

На правах рукописи



Анисимович Полина Владимировна

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

02.00.02 – Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук**

Краснодар – 2015

Работа выполнена на кафедре аналитической химии факультета химии и высоких технологий Кубанского государственного университета

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Темердашев Зауаль Ахлоович
ФГБОУ ВПО «Кубанский
государственный университет»

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор
Дмитриенко Станислава Григорьевна,
МГУ имени М.В. Ломоносова

кандидат химических наук, старший
научный сотрудник
Михайлова Алла Владимировна
ГЕОХИ РАН

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Саратовский
государственный университет
имени Н.Г.Чернышевского»

Защита диссертации состоится «24» сентября 2015 г. в 16 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д.212.101.16 при ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет» по адресу: 350040, Краснодар, ул. Ставропольская, д. 149, ауд. 3030Л.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет» и в сети Интернет Минобрнауки РФ <http://vak.ed.gov.ru> и ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет» <http://www.kubsu.ru>

Автореферат разослан июля 2015 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук



Киселева Н.В.

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 веществ. 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.

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

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 гидроксигруппам и используемыми для спектрофотометрического определения некоторых 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_a 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 белками разработан оптически прозрачный чувствительный элемент для сорбционно-спектроскопического определения общего 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-тригидроксифлуороном (сорбционная способность и морфология их поверхностей);

– результаты исследования оптических и протолитических свойств 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 белками;

– методику сорбционно-спектроскопического определения общего 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** обоснована актуальность работы, сформулированы ее цели и задачи, научная новизна и практическая значимость.

В **Литературном обзоре** обсуждены сорбенты, используемые для сорбционно-спектроскопического определения аналитов, способы детектирования аналитического сигнала с использованием твердофазных сорбентов, подходы к иммобилизации реагентов. Отдельное внимание уделено оптически прозрачным полимерным материалам, в том числе отвержденному желатиновому гелю, как матрице для проведения аналитических реакций. Рассмотрено влияние организованных сред на оптические, протолитические и комплексообразующие свойства иммобилизованных реагентов, обсуждены протолитические и комплексообразующие свойства представителей 3,4,5-тригидроксифлуоронов – ПГК и БПГК.

В **Экспериментальной части** описаны объекты исследования, материалы, реактивы и методики проведения анализа. Используемые в экспериментальных исследованиях реактивы имели квалификацию «хч» или «чда»; для определения белка использовали стандартные образцы – калибраторы «Альбумин» и «Общий белок» (ООО «Агат-Мед» сер. 11409/230514). В работе использовали бесцветные, прозрачные и

механически прочные пленки, полученные на основе фотографической пленки для офсетной печати фирмы AGFA с толщиной желатинового слоя ~ 20 мкм. Оптическую плотность получаемых пленок измеряли на спектрофотометре UV-1800 («Shimadzu», Япония). Поверхностный слой желатина с иммобилизованными реагентами и их комплексами с металлами изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа JEOL JSM-7500F («JEOL», Япония) и волно-дисперсионного рентгенофлуоресцентного анализатора ARL-Perform'X («Thermo Fisher Scientific», США). Элементные определения металлов при изучении процессов комплексообразования проводили с использованием атомно-абсорбционного спектрометра AA-6800 («Shimadzu», Япония). Визуальную оценку интенсивности окраски полученных пленок проводила группа из 14–15 независимых наблюдателей.

Сорбция ПГК и БПГК в отвержденный желатиновый гель. Время иммобилизации реагентов в отвержденный желатиновый гель устанавливали по результатам кинетических исследований. Равновесие в системе «раствор/желатиновая пленка» для обоих реагентов наступает примерно через 50 мин контакта пленок с раствором (рис. 1). Оптическая плотность полученных пленок максимальна в диапазоне pH от 2.5 до 4.5 (рис. 2).

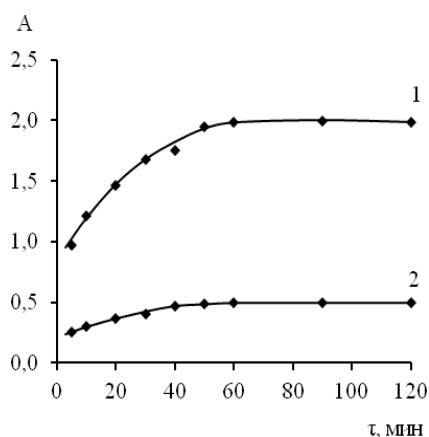


Рисунок 1. Зависимость оптической плотности желатиновых пленок от времени выдерживания в $2.0 \cdot 10^{-4}$ М растворах БПГК, 580 нм (1) и ПГК, 540 нм (2), pH 4.5

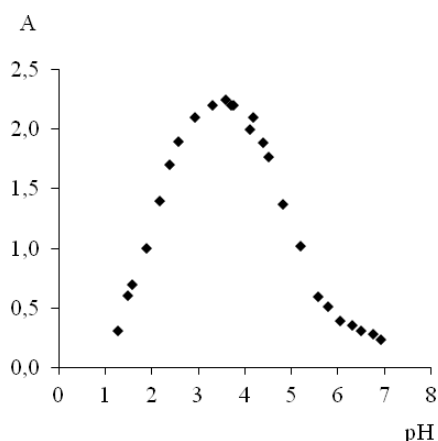
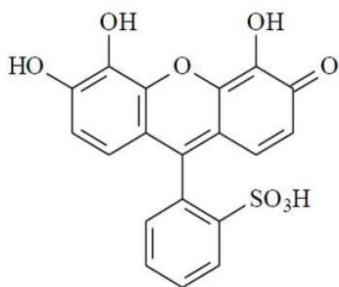


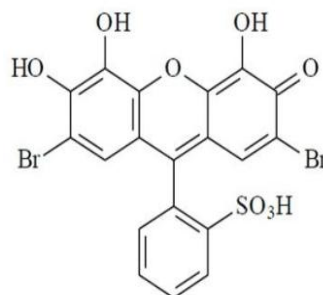
Рисунок 2. Зависимость оптической плотности желатиновых пленок от pH раствора после выдерживания в $2.0 \cdot 10^{-4}$ М растворе БПГК (λ 580 нм)

Степень извлечения БПГК и сорбционная емкость желатина по отношению к БПГК выше, чем к ПГК. Изотермы адсорбции имеют вид, характерный для непористых сорбентов с однородной поверхностью, полученные экспериментальные данные аппроксимировали изотермой Фрейндлиха. В присутствии ионогенных ПАВ (катионного – цетилпиридиний хлорида, анионного – додецилсульфат натрия) сорбционная способность желатина и степень удерживания реагентов заметно снижается.

Влияние желатиновой матрицы на протолитические свойства реагентов. Пирогаллоловый красный и бромпирогаллоловый красный относятся к 3,4,5-тригидроксифлуоронам и обладают кислотными свойствами по сульфо- и гидроксигруппам в положении 3,4,5:



Пирогаллоловый красный

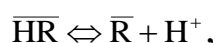


Бромпирогаллоловый красный

Подтверждением взаимодействия красителя со средой желатинового геля из растворов с различным рН является батохромное смещение максимумов поглощения на 15–20 нм в спектрах поглощения реагентов, иммобилизованных в желатиновую пленку. Аналогичный эффект батохромного смещения наблюдается и в присутствии в растворе КПАВ.

Результаты исследования влияния кислотности среды на спектральные характеристики модифицированных пленок позволили предположить, что в случае обоих реагентов в желатиновую матрицу преимущественно сорбируется форма H_3R^- , что согласуется со значением изоэлектрической точки используемого желатина, равной 4.5.

Кислотно-основное равновесие в гетерогенной системе «раствор/желатиновая пленка» в общем виде описывали уравнением реакции:



где чертой над формулами обозначены частицы, находящиеся в фазе желатина (заряд частиц красителя опущен). Оценку «кажущихся» констант диссоциации K_a^{ac} проводили спектрофотометрическим методом с контролем pH фазы раствора при $I=0.1$ (KCl), значения pK_a^{ac} рассчитывали по формуле

$$pK_a^{ac} = pH + \lg \frac{A_R - A}{A - A_{HR}}, \quad (1)$$

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

Проверку постоянства значений констант в растворе и плёнке проводили путем изучения зависимости логарифма индикаторного отношения $\lg([HAn]/[An^-])$ от pH. Во всех случаях были получены линейные зависимости с коэффициентами корреляции, близкими к единице, что подтверждает постоянство значений pK_a как для растворов, так и для пленок.

Как видно из табл. 1, иммобилизация реагентов в отвержденный желатиновый гель приводит к усилению кислотных свойств реагентов. Этот эффект коррелирует с эффектом, наблюдаемым в присутствии КПАВ.

Таблица 1. Константы ионизации ПГК и БПГК в растворах и 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	–	–	–	–	–	–

Влияние желатиновой матрицы на комплексообразующие свойства 3,4,5-тригидроксифлуоронов. Комплексообразование в гетерофазных системах «раствор/желатиновая пленка» и влияние желатина на комплексообразующие свойства ПГК и БПГК изучали на примере Pb^{2+} и Cu^{2+} , с которыми 3,4,5-тригидроксифлуороны образуют интенсивно окрашенные комплексы. Данные, полученные при изучении поверхностного слоя желатина, показывают, что реагенты и их комплексы равномерно распределяются по поверхности пленки (рис. 3). Результаты исследований, полученных при поперечном сканировании желатиновых пленок, свидетельствуют, что процесс комплексообразования происходит в большей степени в поверхностном слое желатина. Ни реагенты, ни их комплексы не проникают в слой полимерной матрицы.

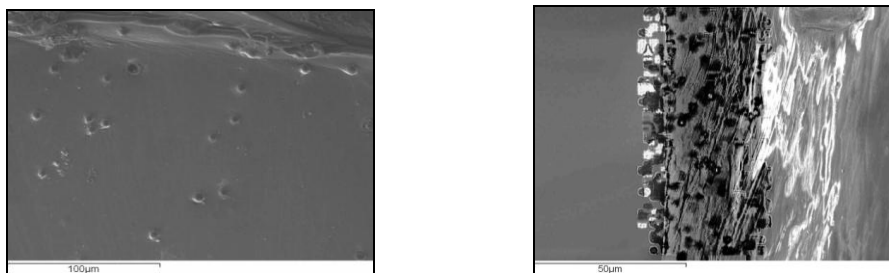
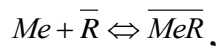


Рисунок 3. Микрофотографии поверхностного слоя желатина с иммобилизованным комплексом Pb – БПГК

Модифицированные желатиновые пленки при погружении в растворы, содержащие Pb(II) или Cu(II), приобретают синюю окраску за счет образования комплексных соединений, при этом в спектрах наблюдаются максимумы поглощения при 580–610 нм. После 40 мин контакта твердофазных реагентов с раствором оптическая плотность металлокомплексов в пленках меняется незначительно, равновесие в гетерогенных системах с участием обоих реагентов наступает через 60 мин. Наибольшие значения оптической плотности наблюдаются в диапазоне pH 3.0–4.5

Состав и устойчивость комплексов Pb^{2+} и Cu^{2+} с ПГК и БПГК, образующихся в растворах с различной кислотностью и в двухфазной системе «раствор/желатиновая пленка», устанавливали методами Асмуса, изомолярных серий и молярных отношений. Установлено, что стехиометрическое соотношение в составе комплексов Me:ПГК и Me:БПГК в растворах равно 1:1,

в случае комплексообразования в гетерогенной системе «раствор/желатиновая пленка» число координируемых Me^{2+} частиц реагентов не изменяется. Условную константу (β') равновесия процесса взаимодействия $Me(II)$ с твердофазным реагентом (заряд частиц опущен)



рассчитывали как:

$$\beta' = \frac{\overline{C_{MeR}}}{C_{Me} \cdot C_R^*}, \quad (2)$$

где C_{Me} – остаточная концентрация металла в растворе после извлечения пленок с реагентом, $\overline{C_{MeR}}$ и C_R^* – молярные концентрации комплекса и несвязанного в комплекс реагента в объемной фазе желатинового геля. Условные константы равновесия процессов комплексообразования, а также значения коэффициентов распределения (D) металлов в двухфазной системе «раствор/желатиновая пленка» и степени извлечения (R) металлов одним образцом индикаторной пленки (площадь 1.4 см²) представлены в таблице 2.

Таблица 2. Комплексообразующие свойства ПГК и БПГК, иммобилизованных в желатиновую пленку

Среда	Me	pH	D	R, %	Me : R	$\varepsilon \cdot 10^{-4}$ (л/(моль·см))	$\lg \beta'$ (n = 5–7, P = 0.95)
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

Влияние среды желатина проявляется в случае свинца (II) и меди (II) по-разному. Несмотря на «кажущееся» снижение устойчивости комплексов свинца при переходе реагентов из раствора в желатиновую матрицу, индикаторная пленка с иммобилизованными ПГК и БПГК способна эффективно извлекать и удерживать исследуемые ионы, что свидетельствует о перспективности использования указанных материалов в качестве оптически прозрачного твердофазного реагента. Бромпирогаллоловый красный образует более прочные комплексы с обоими металлами и в растворах, и в пленках по сравнению с пирогаллоловым красным.

Анализ проб, содержащих свинец и медь, должен предполагать определение одного из компонентов после маскирования второго с последующим определением их суммы. Экспериментально установлено, что в диапазоне суммарных концентраций металлов от $1.0 \cdot 10^{-6}$ до $8.0 \cdot 10^{-5}$ М оптическая плотность металлокомплексов в пленках является величиной аддитивной.

По масштабам выброса в атмосферу свинец занимает ведущее место среди токсичных микроэлементов, поэтому контроль 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 оснащённостью лаборатории.

С учетом изложенных 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 и тест-определения свинца (II).

Для выбора оптимальных условий визуального тестирования готовили цветовые шкалы с шагом, равным 2, в диапазоне концентраций свинца (II) от $1.0 \cdot 10^{-7}$ до $1.0 \cdot 10^{-4}$ М, варьируя pH и концентрацию реагента в модифицирующем растворе. В оптимальных условиях интервал ненадежности обнаружения Pb(II)

составляет 1.9–3.7 мкМ, относительная ширина интервала соответствует значению 0.95. Узкий интервал ненадежности подтверждает хорошие аналитические свойства выбранной тест–реакции и свидетельствует об устойчивости тест-системы к внешним воздействиям. Экспериментальную кривую эффективности одинаково хорошо описали функции нормального, логнормального распределений и функция распределения Вейбулла, что характерно для тест-систем с узким интервалом ненадежности. Значения предела обнаружения C_{\min} и предела определения C_{\lim} Pb(II) составили 3.2 мкМ и 3.9 мкМ соответственно.

Проверку правильности методики проводили на модельных растворах (табл. 3), в которые погружали по три образца БПГК-пленок, содержание свинца устанавливали 5 наблюдателей с помощью цветовой шкалы, полученной для концентраций Pb(II): 0; 4.0; 8.0; 16; 32; 64 мкМ (рис. 4).

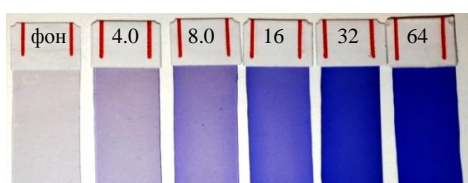


Рисунок 4. Цветовая шкала, полученная после выдерживания пленок в растворах, содержащих Pb(II): 0; 4.0; 8.0; 16; 32; 64 мкМ

Таблица 3. Результаты тестового определения свинца(II) в стандартных растворах (n = 15)

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

В оптимальных условиях сорбционно-спектроскопического определения зависимость оптической плотности пленок от концентрации свинца при pH 4.5 имеет линейный характер в диапазоне от $1 \cdot 10^{-6}$ до $1 \cdot 10^{-4}$ М, предел обнаружения $3.8 \cdot 10^{-7}$ М.

Разработанные методики сорбционно-спектроскопического и визуального тест-определения свинца апробировали при анализе воздуха рабочей зоны

типографии ООО «Биотех-Юг» (г. Краснодар) и завода ЗАО «КубаньЦветмет» (п. Холмский Краснодарского края). После кислотного вскрытия фильтров и создания необходимой кислотности в полученные растворы погружали индикаторные пленки, концентрацию свинца оценивали визуально и спектрофотометрически. В табл. 4 приведены полученные результаты в пересчете концентраций на реальный объект.

Таблица 4. Результаты сорбционно-спектроскопического и визуального тест-определения Pb(II) в воздухе рабочей зоны

Объект	№ пробы	$C_{Pb(II)}$ в воздухе, мг/м ³ (ПДК свинца в воздухе рабочей зоны 0.01 мг/м ³)		
		визуальное тестирование (интервал разброса результатов, n = 15)	индикаторные пленки (СФ) (P = 0.95, n = 3)	ААС
ЗАО НПП «КубаньЦветМет»	1	0.041 (0.032÷0.064)	0.035 ± 0.003	0.035 ± 0.002
	2	0.039 (0.032÷0.064)	0.034 ± 0.002	0.033 ± 0.002
	3	0.020 (0.016÷0.032)	0.022 ± 0.003	0.021 ± 0.002
	4	0.010 (0.008÷0.016)	0.011 ± 0.002	0.011 ± 0.001
Типография ООО «Биотех-Юг»	1	0.023 (0.021÷0.042)	0.021 ± 0.003	0.021 ± 0.003
	2	0.009 (0.008÷0.016)	0.013 ± 0.003	0.011 ± 0.003
	3	0.010 (0.008÷0.016)	0.009 ± 0.002	0.009 ± 0.001
	4	0.007 (0.005÷0.010)	0.008 ± 0.002	0.008 ± 0.002

Взаимодействие 3,4,5-тригидроксифлуоронов с белками. Среди органических красителей для определения белка в биологических жидкостях наиболее широко используется ПГК. При проведении реакции ПГК с белком в среде сукцинатного буфера с рН 2.5 в присутствии молибдат-ионов наблюдается заметный батохромный сдвиг максимума поглощения (рис. 5).

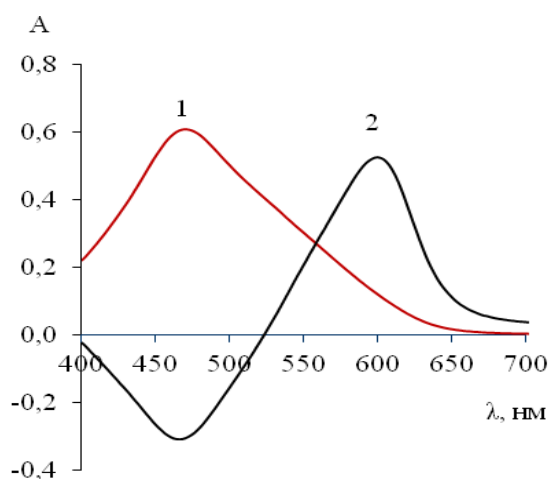


Рисунок 5. Спектры поглощения $6.0 \cdot 10^{-5}$ М растворов ПГК в сукцинатном буферном растворе (рН 2.5) в отсутствие (1) и в присутствии альбумина (2). $C_{Mo(VI)} = 4.0 \cdot 10^{-5}$ М; $C_{альбумина} = 1.0$ г/л

Наблюдаемый спектральный эффект в растворах рядом авторов объясняется образованием тройного комплекса Mo(VI)-ПГК-белок. Аналогичный батохромный сдвиг наблюдался нами при замене ПГК на БПГК.

Исследование реакции иммобилизованного в желатиновый гель ПГК с белком показывает, что молекулы белка не проникают в желатиновый слой, и взаимодействие в гетерогенной системе «раствор/желатиновая пленка» происходит в растворе. В присутствии белка пленки сохраняют прозрачность, интенсивность синей окраски пленок уменьшается с увеличением концентрации белка в растворе.

Для сорбционно-спектроскопического определения общего белка в биологических объектах оптимальной является концентрация красителя в исходных растворах в диапазоне от $1.0 \cdot 10^{-4}$ до $1.0 \cdot 10^{-3}$ М. Для дальнейших исследований, с учетом динамики формирования аналитического сигнала, выбрано время контакта модифицированных ПГК желатиновых пленок с раствором белка в сукцинатном буфере с pH 2.5 в присутствии $4.0 \cdot 10^{-5}$ М Mo(VI) 20 мин. Метрологические характеристики методики определения белка с пирогаллоловым красным, иммобилизованным в отвержденный желатиновый гель, приведены в табл. 5.

Таблица 5. Метрологические характеристики методик определения белка с пирогаллоловым красным в биологических объектах ($P = 0.95$, $n = 6$)

Среда	Уравнение зависимости аналитического сигнала от концентрации, С белка, г/л	Диапазон определяемых концентраций, г/л	r	C_{\min} , г/л
Раствор	$A=(0.50 \pm 0.01) \times C + (0.020 \pm 0.001)$	0.05–1.20	0.997	0.020
Желатиновая пленка	$A=(8.20 \pm 0.02) \times C - (0.040 \pm 0.001)$	0.007–0.070	0.996	0.006

Предлагаемая методика позволяет расширить диапазон определяемых концентраций и снизить предел обнаружения общего белка в биологических жидкостях. Проверку правильности определения общего белка проводили на

модельных растворах (табл. 6), методика апробирована на образцах плазмы крови (табл. 7).

Таблица 6. Результаты определения общего белка в модельных растворах (P = 0.95, n = 5)

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

Таблица 7. Результаты определения общего белка в различных образцах плазмы крови * (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_f
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 прозрачных сорбентов на основе отвержденного желатинового геля, модифицированного пирогаллоловым красным и бромпирогаллоловым красным, для сорбционно-спектроскопического и визуального тест-определения аналитов в водных средах. Прозрачность, механическая прочность твердофазных реагентов, простота изготовления и стабильность окраски при длительном хранении делают разработанные чувствительные элементы удобными для определения аналитов в объектах окружающей среды и в сложных биологических объектах.

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 рН 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.

Основные результаты диссертационной работы изложены в следующих публикациях:

1. Темердашев, З.А. Тест-определение свинца с помощью тонкослойных сорбентов РИБ-Металл-Тест / З.А. Темердашев, В.М. Островская, Т.Б. Починок, [и др.] // Экологический вестник научных центров Черноморского экономического сотрудничества (ЧЭС). – 2010. – № 2. – С. 80.

2. Починок, Т.Б. Использование тонкослойных сорбентов на основе пирогаллолового красного для тест-определения свинца / Т.Б. Починок, В.М. Островская, **П.В. Тарасова (Анисимович)**, [и др.] // Экологический вестник научных центров Черноморского экономического сотрудничества (ЧЭС). – 2010. – № 3. – С. 37.

3. **Тарасова (Анисимович), П.В.** О возможности создания оптического сенсора на основе отвержденного желатинового геля для определения свинца / **П.В. Тарасова (Анисимович)**, М.А. Гостева // Всероссийская научная школа по аналитической химии. Материалы научной школы. Краснодар. – 2011. – С. 264.

4. 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 (Анисимович)**, М.А. Гостева // Аналитика и контроль. – 2012. – Т. 16. – № 1. – С. 39.

5. Починок, Т.Б. Сорбционно-спектроскопическое определение Рb(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.

6. **Анисимович, П.В.** Визуальное тест-определение Рb(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.

7. **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.

8. Темердашев, З.А., **Тарасова (Анисимович) П.В.**, Починок, Т.Б. Сорбционно-спектрофотометрический способ определения свинца (II) // Патент РФ на изобретение № 2529660. 2014.

9. Починок, Т.Б. Сорбционно-спектрофотометрическое определение свинца с использованием пирогаллолового красного и его производных, иммобилизованных в желатиновую матрицу / Т.Б. Починок, **П.В. Тарасова (Анисимович)**, М.А. Гостева, В.М. Островская // VIII Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2011». Тезисы докладов. – С. 229.

10. Починок, Т.Б. Сорбция пирогаллолового красного и его производных в желатиновую матрицу / Т.Б. Починок, **П.В. Тарасова (Анисимович)**, М.А. Гостева, В.М. Островская // Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии. Материалы III Всероссийского симпозиума. Краснодар. 2011. – С. 76.

11. Починок, Т.Б. Тонкослойный сорбент на основе бромпирогаллолового красного для определения свинца методом твердофазной спектроскопии / Т.Б. Починок, З.А. Темердашев, **П.В. Тарасова (Анисимович)**, М.А. Гостева // Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии. Материалы III Всероссийского симпозиума. Краснодар. 2011. – С. 129.

12. Починок, Т.Б. Протолитические свойства бромпирогаллолового красного, сорбированного в отвержденный желатиновый гель / Т.Б. Починок, М.А. Гостева, **П.В. Тарасова (Анисимович)**, А.В. Акимова // Всероссийская конференция по аналитической спектроскопии с международным участием. Материалы конференции. Краснодар. 2012. – С. 257.

13. **Тарасова (Анисимович), П.В.** К вопросу об аддитивности оптической плотности прозрачного оптического сенсора на основе отвержденного желатинового геля / **П.В. Тарасова (Анисимович)**, Т.Б. Починок // Всероссийская конференция по аналитической спектроскопии с международным участием. Материалы конференции. Краснодар. 2012. – С. 271.

14. **Тарасова (Анисимович), П.В.** Спектрофотометрическое исследование реакции Cu(II) с бромпирогаллоловым красным, иммобилизованным в отвержденный желатиновый гель / **П.В. Тарасова (Анисимович)**, Т.Б. Починок, А.В. Акимова // Всероссийская конференция по аналитической спектроскопии с международным участием. Материалы конференции. Краснодар. 2012. – С. 272.

15. **Тарасова (Анисимович), П.В.** Оценка аддитивности аналитического сигнала прозрачного сенсора на основе желатина, иммобилизованного бромпирогаллоловым красным / **П.В. Тарасова (Анисимович)**, Т.Б. Починок, О.Ю. Ломакина, Т.С. Смоленская // Второй съезд аналитиков России. Тезисы докладов. Москва. 2013. – С. 55.

16. **Анисимович, П.В.** Сорбционно-спектроскопическое определение общего белка с использованием твердого носителя – желатинового геля / **П.В. Анисимович**, Т.Б. Починок, Ю.В. Коркишко, К.Г. Бадалян // Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии. Материалы IV

Всероссийского симпозиума с международным участием. Краснодар. 2014. – С. 22.

17. **Анисимович, П.В.** Протолитические и комплексообразующие свойства красителей группы триоксифлуоронов, иммобилизованных в желатиновую матрицу / **П.В. Анисимович**, Т.Б. Починок, О.Ю. Ломакина // Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии. Материалы IV Всероссийского симпозиума с международным участием. Краснодар. 2014. – С. 23.

18. **Анисимович, П.В.** Метрологические характеристики визуального тест-определения свинца на твердом носителе- отвержденном желатиновом геле / **П.В. Анисимович**, Т.Б. Починок, Т.С. Смоленская // Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии. Материалы IV Всероссийского симпозиума с международным участием. Краснодар. 2014. – С. 24.

19. **Анисимович, П.В.** Модифицированные 3,4,5-тригидроксифлуоронами желатиновые пленки для сорбционно-спектроскопического и тест-определения аналитов / **П.В. Анисимович**, Т.Б. Починок // Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии. Материалы IV Всероссийского симпозиума с международным участием. Краснодар. 2014. – С. 25.

Автор выражает глубокую и искреннюю благодарность к.х.н. Т.Б. Починок за оказанное содействие при постановке, выполнении и обсуждении результатов данного исследования; к.х.н. Е.А. Решетняк – за участие в обсуждении результатов исследований и предоставленные образцы желатиновых пленок.

Автореферат

Анисимович Полина Владимировна

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

Формат 60x84¹/₁₆. Бум. тип. № 1. Уч. изд. л. 1,5.

Тираж 100 экз. Заказ № 2297.1

Издательско-полиграфический центр

Кубанского государственного университета

350040, г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149.

