе влияние среды желатинового геля.

5.1 Взаимодействие ПГК и БПГК с белком в растворах

При проведении диагностических исследований важное место занимает определение малых количеств белка в биологических жидкостях. Данный аспект особенно важен при анализе мочи, спинномозговой, синовиальной, слезной и других жидкостей организма, которые характеризуются сложной матрицей и низким содержанием белка [140, 142, 213, 286, 300, 313, 367, 392, 394]. Недостаточная чувствительность большинства известных методик при определении низких содержаний белка в пробах, сложный состав анализируемой матрицы, искажающий результаты анализа, широкое варьирование белкового состава проб при различных заболеваниях, сложность выбора адекватного калибровочного материала и высокая трудоемкость процедуры анализа характерны для ряда известных методик [139, 158, 184]. В ряде клинико-диагностических лабораторий до сих пор используются так называемые «рутинные» методики определения белка, к которым относят турбидиметрический метод, биуретовый и метод Лоури. Однако они далеко не всегда позволяют получать надежные и воспроизводимые результаты [117, 119, 158, 351]. Наиболее перспективными являются методики, основанные на связывании белка с органическими красителями [119, 139, 140, 158, 213, 312,]. В результате реакции молекул белка с органическим красителем образуется окрашенное соединение, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации белка в пробе [213]. В качестве органических красителей используют бромкрезоловый зеленый, бромфеноловый синий, кумасси бриллиантовый голубой [110, 213, 312], однако наиболее распространенным красителем можно считать пирогаллоловый красный [111, 118, 139, 200, 328, 368, 401, 415]. Все методики с участием органических красителей имеют ряд недостатков. Различная чувствительность красителей к белкам разной природы приводит к ошибкам, связанным с различием в белковом составе анализируемой пробы и используемого калибратора, а также относительно низкая чувствительность методики для ряда биологических объектов.

Авторы [111, 368, 401], использующие органические красители для определения белка в биологических жидкостях, отмечают, что характер спектра поглощения красителя существенно изменяется при наличии в растворе белка. Y. Fujita с соавторами [328] впервые в качестве красителя при определении белка использовал пирогаллоловый красный. Было отмечено, что использование сукцинатного буфера с pH 2.5 создает необходимую буферную емкость раствора и обеспечивает кислотность среды, при котором создаются оптимальные условия для взаимодействия белка с реагентом. Можно предположить, что в кислой среде сукцинатного буфера молекулы белка приобретают положительный заряд, а молекулы органического реагента, в свою очередь, диссоциируют с образованием отрицательно заряженных групп, что приводит к образованию ионных ассоциатов. Аналогичный механизм взаимодействия этих красителей с КПАВ был отмечен рядом авторов, экспериментально доказавших существование ионных ассоциатов [253]. Впоследствии рядом исследователей были предложены различные модифицирующие добавки к сукцинатному буферному раствору, в том числе молибдат натрия, этанол, поверхностно-активные вещества [111, 213, 401].

Полученные нами экспериментальные данные подтвердили описанное ранее незначительное батохромное смещение максимума поглощения ПГК в присутствии белка при проведении реакции в среде сукцинатного буфера без добавок, а также заметный батохромный сдвиг максимума поглощения в область 600 нм в присутствии модибдат-ионов (рисунок 46). Аналогичный эффект нами наблюдался и в случае применения БПГК (рисунок 47).

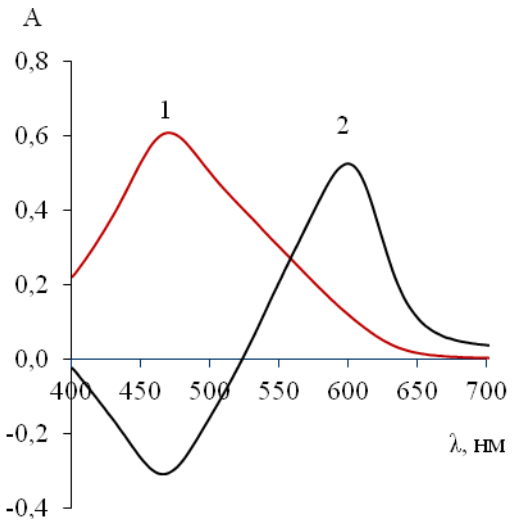


Рисунок 46 – Спектры поглощения $6.0 \cdot 10^{-5}$М раствора ПГК (1) и $6.0 \cdot 10^{-5}$М раствора ПГК в присутствии 1.0 г/л альбумина (2) в сукцинатном буфере с pH 2.5, содержащем $4.0 \cdot 10^{-5}$М молибдат-ионов

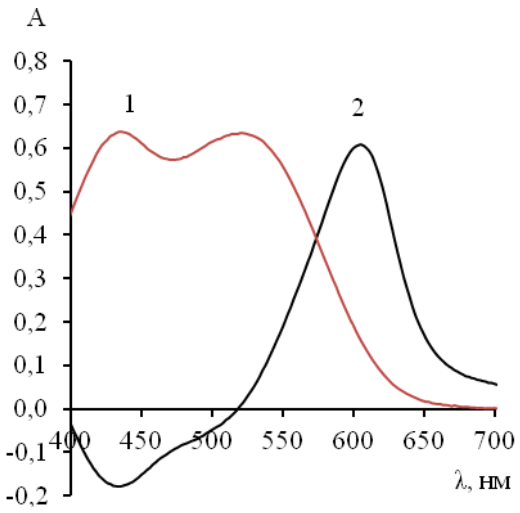


Рисунок 47 – Спектры поглощения $6.0 \cdot 10^{-5}$М раствора БПГК (1) и $6.0 \cdot 10^{-5}$М раствора БПГК в присутствии 1.0 г/л альбумина (2) в сукцинатном буфере с pH 2.5, содержащем $4.0 \cdot 10^{-5}$М молибдат-ионов

Авторы [234] при разработке методики спектрофотометрического определения Mo(VI) с БПГК описывают значительный батохромный сдвиг в системе Mo(VI)–БПГК и увеличение чувствительности реакции при введении в

раствор КПАВ и объясняют наблюдаемый эффект образованием тройного комплекса Mo(VI)–БПГК–КПАВ. Если полагать, что молекулы белка являются аналогами КПАВ, то аналогичный спектральный эффект также можно объяснить образованием тройного комплекса Mo(VI)–ПГК–белок или Mo(VI)–БПГК–белок. Полученные экспериментальные данные показывают, что растворы ПГК, содержащие молибдат натрия, не зависимо от присутствия третьего компонента (этиловый спирт, Тритон Х–100) в смеси имеют максимум поглощения при 470 нм; спектр поглощения растворов БПГК в присутствии молибдат-ионов имеют два максимума при 436 и 520 нм. Присутствие этилового спирта в составе раствора приводит к уменьшению его оптической плотности, аналогичный эффект, чуть менее выраженный, наблюдается и в присутствии Тритона Х–100. При введении белка во все системы происходит образование трехкомпонентного комплекса Mo(VI)–ПГК–белок или Mo(VI)–БПГК–белок с максимум поглощения при 600 нм. Присутствие этанола в растворе в данном случае приводит незначительному гиперхромному эффекту.

Важнейшим фактором, влияющим на процессы диссоциации органических красителей, заряд белковой молекулы, а, значит, и на реакцию их взаимодействия, является pH среды. Зависимости оптической плотности растворов, содержащих комплексы Mo(VI)–ПГК–альбумин и Mo(VI)–БПГК–альбумин, от pH среды представлены на рисунках 48 и 49.

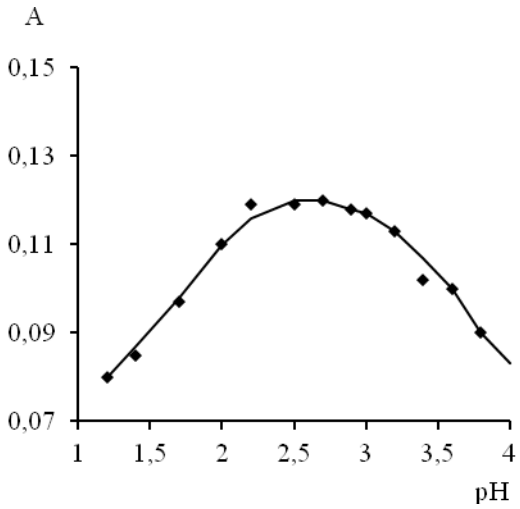


Рисунок 48 – Зависимость оптической плотности (600 нм) растворов, содержащих $6.0 \cdot 10^{-5}$М ПГК, $4.0 \cdot 10^{-5}$М Mo(VI) и 0.1 г/л альбумин от pH

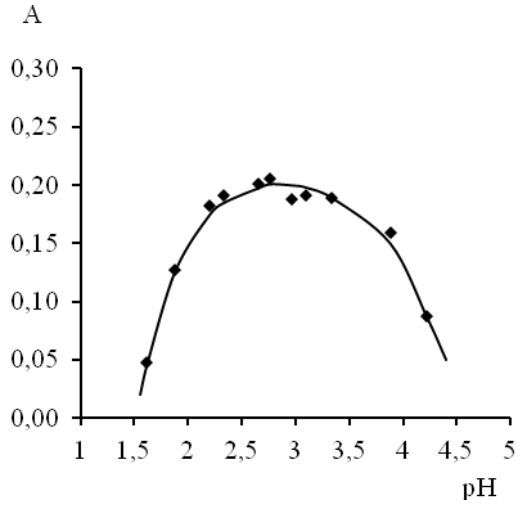


Рисунок 49 – Зависимость оптической плотности (600 нм) растворов, содержащих $6.0 \cdot 10^{-5}$М БПГК, $4.0 \cdot 10^{-5}$М Mo(VI) и 0.1 г/л альбумин от pH

В диапазоне pH от 2.2 до 3.2 для обоих реагентов наблюдается максимальный выход трехкомпонентного комплекса [16]. Авторами [49] экспериментально установлено, что образующиеся в водном растворе комплексы Mo(VI) с ПГК и БПГК в присутствии КПАВ характеризуются стехиометрическим соотношением 1:1. С учетом литературных и полученных нами экспериментальных данных можно рассматривать в качестве комплексного реагента на белок комплекс Mo(VI)–ПГК или Mo(VI)–БПГК. Для установления

стехиометрических соотношений в системе комплексный реагент–белок использовали метод Асмуса (рисунок 50), который не требует знания точной молярной концентрации белка, а также методы насыщения (рисунок 51) и Бента–Френча (ограгиченно–логарифмический) (рисунок 52). Для расчетов принимали среднюю молярную массу альбумина 65000 г/моль [70, 271]. Для обоих реагентов полученные графические зависимости при n=1 аппроксимируются прямыми линиями, что позволяет сделать вывод о стехиометрическом соотношении в составе комплексов(Mo(VI)–ПГК):альбумин и (Mo(VI)–БПГК):альбумин равном 1:1.

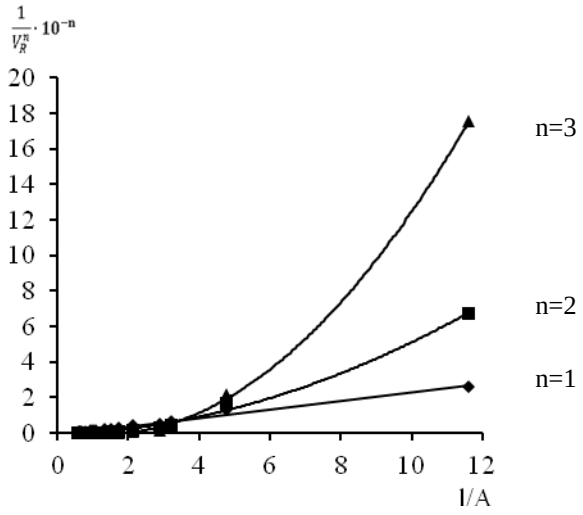


Рисунок 50 – Зависимость рассчитанных значений $\frac{1}{V_{альбумина}^{n}} \cdot 10^{-n}$ от *l/A* при определении состава комплекса (Mo(VI)–БПГК)–альбумин в водных растворах методом Асмуса при n=1, 2, 3 ($C_{БПГК}$=6.0·10^{-5}М; $C_{Mo(VI)}$= 4.0·10^{-5}М; pH 2.5; 600 нм)

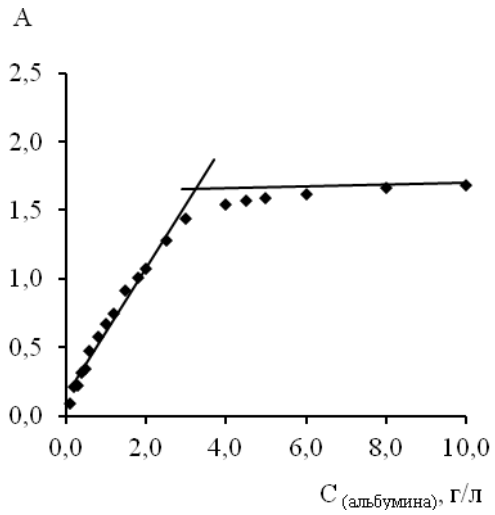


Рисунок 51 – Зависимость поглощения комплекса (Mo(VI)–БПГК)–альбумин от общей концентрации альбумина в растворе ($C_{БПГК}$=6.0·10^{-5}М; $C_{Mo(VI)}$= 4.0·10^{-5}М; pH 2.5; 600 нм)

Графически находили значение $C_{альбумина}$, соответствующее абсциссе точки пересечения касательных к линейным участкам графика. Так, при концентрации комплекса (Mo(VI)–БПГК) в растворе 4.0·10^{-5} М искомая концентрация белка в растворе равна ≈ 5.0·10^{-5} М, то есть соотношение (Mo(VI)–БПГК):альбумин в составе комплекса равно $C_{(Mo(VI)-БПГК)} : C_{альбумина}$≈1:1. Соотношение компонентов в составе комплекса $C_{(Mo(VI)-ПГК)} : C_{альбумина}$ определяется как $C_{(Mo(VI)-ПГК)} : C_{альбумина}$ = 4.0·10^{-5}:4.2·10^{-5} ≈1:1. Приблизительный характер полученных соотношений связан с невозможностью использования точной молярной массы альбумина.

По методу Бента-Френча для определения стехиометрического соотношения компонентов было получено уравнение логарифмической зависимости оптической плотности А растворов от концентрации $C_{альбумина}$ при постоянной концентрации комплексного реагента (Mo(VI)–БПГК). Угловой коэффициент полученной

зависимости равен искомому стехиометрическому коэффициенту в составе комплекса (Mo(VI)–БПГК):альбумин.

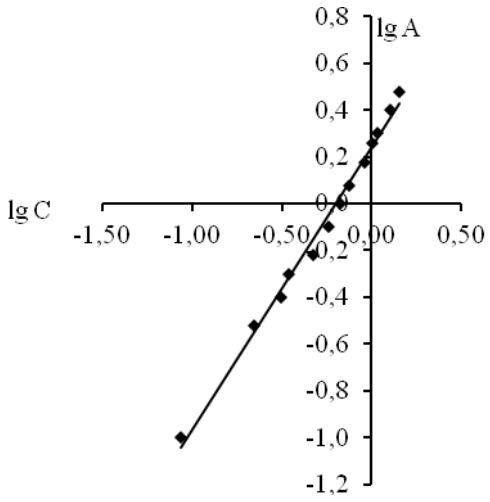


Рисунок 52 – Логарифмическая зависимость оптической плотности от концентрации белка ($C_{БПГК}$=6.0·10^{-5}M; $C_{Mo(VI)}$= 4.0·10^{-5}M; pH 2.5; λ=600 нм)

Полученная зависимость описывается уравнением y = (1.10±0.10)x + (0.20±0.03). Таким образом, полученные методом Бента-Френча результаты подтверждают полученный другими методами вывод о том, что комплексный реагент взаимодействует с молекулами белка в соотношении 1:1.

С увеличением концентрации белка в растворе оптическая плотность пропорционально возрастает. Полученные градуировочные зависимости оптической плотности от концентрации белка в растворе описываются уравнениями y = (0.51±0.01)x + (0.02 ±0.01) для ПГК и y = (0.55±0.01)x + (0.02 ±0.01) для БПГК (рисунок 53).

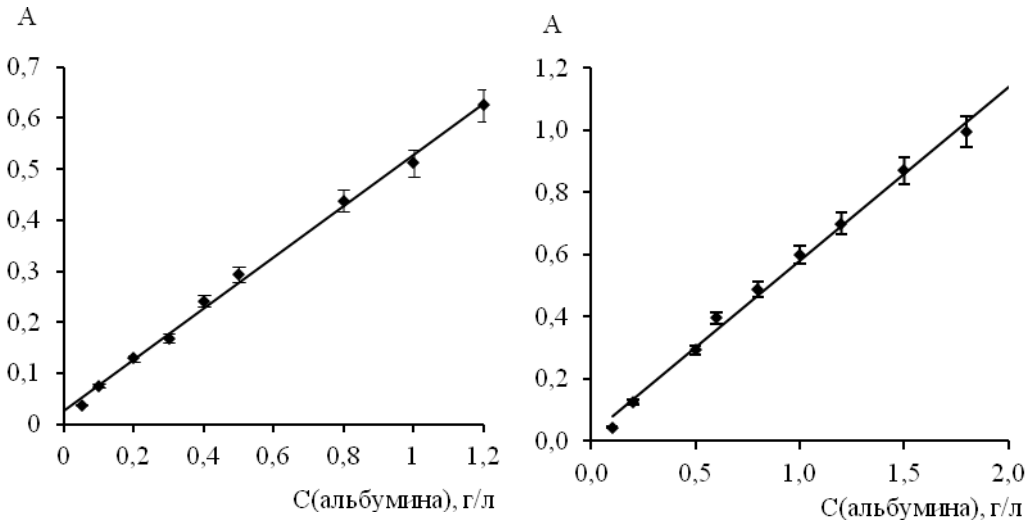


Рисунок 53 – Градуировочные зависимости оптической плотности растворов, содержащих $4.0 \cdot 10^{-5}$М Mo(VI) и $6.0 \cdot 10^{-5}$М ПГК (а) и БПГК (б) при 600 нм от концентрации альбумина

В случае использования БПГК диапазон линейности градуировочной зависимости шире. Добавление к буферному раствору НПАВ приводит, с одной стороны, к увеличению чувствительности определения белка, с другой стороны, к сужению диапазона определяемых содержаний (рисунок 54). Добавка этилового спирта существенно не влияет на аналитический сигнал, этот компонент обычно добавляют в буферный раствор для увеличения срока его хранения.

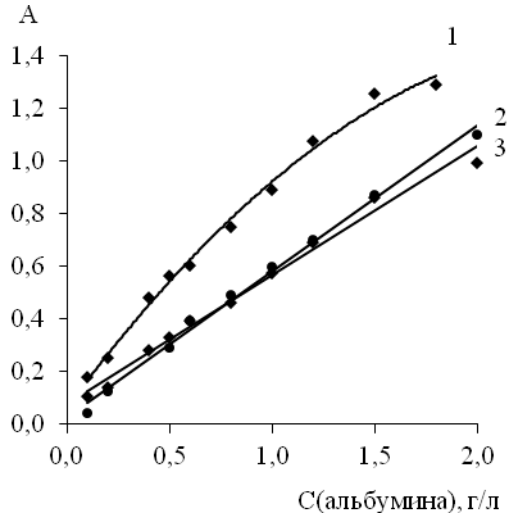


Рисунок 54 – Зависимость оптической плотности (600 нм) растворов, содержащих Mo(VI) и БПГК от концентрации альбумина:
1) $C_{БПГК}$=6.0·10^{-5}М, $C_{Mo(VI)}$= 4.0·10^{-5}М, этиловый спирт (8.0 об.%), Тритон Х – 100 (0.03 масс.%); 2) $C_{БПГК}$=6.0·10^{-5}М, $C_{Mo(VI)}$= 4.0·10^{-5}М; 3) $C_{БПГК}$=6.0·10^{-5}М, $C_{Mo(VI)}$= 4.0·10^{-5}М, этиловый спирт (8.0 об.%)

5.2 Взаимодействие ПГК, иммобилизованного в отвержденный желатиновый гель, с белком

Как известно, иммобилизация органических красителей в конденсированные среды может заметно изменить свойства реагентов [239, 241, 293]. Представлялось интересным исследовать влияние среды отвержденного желатинового геля на взаимодействие исследуемых реагентов с белком. Учитывая, что ПГК и БПГК принадлежат к одному классу реагентов, рассмотрим полученные результаты на примере ПГК, который в настоящее время при проведении клинических испытаний является одним из наиболее распространенных органических реагентов на белок.

В процессе исследования реакции иммобилизованного в желатиновую матрицу ПГК с белком было отмечено, что после контакта модифицированных красных пленок с растворами белка в среде сукцинатного буфера с pH 2.5 пленки

сохраняли прозрачность и приобретали синюю окраску, интенсивность которой уменьшалась с увеличением концентрации белка в растворе. Это явление позволяет предположить, что макромолекулы белка не проникают в среду желатинового геля, и взаимодействие между реагентом и молекулами белка происходит в растворе.

Для удобства графического представления полученных данных в качестве аналитического сигнала предложено использовать ΔA – т.е. разность оптических плотностей фоновой пленки и пленки после выдерживания в растворе аналита. Оптимизацию условий проведения индикаторной реакции в слое твердого сорбента осуществляли, варьируя состав буферного раствора, концентрацию реагента для иммобилизации, время контакта модифицированных желатиновых пленок с растворами белка [16]. На рисунке 55 представлены зависимости оптической плотности желатиновых пленок от времени выдерживания в растворах альбумина.

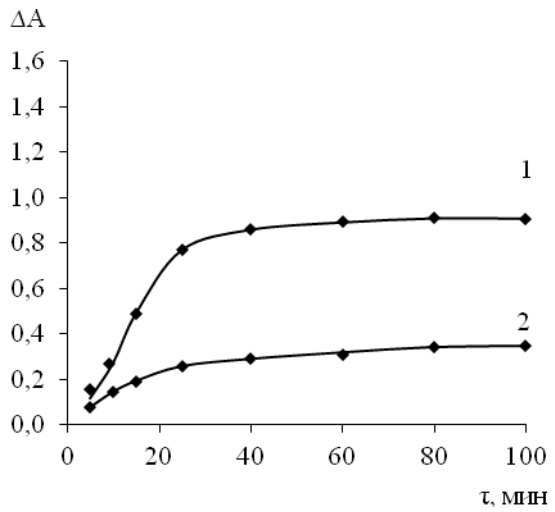


Рисунок 55 – Зависимость оптической плотности плёнок, модифицированных из $1.0 \cdot 10^{-3}$М раствора ПГК, от времени выдерживания в растворе белка с концентрацией 0.1г/л (1) и 0.02 г/л (2) при 600 нм

После 20 минут выдерживания в растворах альбумина оптическая плотность меняется незначительно, равновесие в системе наступает примерно через 40 минут выдерживания в растворах.

Результаты исследования концентрационной зависимости аналитического сигнала от содержания белка в растворе показывают, что на чувствительность определения заметное влияние оказывает исходная концентрация ПГК, иммобилизованного в пленку. Установлено, что оптимальной для сорбционно – спектроскопического определения общего белка является концентрация красителя в исходных растворах в диапазоне от $1.0 \cdot 10^{-4}$ до $1.0 \cdot 10^{-3}$ М [16]. С увеличением концентрации растворов ПГК, используемых для модифицирования желатиновых пленок, чувствительность методики возрастает (рисунок 56).

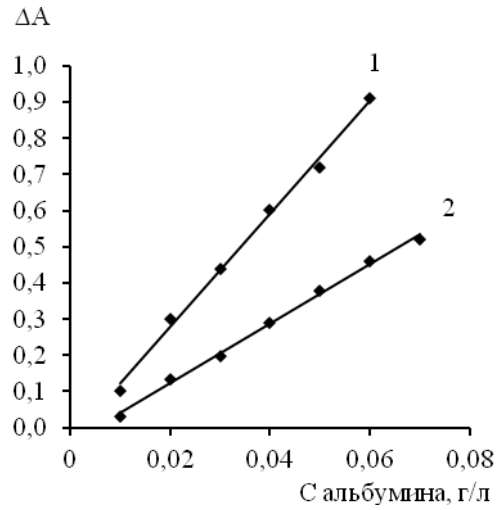


Рисунок 56 – Зависимость оптической плотности (600 нм) пленок, модифицированных из $1.0 \cdot 10^{-3}$ М раствора ПГК (1) и $5.0 \cdot 10^{-4}$ М раствора ПГК (2) от концентрации альбумина

В случае модифицирования пленок из насыщенного раствора ПГК с концентрацией $1.0 \cdot 10^{-3}$М тангенс угла наклона почти в два раза выше по сравнению с аналогичной величиной для концентрации красителя $5.0 \cdot 10^{-4}$М. При использовании концентраций, меньших $1.0 \cdot 10^{-4}$ М, пленки оказывались слишком

бледными, а при концентрациях выше $1.0 \cdot 10^{-3}$ М реагент начинал выпадать в осадок.

Как показали результаты эксперимента, применение сукцинатного буфера с добавкой только молибдат–ионов обеспечивает наилучший коэффициент чувствительности градуировочных зависимостей ΔА от концентрации белка. Присутствие этилового спирта в буферном растворе приводит к снижению тангенса угла наклона градуировочной зависимости и сужению диапазона определяемых концентраций (рисунок 57, 58). Градуировочные зависимости ΔА от концентрации белка (рисунок 59), полученные с использованием разных калибраторов – стандартных растворов альбумина и общего белка – позволяют сделать вывод о различной чувствительности ПГК к альбумину и глобулинам.

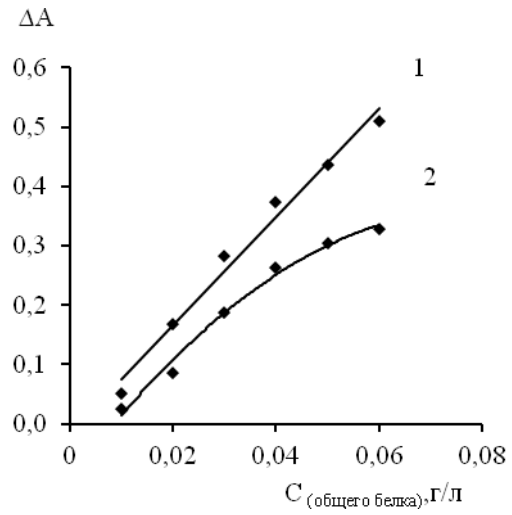


Рисунок 57 – Зависимость оптической плотности пленок (600 нм), модифицированных из $5.0 \cdot 10^{-4}$ М раствора ПГК, от концентрации общего белка при выдерживании в растворах, содержащих: сукцинатный буфер, Mo (VI) ($C_{Mo(VI)} = 4.0 \cdot 10^{-5}$М) (1); сукцинатный буфер, Mo (VI) ($C_{Mo(VI)} = 4.0 \cdot 10^{-5}$М), этиловый спирт (8.0 об.%) (2)

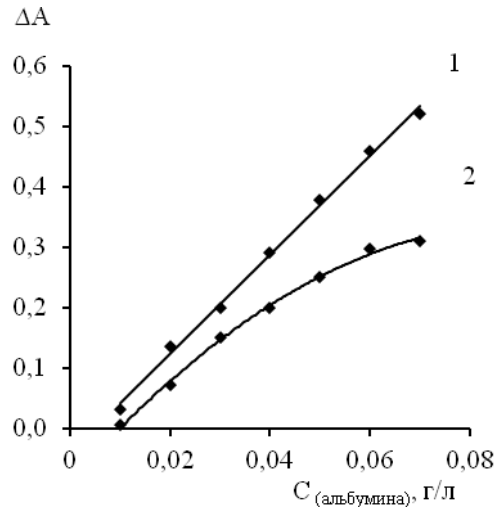


Рисунок 58 – Зависимость оптической плотности пленок (600 нм), модифицированных из $5.0 \cdot 10^{-4}$ М раствора ПГК, от концентрации альбумина при выдерживании в растворах, содержащих: сукцинатный буфер, Mo (VI) ($C_{Mo(VI)}$= $4.0 \cdot 10^{-5}$М) (1); сукцинатный буфер, Mo (VI) ($C_{Mo(VI)}$= $4.0 \cdot 10^{-5}$М), этиловый спирт (8.0 об.%) (2)

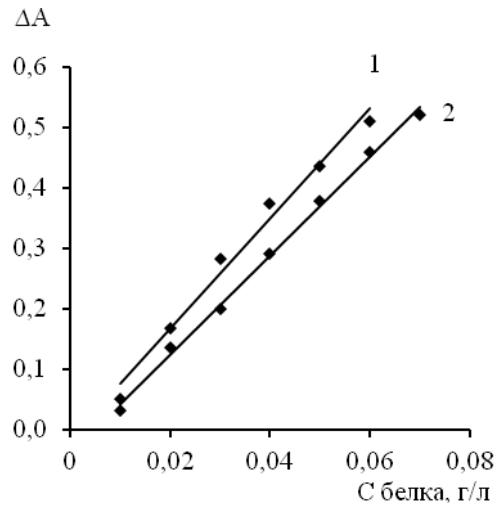


Рисунок 59 – Зависимость ΔA (600 нм) модифицированных желатиновых пленок от концентрации общего белка (1) и альбумина (2)

Данный факт необходимо учитывать при использовании альбумина в качестве стандартного вещества для определения общего белка, и для уменьшения погрешности применять поправочный коэффициент при расчете

содержания общего белка в растворе или проводить измерения разными методами. Метрологические характеристики методики определения белка с пирогаллоловым красным, иммобилизованным в отвержденный желатиновый гель, приведены в таблице 15.

Таблица 15 – Метрологические характеристики методик определения белка с пирогаллоловым красным (P = 0.95, n = 6)

Среда	Зависимость аналитического сигнала от концентрации, С белка, г/л A=(a±Δa)×C+(b±Δb)	Диапазон определяемых концентраций, г/л	r	C_{min}, г/л
Раствор	A=(0.50±0.01)×C + (0.020±0.001)	0.05 – 1.20	0.997	0.020
Желатиновая пленка	A=(8.20±0.02)×C - (0.040±0.001)	0.007 – 0.070	0.996	0.006

Таким образом, полученные нами экспериментальные данные показывают, что методика сорбционно-спектроскопического определения общего белка с использованием в качестве твердофазного реагента модифицированного желатинового геля за счет концентрирования реагента по чувствительности превосходит аналогичную спектрофотометрическую методику определения общего белка для растворов, что позволяет использовать ее для клинического анализа проб с низким содержанием белка. Сохранение прозрачности матрицы после проведения реакции создает возможность создания чувствительного элемента для косвенного сорбционно-спектрофотометрического и визуального тест-определения содержания белка в биологических жидкостях.

ГЛАВА 6 АНАЛИТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЖЕЛАТИНОВЫХ ПЛЕНОК

В основе применения твердофазных реагентов для целей анализа, как правило, лежат процессы, протекающие непосредственно в слое сорбента. В этом случае определение аналита происходит *прямым* его детектированием. В используемых нами желатиновых матрицах может возникнуть ситуация, когда массивные молекулы аналита не проникают в слой отвержденного желатинового геля, а взаимодействие в гетерогенной системе «раствор/желатин» происходит в растворе. В этом случае возможно использование *косвенного* приема – определение аналита по уменьшению оптической плотности индикаторных пленок. Полученные нами твердофазные реагенты на основе ПГК и БПГК могут найти применение как для прямого, так и для косвенного сорбционно – спектроскопического определения аналитов различной природы. В рамках данной главы обсуждаются результаты исследований по применению сорбционных материалов для прямого определения свинца в объектах окружающей среды и косвенного определения белка в биологических жидкостях.

6.1 Сорбционно-спектроскопическое определение Pb(II)

Известные спектрофотометрические методики определения свинца не отличаются высокой чувствительностью и избирательностью и предполагают стадии концентрирования с использованием токсичных органических экстрагентов [67, 97, 154,187, 208, 319, 374]. В работах [95-101, 216, 262, 303, 320] описаны комбинированные методики, позволяющие сочетать концентрирование и последующее определение свинца в оптически прозрачной твердой фазе, однако при их использовании возникают проблемы, касающиеся как способа получения сорбционного материала, так и способности сохранения прозрачности твердой

фазы при проведении аналитической реакции с сохранением оптического эффекта.

С учетом проведенных исследований нами предложен способ сорбционно-спектроскопического определения свинца на основе реакции бромпирогаллолового красного с ионами Pb(II) в среде отвержденного желатинового геля.

Получение твердофазного реагента. Для изготовления твердофазного реагента использовали фотографическую пленку для офсетной печати фирмы AGFA с толщиной желатинового слоя ~ 20 мкм [61, 159], из которого полностью удаляли галогениды серебра, используя коммерческие растворы Agfa Graphics NV (Belgium). Образцы пленки были прозрачными, бесцветными и механически прочными. Извлечение красителя в желатиновый слой проводили из раствора БПГК с концентрацией $8.5 \cdot 10^{-4}$М, выдерживая образцы пленки размером 24×14 см в течение 50 минут в титановой кювете. После высушивания на воздухе пленку разрезали на полоски размером 1.0×3.0 см. Полученные, равномерно окрашенные в красновато-лиловый цвет, пленки хранили при комнатной температуре в темном сухом месте. Срок хранения пленок в указанных условиях практически неограничен.

Построение градуировочного графика при сорбционно-спектроскопическом определении. В мерные колбы объемом 25 мл вносили 5 мл ацетатного буферного раствора с pH 4.5 и различное количество раствора нитрата свинца с исходной концентрацией $1 \cdot 10^{-3}$ М. Серию растворов готовили так, чтобы концентрация Pb(II) находилась в диапазоне от $1 \cdot 10^{-6}$ до $1 \cdot 10^{-4}$М. После перемешивания растворов отбирали аликвоту объемом 5 мл и переносили в пробирки. Модифицированные БПГК желатиновые пленки опускали в полученные растворы, выдерживали 50 минут и после высушивания измеряли оптическую плотность. pH контролировали с помощью pH – метра – иономера «Эксперт – 001». Оптическую плотность пленок после их контакта с растворами, содержащими ионы металла, регистрировали на спектрофотометре UV-1800 фирмы SHIMADZU при 610 нм, соответствующей максимуму поглощения

комплекса. Пленки закрепляли в держателе непосредственно в кюветном отделении прибора. Пленки с иммобилизованным реагентом фотометрировали относительно неокрашенного образца при 580 нм. Концентрацию свинца (II) определяли с помощью градуировочного графика (см. рисунок 41).

Подготовка проб воздуха и проведение анализа. Разработанную методику апробировали на реальных объектах – воздухе рабочей зоны типографии ООО «Биотех-Юг» (г. Краснодар) и завода ЗАО “КубаньЦветмет” (п. Холмский Краснодарского края).

Пробы для анализа отбирали в различных точках рабочей зоны при различных технологических режимах по методике [126]. Автоматический отбор проб воздуха в рабочей зоне проводили с использованием аспиратора ПУ-4Э и фильтров АФА-ВП. Для кислотного вскрытия фильтров с пробой использовали смесь серной и азотной кислот, озоление проводили в муфельной печи при 500°С в течение 60 минут. Остывшую золу обрабатывали 5 мл ацетатного буфера (pH 4.5). В растворы, полученные после озоления и обработки ацетатным буфером, погружали образцы индикаторной пленки на 50 минут. В качестве образца сравнения использовали пленку, полученную путем выдерживания в растворе после аналогичной обработки чистых фильтров. Светопоглощение индикаторных желатиновых пленок регистрировали на спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu). Для проверки правильности методики использовали метод атомно-абсорбционной спектроскопии (**ААС**). Для каждой точки концентрацию свинца измеряли в трех повторностях. Содержание вещества сорбционно-спектроскопическим методом определяли по предварительно построенному градуировочному графику. Результаты эксперимента представлены в таблице 16.

Согласно нормативным документам [55], ПДК свинца в воздухе рабочей зоны составляет 0.01 мг/м^3 . С использованием предлагаемой методики предел обнаружения свинца в воздухе составляет 0.001 мг/м^3, что на порядок ниже уровня ПДК.

Таблица 16 – Результаты определения Pb(II) в воздухе рабочей зоны (P=0.95,n = 3)

Объект	№ пробы	$C_{Pb(II)}$ в воздухе, мг/м^3	
		Индикаторные пленки (СФ)	ААС
ЗАО НПП «КубаньЦветМет»	1	0.035 ± 0.003	0.035 ± 0.002
	2	0.034 ± 0.002	0.033 ± 0.002
	3	0.022 ± 0.003	0.021 ± 0.002
	4	0.011 ± 0.002	0.011 ± 0.001
Типография ООО «Биотех-Юг»	1	0.021 ± 0.003	0.021 ± 0.003
	2	0.013 ± 0.003	0.011 ± 0.003
	3	0.009 ± 0.002	0.009 ± 0.001
	4	0.008 ± 0.002	0.008 ± 0.002

Устойчивость аналитического сигнала в течение длительного времени, стабильность иммобилизованного в желатиновый слой красителя, контрастность изменения окраски, оптическая прозрачность материала, а также линейная зависимость оптической плотности пленок от концентрации металла в растворе позволяют использовать исследуемую систему не только для сорбционно-спектроскопического, но и визуально-тестового определения свинца в водных средах [212].

6.2 Визуальное тест-определение Pb(II)

Разработанная методика визуального тест-определения свинца (II) также была апробирована при анализе воздуха рабочей зоны указанных предприятий – завода ЗАО “КубаньЦветмет и типографии ООО «Биотех-Юг». Вскрытие фильтров после отбора проб воздуха и чистых фильтров проводили аналогичным образом, как и в случае сорбционно-спектроскопического определения.

Получение твердофазного реагента. Извлечение красителя в желатиновый слой проводили из раствора БПГК с концентрацией $1.0 \cdot 10^{-4}$М, выдерживая

образцы пленки размером 24×14 см в течение 50 минут в титановой кювете. После высушивания на воздухе пленку разрезали на полоски размером 0.7×2.0 см.

Получение цветовой шкалы. В пробирки вносили по 5 мл заранее приготовленных растворов Pb(II) с концентрациями 0; 4.0; 8.0; 16; 32; 64 мкМ. В 25 мл каждого раствора содержалось 5 мл раствора, полученного обработкой золы чистых фильтров ацетатным буфером с pH 4.5. После выдерживания в этих растворах предварительно модифицированных БПГК желатиновых пленок их высушивали и хранили в сухом темном месте, оптические и аналитические свойства полученных образцов цветовой шкалы сохранялись в течение продолжительного времени. Интенсивность окраски образцов цветовой шкалы возрастала пропорционально увеличению концентрации свинца в растворах.

Определение Pb(II) в модельных растворах и реальных объектах. Проверку правильности методики проводили методом «введено-найдено» на модельных растворах, в которые погружали по три образца БПГК–пленок, содержание Pb(II) оценивали 5 наблюдателей, пользуясь полученной цветовой шкалой. Из 15 результатов определения вычисляли средние значения концентраций; интервал разброса результатов определения указывали согласно правилам, изложенным в работе [226] (таблица 17).

Таблица 17 – Результаты тестового определения свинца(II) в стандартных растворах методом «введено-найдено» (n=15)

Введено $C_{Pb(II)} \cdot 10^6$, М	4.8	6.0	12	19	38	50
Найдено $C_{Pb(II)} \cdot 10^6$, М	4.4	6.1	11	18	40	43
Интервал разброса результатов $\Delta C \cdot 10^6$, М	4.0 – 8.0	4.0 – 8.0	8.0 – 16	16 – 32	32 – 64	32 – 64

Отбор проб воздуха рабочей зоны и проподготовку полученных фильтров осуществляли по методике, описанной ранее. В полученные растворы на 30 минут погружали образцы индикаторной пленки, и 5 наблюдателей по цветовой шкале оценивали содержание Pb(II). Параллельно пробы анализировали методом атомно-

абсорбционной спектроскопии. Для каждой точки концентрацию свинца измеряли в трех повторностях. Результаты определения свинца (II) представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Результаты визуального тест-определения Pb(II) в воздухе рабочей зоны

Объект	№ пробы	$C_{Pb(II)}$ в воздухе, мг/м^3	
		Визуальное тестирование (интервал разброса результатов, (n=15)	ААС
ЗАО НПП «КубаньЦветМет»	1	0.041 (0.032÷0.064)	0.035 ± 0.002
	2	0.039 (0.032÷0.064)	0.033 ± 0.002
	3	0.020 (0.016÷0.032)	0.021 ± 0.002
	4	0.010 (0.008÷0.016)	0.011 ± 0.001
Типография ООО «Биотех-Юг»	1	0.023 (0.021÷0.042)	0.021 ± 0.003
	2	0.009 (0.008÷0,016)	0.011 ± 0.003
	3	0.010 (0.008÷0.016)	0.009 ± 0.001
	4	0.007 (0.005÷0.010)	0.008 ± 0.002

**ПДК свинца в воздухе рабочей зоны составляет 0.01 мг/м^3 [55].*

В четырех пробах содержание свинца в воздухе рабочей зоны превышало ПДК. По предлагаемой методике диапазон определяемых концентраций составил от $6.0 \cdot 10^{-6}$ до $9.6 \cdot 10^{-5}$ М в растворах, что, в пересчете на содержание свинца в воздухе с учетом проводимой пробоподготовки, составляет от $5.2 \cdot 10^{-3}$ до $8.3 \cdot 10^{-2}$ мг/м^3. Как видно из таблицы 18, результаты анализа, полученные с использованием предлагаемых индикаторных пленок, характеризуются удовлетворительными правильностью и воспроизводимостью, что свидетельствует о возможности использования коммерческой фотопленки с иммобилизованным металлоиндикатором бромпирогаллоловым красным для визуально-тестового определения свинца(II) [15].

6.3 Сорбционно-спектрофотометрическое определение белка

Получение твердофазного реагента. Извлечение красителя в желатиновый слой проводили из раствора ПГК с концентрацией $5.0 \cdot 10^{-4}$М, выдерживая образцы пленки размером 24×14 см в течение 50 минут в титановой кювете. После высушивания на воздухе пленку разрезали на полоски размером 0.7×2.0 см. Полученные равномерно окрашенные в красный цвет пленки хранили при комнатной температуре в темном сухом месте.

Построение градуировочного графика. В пробирки вносили мерной пипеткой 4 мл сукцинатного буферного раствора с pH 2.5, содержащего молибдат ионы ($C_{Mo(VI)}=4.0 \cdot 10^{-5}$, М), соответствующее количество стандартного раствора белка (калибратор «Общий белок» с концентрацией 60 г/л фирмы ООО «АГАТ – МЕД»), добавляли физиологический раствор до объема 5 мл и перемешивали. Концентрацию белка варьировали в диапазоне от 0.005 г/л до 0.10 г/л.

В полученные растворы опускали модифицированные ПГК желатиновые пленки, через 20 минут их извлекали и высушивали на воздухе. В зависимости от содержания белка в растворе они приобретали синюю окраску различной интенсивности, закономерно уменьшающейся с увеличением концентрации белка. При длине волны 600 нм измеряли значения ΔA, т.е. разность оптических плотностей фоновой пленки и пленки после выдерживания в растворе аналита. По полученным данным строили градуировочную зависимость ΔA пленок от концентрации белка в растворе (рисунок 60).

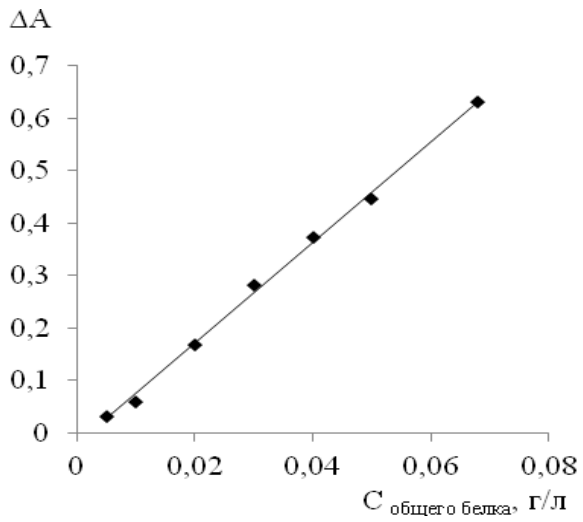


Рисунок 60 – Зависимость оптической плотности индикаторных пленок от концентрации белка в растворе ($C_{ПГКисх}$=5.0·10^{-4}, М; τ=20 минут; 600 нм)

Градуировочный график линеен в диапазоне концентраций аналита от 7·10^{-3} до 7·10^{-2}г/л; рассчитанное по 3S-критерию значение предела обнаружения общего белка по данной методике составляет 6·10^{-3} г/л.

Определение общего белка в модельных растворах и биологических жидкостях. Проверку правильности определения общего белка проводили методом «введено-найдено» на модельных растворах. В пробирки вносили 4 мл сукцинатного буферного раствора с pH 2.5, содержащего молибдат ионы ($C_{Mo(VI)}$=4.0·10^{-5}, М), 0.02-0.05 г белка в соответствующем объеме стандартного раствора и доводили до общего объема 5мл физиологическим раствором. Модифицированные пирогаллоловым красным пленки опускали в растворы на 20 минут. После извлечения и высушивания измеряли оптическую плотность пленок и по градуировочному графику находили концентрацию общего белка в растворе (таблица 19).

Таблица 19 – Результаты определения общего белка в модельных растворах (P=0.95, n=5)

Проба	Определяемый компонент	Введено $x \cdot 10^2$, г/л	Найдено $x \cdot 10^2 \pm \frac{t(P,f) \cdot s(x)}{\sqrt{n}}$, г/л	S_r
1	Общий белок	2.0	2.2±0.2	0.06
2	Общий белок	4.0	3.8±0.3	0.04
3	Общий белок	5.0	4.8±0.3	0.06

Предлагаемый способ определения белка апробирован на образцах плазмы крови, которые разбавляли в 10 раз, в пробирки вносили 50 мкл полученных исследуемых растворов и 5 мл сукцинатного буфера. Индикаторные пленки опускали в полученные растворы и выдерживали 20 минут, после высушивания пленок измеряли их оптическую плотность. По градуировочному графику определяли концентрацию белка в растворе и с учетом разбавления пересчитывали на содержание в реальном образце (таблица 20). Правильность результатов определения белка в плазме крови подтверждена методом «введено-найдено».

Таблица 20 – Результаты определения общего белка в плазме крови методом «введено-найдено»* (P = 0.95, n = 5)

Образец плазмы крови	Введено (x), г/л	Найдено ($x \pm \frac{t(P,f) \cdot s(x)}{\sqrt{n}}$), г/л	S_r
1	–	43±3	0.05
	30	67±5	0.06
2	–	40±3	0.05
	20	54±6	0.08
3	–	41±4	0.07
	10	49±4	0.06

**Данные таблицы приведены в пересчете концентраций на реальный объект.*

Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования прозрачного сорбента на основе отвержденного желатинового геля, модифицированного пирогаллоловым красным, для определения общего белка в сложных биологических объектах. Предлагаемая методика позволяет расширить диапазон определяемых концентраций и снизить предел обнаружения общего белка в биологических жидкостях. Прозрачность, механическая прочность твердофазного реагента, простота изготовления и стабильность окраски твердофазного реагента при его длительном хранении делают разработанный чувствительный элемент удобным не только для сорбционно-спектроскопического, но и визуально-тестового определения белка при массовых анализах [16].

ВЫВОДЫ

1. Изучены особенности получения оригинальных прозрачных чувствительных элементов на основе желатиновых пленок, модифицированных ПГК и БПГК, для определения аналитов различной природы. Определены время установления гетерогенного равновесия в системе «раствор/желатиновая пленка» и характер влияния этилового спирта и поверхностно-активных веществ на процесс сорбции ПГК и БПГК. Максимальная оптическая плотность модифицированных желатиновых пленок наблюдается в диапазоне pH от 2.5 до 4.5.

2. Исследовано модифицирующее действие желатиновой матрицы на оптические, кислотно-основные и комплексообразующие свойства иммобилизованных ПГК и БПГК. Наблюдаемое батохромное смещение максимумов поглощения диссоциированных форм реагентов (20 нм) свидетельствует о возможности образования в двухфазной системе «раствор/желатиновая пленка» ионных ассоциатов. Установлены значения «кажущихся» констант диссоциации ПГК и БПГК, иммобилизованных в отвержденный желатиновый гель. Показано, что среда желатинового геля, как и КПАВ, усиливает кислотные свойства ПГК и БПГК, а присутствие АПАВ в пределах погрешности не влияет на кислотные свойства изученных 3,4,5-тригидроксифлуоронов.

3. Изучены реакции комплексообразования закрепленных на желатиновой матрице ПГК и БПГК с тяжелыми металлами (Pb(II) и Cu(II)). В оптимизированных условиях установлены стехиометрические соотношения Me:ПГК и Me:БПГК в растворах (1:1), при извлечении металлокомплекса из раствора в желатиновую матрицу число координируемых Me^{2+} частиц реагентов не изменяется. Оценено влияние среды желатинового геля на константы равновесия образования комплексных соединений в гетерогенных системах. Исследована морфология поверхности желатиновых пленок, модифицированных ПГК и БПГК и их металлокомплексами.

4. Изучено взаимодействие модифицированных ПГК и БПГК желатиновых пленок с белками, оптимизированы условия проведения индикаторной реакции в слое твердого сорбента, выбран состав буферного раствора, концентрация реагента для иммобилизации и время контакта модифицированных желатиновых пленок с растворами белка.

5. Разработаны методики сорбционно-спектроскопического и тест-определения свинца (II) в водных средах с использованием полученных сорбционных материалов. Указанные методики успешно апробированы для определения свинца (II) в воздухе рабочей зоны промышленных предприятий. Разработана и апробирована методика сорбционно-спектроскопического определения общего белка в биологических жидкостях на основе ПГК, иммобилизованного в отвержденный желатиновый гель.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ААС – атомно-абсорбционная спектроскопия
АПАВ –анионогенные поверхностно-активные вещества
БПГК – бромпирогаллоловый красный
ГА – галлеин
ДБГ – дибромгаллеин
ДДС – додецилсульфат натрия
ИПАВ – ионогенные поверхностно-активные вещества
КПАВ – катионные поверхностно-активные вещества
МГФ-ЖИМ – металлгексацианоферрат(II)ные желатин-иммобилизованные матрицы
НПАВ – неионогенные поверхностно-активные вещества
ПАВ – поверхностно-активные вещества
ПАР – 4-(2-пиридилазо)-резорцин
ПГК – пирогаллоловый красный
СФ – салицилфлуорон
ТОФ – триоксифлуороны
ТФМ – трифенилметановые красители
ФФ – фенилфлуорон
ХАЗ – хромазурол –S
ХМК – химически модифицированные кремнеземы
ЦП – цетилпиридиний хлорид
ЧЭ – чувствительный элемент
ЭДТА – соль динатриевая этилендиамин-N,N,N',N' – тетрауксусной кислоты

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абраменкова, О.И. Расчет предела обнаружения в химических тест-методах анализа, использующих принципы планарной хроматографии / О.И. Абраменкова, В.Г. Амелин // Журн. аналит. химии. – 2009. – Т. 64. – № 11. – С. 1213.

2. Алакаева, Л.А. Спектрофотометрические методы исследования комплексных соединений: учеб. пособи / Л.А. Алакаева. – Нальчик: Каб-Балк. ун-т, 2003. – 62 с.

3. Амелин, В.Г. 2,3,7-тригидроксифлуороны, иммобилизованные на целлюлозных матрицах, в тест-методах определения редких элементов / В.Г. Амелин, О.И. Абраменкова // Журн. аналит. химии. – 2008. – Т. 63. – № 11. – С. 1217.

4. Амелин, В.Г. Адсорбционно закрепленные азореагенты в химических тест-методах анализа, использующих принципы осадочной хроматографии на бумаге / В.Г. Амелин, А.В. Третьяков // Журн. аналит. химии. – 2003. – Т. 58. – № 8. – С. 829.

5. Амелин, В.Г. Ди- и триаминотриарилметановые реагенты, иммобилизованные на тканях из искусственных и натуральных волокон, в химических тест-методах анализа / В.Г. Амелин // Журн.аналит.химии. – 2008. – Т. 63. – № 3. – С. 327.

6. Амелин, В.Г. Индикаторные бумаги в тест - методах визуальной колориметрии / В.Г. Амелин // Журн. аналит. химии. – 2002. – Т. 57. – № 8. – С. 867.

7. Амелин, В.Г. Многокомпонентный анализ жидких сред тест-методом / В.Г. Амелин // Журн. аналит. химии. – 2002. – Т. 57. – № 12. – С. 1296.

8. Амелин, В.Г. Особенности тест-реакции ионов металлов с хромазуролом S, иммобилизованным на тонкослойных матрицах / В.Г. Амелин, О.Б. Чернова // Журн. аналит. химии. – 2008. – Т. 63. – № 8. – С. 873.

9. Амелин, В.Г. Ткани из искусственных и натуральных волокон с иммобилизованными реагентами в химических тест-методах анализа / В.Г. Амелин, А.В. Третьяков // Журн. аналит. химии. – 2006. – Т. 61. – № 4. – С. 430.

10. Амелин, В.Г. Фенолкарбоновые кислоты трифенилметанового ряда иммобилизованные на тканях из искусственных и натуральных волокон, для тест-определения алюминия, бериллия и катионных ПАВ / В.Г. Амелин В.Г., О.Б. Ганькова // Журн. аналит. химии. – 2007. – Т. 62. – № 3. – С. 318.

11. Амелин, В.Г. Химические тест-методы / В.Г. Амелин // Журн. аналит. химии. – 2000. – Т. 55. – № 9. – С.903.

12. Амелин, В.Г. Целлюлозная бумага с химически иммобилизованным 1-нафтиламином для экспрессного тест-определения нитритов, нитратов и ароматических аминов / В.Г. Амелин, И.С. Колодкин // Журн. аналит. химии. – 2001. – Т. 56. – № 2. – С.206.

13. Андреева, И.Ю. Определение малых количеств Mo и W в виде комплексов с бромпирогаллоловым красным и некоторыми ПАВ / И.Ю.

Андреева, Л.И. Лебедева, Г.Л. Кавелина // Журн. аналит. химии. – 1982. – Т. 37. – № 12. – С. 2202.

14. Андреева, И.Ю. Определение молибдена(VI) в морской воде с предварительным концентрированием методом ионной флотации / И.Ю. Андреева, Л.И. Лебедева, О.Л. Дранчинская // Журн. аналит. химии. – 1985. – Т. 40. – № 4. – С. 694.

15. Анисимович, П.В. Визуальное тест-определение Pb(II) с использованием индикаторной желатиновой пленки / П.В Анисимович, З.А. Темердашев, Т.Б. Починок, [и др.] // Аналитика и контроль. – 2014. – Т. 18. – № 3. – С. 328.

16. Анисимович, П.В. Иммобилизация пирогаллолового красного желатиновым гелем и использование композита для определения общего белка / П.В. Анисимович, З.А. Темердашев, Т.Б. Починок, Е.А. Решетняк // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2015. – Т. 15. – Вып. 2. – С. 724.

17. Анохина, Н.С. Взаимодействие W(VI) с 2,3,7-триоксифлуоронами в присутствии ПАВ / Н.С. Анохина, Е.Н. Суворова // Журн. аналит. химии. – 1984. – Т. 39. – № 12. – С. 2151.

18. Антонова, Т.В. К вопросу о точности спектрофотометрических оценок суммарного содержания фенолов // Т.В. Антонова, В.И. Вершинин, В.А. Иванова, П.В. Шилигин // Аналитика и контроль. – 2012. – Т. 16. – № 4. – С. 343.

19. Антонович, В.П. О влиянии поверхностно-активных веществ на реакции образования триоксифлуоронатов металлов / В.П. Антонович, М.М. Новоселова, В.А. Назаренко // Журн. аналит. химии. – 1984. – Т. 34. – Вып. 7. – С.1157.

20. Антонович, В.П. О реакциях олова (IV), сурьмы (III) и висмута (III) с триоксифлуоронами в присутствии цетилпиридиния / В.П. Антонович, Е.Н. Суворова, Е.И. Шелихина // Журн. аналит. химии. – 1982. – Т. 37. – Вып. 3. – С. 429.

21. Антонович, В.П. Спектрофотометрические характеристики, кислотно-основные свойства и π-электронное строение пирогаллолового красного и бромпирогаллолового красного / В.П. Антонович, Е.И. Писарева, И.М. Грекова, Т.П. Яковлева // Журн. аналит. химии. – 1976. – Т. 31. – № 12. – С. 2302.

22. Балыкин, В.П. О реакционной способности 2,3,7- и 3,4,5-триоксифлуоронов / В.П. Балыкин, Э.И. Руденко, О.А. Ефремова, Т.Г. Кучугова, В.В. Рогулин // Вестн. Челяб. ун-та. Сер. 4. Химия. – 2001. – № 1. – С. 94.

23. Берштейн, И.Я. Спектрофотометрический анализ в органической химии / И.Я. Берштейн, Ю.А. Каминский. – Л.: Химия, 1986. – 200 с.

24. Булатов, М.И. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа / М.И. Булатов, И.П. Калинкин И.П. – 5-ое изд. перераб. – Л: Химия, 1986. – 432 с.

25. Ватер, О. Световое дубление в теории и практике изготовления печатных форм / О. Ватер. – М.: Искусство, 1958. – 212 с.

26. Великородный, А.А. Ксерогели на основе диоксида кремния, модифицированные кобальтом (III). Твердофазно-спектрофотометрическое

определение нафтолов в растворах / А.А. Великородный, Е.И. Моросанова // Журн. аналит. химии. – 2000. – Т. 55. – № 8. – С. 808.

27. Вершинин, В.И. Выявление отклонений от аддитивности при спектрофотометрическом анализе неразделенных смесей / В.И. Вершинин, И.В. Власова, Т.Г. Цюпко // Методы и объекты химического анализа. – 2010. – Т. 5. – № 4. – С. 226.

28. Вершинин, В.И. Методология анализа неразделенных смесей. Пределы погрешности при оценке суммарного содержания аналитов в пересчете на стандартное вещество / В.И. Вершинин, М.П. Кулешова, Н.А. Исаченко, П.В. Шилигин // Журн. аналит. химии. – 2013. – Т. 68. – № 6. – С. 9.

29. Вершинин, В.И. Методология спектрофотометрического анализа смесей органических соединений. Погрешность оценки суммарного содержания аналитов с учетом их коэффициентов чувствительности / В.И. Вершинин, Н.С. Бриленок , Т.Г. Цюпко // Журн. аналит. химии. – 2012. – Т. 67. – № 7. – С. 715.

30. Вершинин, В.И. Надежность интегральных показателей как оценок суммарных содержаний углеводородов и фенолов в природных и сточных водах / В.И. Вершинин, Т.В. Антонова, М.А. Федорова // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2013. – Т. 79. – № 10. –С. 3.

31. Владимирова, Т. В. Взаимодействия в системе анионное поверхностно-активное вещество – катионный краситель – неионогенное поверхностно-активное вещество / Т.В. Владимирова, Е.П. Гришина // Известия вузов. Химия и химическая технология. – 2003. – Т. 46. – № 8. – С. 58.

32. Власов, Ю.Г. Твердотельные сенсоры в химическом анализе / Ю.Г. Власов // Журн. аналит. химии. – 1990. – Т. 45. – № 7. – С. 1279.

33. Власова, И.В. Возможности определения компонентов бинарных смесей методом Фирордта с погрешностями, не превышающими заданный предел / И.В. Власова, В.И. Вершинин // Журн. аналит. химии. – 2009. – Т. 64. – № 6. – С. 571.

34. Власова, И.В. Методология спектрофотометрического анализа смесей органических соединений. Проблема неаддитивности светопоглощения / И.В. Власова, В.И. Вершинин, Т.Г. Цюпко // Журн. аналит. химии. – 2011. – Т. 66. – № 1. – С. 24.

35. Власова, И.В. Новые подходы к спектрофотометрическому анализу многокомпонентных смесей / И.В. Власова, А.В. Шилова // Вестник харьковского национального университета. Химия. – 2007. – Т. 15(38). – № 770. – С. 141.

36. Власова, И.В. Предельно допустимые отклонения от аддитивности при фотометрическом анализе двухкомпонентных смесей методом Фирордта / И.В. Власова, Н.А. Исаченко, А.В. Шилова // Журн. аналит. химии. – 2010. – Т. 65. – № 5. – С. 481.

37. Власова, И.В. Спектрофотометрические методы в анализе лекарственных препаратов / И.В.Власова, А.В. Шилова, Ю.С. Фокина // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2011. – Т. 77. – № 1. – С 21.

38. Власова, И.В. Спектрофотометрический анализ неразделенных смесей (лекарственных и витаминных препаратов) с применением хемометрических

алгоритмов: дис. … докт-ра. хим. наук: 02.00.02 / Власова Ирина Васильевна. – Томск, 2011. – 275 с.

39. Власова, И.В. Спектрофотометрическое определение кофеина, парацетамола и ацетилсалициловой кислоты при совместном присутствии /И.В. Власова, С.А. Кулакова, А.В. Поморцева // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2005. – Т. 71. – № 9. – С. 18.

40. Водолазкая, Н. А. Ультрамикрогетерогенные системы, их влияние на кислотно-основные равновесия и сольватохромные свойства индикаторов: учебно-методическое пособие по курсу “Химические равновесия в ультрамикрогетерогенных системах” для студентов IV курса, специализирующихся на кафедре физической химии химического факультета / Н.А. Водолазкая, Ю.В. Исаенко, С.Т. Гога. − Х.: ХНУ имени В. Н. Каразина, 2006. − 64 с.

41. Водолазкая, Н.А. Протолитические равновесия в мицеллярных растворах поверхностно-активных веществ: дисс.…канд. хим. наук: 02.00.04 / Водолазская Наталья Александровна. − Харьков, 2001. − 260 с.

42. Гавриленко, Н.А. Окислительно-восстановительные и кислотно-основные свойства 2,6-дихлорфенолиндофенола, иммобилизованного в полиметакрелатную матрицу / Н.А. Гавриленко, А.В. Суханов, О.В. Мохова // Журн. аналит. химии. – 2010. – Т. 65. – № 1. – С.20.

43. Гавриленко, Н.А. Оптический сенсор для определения аскорбиновой кислоты / Н.А. Гавриленко, Г.М. Мокроусов, О.В. Джиганская // Журн. аналит. химии. – 2004. – Т. 593. – № 9. – С. 967.

44. Гавриленко, Н.А. Сорбционно-спектрофотометрическое определение железа (II,III) с использованием органических реагентов, иммобилизованных в полиметакрилатную матрицу / Н.А. Гавриленко, О.В. Мохова // Журн. аналит. химии. – 2008. – Т. 63. – №11. – С. 1141.

45. Гавриленко, Н.А. Твердофазная экстракция и спектрофотометрическое определение меди (II) с использованием полиметакрелатной матрицы / Н.А. Гавриленко, Н.В. Саранчина // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2008. – Т. 74. – № 1. – С. 6.

46. Гавриленко, Н.А. Твердофазно-спектрофотометрическое определение серебра с использованием дитизона, иммобилизованного в полиметакрелатную матрицу / Н.А. Гавриленко, Н.В. Саранчина // Журн. аналит. химии. – 2010. – Т. 65. – № 2. – С. 153.

47. Гагарин, А. Н. Влияние агрегатного состояния воды (пар-жидкость) на набухание сшитых гидрофильных полимеров: дис. …канд. хим. наук: 02.00.04. / Гагарин Александр Николаевич. – М., 2011. –180 с.

48. Гайдук, О.В. Экспрессное определение ионов меди (I, II) с помощью реактивной индикаторной бумаги / О.В. Гайдук, Р.П. Панталер, Н.Н. Гребенюк, В.М. Островская // Журн. аналит. химии. – 2009. – Т. 64. – № 2. – С. 216.

49. Гамбаров, Д.Г. Спектрофотометрическое определение молибдена (VI) бромпирогаллоловым красным в присутствии Тритона Х-114 / Д.Г. Гамбаров,

Ф.Г. Халилова, Д.Х. Нагиев // Журн. аналит. химии. – 2006. – Т. 61. – № 7. – С. 694.

50. Ганаго, Л.И. Изучение разнолигандных комплексных соединений галлия и индия с хромофорными реагентами трифенилметанового ряда с бромидом цетилпиридиния /Л.И. Ганаго, Н.Н. Ищенко //Журн. аналит. химии. – 1982. – Т. 37. – № 9. – С. 1636.

51. Ганаго, Л.И. Ионные ассоциаты германия с бромпирогаллоловым красным и трифенилметановыми красителями / Л.И. Ганаго, И.Ф. Иванова, В.Н. Ящук, И.А. Семенович // Известия вузов. Химия и химическая технология. – 1991. – V. 34. –№ 1. – С. 28.

52. Ганаго, Л.И. Разнолигандные комплексные соединения Ti(IV) с бромпирогаллоловым красным и цетилпиридинием / Л.И. Ганаго, Л.В. Ковалева // Журн. аналит. химии. – 1982. – Т. 37. – № 7. – С. 1209.

53. Ганаго, Л.И. Разнолигандные комплексные соединения РЗЭ, титана и молибдена с пирогаллоловым красным и бромидом цетилпиридиния / Л.И. Ганаго, Л.А. Алиновская Л.А., И.Ф. Иванова, Л.В. Ковалева // Журн. аналит. химии. – 1984. – Т. 39. – № 2. – С. 251.

54. Гармаш, А.В. Метрологические основы аналитической химии / А.В. Гармаш, Н.М. Сорокина. – 3-е изд. – Москва: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2012. – 47 с.

55. ГН 2.2.5.1313-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ воздухе рабочей зоны». – М.: 2006. – 268 с.

56. Гордеева, М.Н. Исследование взаимодействия ванадия (III) с бромпирогаллоловым красным и экстракции комплекса с помощью дифенилгуанидина / М.Н. Гордеева, А.М. Рындина, Л.А. Хайт // Вестн. Ленингр. ун-та. – 1974. – Вып. 2. Физика, химия. – № 10. – С. 149.

57. Гордон, П. Органическая химия красителей / П. Гордон, П. Грегорн. – пер. с англ. – М.: Мир, 1987. – 344с

58. Горенштейн, Л.И. Взаимодействие в системе U(VI)-БПГК-НПАВ-катионный реагент. Безэкстракционное определение ОП-10 и U(VI) / Л.И. Горенштейн, В.В. Сухан // Журн.аналит.химии. – 1999. – Т. 54. – № 5. – С. 479.

59. Горин, Д.А. Получение наноразмерных пленок каликс[4]резорцинаренов на основе сочетания методов полиионной сборки и Ленгмюра-Блоджетт / Д.А. Горин, Б.Н. Климов, А.А. Невешкин, Т.Ю. Русанова, С.Н. Штыков // Нано- и микросистемная техника. – 2008. – № 7. – С. 24.

60. Горячева, И.Ю. Флуоресцентные свойства афлатоксинов в организованных средах на основе поверхностно-активных веществ, циклодекстринов и каликсрезорцинаренов / И.Ю. Горячева, К.Е. Панкин, Т.Ю Русанова // Журн. аналит. химии. – 2008. – Т. 63. – № 8. – С. 824.

61. ГОСТ 10691.4 – 84. Пленки фотографические и кинопленки черно-белые обращаемые. Метод определения чисел чувствительности. – Взамен ГОСТ 10691.4 - 73; Введ. с 01.01.1987. – М.: Издательство стандартов, 1984. – 4с.

62. Грибов, Л.А. Влияние заместителей в молекуле органического реагента на его электронное строение и реакционную способность / Л.А. Грибов,

С.Б. Саввин, М.М. Райхштат // Журн. аналит. химии. – 1980. – Т. 35. – № 8. – С. 1469.

63. Григорьева, М.Ф. Взаимодействие ванадия(IV) с производными 3,4,5-тригидрокси-6-изоксантена / М.Ф. Григорьева, А.Г. Осмонова // Вестн. С.-Петерб. унив. Сер. 4: Физика, химия. – 1993. – № 3. – С. 113.

64. Гризодуб, А.И. Априорный выбор аналитических длин волн в методе Фирордта / А.И. Гризодуб, М.Г. Левин, В.П. Георгиевский // Журн. аналит. химии. – 1987. – Т. XLII. – Вып. 9. – С. 1589.

65. Гризодуб, А.И. Влияние повторных измерений и расширения набора длин волн на точность многоволновой спектрофотомерии по методу наименьших квадратов / А.И. Гризодуб, Н.Н. Асмолова, В.П. Георгиевсикй, Н.В. Белоброва // Журн. аналит. химии. – 1989. – Т. 44. – № 10. – С. 1824.

66. Гросберг, А.Ю. Статистическая физика макромолекул / А.Ю. Гросберг, А.Р. Хохлов. – М.: Наука, 1989. – 344 с.

67. Гуркина, Т.В., Фотометрическое определение микрограммовых количеств меди, цинка, свинца в природных водах с использованием ксиленолового оранжевого / Т.В. Гуркина, А.М. Игошин // Журн. аналит. химии. – 1965. – Т. 20. – № 7. – С. 778.

68. Гурьева, Р.Ф. Концентрирование благородных металлов в виде комплексов с органическими реагентами на полимерном носителе и последующее определение их в твердой фазе // Р.Ф. Гурьева, С.Б. Саввин / Журн. аналит. химии. – 2000. – Т. 54. – № 3. – С. 280.

69. Дамаскин, Б.Б. Основы теоретической электрохимии / Б.Б. Дамаскин, О.А. Петрий. – М.: Химия, 1978. – 299 с.

70. Деборина, Г.А. Химия белка / Г.А. Деборина, Р.А. Дулицкой; пер. с англ. – Москва.: Иностр. литер, 1949. – 358с.

71. Дедкова, В.П. Сорбционно-спектрометрическое определение лантана в присутствии урана и тория реагентом арсеназо М на твердой фазе волокнистых наполненных сорбентов / В.П. Дедкова, О.П. Швоева, С.Б. Саввин // Журн. аналит. химии. – 2007. – Т. 62. – № 8. – С. 814.

72. Дедкова, В.П. Тест-метод раздельного определения ртути(II), кадмия и свинца из одной пробы на волокнистом сорбенте ПАНВ-АВ-17 / В.П. Дедкова, О.П. Швоева, С.Б. Саввин // Журн. аналит. химии. – 2006. – Т. 61. – № 8. – С. 880.

73. Дедов, А.Г. Тест-средства для определения соединений железа, марганца и N-метиланилина в товарных бензинах / А.Г. Дедов, Н.Г. Перевертайло, В.В. Некрасова и др. // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2012. – Т. 78. – № 2. – С. 75.

74. Дерффель, К. Статистика в аналитической химии / К. Дерффель. – пер. с нем. – М: Мир, 1994. – 268 с.

75. Джеймс, Т.Х. Теория фотографического процесса / Т.Х. Джеймс. – Л.: Химия, 1980. – 672 с.

76. Дмитриенко, С.Г. Пенополиуретан. Старый знакомый в новом качестве / С.Г. Дмитриенко // Соровский образовательный журнал. – 1998. – № 8. – С. 65.

77. Дмитриенко, С.Г. Пенополиуретаны: Сорбционные свойства и применение в химическом анализе / С.Г. Дмитриенко, В.В. Апяри. – М.: КРАСАНД, 2010. – 264 с.

78. Дмитриенко, С.Г. Разработка тест-средств на основе пенополиуретанов / С. Г. Дмитриенко, Л.Н. Пяткова, О. Свиридова, О. Медведева // Партнеры и конкуренты. – 2002. – № 1. – С. 19.

79. Дмитриенко, С.Г. Сорбция ионных ассоциатов на пенополиуретанах и ее применение в сорбционно-спектроскопических и тест-методах анализа / С.Г. Дмитриенко, Л.Н. Пяткова, Ю.А. Золотов // Журн. аналит. химии. – 2002. – Т. 57. – № 10. – С. 1036.

80. Доленко, С.А. Сорбционно-фотометрическое определение анионных поверхностно-активных веществ в водах / С.А. Доленко, Е.Ю. Алексеенко, Н.Ф. Кущевская // Журн. аналит. химии. – 2010. – Т. 65. – № 3. – С. 235.

81. Доронин, С.Ю. Влияние мицеллярных нанореакторов ПАВ на реакцию 2,4-динитрофенилгидразина с некоторыми альдегидами / С.Ю. Доронин, Р.К. Чернова, А.А. Бурмистрова // Журн. общ. химии. – 2008. – Т. 78. – № 5. – С. 761.

82. Доронин, С.Ю. Ионные и мицеллярные эффекты в супрамолекулярных самоорганизующихся средах ионных ПАВ на примере аналитических систем амины – карбонильные соединения / С.Ю. Доронин, Р.К.Чернова, Н.М. Задымова, [и др.] // Журн. аналит. химии. – 2010. – Т. 65. – № 1. – С. 51.

83. Доронин, С.Ю. Экстракционное концентрирование органических аналитических форм системами на основе ПАВ / С.Ю. Доронин, Р.К. Чернова, А.А. Бурмистрова // Бутлеровские сообщения. – 2011. – Т. 25. – № 6. – С. 94.

84. Дорощук, В.А. Мицеллярно-экстракционное концентрирование Mo(VI) с бромпирогалловым красным и КПАВ при температуре помутнения / В.А. Дорощук, С.А. Куличенко // Химия и технол. воды. – 2003. – Т. 25. – № 3. – С. 251.

85. Досон, Р. Справочник биохимика / Р. Досон, Д. Эллиот, У. Эллиот, К. Джонс. – М.: Мир, 1991. – 355 с.

86. Евгеньев, М.И. Тест-методы для визуального, спектрофотометрического и хроматографического определения аминосоединений в воздушных и водных средах / М.И. Евгеньев, С.Ю. Гармонов, И.И. Евгеньева, [и др.] // Журн. аналит. химии. – 1998. – Т. 53. – № 2. – С.175.

87. Евгеньев, М.И. Тест-метод определения токсичных веществ раздражающего действия в воздушной среде / М.И. Евгеньев, С.Ю. Гармонов, П.Е. Белов и др. // Журн. аналит. химии. – 2003. – Т. 58. – № 5. – С. 542.

88. Евгеньев, М.И. Тест-методы и экология / М.И. Евгеньев // Соровский образовательный журнал. – 1999. – № 11. – С. 29.

89. Евгеньев, М.И. Тест-пленки для определения ароматических аминов и гидразинов в водных средах / М.И. Евгеньев, С.Ю. Гармонов, И.И. Евгеньева // Журн. аналит. химии. – 2002. – Т. 57. – № 2. – С.187.

90. Евстратова, К.И. Физическая и коллоидная химия: учеб. для фарм. Вузов и факультетов / К.И. Евстратова, Н.А. Купина, Е.Е. Малахова. – М.: Высш. школа, 1990. – 487 с.

91. Есипова, Н.Г. О роли воды в структуре коллагена / Н.Г. Есипова, Н.С. Андреева, Т.В. Гатовская // Биофизика. – 1958. – Т. 3. – № 5. – С. 529.

92. Железнова, Т.Ю. Спектрофотометрическое определение констант устойчивости комплексных соединений с применением алгоритма множественной линейной регрессии // Т.Ю. Железнова, И.В. Власова, С.М. Добровольский, Д.В. Филатова // Аналитика и контроль. – 2012. – Т. 16. – № 4. – С. 350.

93. Запорожец, О.А. Тест-определение свинца и цинка в воде с использованием иммобилизованного на кремнеземе ксиленолового оранжевого / О.А. Запорожец, Л.Е. Цюкало // Журн. аналит. химии. – 2004. – Т. 59. – № 4. – С.434.

94. Золотов, Ю.А. Метрология качественного анализа / Ю.А. Золотов // Журн. аналит. химии. – 2002. – Т. 57. – № 7. – С. 677.

95. Золотов, Ю.А. Сорбционное концентрирование микрокомпонентов для целей химического анализа / Ю.А. Золотов, Г.И. Цизин, Е.И. Моросанова, С.Г. Дмитриенко // Успехи химии. – 2005. – Т. 74. – № 1. – С. 41.

96. Золотов, Ю.А. Сорбционное концентрирование микрокомпонентов из растворов: применение в неорганическом анализе / Ю.А. Золотов, Г.И. Цизин, С.Г. Дмитриенко, Е.И. Моросанова. – М.: Наука, 2007. – 320 с.

97. Золотов, Ю.А. Химические тест-методы анализа / Ю.А. Золотов, В.М. Иванов, В.Г. Амелин. – М.: Едиториал УРСС, 2002. – 304 с.

98. Золотов, Ю.А. Химический анализ без лабораторий: тест-методы / Ю.А. Золотов // Вестник Российской академии наук. – 1997. –Т. 67. – № 6. – С. 508.

99. Зубов, П.Н. Строение студней. Получение глобулярной желатины / П.Н. Зубов, З.Н. Журкина, В.А. Каргин // ДАН СССР. – 1949. – Вып. 67. – № 4. – С. 659.

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

101. Иванов, В. М. Взаимодействие молибдена (VI) с пирогаллоловым красным и бромпирогаллоловым красным в присутствии поверхностно-активных веществ / В.М. Иванов, А.М. Мамедова // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. – 2003. – Т. 44. – № 4. – С. 253.

102. Иванов, В. М. Цветометрические характеристики тиоцианата железа (III) / В. М. Иванов, В. Н. Фигуровская [и др.] // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. – 2004. – Т. 45. – № 5. – С. 315.

103. Иванов, В.М. 3,4,5-тригидроксифлуороны как аналитические реагенты / В.М. Иванов, А.М. Мамедова // Журн. аналит. химии. – 2006. – Т. 61. – № 11. – С. 1128.

104. Иванов, В.М. Влияние поверхносто-активных веществ на кислотно-основные и цветометрические характеристики пирогаллолового красного и

бромпирогаллолового красного / В.М. Иванов, А.М. Мамедова // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. – 2002. – Т. 43. – № 5. – С. 291.

105. Иванов, В.М. Пирогаллоловый красный и бромпирогаллоловый красный в новых оптических методах определения молибдена (VI) и вольфрама (VI) / В.М. Иванов, А.М. Мамедова // Журн. аналит. химии. – 2006. – Т. 61. – № 3. – С. 261.

106. Иванов, В.М. Пирокатехиновый фиолетовый в спектрофотометрических и новых оптических методах / В. М. Иванов, Г.А. Кочелаева // Успехи химии. – 2006. – Т. 75. – № 3. – С. 283.

107. Иванов, В.М. Тест-методы в аналитической химии. Определение емкости тест-форм, содержащих гетероциклические азосоединения / В.М. Иванов С.А. Морозко // Журн. аналит. химии. – 1996. – Т. 51. – № 10. – С. 1083.

108. Иванов, В.М. Цветометрические и кислотно-основные характеристики пирогаллолового красного и бромпирогаллолового красного / В.М. Иванов, А.М. Мамедова // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. – 2002. – Т. 43. – № 3. – С. 167.

109. Измайлова, В.Н. Структурообразование в белковых системах / В. Н. Измайлова, П.А. Ребиндер. – М.: Наука, 1974. – 268 с.

110. Инструкция по применению набора реагентов для определения содержания альбумина в сыворотке и плазме крови человека АЛЬБУМИН ФС // Утверждена Приказом Росздравнадзора от 15 апреля 2009 г. № 3004 – Пр/09 РУ № ФСР 2009/04712 от 06.02.2009 г.

111. Инструкция РУ №ФСР 2007/01435 по применению набора реагентов для количественного определения общего белка в моче и спинномозговой жидкости с пирогаллоловым красным (ОБЩИЙ БЕЛОК ПГК ФС) // Утверждена Приказом Росздравнадзора от 20 июля 2010 г. № 6830 – Пр/10.

112. Индикаторы / Под ред. Э.Бишопа. М.: Мир, 1976. Т.1. – 496 с.

113. Исаенко, Ю.В. Бетаиновые индикаторы Райхардта как сольватохромные пробы для исследования мицеллярных растворов коллоидных ПАВ / Ю.В. Исаенко, Н.А. Водолазкая, Н.О. Мчедлов-Петросян // Вестник Харьковского национального университета. – 2002. – № 549. – Химия. – Вып.8(31). – С. 140.

114. Исаенко, Ю.В. Ионные равновесия производных 4-(2,4,6-трифенилпиридиний-1)-феноксида в микроэмульсиях типа масло/вода / Ю.В. Исаенко, С.Т. Гога, Н.О. Мчедлов-Петросян // Вестник Харьковского университета. – 2002. – № 549. – Химия. Вып.8(31). – С 126.

115. Каттрал, Р.В. Химические сенсоры / Р.В. Каттрал. – М.: Научный мир, 2000. – 144 с.

116. Кельцев, Н.В. Основы адсорбционной техники / Н.В. Кельцев. – 2-е изд.,перераб. и доп. – М.: Химия, 1984. – 592 с.

117. Ким, Ю.В. 170 лет с сульфосалициловым методом (обзор литературы) / Ю.В. Ким, А.Н. Шибанов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 8. – С. 10.

118. Ким, Ю.В. Пирогаллоловый метод определения белка в моче (обзор литературы) / Ю.В. Ким, А.Н. Шибанов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 10. – С. 3.

119. Ким, Ю.В. Что мы измеряем в моче сульфосалициловым методом? [Электронный ресурс] / Ю.В. Ким, О.Е. Потехин, М.И. Токар, А.Н. Шибанов // Лабораторная медицина. – 2003. – № 6. – С. 94. Режим доступа: http://www.ramld.ru/articles/article.php?id=42

120. Климов, Б.Н. Получение и исследование физико-химических свойств пленок Ленгмюра-Блоджетт на основе соли полиамидокислоты / Б.Н. Климов, Г.Ю. Науменко, Н.Н. Воронцова, [и др.] // Изв. ВУЗов. Матер. электрон. техн. – 2001. – № 1. – С. 35.

121. Климов, Б.Н. Электрофизические свойства структур «металл – диэлектрик – полупроводник», содержащих наноразмерные пленки Ленгмюра-Блоджетт на основе каликс[4]резорцинарена с ионами металлов / Б.Н. Климов, А.А. Невешкин, А.М. Ященок, [и др.] // Вестн. Саратовск. гос. техн. ун-та. – 2006. – № 4 (17). Вып. 2. – С. 32.

122. Кобзева, И.Н. Оптические сенсоры для биосенсорных диагностических систем на основе поверхностно-плазмонного анализа / И.Н. Кобзева // Вестник КДПУ им. М. Остроградского. – 2009. – Т. 4(57). – № 2. – С. 53.

123. Козлов, П.В. Структура и свойства желатины в твердом состоянии / П.В. Козлов, Г.И. Бурдыгина // Журн. науч. и прикл. фотогр. и кинематогр. – 1977. – Т. 22. – № 1. – С. 68.

124. Коновалова, О.Ю. Особенности протекания индикаторной реакции на первичные ароматические амины в желатиновой пленке / О.Ю. Коновалова, Л.П. Логинова // Методы и объекты химического анализа. – 2008. –3(2). – С. 147.

125. Коншина, Дж.Н. Функционализация поверхности целлюлозы тиосемикарбазидными группами с целью создания сорбента для концентрирования и определения тяжелых металлов в водах / Дж.Н. Коншина, З.А. Темердашев, В.В. Коншин, Е.И. Бышкина // Аналитика и контроль. – 2013. – Т. 17. – С. 393.

126. Коплика Л.В. Сборник методик и инструктивных материалов по определению вредных веществ для контроля источников загрязнения окружающей среды: под ред. Л.В. Коплика. Краснодар. Северный Кавказ, 1993. Ч. 1. 224 с.

127. Коренман, Я.И. Применение пьезосенсоров на основе пленок Ленгмюра-Блоджетт арахиновой кислоты для детектирования нитроалканов в воздухе / Я.И. Коренман, А.В. Калач, Т.Ю. Русанова, С.Н. Штыков // Сенсор. – 2002. – № 2. – С.14.

128. Корнеев, С.В. Визуальное обнаружение Cu(II), Zn(II), Pb(II) с помощью гибридного материала, полученного сорбционной иммобилизацией ксиленолового оранжевого на силикагеле / С.В. Корнеев, Ю.В. Холин, Ю.А. Галян // Вестник Харьковского национального университета. Химия. – 2005. – Т. 13 (36). – № 669. – С. 125.

129. Костенко, Е.Е. Твердофазная спектрофотомерия – эффективный метод определения тяжелых металлов в пищевых объектах / Е.Е. Костенко, М.Й. Штокало // Журн. аналит. химии. – 2004. – Т. 59. – № 12. – С. 1276.

130. Костенко, Е.Е. Твердофазное спектрофотометрическое определение свинца с хромазуролом S / Е.Е. Костенко // Журн. аналит. химии. – 2010. – Т. 65. – № 4. – С.377.

131. Костенко, Е.Е. Химико-аналитические свойства сульфофталеиновых красителей, иммобилизованных на аниониты АВ-17×8 и их использование в анализе пищевых объектов / Е.Е. Костенко // Методы и объекты химического анализа. – 2011. – Т. 6. – № 1. – С. 56.

132. Кочук, Е.В. Сорбция сульфаниламидов на сверхсшитом полистироле / А.И. Кочук, С.Г. Дмитриенко // Журн. физич. химии. – 2011. – Т. 85. – № 1. – С. 95.

133. Крюков, А.И. Фотоперенос электрона и его прикладные аспекты / А.И. Крюков, В.П. Шерстюк, И.И. Дилунг. – Киев: Наукова Думка, 1982. – 240 с.

134. Кузнецов, В.В. Аналитические реакции комплексообразования органических реагентов с ионами металлов в отвержденном желатиновой геле / В.В. Кузнецов, С.В. Шереметьев // Журн. аналит. химии. – 2009. – Т. 64. – № 9. – С. 910.

135. Кузнецов, В.В. Определение сульфатов в водах с использованием чувствительных элементов на основе желатинового геля / В.В. Кузнецов, С.Б. Савин, С.В Шереметьев // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2007. – Т. 73. – №10. – С. 11.

136. Кузнецов, В.В. Тест-метод для определения магния с электростатически иммобилизованным реагентом магнезон ИРЕА / В.В. Кузнецов, Ю.В. Ермоленко, И.Ю. Колосова // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. –2010. – Т. 76. – № 12. – С. 5.

137. Кузнецов, В.В. Чувствительные элементы оптических сенсоров на основе полистирола с ковалентно иммобилизованными реагентами / В.В. Кузнецов, С.В. Шереметьев // Журн. аналит. химии. – 2007. – Т. 62. – № 3. – С. 303.

138. Кузнецов, В.В. Чувствительные элементы с иммобилизованным арсеназо III для определения кальция в водах и пищевых продуктах / В.В. Кузнецов, Ю.В.Ермоленко, И.Ю. Черникова, С.В. Шереметьев // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2008. – Т. 74. – № 5. – С. 18.

139. Ларичева, Е.С. Способен ли метод определения белка в моче пирогаллоловым красным претендовать на роль основного [Электронный ресурс] / Е.С. Ларичева, Ю.Н. Андреев, А.В. Козлов // Лабораторная диагностика. – 2009. – № 1. – С. 24. Режим доступа: http://www.technomedica.ru /site_files/ docs/books/ method-pirrag-main.pdf.

140. Лелевич, С.В. Основы клинической биохимии : пособие для студентов медико-диагностического факультета / С.В. Лелевич и др. – Гродно: ГрГМУ, 2013. – 184 с.

141. Лисичкина, Г.В. Модифицированные кремнеземы в сорбции, катализе и хроматографии / под.ред Г.В. Лисичкина. – М.: Химия, 1986. – 248 с.

142. Лифшиц, В.М. Биохимические анализы в клинике: справочник / В.М. Лифшиц, В.И. Сидельникова. – 2-е изд.-М.: Медицинское информационное агентство, 2001. – 303 с.

143. Логинова, Л. П., Метрологические характеристики обнаружения восстановителей с реагентами, иммобилизованными в желатиновой пленке / Л.П Логинова, О.Ю Коновалова // Вестник Харьковского национального университета. – 2007. – Сер. Химия. – № 770. – Вып. 15(38). – С. 90.

144. Логинова, Л.П. Идентификация нитроксолина с использованием гексацианоферратов (II) кобальта (II) и меди(II), иммобилизованных в желатиновой матрице / Л.П. Логинова, О.Ю. Нестеренко, И.В. Кудрис // Вестник Харьковского национального университета. – 2005. – № 669. Сер. Химия. – Вып 13(36). – С. 93.

145. Логинова, Л.П. Тест-пленки для обнаружения и полуколичественного определения первичных ароматических аминов / Л.П. Логинова, О.Ю. Нестеренко // Вестник Харьковского национального университета. – 2006. – № 731. Вып.14 (37). – С.112.

146. Лосев, В.В. Кремнеземы, химически модифицированные серосодержащими группами, для концентрирования, разделения и определения благородных и цветных металлов: автореф. дис. доктора химических наук: 02.00.02 / Лосев Владимир Николаевич. – Томск., 2007. – 43 с

147. Лосев, В.Н. Сорционно-люминесцентное определение меди с использованием силикагеля, химически модифицированного N-(1,3,4-триадиазол-2-тиол)-N'-прорилмочевинными группами / В.Н. Лосев, Е.В. Елсуфьев, С.И. Метелица, [и др.] // Журн. аналит. химии. – 2009. – Т. 64. – № 4. – С. 360.

148. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии / Ю.Ю. Лурье. – М.: Химия, 1971. – 456 с.

149. Малов, А. Н. Голографические регистрирующие среды на основе дихромированного желатина: супрамолекулярный дизайн и динамика записи / А.Н. Малов, А.В.Неупокоева. – Иркутск: ИВВАИУ (ВИ), 2006. – 345 с.

150. Мамедова, А.М. Взаимодействие вольфрама (VI) и ванадия (V) с пирогаллоловым красным и бромпирогаллоловым красным в присутствии поверхностно-активных веществ/ А.М. Мамедова, В.М. Иванов, С.А. Ахмедов // Вестн. Моск. ун-та. – 2004. – Т. 45. – № 2. – С. 117.

151. Мамедова, А.М. Взаимодействие меди (II) и титана (IV) с пирогаллоловым красным и бромпирогаллоловым красным в присутствии поверхностно-активных веществ / А.М. Мамедова, В.М. Иванов, С.А. Ахмедов / Вестн. Моск. ун-та. Сер 2. Химия. – 2003. Т. 44. – № 5. – С. 304.

152. Мамедова, А.М..Комплексообразование олова (IV) и алюминия (III) с пирогаллоловым красным и бромпирогаллоловым красным в присутствии поверхностно-активных веществ/ А.М. Мамедова, В.М. Иванов, А.П. Коротыч, С.А. Ахмедов // Вестн. Моск. ун-та. Сер 2. Химия. – 2004. – Т. 45. – № 5. – С. 316.

153. Мархол, М. Ионообменники в аналитической химии. В 2-х т. Т. 2 / М. Мархол. – М.: Мир, 1985. – 280 с.

154. Марченко, З. Методы спектрофотомерии в УФ и видимой областях в неорганическом анализе / З. Марченко, М. Бальцежак. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. –2007. –711 с.

155. Мельник, Т.А. Концентрирование и определение токсичных металлов иммобилизованными на твердофазных носителях гетарилформазанами [Электронный ресурс]: дис. ... канд. хим. наук: 02.00.02 Воронеж, 2005 114 с. Режим доступа: http://www.dslib.net/analitika/koncentrirovanie-i-opredelenie-toksichnyh-metallov-immobilizovannymi-na.html.

156. Мельников, Г.В. Влияние солей тяжелых металлов на твердофазную фосфоресценцию при комнатной температуре пирена, адсорбированного на фильтровальной бумаге / Г.В. Мельников, Т.Ю. Русанова, С.Н. Штыков // Изв. ВУЗов. Химия и хим. технол. – 2001. – Т. 44. – Вып. 4. – С. 13.

157. Мельников, Г.В. Оптические датчики на основе фосфоресценции при комнатной температуре / Г.В. Мельников, Т.Ю. Русанова, С.Н. Штыков // Датчики и системы. – 2002. – № 11. – С. 29.

158. Меньшиков, В.В. Методики клинических лабораторных исследований. Том III. Клиническая микробиология. – М.: Лабора, 2009. – 880 с.

159. Миз, К. Теория фотографического процесса / К. Миз, Т. Джеймс. – Л.: Химия, 1973. – 576 с.

160. Мильман, Б.Л. Неопределенность результатов качественного химического анализа. Общие положения и бинарные тест-методы / Б.Л. Мильман, Л.А. Конопельно // Журн. аналит. химии. – 2004. – Т. 59. – № 12. – С. 1244.

161. Михайлов, О.В. SEM иммобилизованных металлохелатов, полученных в результате комплексообразования и темплантного синтеза в желатиновых матрицах / О.В. Михайлов, М.А. Казымова, Ю.Н. Юсин. / Вестник Казанского технологического университета. – 2014. – С. 10.

162. Михайлов, О.В. Желатин-иммобилизованные металлкомплексы / О.В. Михайлов. – М.: Научный Мир, 2004. – 236 с.

163. Михайлов, О.В. Иммобилизация (dd)гетероядерных гексацианоферратов (II) в желатиновой матрице / О.В. Михайлов // Известия Академии наук. Сер. Химия. – 2008. – Т. 57. – № 1. – С. 8.

164. Михайлов, О.В. Низкотемпературный темплатный синтез в металлгексацианоферрат(II)ных желатин-иммобилизованных матричных системах / О. В. Михайлов // Российский химический журнал. – 2000. – Т. XLIV. – № 3. – С. 70.

165. Михайлов, О.В. Процессы комплексообразования в 3d-металлгексацианоферрат(II)ных желатин-иммобилизованных матрицах / О.В. Михайлов // Успехи химии. – 1995. – Т. 64. – № 7. – С. 704.

166. Михайлов, О.В. Реакции замещения и темплатного синтеза в металлгексацианоферратных(II) желатин–иммобилизованных матричных системах / О.В. Михайлов // Координационная химия. – 2000. – Т. 26. – №10. – С. 750.

167. Морген, Э.А. Спектрофотометрическое исследование разнолигандного комплекса молибдена с пирогаллоловым красным и диметилдиоктадециламмонием / Э.А. Морген, Э.С. Россинская, Н.А. Власов // Журн. аналит. химии. – 1975. – Т. 30. – Вып. 7. – С. 1384.

168. Морозко, С.А. Тест-методы в аналитической химии. Иммобилизация 4-(2-пиридилазо)-резорцина (ПАР) и 1-(2-пиридилазо)-2-нафтола (ПАН) на целлюлозах и кремнеземах / С.А. Морозко, В.М. Иванов // Журн. аналит. химии. – 1996. – Т. 51. – № 6. – С. 631.

169. Морозко, С.А. Тест-методы в аналитической химии. Иммобилизованный 1-(2-пиридилазо)-2-нафтол как аналитический реагент / С.А. Морозко, В.М. Иванов // Журн. аналит. химии. – 1995. – Т. 50. – № 6. – С. 629.

170. Морозко, С.А. Тест-методы в аналитической химии. Раздельное определение меди и цинка методом цветометрии / С.А. Морозко, В.М. Иванов // Журн. аналит. химии. – 1997. – Т. 52. – № 8. – С. 858.

171. Моросанова, Е.И. Индикаторные порошки на основе модифицированных ксерогелей для твердофазно-спектрофотометрического и тест-определения аскорбиновой кислоты и гидразинов / Е.И. Моросанова, Л.А. Резникова, А.А. Великородный // Журн. аналит. химии. – 2001. – Т. 56. – № 2. – С. 195.

172. Моросанова, Е.И. Ксерогели, модифицированные 1-(2-пиридилазо)-2-нафтолом и ксиленоловым оранжевым. Индикаторные трубки для определения меди(II) и железа(III) в растворах / Е.И. Моросанова, А.А. Великородный, И.В. Никулин, [и др.] // Журн. аналит. химии. – 2000. – Т. 55. – № 5. – С.539.

173. Моросанова, Е.И. Ксерогели, модифицированные фосфорномолибденовыми гетерополисоединениями. Индикаторные трубки и индикаторные порошки для определения гидразинов и олова (II) в растворах / Е.И. Моросанова, А.А. Великородный, Е.А. Резникова, Н.М. Кузьмин // Журн. аналит. химии. – 2000. – Т. 55. – № 4. – С.423.

174. Мустафин, Д.И. Расчет пространственного строения некоторых ксантеновых соединений, четвертичных пиридиниевых солей и продуктов их взаимодействия / Д.И. Мустафин, Л.А. Грибов, О.В. Сиванова // Журнал структурной химии. – 1980. – Т. 21. – № 3. С. 62.

175. Мчедлов-Петросян, Н.О. Агрегация катионных каликсаренов в водном растворе и влияние агрегатов на кислотно-основное равновесие индикаторов / Н.О. Мчедлов-Петросян, Л.Н. Богданова, Р.В. Родик, [и др.] // Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine. – 2010. – № 3. – С. 148.

176. Мчедлов-Петросян, Н.О. Влияние катионного поверхностно-активного вещества на протолитические свойства некоторых трифенилметановых красителей / Н.О. Мчедлов-Петросян, В.Н. Клещевникова // Журн. общ. химии. – 1990. – Т. 60. – Вып. 4. – С. 900.

177. Мчедлов-Петросян, Н.О. Влияние химической природы компонентов микроэмульсии масло/вода на кажущуюся константу диссоциации индикатора, связанного микрокаплями / Н.О. Мчедлов-Петросян, Ю.В. Исаенко // Вестник

Харьковского национального университета. – 2010. – № 532. Химия. Вып.7(30). – С 130.

178. Мчедлов-Петросян, Н.О. Дифференцирование силы ориганических кислот в истинных и организованных растворах / Н.О. Мчедлов-Петросян // Харьков: Изд-во Харьковского национального университета им. Каразина, 2004. – 326 с.

179. Мчедлов-Петросян, Н.О. Ионные равновесия хромогенных реагентов в микроэмульсиях / Н.О. Мчедлов-Петросян, Ю.В. Исаенко, Н.В. Саламанова, В.И. Алексеева, Л.П. Саввина // Журн. аналит. химии. – 2003. – Т58. – № 11. – С.1140.

180. Мясоедова, Г.В. Сорбционное концентрирование и разделение радионуклидов с использованием комплексообразующих сорбентов / Г.В. Мясоедова // Российский химический журнал. – 2005. – Т. 69. – № 2. – С. 72.

181. Назаренко, В.А. Взаимодействие молибдена (VI) с триоксифлуоронами в присутствии поверхностно-активных веществ / В.А. Назаренко, М.М. Новоселова, Ю.М. Чернобережский, [и др.] // Журн. аналит. химии. – 1980. – Т. 35. – Вып. 12. – С. 2331.

182. Назаренко, В.А. Триоксифлуороны / В.А. Назаренко, В.П. Антонович. – М.: Наука, 1973. – 182 с.

183. Назаренко, В.А. Триоксифлуороны с разным расположением оксигрупп как фотометрические реагенты на вольфрам в присутствии поверхностно-активных веществ // В.А. Назаренко, Г.И. Ибрагимов, Е.Н. Полуэктова, Г.Г. Шитарева / Журн. аналит. химии. – 1978. – Т. 33. – Вып. 5. – С. 938.

184. Назаренко, Г.И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г.И. Назаренко, А.А. Кишкун. – М.: Медицина, 2006. – 554 с.

185. Невешкин, А.А. Влияние ионов металлов на формирование и свойства монослоев и наноразмерных пленок Ленгмюра-Блоджетт на основе дифильных аминометилированных каликс[4]резорцинаренов / А.А. Невешкин, Т.Ю. Русанова С.С. Румянцева, [и др.] // Журн. физ. химии. – 2008. – Т. 82. – № 2. – С. – 316.

186. Невешкин, А.А. Монослои и пленки Ленгмюра-Блоджетт на основе дифильных аминометилированных каликс[4]резорцинаренов / А.А. Невешкин, Т.Ю. Русанова, К.В. Подкосов, [и др.] // Нано- и микросистемная техника. – 2007. – № 1. – С. 57.

187. Нечитайлов, А.А. Фотометрический метод определения свинца с арсеназо III в промышленных водах и природных водоемах / А.А Нечитайлов, М.В. Красинькова, А.П. Нечитайлов // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2005. – Т. 71. – №3. – С. 7.

188. Никитина, Н.А. Метрологические характеристики визуально-тестового определения железа (II, III) с фенантролином, иммобилизованным в полиметакрилатную матрицу / Н.А. Никитина, Е.А. Решетняк, Н.А. Гавриленко // Известия Томского политехнического университета. – 2008. – Т. 312. – № 3. – С. 43.

189. Островская, В.М. Вода. Индикаторные системы / В.М. Островская, О.А.Запорожец, Г.К. Будников [и др.]. – М.: Экоикс. – 2002. – 265 с.

190. Островская, В.М. О максимальной погрешности визуального тестирования воды реагентными индикаторными средствами / В.М. Островская // Журн. аналит. химии. – 1999. – Т. 54. – № 11. – С. 1126.

191. Островская, В.М. Определение нитрит-ионов тест-полосами на основе 3-гидрокси-7,8-бензо-1,2,3,4-тетрагидрохинолина / В.М. Островская, А.В. Цыганков, О.А. Прокопенко, [и др.] // Журн. аналит. химии. – 2008. – Т. 63. – № 8. – С. 866.

192. Островская, В.М. Тест-метод определения суммы металлов индикаторной бумагой и его метрологические характеристики / В.М. Островская, Е.А. Решетняк, Н.А.Никитина, [и др.] // Журн. аналит. химии. – 2004. – Т. 59. – № 10. – С. 1101.

193. Островская, В.М. Хромогенные аналитические реагенты, закрепленные на носителях // Журн. аналит. химии. – 1977. – Т. 32. – С. 1820.

194. Островская, В.М. Экспрессное определение железа в жидких средах реактивной индикаторной бумагой / В.М. Островская, В.Ю. Виноградов, Т.Б. Лифинцева, [и др.] // Журн. аналит. химии. – 1999. – Т. 54. – № 10. – С. 1081.

195. Панталер, Р.П. Экспрессное полуколичественное определение меди в питьевой воде с помощью индикаторной бумаги / Р.П. Панталер, Л.А. Егорова, Л.И. Авраменко, А.Б. Бланк // Журн. аналит. химии. – 1996. – Т. 51. – № 9. – С. 997.

196. Панталер, Р.П. Экспресс-тест для обнаружения и полуколичественного определения суммы тяжелых металлов в водах / Р.П. Панталер, Н.Б. Лебедь, Л.И. Авраменко, А.Б. Бланк // Журн. аналит. химии. – 1997. – Т. 52. – № 6. – С. 643.

197. Пантелеймонов, А.В. Алгоритм идентификации объектов в качественном химическом анализе на основе нечетких критериев сходства / А.В. Пантелеймонов, Ю.В. Холин // Журн. аналит. химии. – 2013. – Т. 68. – № 11. – С. 1056.

198. Пантелеймонов, А.В. Методики качественного анализа с бинарным откликом: метрологические характеристики и вычислительные аспекты / А.В. Пантелеймонов, Н.А. Никитина, [и др.] // Методы и объекты химического контроля. – 2008. – Т. 3. – № 2. – С. 128.

199. Патент – 126434 РФ, МПК^{7} H04B1/38, H04J13/00. Способ получения желатина из коллагенсодержащего сырья / Матс Лилья, Матс Ларссон; заявитель и патентообладатель Элько Фунд АБ. – № 95122435/13; Заяв. 31.01.1994; Опубл. 20.02.1999.

200. Патент – 2268476 РФ, МПК^{7}G01N33/68. Способ количественного определения белка в биологических жидкостях / А.Н. Шибанов, А.Е. Свистов, Ю.В. Ким, [и др.]; Общество с ограниченной ответственностью «Эйлитон» – № 2004109212/15; Заяв. 30.03.2004; Опубл. 20.01.2006.

201. Патент – 2391659 РФ, МПК G01N31/22. Способ определения серебра с использованием полиметакрилатной матрицы / Н.А. Гавриленко, Н.В.

Саранчина; Государственное образовательное учреждение Высшего профессионального образования «Томский государственный университет». – № 2009112760/04; Заяв. 06.04.2009; Опубл. 10.03.2010.

202. Патент – 2427834 РФ, МПК G01N31/22, G01N21/78. Композиция материалов сенсоров для определения химических соединений при следовых концентрациях и способ использования сенсоров / Р.А. Потирайло, Т.М. Сивавек, К. Ксиао и др.; Дженерал электрик компании (US). – № 2008120676/15; Заяв. 20.10.2006; Опубл. 27.08.2001.

203. Патент – 2428686 РФ, МПК G01N31/22. Способ определения кобальта (II) с использованием полиметакрилатной матрицы / Н.А. Гавриленко, Н.В. Саранчина; Государственное образовательное учреждение Высшего профессионального образования «ТГУ». – № 2010130762/15.; Заяв. 21.07.2010; Опубл. 10.09.2011.

204. Патент – 2461822 РФ, МПК G01N31/22. Способ определения палладия (II) / Н.А. Гавриленко, Н.В. Саранчина; Государственное образовательное учреждение Высшего профессионального образования «ТГУ». – № 2011132424/15; Заяв. 01.08.2011; Опубл. 20.09.2012.

205. Перьков, И.Г. Выбор оптимальных длин волн при прогнозирование погрешностей в многокомпонентном спектрофотометрическом анализе / И.Г. Перьков, А.В. Дрозд, Г.В. Арцебашев // Журн. аналит. химии. – 1987. – Т. XLII. – Вып. 1. – С. 68.

206. Перьков, И.Г. Спектры аддитивных свойств и их модификация в неселективных методах анализа многокомпонентных систем / И.Г. Перьков // Журн. аналит. химии. – 1991. – Т. 46. – Вып. 10. – С. 2069.

207. Полторак, О.М. Термодинамика в физической химии / О.М. Полторак. – учеб. для хим. и хим. технол. спец. вызов. – М.: Высшая школа, 1991. – 319 с.

208. Полянский, Н.Г. Свинец / Н.Г. Полянский. – М.: Наука, 1986. – 357 с.

209. Помогайло, А.Д. Полимерные иммобилизованные металлокомплексные катализаторы / А.Д. Помогайло. – М.: Наука, 1988. – 303 с.

210. Починок, Т.Б. Использование тонкослойных сорбентов на основе пирогаллолового красного для тест-определения свинца / Т.Б. Починок, В.М. Островская, П.В. Тарасова, [и др.] // Экологический вестник научных центров ЧЭС. – 2010. – № 3. – С. 37.

211. Починок, Т.Б. Каталитическое тест-определение меди на твердом носителе / Т.Б. Починок, Т.В. Сынкова, Т.Н. Шеховцова, [и др.] // Журн. аналит. химии. – 2007. – Т. 62. – № 2. – С. 204.

212. Починок, Т.Б. Сорбционно-спектроскопическое определение Pb(II) с бромпирогаллоловым красным, иммобилизованным в отвержденный желатиновый гель / Т.Б. Починок, П.В. Анисимович, З.А. Темердашев, Е.А. Решетняк // Аналитика и контроль. – 2013. – Т. 17. – № 4. – С. 477.

213. Пупкова, В.И. Определение белка в моче и спинномозговой жидкости [Электронный ресурс] / В.И. Пупкова, Л.М. Прасолова. Информационно-методическое пособие. Кольцово. 2007. – 43с. Режим доступа: http://asld.baikal.ru/asld/docs/Obzor/14/%20(7).pdf.

214. Решетняк, Е.А. Влияние материала носителя на предел обнаружения при визуальном тестировании / Е.А. Решетняк, Н.А. Никитина, В. Э. Кармазина // Вестник Харьковского национального университета. – 2007. – № 770. – Вып. 15(38). С. –119.

215. Решетняк, Е.А. Желатиновая пленка с иммобилизованным эриохромцианином R – твердофазный реагент для определения алюминия(III) / Е.А. Решетняк, Н.В. Ивченко, В.Н. Шевченко, Н.А. Никитина // Вістник донецького національного університету. Сер.А: Природничі . – 2014. – № 1. – С. 170.

216. Решетняк, Е.А. Индикаторные пленки на основе желатинового геля для определения Co(II), Cu(II), Pb(II), Cd(II), Ni(II), Zn(II), (Fe(III), Al(III), Ba(II), Sr(II) и SO_4^{2-} / Е.А. Решетняк, Н.В. Ивченко, Н.А. Никитина, Т.Б. Починок // Методы и объекты химического анализа. – 2012. – Т. 7. – № 4. – С. 192.

217. Решетняк, Е.А. Индикаторные пленки на основе отвержденного желатинового геля с иммобилизованными металлоиндикаторами / Е.А.Решетняк [и др.] // Методы и объекты химического анализа. – 2012. – Т. 7. – № 4. – С. 192.

218. Решетняк, Е.А. О достоверной оценке предела обнаружения в тест-определениях с визуальной индикацией / Е.А. Решетняк, Ю.В. Холин // Журн. аналит. химии. – 2003. – Т. 58. – № 7. – С. 741.

219. Решетняк, Е.А. Оптически прозрачные твердофазные аналитические реагенты для фотометрического и визуально-тестового определения алюминия / Е.А. Решетняк // Вестник Харьковского национального университета. – 2012. – Т. 21. – № 1026. – С. 264.

220. Решетняк, Е.А. Оптический сенсор на основе отвержденного желатинового геля для фотометрического определения сульфатов в водных средах / Е.А. Решетняк, В.Е. Асмолов, Н.Н. Немец, Н.А. Никитина // Вестник Харьковского национального университета. – 2010. – № 895. – С.74.

221. Решетняк, Е.А. Построение цветовых шкал для визуальной колориметрии. Представление результатов анализа / Е.А. Решетняк, Ю.В. Холин, В.Н. Шевченко // Методы и объекты химического анализа. – 2011. – Т. 6. – № 4. – С. 188.

222. Решетняк, Е.А. Предел обнаружения в тест-методах анализа с визуальной индикацией. Влияющие факторы / Е.А. Решетняк, Н.А. Никитина, Л.П. Логинова, В.М. Островская // Журн. аналит. химии. – 2005. – Т. 60. – № 10. – С. 1102.

223. Решетняк, Е.А. Проверка аддитивности аналитического сигнала при определении суммарного содержания металлов с применением твердофазных реагентов / Е.А. Решетняк [и др.] // Методы и объекты химического анализа. – 2012. – Т. 8. – № 1. – С.14.

224. Решетняк, Е.А. Протолитические и комплексообразующие свойства индикаторов в среде желатинового геля / Е.А. Решетняк [и др.] // Вестник харьковского национального университета. Химия. – 2005. – Вып. 13(39). – № 669. – С. 67.

225. Решетняк, Е.А. Создание образца сравнения для визуального бинарного тестирования железа (III) в подземных водах / Е.А. Решетняк, Н.Н. Немец, А.В. Пантелеймонов и др. // Вестник Харьковского национального университета. – 2008. – Т. 16. – № 820. – С. 146.

226. Решетняк, Е.А. Хроматографические и тестовые методы анализа: учебное пособие: в 2 ч. Ч.1. Тестовые методы анализа / Е.А. Решетняк, Н.А. Никитина. – Х. : ХНУ имени В.Н. Каразина, 2011. – 112 с.

227. Решетняк, Е.А.Чувствительный элемент на основе отвержденного желатинового геля с иммобилизованным эриохромцианином Р для фотометрического и тестового определения алюминия в водных средах / Е.А.Решетняк [и др.] // Научное наследие Н.П. Комаря и современные проблемы. Харьков: ХНУ им. В.Н.Каразина. – 2012. – С. 311.

228. Романков, П.Г. Массообменные процессы химической технологии (системы с дисперсной твердой фазой) / П.Г. Романков, В.Ф. Фролов. Л. – Химия. 1990. – 384 с.

229. Рунов, В.К. Оптические сорбционно-молекулярно-спектроскопические методы анализа. Методические вопросы количественных измерений в спектроскопии диффузного отражения / В.К. Рунов, В.В. Тропина // Журн. аналит. химии. – 1996. – Т. 51. – № 1. – С. 71.

230. Русанова, Т.Ю. Нанопористые золь-гель материалы с иммобилизованными антителами для иммуноаффинного концентрирования пирена / Т.Ю. Русанова, Н.А. Левина, Н.А. Юрасов, И.Ю. Горячева // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2009. – Т. 9. – Вып. 3. – С. 391.

231. Русанова, Т.Ю. Пьезокварцевый иммуносенсор на основе пленок Ленгмюра-Блоджетт для определения пирена в водных средах / Т.Ю. Русанова, В.А. Таранов, С.Н. Штыков, И.Ю. Горячева // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2009. – № 5. – С. 23.

232. Русанова, Т.Ю. Золь-гель материалы с иммобилизованными красителями трифенилметанового ряда как чувствительные элементы оптических сенсоров pH / Т.Ю. Русанова, Н.А. Левина, С.Н. Штыков // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. Вып. 1. – 2009. – Т. 9. – С. 7.

233. Саввин, С.Б. Хелатообразующие сорбенты / С.Б. Саввин, Г.В. Мясоедова. – М.: Наука, 1984. – 171 с.

234. Саввин, С.Б. Взаимодействие молибдена (VI) с бромпирогаллоловым красным в присутствии хлорида цетилпиридиния / С.Б. Саввин, Р.К. Чернова, Г.М. Белолипцева // Журн. аналит. химии. – 1980. – Т. 35. – Вып. 6. – С. 1128.

235. Саввин, С.Б. Модифицированные и иммобилизованные органические реагентвы / С.Б. Саввин, А.В. Михайлова. // Журн. аналит. химии. – 1996. – Т. 51. – № 1. – С. 49.

236. Саввин, С.Б. О механизме действия катионных поверхностно-активных веществ (ПАВ) в системах органический РЕАГЕНТ-ИОН МЕТАЛЛА-ПАВ / С.Б. Саввин, Р.К. Чернова, В.В. Белоусова, Л.К. Сухова, С.Н. Штыков // Журн. аналит. химии. – 1978. – Т. 38. – Вып. 8. – С. 1473.

237. Саввин, С.Б. Определение хрома (VI) дифенилкарбазидом методом спектроскопии диффузного отражения после концентрирования на дисках полиакрилнитрильного волокна, наполненного сильноосновным анионообменником / С.Б. Саввин, Л.М. Трутнева, О.П. Швоева // Журн. аналит. химии. – 1993. – Т. 48. – № 3. – С. 502.

238. Саввин, С.Б. Оптические химические сенсоры (микро- и наносистемы) для анализа жидкостей / С.Б. Саввин, В.В. Кузнецов, С.В. Шереметьев, А.В. Михайлова // Российский химический журнал. – 2008. – Т.LII. – № 2. – С. 7.

239. Саввин, С.Б. Органические реагенты в спектрофотометрических методах анализа / С.Б. Саввин, С.Н. Штыков, В.В Михайлова // Успехи химии. – 2006. – Т. 75. – № 4. –С. 380.

240. Саввин, С.Б. Поверхностно-активные вещества / С.Б. Саввин, Р.К. Чернова, С.Н. Штыков. – М.: Наука, 1991. – 251 с

241. Саввин, С.Б. Сорбционно-спектроскопические и тест-методы определения ионов металлов на твердой фазе ионообменных материалов / С.Б. Саввин, В.П. Дедкова, О.П. Швоева // Успехи химии. – 2000. – Т. 69. – № 3. – С. 203.

242. Саввин, С.Б. Цветные реакции на твёрдых матрицах для определения тяжелых металлов / С.Б. Саввин, А.В. Михайлова // Наука-производству. – 1998. – Т. 2. – № 4. – С. 5.

243. Саввин, С.Б. Электростатические и гидрофобные эффекты при образовании ассоциатов органических реагентов с катионными поверхностно-активными веществами / С.Б. Саввин, И.Н. Маров, Р.К. Чернова, [и др.] // Журн. аналит. химии. – 1981. – Т. 36. – № 5. – С. 850.

244. Саввин, С.Б. Эффект депротонирования реагентов трифенилметанового класса в присутствии катионных поверхностно-активных веществ и его влияние на комплексообразование дисульфофенилфлуорона и бромпирогаллолового красного с ионами металлов / С.Б. Саввин, Р.К. Чернова, И.В. Лобачева, Г.М. Белолипцева // Журн. аналит. химии. – 1981. – Т. 36. – Вып. 8. – С. 1471.

245. Саранчина, Н.В. Возможности использования термолинзовой спектрометрии для полиметакрилатных оптических чувствительных элементов / Н.В. Саранчина, А.В. Суханов, Д.А. Недосекин и др. // Журн. аналит. химии. – 2011. – Т. 66. – № 6. – С. 640.

246. Скорых, Т.В. Сорбционно-фотометрическое и тест-определение кадмия(II) гетарилформазанами / Т.В. Скорых, И.Г. Пернова, Т.И. Маслакова, [и др.] // Журн. аналит. химии. – 2009. – Т. 64. – № 6. – С. 592.

247. Соболева, О. А. Адсорбция неионогенного поверхностно-активного вещества тритон Х-100 на твердых поверхностях из водных и неводных сред / О.А. Соболева, Г.А. Бадун, Б.Д. Сумм // Вестник Московского университета. Сер. 2, Химия. – 2007. – Т. 48. № 1. – С. 17.

248. Соборовер, Э.И. Оптический химический сенсор диоксида серы на основе пленок функциональных полимеров для контроля воздуха рабочей зоны. Сополимеры акрилонитрила и алкилметакрилатов со стиролсульфонатом

бриллиантового зеленого / Э.И. Соборовер, В.А. Тверской, С.В. Токарев // Журн. аналит. химии. – 2005. – Т. 60. – № 3. – С. 307.

249. Суровцев, Н. В. Спектроскопия конденсированных сред / Н.В. Суровцев. – учеб. пособие: новосиб. гос. ун-т.: Новосибирск, 2010. – 237 с.

250. Суханов, А.В. Твердофазно-спектрофотометрическое определение аскорбиновой кислоты с использованием 2,6-дихлорфенолиндофенола, иммобилизованного в полиметакрилатную матрицу / А.В. Суханов, Н.А. Гавриленко // Изв. Томского политехнического университета. – 2010. – Т. 316. – № 3. – С. 72.

251. Тайгер, А.А. Физико-химия полимеров / А.А. Тайгер. –4-е изд. перераб. и доп. – под ред. А.А. Аскадского. – М.: Научный мир, 2007. – 536 с.

252. Тананайко, М.М. Взаимодействие железа (III) с бромпирогаллоловым красным и поверхностно-активными веществами различной природы в кислой среде / М.М. Тананайко, Л.И. Горенштейн / Журн. аналит. химии. – 1992. – Т. 47. – № 5. – С. 814.

253. Тананайко, М.М. Взаимодействие молибдена (VI) с бромпирогаллоловым красным в присутствии смеси поверхностно активных веществ / М.М. Тананайко, Л.И. Горенштейн // Журн. аналит. химии. – 1988. – Т. 53. – Вып. 2. – С. 303.

254. Тананайко, М.М. Реакции ионов Fe (II) Fe (III) с бромпирогаллоловым красным и азотсодержащими основаниями в мицеллярном растворе неионного ПАВ (ОП-10) / М.М. Тананайко, Л.И. Горенштейн // Известия вузов. Химия и химическая технология. – 1991. – Т. 34. – № 6. – С. 45.

255. Тананайко, М.М. Реакция алюминия с бромпирогаллоловым красным в присутствии смеси поверхностно-активных веществ / М.М. Тананайко, Л.И. Горенштейн // Известия вузов. Химия и химическая технология. – 1987. – Т. 30. – № 9. – С. 45.

256. Тарасова, П.В. О возможности создания оптического сенсора на основе отвержденного желатинового геля для определения свинца / П.В. Тарасова, М.А. Гостева // Всероссийская научная школа по аналитической химии. материалы научной школы. Краснодар. – 2011. – С. 264.

257. Темердашев, З.А. Исследование иммобилизации бромпирогаллолового красного в желатиновую матрицу и оценка возможности создания на ее основе оптически прозрачного сенсора для определения металлов / З.А. Темердашев, Т.Б. Починок, П.В. Тарасова, М.А. Гостева // Аналитика и контроль. – 2012. – Т. 16. – № 1. – С. 1.

258. Темердашев, З.А. Сорбционные свойства целлюлозных фильтров с ковалентно иммобилизованным тиосемикарбазидом / З.А. Темердашев, Дж.Н. Коншина, Е.Ю. Логачева, В.В. Коншин // Журн. аналит. химии. – 2011. – Т.66. – С. 1048.

259. Темердашев, З.А. Тест-определение свинца с помощью тонкослойных сорбентов РИБ-Металл-Тест / Темердашев З.А., Островская В.М., Починок Т.Б., [и др.] // Экологический вестник научных центров Черноморского экономического сотрудничества (ЧЭС). – 2010. – № 2. – С. 80.

260. Тертых, В.А. Химические реакции с участием поверхности кремнезема / В.А. Тертых, Л.А. Белякова. – К.: Наукова думка, 1991. – 261 с.

261. Тихонов, В.Н. Аналитическая химия алюминия. М.: Наука, 1971. – 266 с.

262. Торопов, Л.И. Тест-определение ионов свинца с сульфарсазеном / Л.И. Торопов // Электронный научный журнал «Современные проблемы науки и образования» [электронный ресурс]. - 2011. - № 6. Режим доступа: http://www.science-education.ru/100-5112.

263. Умланд, Ф. Комплексные соединения в аналитической химии / Ф. Умланд, А. Янсен, Д. Тириг. – М.: Мир, 1975. – 468с.

264. Уразаев, В.В. Гидрофильность и гидрофобность / В.В. Уразаев // Технология в электронной промышленности. – 2006. – № 3. – С. 33.

265. Финкельштейн, А.В. Физика белка / А.В. Финкельштейн, О.Б. Птицын. – М.: Книжный дом «Университет», 2002. – 376 с.

266. Харлов, А. Е. Роль химической модификации в управлении поверхностно-активными свойствами желатины / А. Е. Харлов, Ш. Магдасси, А. Камышный, Г. П. Ямпольская, [и др.] / Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. – 2002. – Т. 43. – № 1. – С 38.

267. Химченко, С.В. Цветометрическая и стохастическая оценка границы зрительного цветовосприятия для целей визуального колориметрического анализа / С.В. Химченко, Л.П. Экспериандова // Журн. аналит. химии. – 2014. – Т.69. – № 4. – С. 363.

268. Холин, Ю.В. Количественный физико-химический анализ комплексообразования в растворах и на поверхности химически модифицированных кремнеземов: содержательные модели, математические методы и их применение. – Харьков: Фолио, 2000. – 288 с.

269. Холин, Ю.В. Метрологические характеристики методик обнаружения с бинарным откликом / Ю.В. Холин, Н.А. Никитина, А.В. Пантелеймонов, [и др.]. – Харьков, 2008. – 127 с.

270. Хуийн, Йан. Спектрофотометрическое определение титана(IV) в чугуне и сплавах / Йан Хуийн, И.А. Дибро // Журн. прикл. химии. – 1996. – Т. 69. – № 9. – С. 1432.

271. Цветков, В.Н. Структура макромолекул в растворах / В.Н. Цветков, В.Е.Эскин, С.Я. Френкель. – М.: Наука, 1964. – 721 с.

272. Цизин, Г.И. Рентгенофлуоресцентное определение токсичных элементов в водах с использованием сорбционных фильтров / Г.И. Цизин, И.Ф. Серегина, Н.М. Сорокина, [и др.] // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 1993. – Т. 59. – № 10. – С. 1.

273. Чеботарев, А.Н. Сорбционно-фотометрическое определение микроколичеств катионных поверхностно-активных веществ / А.Н. Чеботарев, Т.В. Паладенко, Т.М. Щербакова // Журн. аналит. химии. – 2004. – Т. 59. – № 4. – С. 349.

274. Чейпеш, Т.А. Влияние наноразмерных агрегатов катионного каликс[6]арена на протолитические равновесия флуоресцеиновых красителей в

водном растворе / Т.А. Чейпеш, Н.О. Мчедлов-Петросян, Е.С. Загорулько, [и др.] / Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine. – 2013. – № 12. – С. 131.

275. Черникова, И.Ю. Новые чувствительные элементы на основе желатинового геля на ионы щелочноземельных металлов и Mg^{2+} / И.Ю. Черникова, С.В. Шереметьев, Ю.В. Ермоленко, В.В. Кузнецов // Успехи в химии и химической технологии. – 2007. – Т 21. – № 4 (72). – С. 55.

276. Чернова, Р.К. Влияние катионных поверхностно-активных веществ на характер гидратации и некоторые свойства трифенилметановых соединений в водных растворах / Р.К. Чернова, В.Г. Амелин, С.Н. Штыков // Журн. физич. химии. – 1983. – Т. 57. – № 6. – С. 1482.

277. Чернова, Р.К. Некоторые вопросы механизма действия ПАВ в системах органические реагенты - ионы металлов / Р.К. Чернова, С.Н. Штыков, Л.К. Сухова, [и др.] // Журн. аналит. химии. – 1984. – Т. 39. – № 6. – С. 1019.

278. Чернова, Р.К. Сорбционно-фотометрическое и тест-определение свинца в объектах окружающей среды / Р.К. Чернова, Л.М. Козлова, Е.М. Спиридонова, Л.В. Бурмистова // Журн. аналит. химии. – 2006. – Т. 61. – № 8. – С. 824.

279. Чернова, Р.К. Фазовое разделение в системе (ОП-10)-H2O и «Cloud point» экстракция некоторых красителей / Р.К. Чернова, Н.Б. Шестопалова, Л.М. Козлова // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: химия, биология, экология. – 2012. – Т. 12. – Вып. 3. – С. 32.

280. Чибисов, К.В. Химия фотографических эмульсий / К.В. Чибисов. – М.: Наука, 1975. – 344 с

281. Шаповалов, С.А. Об ионной ассоциации красителей в водных растворах и в присутствии ионогенных поверхностно-активных веществ / С.А. Шаповалов, Е.А. Самойлов / Химия и химическая технология. – 2007. – Т. 50. – Вып. 5. – С. 92.

282. Швоева, О.П. Определение свинца 4-(2-пиридилазо)резорцином после сорбции тиосульфатного комплекса свинца на волокнистом сорбенте, наполненном АВ-17 / О.П. Швоева // Журн. аналит. химии. – 2001. – Т. 56. – № 12. – С. 1248.

283. Швоева, О.П. Сорбционно-спектрометрический метод многоэлементного анализа. Определение Cr(IV), V(V), Ni(II) и Cu(II) из одной пробы на двухслойном носителе / О.П. Швоева, В.П. Дедкова, С.Б. Саввин // Журн. аналит. химии. – 2010. – Т. 65. – № 7. – С. 716.

284. Шереметьев, С.В. Ковалентная и электростатическая иммобилизация органических реагентов к полимерной и гелевой матрицам и чувствительные элементы на их основе: автореферат дис. ... канд. хим. наук: 02.00.02 / Шереметьев Сергей Викторович. – Москва, 2006. – 194 с.

285. Шереметьев, С.В. Реакции синтеза азокрасителей в отвержденном желатиновом геле и их аналитическое применение при определении нитритов / С.В. Шереметьев, В.В. Кузнецов // Журн. аналит. химии. – 2007. – Т. 62. – № 4. – С. 357.

286. Шибанов, А.Н. Определение референтного интервала концентрации белка в моче [Электронный ресурс] / Справочник заведующего КДЛ. – 2012. – № 2. – С. 45. – Режим доступа: http://www.unimedao.ru/articles/6826/9674.

287. Шишкин, Ю.Л. Применение сканера и компьютерных программ цифровой обработки изображений для количественного определения сорбированных веществ / Ю.Л. Шишкин, С.Г. Дмитриенко, О.М. Медведева, С.А. Бадакова, Л.Н. Пяткова // Журн. аналит. химии. – 2004. – Т. 59. – № 2. – С. 119.

288. Штыков, С.Н. Наноматериалы и нанотехнологии в химических и биохимических сенсорах: возможности и области применения / С.Н. Штыков, Т.Ю. Русанова // Российский химический журнал. – 2008. – Т. LII. – № 2. – С. 92.

289. Штыков, С.Н. Оптоволоконный pH-сенсор на основе конго красного, иммобилизованного на триацетатцеллюлозе / С.Н. Штыков, В.В. Гусев, Т.Ю. Русанова, И.Ю. Горячева // Проблемы аналитической химии. Мустафинские чтения: Сб. науч. статей / под ред. Р.К. Черновой, А.Н. Панкратова. Изд-во Сарат. ун-та. –1999. – С. 109.

290. Штыков, С.Н. Пленки Ленгмюра-Блоджетт как матрицы чувствительных элементов оптических сенсоров кислотности растворов / С.Н. Штыков, Т.Ю. Русанова // Докл. АН. – 2003. – Т. 388. – № 5. – С. 643.

291. Штыков, С.Н. Пленки Ленгмюра-Блоджетт как эффективные модификаторы пьезокварцевых сенсоров / С.Н. Штыков, Я.И. Коренман, Т.Ю. Русанова, [и др.] // Докл. АН. – 2004. – Т. 396. – № 4. – С. 508.

292. Штыков, С.Н. Получение и исследование пленки Ленгмюра-Блоджетт на основе соли полиамидокислоты, содержащей краситель родаминового ряда / С.Н. Штыков, Б.Н. Климов, Г.Ю. Науменко, [и др.] // Журн. физич. химии. – 1999. – Т. 73. – № 9. – С. 1689.

293. Штыков, С.Н. Применение организованных сред и принципов супрамолекулярной химии в химическом анализе / С.Н. Штыков, В.Н. Карцев, Е.Г. Сумина, [и др.] // Вестн. Моск. гос. областн. ун-та. Сер. Естеств. науки. № 1. М.: Изд-во МГОУ. – 2006. – С. 14.

294. Штыков, С.Н. Применение пленок Ленгмюра-Блоджетт в качестве модификаторов пьезорезонансных сенсоров / С.Н. Штыков, А.В. Калач, К.Е. Панкин, [и др.] // Журн. аналит. химии. – 2007. – № 5. – С. 544.

295. Штыков, С.Н. Свойства пленки Ленгмюра-Блоджетт на основе метилового оранжевого и полиамидокислоты / С.Н. Штыков, Б.Н. Климов, Т.Д. Смирнова, [и др.] // Журн. физич. химии. – 1997. – Т. 71. – № 7. – С. 1292.

296. Штыков, С.Н. Чувствительный элемент оптического сенсора на основе бензопурпурина 4Б для определения кислотности травильных растворов / С.Н. Штыков, Т.Ю. Русанова, Т.Д. Смирнова, Д.А. Горин // Журн. аналит. химии. – 2004. – Т. 59. – № 2. – С. 198.

297. Шульц, Г. Принципы структурной организации белков / Г. Шульц, Р. Ширмер. – М.: Мир, 1982. – 354 с.

298. Экспериандова, Л.П. Еще раз о пределах обнаружения и определения / Л.П. Экспериандова, К.Н. Беликова, С.В. Химченко и др. // Журн. аналит. химии. – 2010. – Т. 65. – № 3. – С. 229.

299. Экспериандова, Л.П. Ряд Фибоначчи в тест-анализе и граница зрительного восприятия / Л.П. Экспериандова, С.В. Химченко // Методы и объекты химического анализа. – 2008. – Т. 3. – № 1. – С. 113.

300. Эмануэль, В.Л. Протеинурия [Электронный ресурс] / В.Л. Эмануэль // Лабораторная медицина. – 2005. – № 7. – С. 65. Режим доступа: http://www.ramld.ru/articles/files/emanuel7pro.pdf.

301. Ямпольская, Г. П. Мономолекулярные слои белков и перспективы конструирования наноматериалов на их основе / Г. П. Ямпольская, С. М. Левачев, А. Е. Харлов, А. С. Фадеев, В. Н. Измайлова / Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия. – 2001. – Т. 42. – С. 355.

302. Яцимирский, К.Б. Кинетические методы анализа / К.Б. Яцимирский.– М.:Химия, 1967. – 226 с

303. Aeungmaitrepirom, W. Silica gel chemically modified with ethyl-2-benzothiazolylacetate for selective extraction of Pb(II) and Cu(II) from real water samples / W. Aeungmaitrepirom, W. Ngeontae, T. Tuntulani // Analytical Sciences. – 2009. – V. 25. – P. 1477.

304. Alcock, C.B. Solid state sensors and process control / C.B. Alcock // Solid State Ionics. – 1992. – V. –53-56. Part. l. – P. 3.

305. Ali A.E. A simple optical sensor for cadmium ions assay in water samples using spectrophotometry / A.E. Ali, Zahra Nasr Isfahani // Журн. аналит. химии. – 2011. – Т. 66. – № 2. – С.155.

306. Amao, Y. Optical CO2 sensor of the combination of colorimetric change of a-naphtholphthalein in poly(isobutyl methacrylate) and fluorescent porphyrin in polystyrene / Y. Amao, T. Komori // Talanta. – 2005. – V. 66. – № 4. – P. 976.

307. Ameta, R. Photocatalytic bleaching of bromopyrogallol red in the presence of zinc oxide and cetylpyridinium chloride / R. Ameta, J. Vardia, C.V. Bhat, S.C. Ameta // Chem. Environ. Res. – 1998. – V. 7. – № 3-4. – P. 301. Chem. Abstr. – 2000. – V. 133. 313096.

308. Arancibia, V. Determination of aluminium in water samples by adsorptive cathodic stripping voltammetry in the presence of pyrogallol red and a quaternary ammonium salt / V. Arancibia, C. Muñoz // Talanta. – 2007. – V. 73. – № 3. – P. 546.

309. Ashok, K.S.. Manganese(II)-selective PVC membrane electrode based on a pentaazamacrocyclic manganese complex / K.S. Ashok, P. Saxena, A. Panwar // Sensots and Actuators B: Chem. – 2005. – V. 110. – № 2. – P. 377.

310. Bacci, M. Spectrophotometric investigations on immobilized asid-base indicators / M. Bacci, F. Baldini, A.M. Scheggi // Anal. Chim. Acta. – 1988. – V. 207. – P. 343.

311. Birkedal-Hansen, H. Eosin staining of gelatin / H. Birkedal-Hansen // Histochemie. – 1973. – V. 36. – P. 73.

312. Bradford, M.M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantitaon of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M.M. Bradford // Anal. Biochem. – 1976. – V. 72. – P. 248.

313. Brenner, BM. Molecular basis of proteinuria of glomerular origin / BM. Brenner, TH. Hostetter, HD. Humes // N. Engl J Med. – 1978; 298: 826 –33.

314. Cao, W. Optical fiber-based evanescent ammonia sensor / W. Cao, Y. Duan // Sensors and Actuators B: Chem. – 2005. – V. 110. – № 1. 2. – P. 252.

315. Cermacova, L. Spectrophotometric determination of platinum metals. Determination of palladium with pyrogallol red / L. Cermacova, I. Fantova, V. Suk // Chem. Zvesti. – 1980. – V. 34. – № 3. – P. 357.

316. Chen Xingguo. Determination of osmium(VIII) by flow injection-kinetic methods using bromopyrogallol red and hydrogen peroxide / Chen Xingguo, Gong Haiping, Zhang Qin, Hu Zhide. // Microchem. J. – 1995. – V. 52. – № 3. – P. 364.

317. Chen, Ying. Spectrophotometric determination of trace protein in water after preconcentration on an organic solvent-soluble membrane filter / Chen Ying, Liang Kai, Xu Hui, Wang Shuying // Fenxi Huaxue. – 1999. – V. 27. – № 4. – P. 464. Chem. Abstr. – 1999. – V. 131. 225652.

318. Christopher, D.N. Spectrophotometric determination of antimony with bromopyrogallol red / D.N. Christopher, T.S. West // Talanta. – 1966. – V. 13. – № 3. – P. 507.

319. Dagnall, R.M. Determination of lead with 4-(2-pyridylazo)-resorcinol-1: Spectrophotometry and solvent extraction / R.M. Dagnall, T.S. West, P. Young // Talanta. – 1965. – V. 12. – P. 583.

320. Dakova, I. Cysteine modified silica submicrospheres as a new sorbent for preconcentration of Cd (II) and Pb (II) / I. Dakova, P. Vasileva, I. Karadjova // Bulgarian Chemical Communications. – 2011. – V. 43. – № 2. – P. 210.

321. Davis, F. Structured thin films as functional components within biosensors / F. Davis, S.P.J. Higson // Biosens. Bioelectron. – 2005. – V. 21. – P. 1.

322. Derya, K. Modified silica gels and their use for the preconcentration of trace elements / Derya Kara, Andrew Fisher // Separation and Purification Reviews. – 2012. – V. 41. – № 4. – P. 267.

323. Diaz, G.M.E. On the surfactant-sensitized analytical -reaction of titanium with bromopyrogallol red / G.M.E. Diaz, G.E. Blanco, A. Sans-Medel // Microchem. J. – 1984. – V. 30. – № 2. – P. 211.

324. Dogan, C.E. Solid phase extraction and determination of lead in water samples using silica gel homogeneously modified by thiosalicylic acid / C.E. Dogan, G. Aksin // Analytical Letters. – 2007. – V. 40. – P. 2524.

325. Drummond, C.J. Aside-base equilibria in aqueous micellar solutions. Azine derivatives / C.J. Drummond, F. Grieser, T.W. Healy // J. Chem. Soc., Faraday Trans 1. – 1989. – V. 85. – № 3. – P. 551.

326. Ensafi, A.A. A versatile stable cobalt optical sensor based on pyrogallol red immobilization on cellulose acetate film / Ali A. Ensafi, A. Aboutalebi // Sensors and Actuators B: Chemical. – 2005. – V. – 105. – № 2. – P. 479.

327. Ensafi, A.A. Spectrophotometric reaction rate method for the determination of molybdenum by its catalytic effect on the oxidation of pyrogallol red with hydrogen peroxide / A.A. Ensafi, A. Haghighi // Fresenius' J. Anal. Chem. – 1998. – V. 360. – № 5. – P. 535.

328. Fujita, Y. Color reaction between Pyrogallol Red – molybdenium (VI) complex and protein / Y. Fujita, I. Mori, S. Kitano // Bunseki Kagaku. – 1983. – V. 32. – P. 379.

329. Gur'eva, R.F. Sorption and Determination of Vanadium(IV, V) and Mercury(I, II) as Their Colored Complexes of Organic Reagents / R. F. Gur'eva, S. B. Savvin, A. V. Mikhailova // Journal of Analytical Chemistry. – 2003. – V. 58. – № 7. – P. 623.

330. He, Q. Flow injection spectrophotometric determination of anionic surfactants using methyl orange as chromogenic reagent / He Q., H. Chen // Fresenius J. Anal. Chem. – 2000. – V. 367. – P. 270.

331. Hermel, H. A new considerations of the molecular mass-viscosity correlation of gelatin / H. Hermel, H.J. Wappler // J. Photogr. Sci. – 1993. – V. 41. – № 1. – P. 9.

332. Hortin, GL. Analysis of molecular forms of albumin in urine / GL. Hortin, D. Sviridov // Proteomics Clin Appl. – 2008;2:950 –5.

333. Hoshi, Suwaru. The spectrophotometric determination of trace molybdenum(VI) after collection and elution as molybdate ion on protonated chitin / S. Hoshi, K. Kiyotaka, S. Kazuharu, [et al.] // Talanta. – 1997. – V. 44. – № 8. – P. 1473.

334. Hou, Ming. Study on highly sensitive chromogenic reaction of titanium-bromopyrogallol red-butyl rhodamine B and its analytical application / Hou Ming, Shan Ying // Yankuang Ceshi. – 1999. – V. 18. – № 1. – P. 53. Chem. Abstr. – 1999. – V. 131. 110538.

335. Huang, D. Spectrophotometric determination of vanadium by bleaching pyrogallol red / D. Huang, H. Shang, B. Zhang // Yejin Fenxi. – 1999. – V. 19. – № 3. – P. 26. Chem. Abstr. – 1999. – V. 131. 164709.

336. Huang, Y. Catalytic spectrophotometric determination of trace zinc / Y. Huang, D. Huang, Guo Jieru. // Guangdong Gongye Daxue Xuebao. – 2000. – V. 17. – № 1. – P. 79. Chem. Abstr. – 2000. – V. 133. – 219673.

337. Jawad, S. M. Optical fibre sensor for detection of hydrogen cyanide in air. Theory and design of an automatic detection system / S.M. Jawad, J. F. Alder // Anal. Chim. Acta. – 1991. – V. 246. – № 2. – P. 259.

338. Jeronimo, P.C.A. Optical sensors and biosensors based on sol-gel films / P.C.A. Jeronimo, A.N. Araujo, M.C.B.S.M. Montenegro // Talanta. – 2007. – V. 72. – № 1. – P. 13.

339. Jia, Li. Nephelometric determination of germanium(IV) with o-phenanthroline and bromopyrogallol red / Li. Jia, G. Zhao, H. Wang // Mikrochim. Acta. – 1996. – V. 124. – № 1-2. – P.43.

340. Jiaying, Jin. Study on the synergistic chromogenic reaction between Fe(II), BRP and rhodamine B and its analytical application / Jin Jiaying, Tan Chen, Wu Jialiang // Lihua Jianyan, Huaxue Fence. – 1996. – V. 32. – № 3. – P. 160. Chem. Abstr. – 1997. – V. 126. 139220.

341. Kuznetsov, V.V. The Application of Specific Interaction Theory for Describing the Behaviour of Free and Immobilized Acid–Base Indicators / V.V. Kuznetsov, I.V. Yakunina // Mendeleev Commun. – 1995. – V. 5. – № 2. – P. 52.

342. Kazemzadeh, A. Optical oxalate detector based on chemical modification of a polymer film / A. Kazemzadeh, F. Moztarzadeh // Sensots and Actuators B: Chem. – 2005. – V. 106. – № 2. – P. 832.

343. Kocherbitov, V. Hydration of microcrystalline cellulose and milled cellulose studied by sorption calorimetry / V. Kocherbitov, S. Ulvenlund, M. Kober, [et. al] // J.Phys. Chem. B. – 2008. – V. 112. – № 12. – P. 3728.

344. Kosar, J. Light sensitive systems / J. Kosar. – N.Y., London: J. Willey, 1965. – 283 p.

345. Labuszewska, K. Stilbazolium merocyanine systems in Langmuir and Langmuir-Blodgett molecular layers / K. Labuszewska, R. Cegielski, M. Niedbalska, T. Martynski // Coll. Surf. A. – 2008. – V. 321. – P. 39.

346. Lad, MD. adsorbed conformation of globular proteins at the air/water interface / MD. Lad, F. Birembaut, JM. Matthew, [et.al] // Phys Chem Chem Phys – 2006; 8:2179–86.

347. Leyden, D.E. Characterization and application of silylated substrates for the preconcentration of cations / D.E. Leyden // Analytica Chimica Acta. – 1976. – V.84. – P.97.

348. Loginova, L.P. Test films for test-determinations on the base of reagents, immobilized in gelatinous gel / L.P. Loginova, O.Y. Konovalova // Talanta. – 2008. – V. 77. – № 2. – P. 915.

349. Losev, V.N. Complexation of palladium and platinum on silica gel with grafted N-(2,6-dimethyl-4-methyltriphenylphosphoniumn chloride)-phenyl-N'-propylthiourea groups / V.N. Losev, A.K.Trofimchuk, V.M. Bartsev, Y.V. Kudrina // Theoretical and Experimental Chemistry. – 2000. – V. 36. – № 3. – P.173.

350. Losev, V.N. Low-temperature sorption-luminiscence determination of platinum using silica chemically modified with dithiocarbamate groups / V.N. Losev, E.V. Elsuf'ev, A.K. Trofimchuk, A.V. Legenchuk // Journal of Analytical Chemistry. – 2012. – V. 67. – № 9. – P. 772.

351. Lowry, O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosenbrough, A. Z. Farr, R. J. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193. – P. 265.

352. Luo, Zongming. Sensitization of mixed micelle for titanium-bromopyrogallol red / Z. Luo, L. Liang, Z. Donghua, P. Jinping // Yankuang Ceshi. – 1999. – V. 18. – № 2. – P. 157. Chem. Abstr. – 1999. – V. 131. 96506.

353. Madrakian, T. Micelle mediated extraction and simultaneous spectrophotometric determination of vanadium(V) and molybdenum(VI) in plant foodstuff samples / T. Madrakian, A. Afkhami, R. Siri, M. Mohammadnejad // Food Chemistry. – 2011. – V. 127. – № 2. – P. 769.

354. Mazakova, M. Dichromated polyvinil alcohol for holographic recording / M. Mazakova, M. Pantcheva // J. Inf. Rec. Mater. – 1990. – V. 18. –№ 3. – P. 191.

355. Mensitieri, G. Polymeric sensing films absorbing organic guests into a nanoporous host crystalline phase / G. Mensitieri, V. Venditto, G. Guerra // Sensor and actuators B chemical. – 2003. – V. 92. – №3. – P. 255.

356. Merdivan, M. Use of benzoylthiourea immobilized on silica gel for separation and preconcentration of uranium(VI) / M. Merdivan, S. Seyhan, C. Gok // Mikrochimica Acta. – 2006. – V. 154. – P.109.

357. Mironova, D.A. Crystal violet dye in complexes with amphiphilic anionic calix[4]resorcinarenes: Binding by aggregates and individual molecules / D.A. Mironova, L. A. Muslinkina, V. V. Syakaev, [et.al] // J. Colloid&Interface Science. – 2013. – V. 407. – P. 148.

358. Morozova, Ju.E. Investigation of Tetramethylenesulfonated calix[4]resorcinarene Interactions with Azo Dyes in Aqueous Solution / Ju.E. Morozova, E.Kh. Kazakova, D.A. Mironova, [et.al] // J. Phys. Chem. B. – 2010. – 114. – P. 13152.

359. Muginova, S.V. Immobilization of plant peroxidases in cellulose–ionic liquid films / S.V. Muginova, D.A. Myasnikova, A.E. Poliakov, T.N. Shekhovtsova // Mendel. Comm. – 2013. – V. 23. – P. 74.

360. Munkholm, C. Polymer Modification of Fiber Optic Sensors as a Method of Enhancing Fluorescence Signal for pH Measurement / C. Munkholm, D.R. Walt, F.P. Milanovich, S.M. Klainer // Anal. Chem. –1986. – V. 58. – № 7. – P. 1427.

361. Mushran, S.P. Spectrophotometric and potentiometric study of tetravalent vanadium-pyrogallol red chelate / S.P. Mushran, O. Prakash, J.N. Awasthi // Microchem. J. – 1969. – V. 14. – № 1. – P. 29.

362. Nakashima, K. Photophysical Processes on a Latex Surface: Electronic Energy Transfer from Rhodamine Dyes to Malachite Green // K. Nakashima, J. Duhamel, M.A. Winnik // J. Phys. Chem. – 1993. – V. 97. – P. 10702.

363. Narayanaswamy, R. Optical-fibre sensing of fluoride ions in flow-stream / R. Narayanaswamy, D.A. Russell, F Sevilla. III // Analyt. Chim. Acta. – 1988. – V. 35. – № 2. – P. 83.

364. Nemcova, I. Spectrophotometric study of the reaction of bismuth with bromopyrogallol red in the presence of tensides: the determination of bismuth and EDTA / I. Nemcova, P. Penisova, V. Suk // Microchem. J. – 1984. – V. 30. – № 1. – P. 27.

365. Nemcova, I. Spectrophotometric study of the reactions of lanthanoids with bromopyrogallol red in the presence of cation active tensides / I. Nemcova, P. Plockova, Tran Hong Con // Collect. Czechoslov. Chem. Commun. – 1982. – V. 47. – № 2. – P. 503.

366. Nikitina, N.A. Protolytic properties of dyes embedded in gelatin films / N.A. Nikitina, E.A. Reshetnyak, N.V. Svetlova, [et al.] // J. Braz. Chem. Soc. – 2011. – V. 22. – № 5. – P. 855.

367. Noble, J. E. Quantitation of proteins / J. E. Noble, M. J. A. Bailey // Methods in enzymology. – 2009. – V. 463. – P. 73.

368. Orsonneau, J.L. An improved pyrogallol red-molybdate method for the determining total urinary protein / J.L. Orsonneau, P. Douet, C. Massoubre [et al.]. // Clin. Chem. – 1989. – V. 35. – P. 2233.

369. Owen, W.E. Performance characteristics of an HPLC assay for urinary albumin / W.E Owen, W.L. Roberts // Am J Clin Pathol. – 2005;124:219 –25.

370. Pande, S.C. Spectrophotometric studies of the complexes of Quadrivalent titanium, zirconium, and hafnium with dibromopyrogallol sulphonphtalein / S.C. Pande, S.P. Sangal // Microchem. J. – 1972. – V. 17. – № 2. – P. 186.

371. Perez-Quintanilla, D. Preparation of 2-mercaptobenzothiazole-derivatized mesoporous silica and removal of Hg(II) from aqueous solution / D. Perez-Quintanilla, I. Hierro, M. Fajardo, I. Sierra // Journal of Environmental Monitoring. – 2006. – V. 8. – P. 214.

372. Peterson, J.I. Fibre optic pH probe for physiological use / J.I. Peterson, S.R. Goldestein, R.V. Fitzerald, D.K. Buckhold // Anal. Chem. – 1980. – V. 52. – № 6. – P. 864.

373. Petitpas, I. Crystal structures of human serum albumin complexed with monounsaturated and polyunsaturated fatty acids / I. Petitpas, T. Grüne, A.A. Bhattacharya, S. Curry // J. Mol. Biol. – 2001. – V. 314. – №5. – P. 955.

374. Prasada, T.R. Spectrophotometric determination of traces of lead with bromopyrogallol red and cetyltrimethylammonium or cetylpyridinium bromid / T.R., Prasada, T.V. Ramakrishna // Talanta. – 1980. – V. 27. – №. 5. – P. 439.

375. Qiheng, Xu. Изучение цветных реакций в системе трехвалентный индий – бромпирогаллоловый красный – тетрадецилбензилдиметиламмоний хлорид – натрийкарбоксиметилцеллюлоза / Xu Qiheng, Peng Youxian, Liu Songyu. // Fenxi huaxue. Anal. Chem. – 1983. – № 7. – P. 485. РЖХ. 1984. 10 Г 15.

376. Rastegarzadeh, S. Optical sensor for silver based on 5(p-dimethylaminobenzylidene)rhodanine immobilized on a triacetylcellulose membrane / S. Rastegarzadeh, V. Rezaei // Журн. аналит. химии. – 2008. – Т. 63. – № 9. – С. 985.

377. Rath, S. A simple spectrophotometric procedure for the determination of antimony(III) and (V) in antileishmanial drugs / S. Rath, W.F. Jardim, J.G. Dorea // Fresenius' J. Anal. Chem. – 1997. – V. 358. – № 4. – P. 548. Chem Abstr. – 1997. – V. 127. – P.140655.

378. Reguera, I. P. Native fluorescence flow-through optosensor for the fast determination of diphenhydramine in pharmaceuticals / I.P. Reguera, M. G. Rubio, A. M. Diaz // Analytical sciences. – 2004. – V. 20. – № 5. – P.799.

379. Reshetnyak, E.A. Photometric determination of aqueous cobalt(II), nickel(II), copper(II) and iron(III) with 1- nitroso-2-naphtol-3,6-disulfonic acid disodium salt in gelatin films / E.A. Reshetnyak, N.V. Ivchenko, N.A. Nikitina // Cent. Eur. J. Chem. – 2012. – V. 10. – № 5. – P. 1617.

380. Sadeghi, S. Solid phase extraction using silica gel functionalized with Sulfasalazine for preconcentration of uranium(VI) ions from water samples / S. Sadeghi, E. Sheikhzadeh // Microchimica Acta. – 2008. – V.163. – P.313.

381. Safavi, A. Design of a copper (II) optode based on immobilization of dithizone on a triacetylcellulose membrane / A. Safavi, M. Bagheri // Sensots and Actuators B: Chem. – 2005. –V. 107. – № 1. – P. 53.

382. Savvin, S.B. A Highly Effective Dynamic Method of Membrane Concentration / S.B. Savvin, A.S. Katchanov, V. V. Kuznetsovb, A.V. Mikhailova // Mendeleev Communications. – 1994. – V. 4. – № 3. – P. 103.

383. Sellien, W. Development of an optical-chemical sensor for the detection of ammonium ions / W. Sellien, R. Czolk, J. Reichert, H.J. Ache // Anal. Chim. Acta. – 1992. – V. 269. – № 1. – P. 83.

384. Shaikh, S.M.T. A study of the interaction between bromopyrogallol red and bovine serum albumin by spectroscopic methods / S.M.T. Shaikh, J. Seetharamappa, S. Ashoka, P.B. Kandagal // Dyes and Pigments. – 2007. – V. 73. – № 2. – P. 211.

385. Shen, Han Xi. Studies on the chemical equilibria systems by target transformation evolving factor analysis / Han Xi Shen, Cai Shuo Wei. // Huaxue Xuebao. – 1994. – V. 52. – № 3. – P. 290. Chem. Abstr. 1994. V. 120. 281589g.

386. Shijo, Yoshio. Спектрофотометрическое определение шестивалентного вольфрама с помощью пирогаллола красного и хлоридацетилтриметиламмония / Yoshio Shijo, Takeuchi Tsugio // Bunseki kagaku. Jap. Anal. – 1973. – V. 22. – № 10. – P. 1341

387. Shtykov, S.N. Application of Langmuir–Blodgett films as modifiers of piezoresonance sensors / S.N. Shtykov, T.Yu. Rusanova, A.V. Kalach, K.E. Pankin // Sensors and Actuators B. – 2006. – V. 114. – № 1. – P. 497.

388. Sud, D. Agricultural waste material as potential adsorbent for sequestering heavy metal ions from aqueous solutions – A review / D. Sud, G, Mahajan, M.P. Kaur // Bioresource Technology. – 2008. – V. 99. – P. 6017.

389. Suk, V. Chemische indikatoren VI. Saurebasische eigenschaften von pyrogallol- und brompyrogallolrot.// Collect. Czechoslov. Chem. Commun. – 1966. – V. 31. – № 8. – P. 3127

390. Sun, A. Kinetic spectrophotometric determination of nitrite by catalytic reaction between bromopyrogallol red and dissolved oxygen / Ailing Sun, Liu Daojie, Liu Renmin. // Fenxi Shiyanshi. – 1996. – V. 15. – № 2. – P. 56. Chem. Abstr. 1996. V. 125. 315560.

391. Sviridov, D. Reactivity of urinary albumin (microalbumin) assays with fragmented or modified albumin / D. Sviridov, SK. Drake, GL. Hortin // Clin Chem. – 2008; 54:61– 8.

392. Takamura. N. Mode of interaction of loop diuretics with human serum albumin and characterization of binding site / N. Takamura, A. Haruta, H. Kodama, [et al.] // Pharm. Res. – 1996. – V. 13. – №7. – P. 1015.

393. Tewari, P.K. Preconcentration of lead with amberlite XAD-2 amberlite XAD-7 based' chelating resins for its determination by flame atomic absorption spectrometry / P.K. Tewari, A.K. Singh // Talanta. – 2000. – V. 125. – № 12. – P. 2350.

394. Uemura, Y. Preparation of reference material for albumin without lot difference. Laboratory Med 2004; 5:557– 61. Режим доступа: http://www.labmedicina.ru/12252/6826/item/252

395. Vachoud, L. Physicochemical behaviour of chitin gels / L. Vachoud, N. Zidowicz, A. Domard // J. Biol. Macromol. – 2001. – V. 28. – P. 93.

396. Velychko, O. The use of metrological terms and SI units in environmental guides and international standards / O. Velychko, T. Gordiyenko // Measurement. – V. 40. – № 2. – P. 202.

397. Vershinin, V.I. Total indices as a tool to estimate sum content of similar analytes / V.I. Vershinin // Talanta. – 2015. – V. 131. –C. 292.

398. Wang, F. Langmuir-Blodgett modified glassy carbon electrode as voltammetric sensor for determinate of methotrexate / F. Wang, Y. Wu, J. Liu, B. Ye // Electrochim. Acta. – 2009. – V. 54. – P. 1408.

399. Watanabe, H. Role of arg-410 and tyr-411 in human serum albumin for ligand binding and esterase-like activity / H. Watanabe, S. Tanase, K. Nakajou, [et al.] // Biochem. J. – 2000. – V. 349. – № 3. – P.813-819.

400. Watanabe, N. Conducting organic Langmuir-Blodgett films as chemical sensors / N. Watanabe, H. Ohnuki, T. Saiki, [et al.] // Sens. Actuat. B. – 2005. – V. 108. – P. 404.

401. Watanabe, N. Urinary protein as measured with a pyrogallol red-molybdate complex manually and in a Hitachi 726 automated analyzer / N. Watanabe, S. Kamei, A. Ohkubo, [et al.] // Clin. Chem. – 1986. – V. 32. – P. 1551.

402. West, S.J. Selective ionophore-based optical sensors for ammonia measurement in air / S.J. West, S. Ozawa, K. Seiler, [et al.] //Anal. Chem. – 1992. – V. 64. – № 5. – P. 533.

403. Williams, K.M. Thomas Marshall. Protein concentration of cerebrospinal fluid by precipitation with Pyrogallol Red prior to sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis / K.M. Williams, T. Marshall // Journal of Biochemical and Biophysical Methods. – 2001. – V. 47. – № 3. – P. 197.

404. Wu, Xinchuan. Study and application of gallium-BPR-Phen system / X. Wu, Ji. Liu // Chem. Abstr. – 1995. – V. – 122. 229552.

405. Wyganowski, C. Sensetive spectrophotometric determination of molybdenium(VI) with pyrogallol red and cetyltrimethylammonium ions / C. Wyganowski // Microchem. J. – 1980. – V. 25. – № 2. – P. 147.

406. Wyganowski, C. Spectrophotometric determination of aluminum with bromopyrogallol red in the presence of surfactants / C. Wyganowski, M. Kolezynska // Microchem. J. – 1982. – V. 27. – № 1. – P. 37.

407. Wyganowski, C. Sensitive spectrophotometric determination of gallium with bromopyrogallol red in the presence of surfactants / C. Wyganowski // Microchem. J. – 1982. – V. – 27. – № 1. – P. 13.

408. Wyganowski, C. Spectrophotometric determination of aluminum and gallium with pyrogallol red and cetiltrimethylamrnonium bromide / C. Wyganowski // Microchem. J. – 1981. – V. 26. – № 1. – P. 45.

409. Wyganowski, C. Spectrophotometric determination of aluminum with bromopyrogallol red and a quaternary ammonium salt: determination of aluminum in river water / C. Wyganowski, S. Motomizu, K. Toei // Microchim. Acta. – 1983. – № 1. – P. 55.

410. Xia, X. Absorption photometric determination of microamount of aluminum with BPR in the presence of mixed surfactants / X.Xia, Ma Hourong, Gu Jun, Zhao Deyou // Lihua Jianyan. Huaxue Fence. – 1993. – V. 29. – № 4. – P. 223. Chem. Abstr. – 1993. – V. 119. 285352b.

411. Xie, Z.H. Thioacetamide chemically immobilized on silica gel as a solid phase extracting for the extraction and preconcentration of copper(II), lead(II), and cadmium(II) / Z.H. Xie, F.Z. Xie, L.Q. Guo, [et al.] // Journal of Separation Science. – 2005. –V. 28. – P.462.

412. Xirong, H. Determination of tin in canned foods by UV/visible spectrophotometric technique using mixed surfactants / H. Xirong, Zhang Wenjuan, Han Shuhua, Wang Xingiahg // Talanta. – 1997. – V. 44. – № 5. – P. 817.

413. Xu, Qiheng. Исследование комплексообразования висмута(Ш) и пирогаллоловым красным в присутствии цетилтриметиламмония бромида / Qiheng Xu, Хи Xiujun. // Хуасюэ сюэбао. Acta. Chim. Sin. – 1982. – V. 40. – № 5. – P. 419. РЖХим. 1983. 6Г156.

414. Yamamoto, K. Sensitive determination of quaternary ammonium salts by extraction-spectrophotometry of ion associates with bromophenol blue anion and coextraction / K. Yamamoto // Anal. Chim. Acta. – 1995. – V. 302. – № 1. – P. 75.

415. Yanga, Jui-Yi. Heparin interference in the cerebrospinal fluid protein assay measured with a pyrogallol red–molybdate complex / Jui-Yi Yanga. Tzu-I Chiena, Jin-Ying Lua, Jau-Tsuen Kaoa // Clin. Chim. Acta. – 2009. – V. 408. – № 1–2. – P. 75.

416. Yusof, N.A. A flow cell optosensor for lead based on immobilized gallocynin in chitosan membrane / N.A. Yusof, M. Ahmad // Talanta. – 2005. – V. 58. – № 3. – P. 459.

417. Zhao, X. New insights into the behavior of bovine serum albumin adsorbed onto carbon nanotubes: comprehensive spectroscopic studies / X. Zhao R. Liu, Z. Chi, [et al.] // J. Phys. Chem. B. – 2010. – V. 114. – № 16. – P. 5625.

418. Zheng, X. Study on determination of A1 with quaternary complex spectrophotometry / X. Zheng,Y. Yongsheng, Li .Yanshao // Huaxue Fence. – 1999. – V. 35. – № 7. – P. 315. Chem. Abstr. 1999. V. 131. 208222.

419. Zhihong, L. Phenol red immobilized PVA membrane for an optical pH sensor with two determination ranges and long-term stability / L Zhihong, L. Junfeng, C. Tianlu. // Sensors and Actuators B: Chem. – 2005. – V. 107. – № 1. – P. 311.