

На правах рукописи



АЛЕШИН НИКОЛАЙ СЕРГЕЕВИЧ

**ТВЕРДОФАЗНАЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ В ХИМИЧЕСКИХ
ТЕСТ-МЕТОДАХ АНАЛИЗА**

02. 00. 02 – аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

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

Саратов 2011

Работа выполнена в ГОУ ВПО «Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых»

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Амелин Василий Григорьевич

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор
Штыков Сергей Николаевич

кандидат химических наук
Неврюева Наталья Владимировна

Ведущая организация: Институт геохимии и аналитической химии имени В.И. Вернадского Российской академии наук

Защита состоится 24 ноября 2011 г. в 16 часов на заседании диссертационного совета Д 212.243.07 по химическим наукам при Саратовском государственном университете имени Н.Г.Чернышевского по адресу: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, корп. I, Институт химии СГУ.

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке имени В.А. Артисевич Саратовского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского.

Автореферат разослан 24 октября 2011 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор химических наук



Т.Ю. Русанова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Преимущество люминесцентных методов анализа в их высокой чувствительности, близкой, в некоторых случаях, к чувствительности методов атомной спектроскопии. Это даёт возможность решать многие проблемы определения малых количеств веществ в различных объектах. В настоящее время наиболее широко изучена и применяется люминесценция веществ в экстрактах из растворов, а люминесценция в твердой фазе практически не изучена. Еще менее изучена флуоресценция на целлюлозных носителях, в том числе и на целлюлозной бумаге. Изучение флуоресценции хелатных комплексов, закрепленных на целлюлозной матрице позволит существенно расширить области применения твердофазной флуоресценции, в частности, применить метод твердофазной флуоресценции в химических тест-методах анализа.

Применение твердофазной флуоресценции как аналитического сигнала при создании тест-систем даст возможность повысить точность и чувствительность тест-определения до уровня инструментальных методов. Установление закономерностей адсорбции на целлюлозную матрицу реагентов и их комплексов с ионами металлов позволит подобрать наилучшее соотношение реагентов для создания тест-систем с наилучшими характеристиками.

В связи с этим возникает необходимость изучения влияния целлюлозной матрицы на химико-аналитические характеристики иммобилизованных на ней флуоресцентных реагентов и их комплексов с ионами металлов, и установления оптимальных условий получения и измерения флуоресценции.

Цель работы состояла в изучении особенностей адсорбции, химико-аналитических свойств флуоресцентных реагентов на целлюлозных матрицах и применении новых тест-форм для экспресс-определения различных элементов методом твердофазной флуоресценции.

Достижение поставленной цели предусматривало решение следующих задач:

- исследование сорбционного поведения реагентов и их комплексов с ионами металлов на целлюлозных матрицах и влияние матрицы на спектрофотометрические характеристики иммобилизованных реагентов;

- исследование возможностей использования твердофазной флуоресценции в качестве аналитического сигнала при создании новых тест-систем;
- исследование возможностей применения цветометрического детектирования интенсивности флуоресценции;
- установление оптимальных условий получения твердофазной флуоресценции;
- разработка методик экспрессного определения различных элементов в объектах окружающей среды с применением тест-систем на основе новых тонкослойных индикаторных матриц с использованием визуального (инструментального) детектирования и визуальной оценки длины флуоресцирующей зоны тест-полос.

Научная новизна.

- Выявлена принципиальная возможность использования твердофазной флуоресценции реагентов и их комплексов с ионами металлов на бумажных носителях в качестве аналитического сигнала в экспресс- и тест-методах анализа.
- Установлены спектрофлуориметрические характеристики морина и люмогаллиона, а также их комплексов с Be(II), Al(III), Ga(III) и Zr(IV) иммобилизованных на целлюлозных матрицах.
- Изучены особенности сорбции морина и люмогаллиона, а также их комплексов с Be(II), Al(III), Ga(III) и Zr(IV) на целлюлозную матрицу и влияние иммобилизации на химико-аналитические свойства флуоресцентных реагентов.
- Предложено использование цветометрического детектирования флуоресценции в динамическом режиме.

Практическая значимость.

Предложены и апробированы в тест-методах анализа тонкослойные целлюлозные индикаторные матрицы с иммобилизованными флуоресцентными реагентами. Разработаны следующие методики:

1. на основе тест-полос из индикаторных целлюлозных матриц, заклеенных в полимерную пленку, для определения по длине окрашенной зоны 0,2 - 200 мг/л алюминия, 0,2 - 100 мг/л циркония, 0,01 - 100 мг/л бериллия, 0,5 - 90 мг/л галлия, 0,4 - 500 мг/л фторид-ионов.
2. на основе целлюлозных индикаторных матриц и динамического концентрирования определяемых компонентов с использованием:
 - визуального детектирования интенсивности флуоресцирующей зоны 0,001 - 1 мг/л алюминия и циркония, 0,000001- 0,1 мг/л бериллия, 0,01 - 1 мг/л галлия.
 - цветометрического детектирования интенсивности флуоресценции на портативном флуориметре 0,0001-1 мг/л алюминия и циркония, 0,000001-0,1 мг/л бериллия, 0,001-1 мг/л галлия.

Методики апробированы на питьевых и природных водах. Продолжительность анализа во всех случаях — 3 – 15 минут, относительное стандартное отклонение не превышает 0,1 при использовании тест-полос, 0,4 при использовании визуального детектирования интенсивности флуоресценции и 0,2 при цветометрическом детектировании.

На защиту выносятся:

- результаты, показывающие возможность использования целлюлозных носителей в качестве тонкослойных матриц с адсорбционно закрепленными флуоресцентными реагентами в химических тест-методах анализа;
- влияние целлюлозной матрицы на спектрофотометрические характеристики иммобилизованных флуоресцентных реагентов;
- различные способы определения концентрации ионов металлов методом твердофазной флуоресценции и разработанные тест-методики анализа природных и питьевых водах.

Личный вклад автора заключался в анализе литературных данных по теме диссертации; проведении экспериментальных исследований сорбционных и

спектрофотометрических характеристик индикаторных матриц; участии в разработке тест-методик; интерпретации и обработке результатов эксперимента.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на Международных конференциях студентов и аспирантов по фундаментальным наукам «Ломоносов - 2009», «Ломоносов - 2010» «Ломоносов - 2011» (Москва, МГУ), на Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы химической науки, практики и образования» (Курск, 2009), на Юбилейной научной конференции, посвященной 80-летию Химического факультета МГУ (Москва, 2009), на Российской молодежной научной конференции «Проблемы теоретической и экспериментальной химии». (Екатеринбург, 2010), на Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» (Краснодар, 2010), на Всероссийской конференции «Химия в современном мире» (Санкт-Петербург, 2011).

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 12 работ: 4 статьи в центральной печати и 8 тезисов докладов.

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 124 страницах, включая введение, 6 глав, выводы, список литературы из 95 наименований. Работа содержит 41 рисунок и 19 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Первая глава представляет собой обзор литературы, в котором рассмотрены общие вопросы, касающиеся фотолюминесцентных переходов молекул и исследования твердофазной флуоресценции. Приведены факторы, влияющие на интенсивность флуоресценции, рассмотрены разработанные методики определения различных веществ методом твердофазной флуоресценции.

Во второй главе приведены сведения об используемом оборудовании и материалах, описаны методики проведения эксперимента.

В качестве флуоресцентных реагентов в работе использовали морин (МР) и люмогаллион (ЛГ). В качестве матриц использовали фильтровальную бумагу марки «черная лента» (ТУ 6-09-1706-82), «красная лента» (ТУ 6-09-1678-86), вискозную и хлопковую ткани.

Для возбуждения флуоресценции при визуальном детектировании использовали бытовые детекторы валют Dors-60 и Dors-50 с УФ – лампами DORS и BLB/T5 4W 220-240V 50 Hz ($\lambda = 380$ нм), в качестве источника излучения в портативном флуориметре использован УФ светодиод L-7113(Kingbright) ($\lambda=380$ нм).

Тест-полосы (рис. 1), изготовленные из индикаторных матриц размером 4×80 мм, заклеивали с помощью ламинатора в пленку для ламинирования при температуре $100 - 150^\circ\text{C}$. Длину флуоресцирующих зон измеряли с помощью миллиметровой линейки по ГОСТ 17435-72.

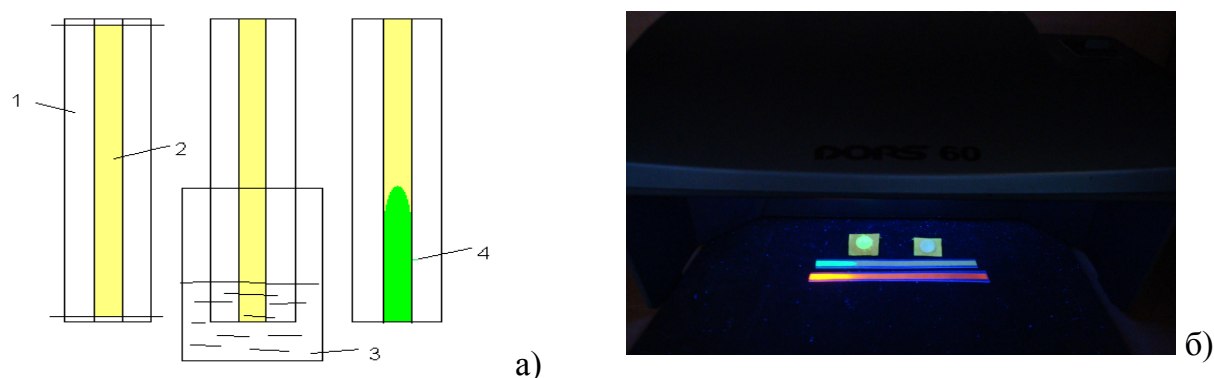


Рис. 1. Способ изготовления тест-полос и определения концентрации с их помощью (а), вид тест полос при облучении УФ светом (б).

1 – полимерная пленка, 2 – индикаторная матрица, 3 – анализируемая жидкость, 4 – флуоресцирующая под действием УФ-света зона.

Использовали тест-устройство, представляющее собой два усеченных конуса, изготовленных из полиэтилена низкого давления и между которыми вставляли индикаторную матрицу. Для пропускания определенного объема исследуемого раствора через тест-устройство использовали шприц инъекционный с резиновой манжеткой.

Для цветометрического детектирования использовали разработанный и изготовленный в НПО «Прибор» (г. Москва) анализатор, который позволяет измерять интенсивность флуоресценции, сконцентрированных на индикаторных матрицах определяемых компонентов одновременно в трех областях спектра: красной (R) – 615 нм, зеленой (G) – 540 нм и синей (B) – 465 нм. Схема аналитической ячейки прибора показана на рис. 2. Схема возбуждения флуоресценции «в линию» позволяет одновременно проводить концентрирование компонентов и

измерять флуоресценцию матрицы и позволяет наглядно наблюдать за динамикой сорбции.

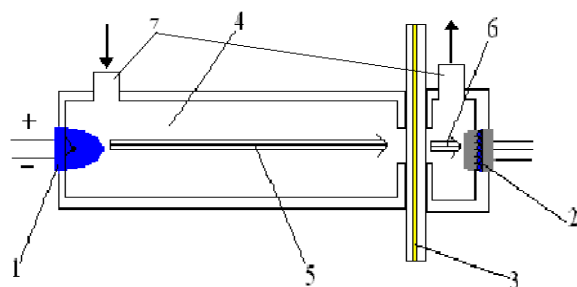


Рис. 2. Аналитическая ячейка. 1- УФ светодиод, 2 - матричный фотодиод, 3 - индикаторная матрица, 4 - емкость для анализируемого раствора, 5 – возбуждающий световой поток, 6 – испускаемый световой поток, 7 – вход и выход анализируемого раствора.

Спектры поглощения индикаторных матриц измеряли на спектрофотометре КФК - 3 относительно матриц, не содержащих иммобилизованного реагента. Спектры флуоресценции матриц измеряли на флуориметре «ПАНОРАМА» («Люмекс») относительно матрицы, не содержащей иммобилизованного реагента.

Методика изучения сорбции реагентов на матрицах. Для изучения адсорбции реагентов на целлюлозной бумаге готовили растворы с содержанием реагентов от 0,01 до 3 мМ. Образцы матриц размером 10 × 70 мм помещали в приготовленные растворы на 24 ч ($t = 18^{\circ}\text{C}$) и затем определяли концентрацию реагента в растворе фотометрическим методом. Значение сорбции Γ (ммоль/г) рассчитывали по формуле:

$$\Gamma = V(c_0 - c)/m,$$

где c_0 и c - концентрации реагентов в растворах до и после выдерживания в них образцов, мМ; V - объем раствора, л; m – масса образца площадью 7 см², г.

Изотермы сорбции представляют собой зависимость сорбции (ммоль/г) реагента от c , мМ этого реагента в растворе при одной и той же экспозиции (24 часа) для всех образцов матрицы при постоянной температуре. По форме изотерм сорбции можно получить информацию о способе взаимодействия реагента с матрицей, о сорбционной емкости матрицы и о характере расположения молекул реагента на участке поверхности матрицы, что очень важно в химических тест-методах анализа.

Динамические кривые сорбции представляют собой зависимость Γ от времени (5 – 720 мин) нахождения образца матрицы в растворе реагента при его постоянной исходной концентрации. Это позволяет определить максимальную величину сорбции реагента на матрице и время наступления равновесия в системе реагент/раствор – реагент/матрица.

В третьей главе приведены результаты исследования сорбционного взаимодействия реагентов и их комплексов с ионами металлов с целлюлозной матрицей.

Динамические кривые сорбции при иммобилизации реагентов представлены на рис. 3.

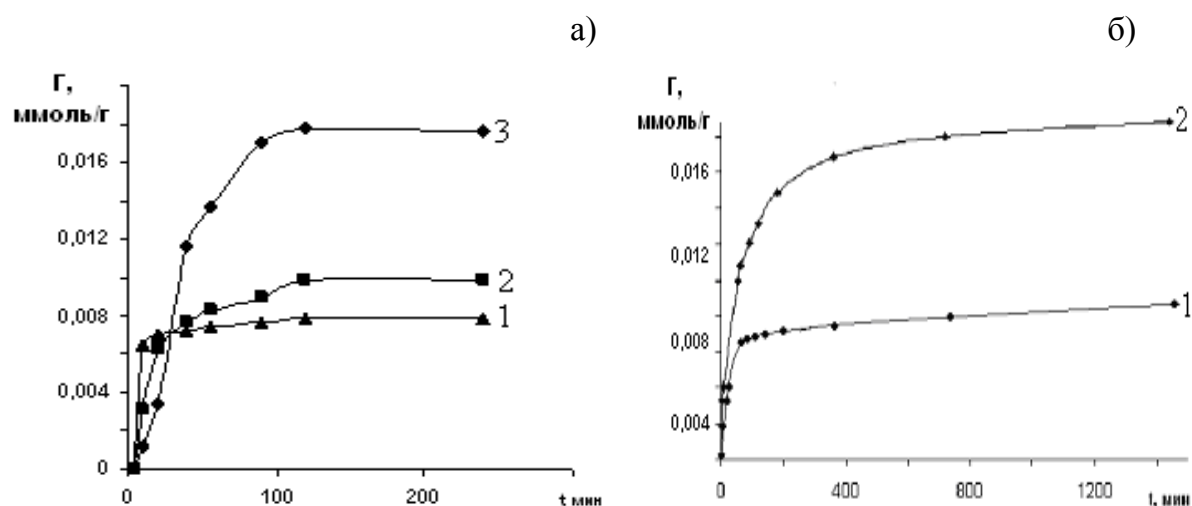


Рис. 3. Динамические кривые адсорбции люмогаллиона (а) и морины (б) на целлюлозной бумаге c , mM: 1,6 (1), 0,32 (2) и 0,16 (3).

Как видно из рисунка, время достижения сорбционного равновесия различно для МР и ЛГ, что связано с наличием разных функциональных групп в их молекулах. Увеличение исходной концентрации ЛГ приводит к увеличению времени достижения равновесия и значительному увеличению сорбции. Это связано, вероятно, с образованием агрегатов реагента в порах матрицы. При адсорбции МР аналогичных эффектов не наблюдалось по причине значительно меньшей способности к образованию агрегатов.

Изотермы сорбции. Адсорбция МР и ЛГ на целлюлозную матрицу имеет нехимическую природу и обусловлена водородными или гидрофобными связями, а также дисперсионными силами и описывается изотермами L – типа (рис. 4). L – тип изотерм свидетельствует о послойном расположении молекул реагентов на поверхности целлюлозной матрицы. Установлено, что при адсорбции морина наблюдаются эффекты аналогичные эффектам наблюдаемым при глубокой заморозке раствора: значительное увеличение интенсивности флуоресценции, что связано с жестким закреплением молекулы реагента на поверхности матрицы. При адсорбции люмогаллиона таких эффектов не наблюдалось в связи с наличием сульфогруппы, вероятно, препятствующей жесткому закреплению.

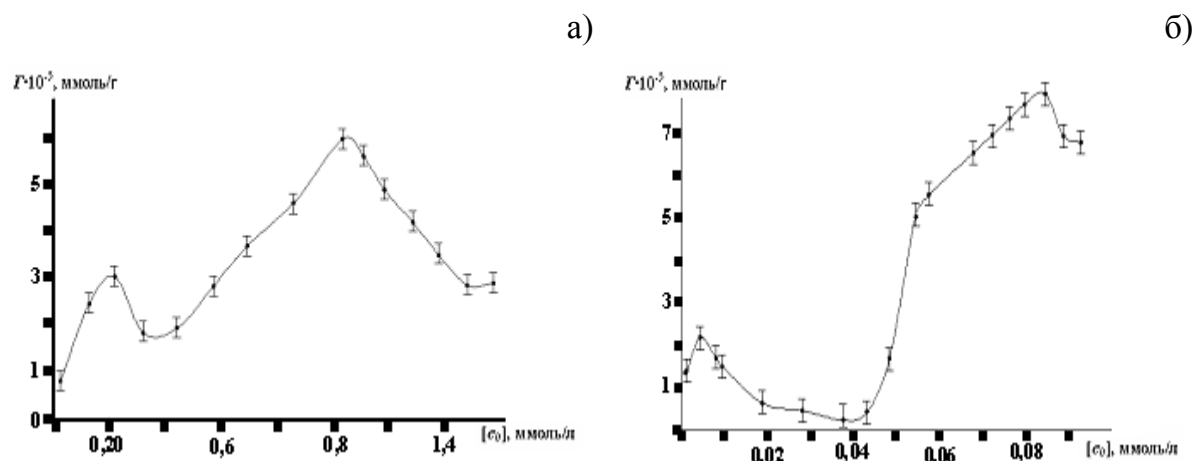


Рис. 4. Изотермы сорбции морина (а) и люмогаллиона (б) на бумаге при pH = 7.

Сорбция комплексов также описывается изотермами L - типа, то есть, характер взаимодействия комплексов с матрицей при сорбции аналогичен сорбции реагентов. Наличие иона металла не оказывает влияния на механизм сорбции, но приводит к увеличению сродства комплекса к матрице.

В четвертой главе приведены результаты исследований оптимальных условий получения твердофазной флуоресценции применительно к тест-методам определения. Представлены математические функции связывающие интенсивность флуоресценции и цветометрические компоненты.

Применение флуоресценции в экспресс-методах анализа накладывает ряд ограничений на применяемые реагенты: **1.** Флуоресценция комплексов должна развиваться в течении короткого промежутка времени. **2.** Флуоресценция должна происходить при комнатной температуре. **3.** Собственная флуоресценция

реагентов, иммобилизованных на матрице должна отсутствовать полностью или быть как можно меньше. 4. При использовании визуального детектирования, максимум флуоресценции должен находиться в видимой области спектра. 5. Флуоресценция должна развиваться в водных растворах комплексов и на матрице без использования органических растворителей.

Среди исследованных нами реагентов флавонового, оксиазосоединений, ксантенового, хинолинового классов и производных нафталина, всем требованиям удовлетворяли реагенты флавонового класса и класса оксиазосоединений. В свою очередь, из вышеперечисленных классов наиболее перспективными оказались морин и люмогаллион.

Установлено, что диапазоны оптимальных значений pH при комплексообразования ионов металлов с морином и люмогаллионом на бумаге смещены в более щелочную область по сравнению с реакциями в растворе. Причиной несовпадения кислотности среды, вероятно, является влияние матрицы на комплексообразующие свойства реагента (табл. 1).

Таблица 1

Оптимальные условия комплексообразования ионов металлов с морином и люмогаллионом в растворе и на целлюлозной матрице

Комплекс	pH		
	Матрица		Раствор
	Тест-полосы	Тест-устройство	
Al-MP	4-5	4,5-5,5	2-2,5
Be-MP	4,5-5,5	5-6	13
Zr-MP	1,4-1,5	4-4,5	1м HCl
Ga-MP	4-5	4-5	2-2,5
Al-ЛГ	4,5-5	4,5-5	4,5
Ga-ЛГ	3-3,5	3-3,5	1,7-4

Влияние скорости пропускания раствора через матрицу на интенсивность флуоресценции. Установлено, что интенсивность флуоресценции прямо

пропорциональна скорости пропускания раствора при использовании матриц как с ЛГ, так и с МР.

Уменьшение интенсивности флуоресценции в обоих случаях связано с увеличением вымывания реагента и комплексного соединения с поверхности матрицы. Установлено, что оптимальный объем пропущенного через матрицу анализируемого раствора при использовании морины составляет 100 мл, а при использовании люмогаллиона – 20 мл.

Влияние влажности матрицы на интенсивность флуоресценции. На интенсивность флуоресценции сорбированных на матрице комплексов значительное влияние оказывает влажность матрицы. Вероятно, это связано с тушением флуоресценции кислородом воздуха, доступ которого при влажном состоянии матрицы значительно больше по сравнению с высушенной. Этим же объясняется и факт уменьшения интенсивности флуоресценции при сушке матрицы в потоке горячего воздуха.

Наиболее сильное влияние оказывает влажность при использовании люмогаллиона: непосредственно после пропускания анализируемого раствора матрица практически не обладает флуоресценцией. Флуоресценция комплексов металлов с морином значительно менее подвержена влиянию влажности, что делает возможным измерения при непосредственном нахождении матрицы в анализируемом растворе, однако визуальное детектирование флуоресценции влажной матрицы невозможно из-за низкой контрастности.

Выбор математической функции для представления результатов цветометрического детектирования интенсивности флуоресценции. При использовании цветометрического детектирования необходимо было подобрать оптимальные математические функции связывающие аналитический сигнал (компоненты R, G и B) с интенсивностью флуоресценции индикаторной матрицы.

Воспроизводимой величиной, характеризующей интенсивность флуоресценции, является отношение (при использовании статического варианта измерения) или разность (при использовании динамического варианта измерения) начального и конечного значения одной из компонент. В данном случае отпадает необходимость в матрице сравнения, что приводит к значительному уменьше-

нию погрешностей определения. В табл. 2 приведен пример значений цветиметрических компонент и их отношений при проведении статического измерения.

Установлено, что наилучшей характеристикой интенсивности флуоресценции при измерении сухой матрицы является отношение компонент I_R/I_G (при использовании люмогаллиона), и I_G/I_R (при использовании морины).

Таблица 2

Экспериментальные данные для построения градуировочного графика, полученные при цветиметрическом детектировании при использовании матриц с флуоресцентными реагентами

Матрица с иммобилизованным люмогаллионом				
Логарифм концентрации алюминия (pAl)	Значение компоненты R (I_R)	Значение компоненты G (I_G)	Значение компоненты В (I_B)	Отношение компонент R и G (I_R/I_G)
Холостая проба	74	61	1298	1,213
3	67	55	1255	1,218
2	62	49	1283	1,257
1	93	68	1473	1,367
Матрица с иммобилизованным морином				
Холостая проба	205	159	2201	1,289
3	185	146	2269	1,267
2	196	153	2291	1,283
1	227	159	1894	1,426

Проведение динамического варианта измерения позволяет наглядно наблюдать за процессом концентрирования определяемого компонента. Пример кривых динамического концентрирования представлен на рис. 5.

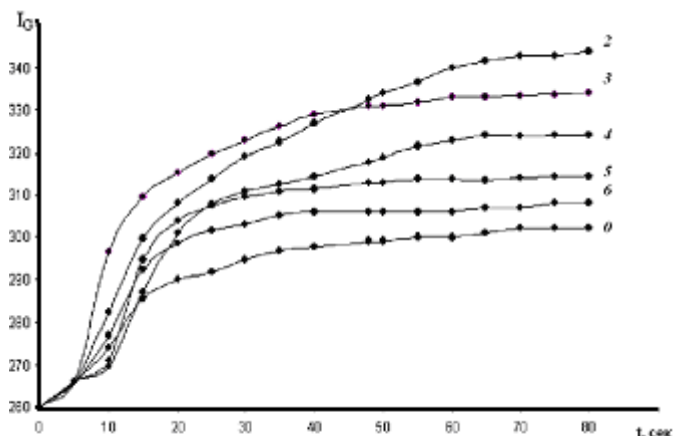


Рис. 5. Зависимость интенсивности флуоресценции (компонента G) от времени пропускания растворов с различным содержанием иона бериллия (цифры на графике соответствуют $\rho_{\text{Be}^{2+}}$, мг/л, 0 – холостая проба)

В этом случае наиболее удобно представлять интенсивность флуоресценции в виде разности конечного и начального значения одной выбранной компоненты: $I_G = (I_{Gк} - I_{Gн})$, при этом также отпадает необходимость использования матрицы сравнения

В пятой главе приведены спектрофотометрические и спектрофлуориметрические характеристики полученных индикаторных матриц

В спектрах реagentных матриц, модифицированных флуоресцентными реагентами наблюдается bathochromic shift максимума светопоглощения (рис. 6). Bathochromic shift наблюдается при облегчении электронных переходов, связанных с взаимодействием π -электронной системы молекул реагентов с гидроксидными группами целлюлозы, что свидетельствует об образовании водородных связей между молекулами реагента и матрицы.

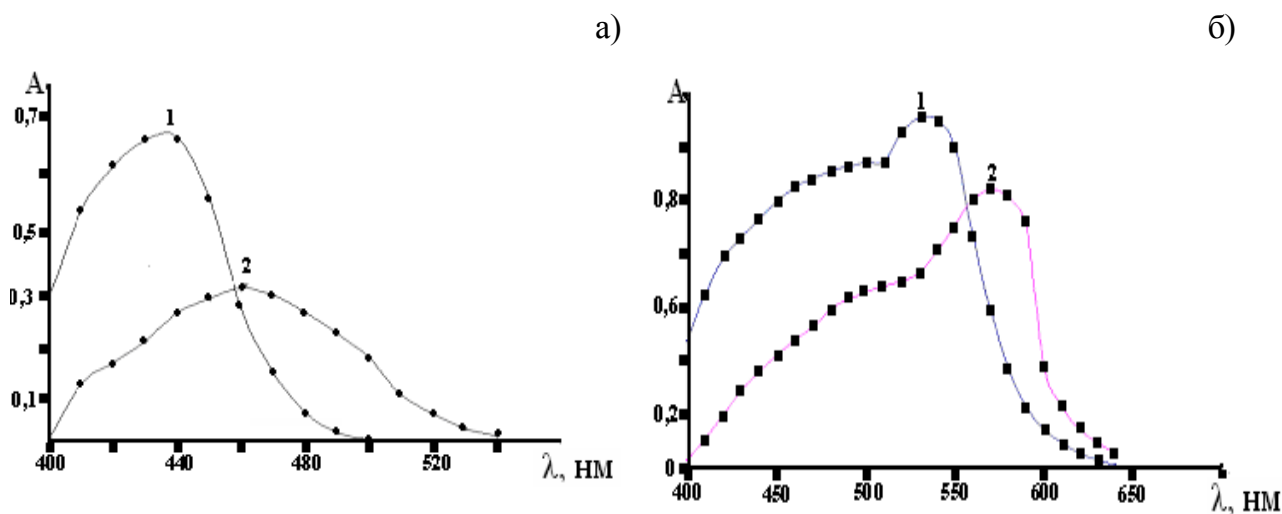


Рис. 6. Спектры поглощения морина (а) и люмогаллиона (б) в растворе (1) и иммобилизованного на матрице (2).

Целлюлозная матрица также оказывает влияние на протолитические свойства реагентов. На рис. 7 приведены спектры поглощения МР в растворе и иммобилизованного на целлюлозной бумаге при различных значениях кислотности растворов.

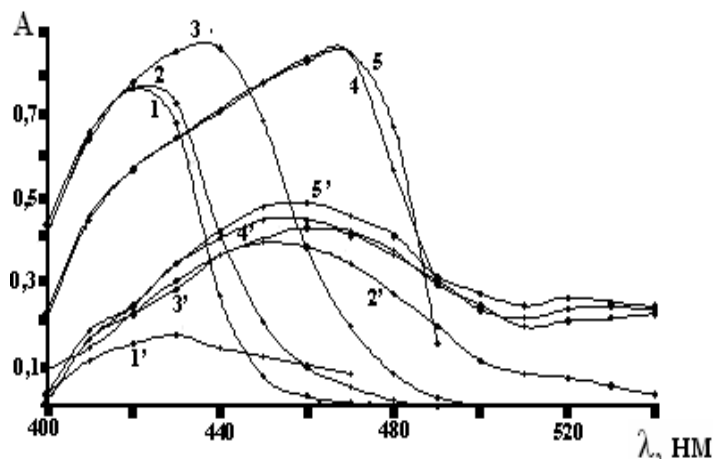


Рис. 7. Спектры поглощения морины в растворе (1'–5') и на целлюлозной матрице (1''–5'') при рН 2 (1), 4 (2), 5 (3), 7 (4) и 9 (5).

В растворе существует протонированная форма реагента с максимумом светопоглощения 425 нм вплоть до рН = 5, на матрице депротонирование происходит уже при рН = 3 ($\lambda_{\text{макс}}$ 460 нм). Таким образом, протолитические свойства пентаоксифлавонов и оксиазосоединений при адсорбции на целлюлозной матрице значительно меняются, позволяя создать оптимальные условия комплексообразования с ионами металлов при более высоком значении рН анализируемого раствора. На рис. 8 приведены спектры флуоресценции комплексов алюминия с МР (а) и ЛГ (б), находящихся в растворе и на целлюлозной матрице.

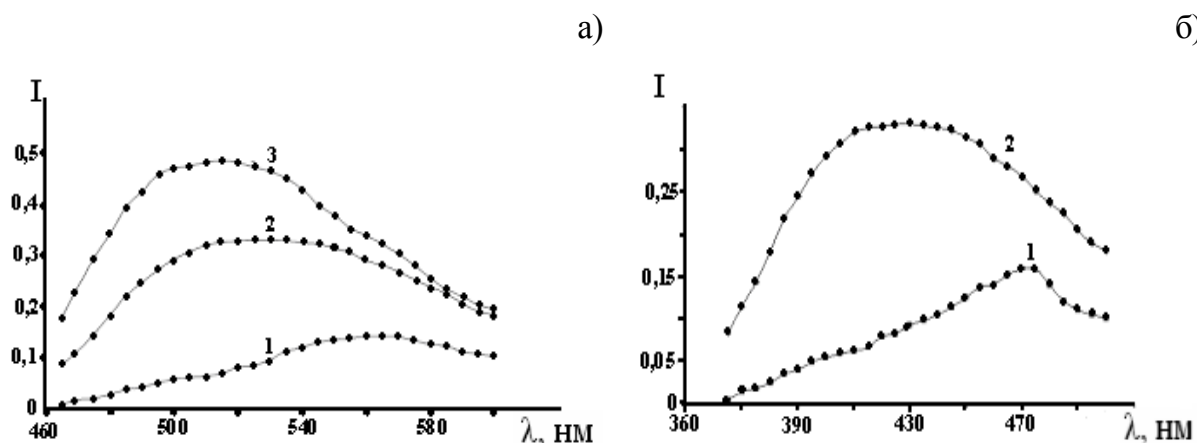


Рис. 8. Спектры флуоресценции комплекса алюминия с морином (а) и люмогаллионом (б) в растворе (1) и на матрице (2, 3).

Максимумы в спектрах флуоресценции комплексов, сорбированных на матрице, наблюдаются значительно раньше чем для комплексов, находящихся в растворе. При этом наблюдается значительное увеличение интенсивности свечения. Из этого можно сделать предположение, что матрица в некоторой степени увеличивает квантовый выход флуоресценции благодаря уменьшению внутримолекулярного тушения, связанного с вращательными переходами молекулы, уменьшению которого, вероятно, способствует параллельная ориентация жесткозакрепленных молекул. Причиной гипсохромного сдвига в спектре флуоресценции, аналогично батохромному в спектре поглощения, является, вероятно, образование водородных связей, оказывающих влияние на π -электронную систему молекулы, при этом затрудняется $\pi \rightarrow \pi^*$ электронный переход.

В шестой главе приведены разработанные тест-методики для определения ионов металлов. Представлены результаты применения этих методик для анализа водных объектов.

Результаты проведенных исследований показали, что целлюлозные тонкослойные матрицы, модифицированные комплексообразующими флуоресцентными реагентами пригодны для использования в химических тест-методах анализа, основанных как на принципах планарной хроматографии, так и на динамическом концентрировании определяемых ингредиентов индикаторной матрицей.

Тест-системы основанные на принципах планарной хроматографии. Использовали тест-полосы с иммобилизованными морином для определения алюминия, бериллия, галлия и циркония, с иммобилизованным люмогаллионом для определения алюминия и галлия и комплексом люмогаллиона с алюминием – для определения фторид ионов.

Концентрацию определяли по длине флуоресцирующей (нефлуоресцирующей) зоны с использованием заранее построенного градуировочного графика, пример которого (определение бериллия с морином) представлен на рис. 9.

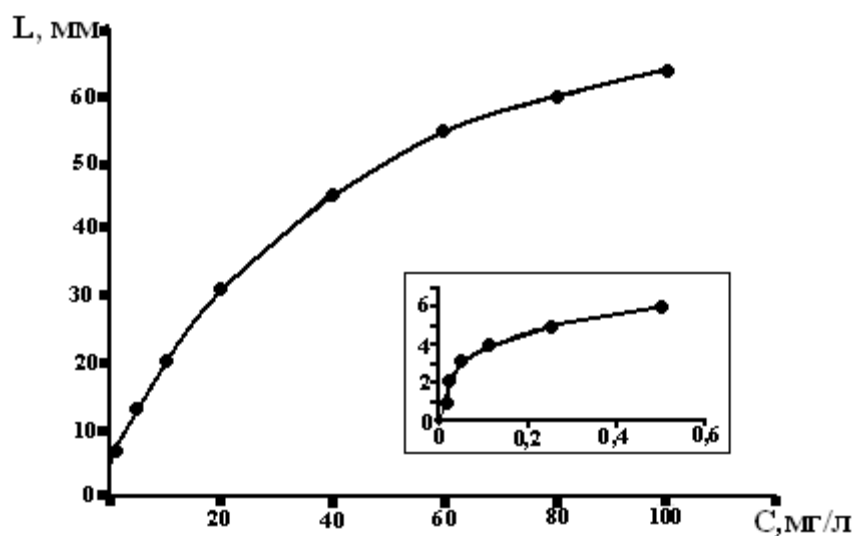


Рис. 9. Градуировочный график для определения бериллия с использованием тест-полос.

Диапазоны определяемых содержаний при использовании тест-полос представлены в табл. 3.

Таблица 3

Диапазоны определяемых содержаний при использовании тест-полос

Определяемый ион	Иммобилизованный реагент	ДОС мг/л	Длина флуоресцирующей зоны, мм
Al(III)	морин	0,2-200	0,5-50
	люмогаллион	0,5-500	1-60
Be(II)	морин	0,01-100	0,1-40
Zr(IV)	морин	0,2-120	0,5-70
Ga(III)	морин	0,5-90	0,5-70
	люмогаллион	0,5-90	1-60
F ⁻	комплекс Al-ЛГ	0,4-1000	1-70

Тест-системы, основанные на визуальной флуориметрии. Определение основано на динамическом концентрировании индикаторной матрицей определяемых компонентов при пропускании через нее анализируемого раствора с последующим визуальным сравнением интенсивности флуоресценции индикаторной матрицы со стандартной шкалой. Диапазоны определяемых содержаний при использовании визуальной флуориметрии представлены в табл. 4.

Таблица 4

**Диапазоны определяемых содержаний при использовании
визуальной флуориметрии**

Определяемый ион	Иммобилизованный реагент	ДОС мкг/л
Al(III)	морин	0,1-1000
	люмогаллион	0,1-1000
Be(II)	морин	0,01-1000
Zr(IV)	морин	0,1-1000
Ga(III)	морин	0,1-1000
	люмогаллион	1-1000

Экспресс анализ с использованием цветометрического детектирования интенсивности флуоресценции. В данном случае принцип использования реагентных матриц аналогичен используемому в визуальной флуориметрии. Но измерение интенсивности флуоресценции осуществляли с использованием портативного флуориметра. Концентрацию определяли по заранее построенным градуировочным графикам (рис. 11). При определении алюминия и бериллия с морином использовали измерение в динамическом режиме, а при определении алюминия и галлия с люмогаллионом – статическое измерение.

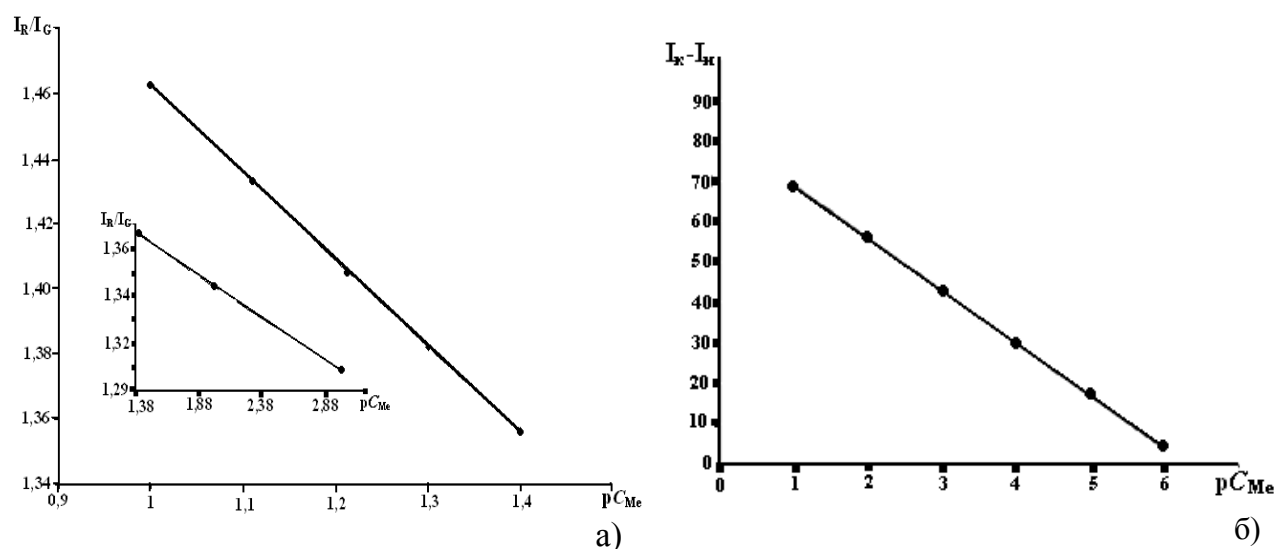


Рис. 11. Градуировочные графики для определения галлия при использовании статического измерения сухой матрицы (а) и динамического измерения в процессе концентрирования (б).

Диапазоны определяемых содержаний при использовании портативного флуориметра представлены в табл. 5.

Таблица 5

**Диапазоны определяемых содержаний при использовании
цветометрического детектирования**

Определяемый ион	Иммобилизованный реагент	ДОС мкг/л
Al(III)	морин	0,01-1000
	люмогаллион	0,01-1000
Be(II)	морин	0,001-1000
Ga(III)	морин	0,01-1000
	люмогаллион	0,1-1000

Разработанные методики с использованием визуальной флуориметрии и цветометрического детектирования были применены для анализа питьевых и природных вод (табл. 6).

Таблица 6

Результаты определения ионов металлов в различных объектах

Определяемый ион	Исследуемый объект	Найдено визуальной флуориметрией, мг/л	s_r	Найдено с использованием цветометрического детектирования, мг/л	s_r
Al(III) (с морином)	Водопроводная вода	$0,05 \pm 0,03$	0,37	$0,055 \pm 0,001$	0,07
Al(III) (с люмогаллионом)	Водопроводная вода	$0,05 \pm 0,02$	0,40	$0,057 \pm 0,001$	0,05
Be(II)	Эссендуки № 17	$0,000010 \pm 0,000005$	0,60	$0,000015 \pm 0,000005$	0,09
Ga(III)* (с морином)	Водопроводная вода	$0,04 \pm 0,02$	0,49	$0,035 \pm 0,001$	0,07
Ga(III)* (с люмогаллином)	Водопроводная вода	$0,05 \pm 0,02$	0,50	$0,032 \pm 0,001$	0,06
Al(III) (с морином)	Эссендуки № 17	$0,02 \pm 0,01$	0,45	$0,017 \pm 0,001$	0,08
Zr(IV)**	Водопроводная вода	$0,07 \pm 0,01$	0,33	—	

* - введено 0,03 мг/л Ga(III), ** - введено 0,1 мг/л Zr(IV).

Методики с использованием тест-полос апробированы на модельных растворах на основе водопроводной воды (табл. 7).

Таблица 7

Результаты определения ионов металлов в модельных растворах

Определяемый ион	Иммобилизованный реагент	Введено, мг/л	Найдено, мг/л	s_r
Al(III)	морин	150	143 ± 9	0,08
Al(III)	люмогаллион	70	70 ± 5	0,13
Be(II)	морин	40	39 ± 3	0,07
Ga(III)	морин	90	80 ± 9	0,1
Ga(III)	люмогаллион	50	53±3	0,1
Zr(IV)	морин	95	90 ± 7	0,08
F ⁻	комплекс Al-ЛГ	50	57±9	0,15

Используемые реагенты не отличаются избирательностью определения. Определяемые элементы мешают определению друг друга в равных количествах, определению также мешают многие элементы находящиеся в природных водах. Применяли маскирующие реагенты (табл. 8), что позволило проводить определение целевых элементов при их совместном присутствии, а также в присутствии 100-кратного избытка железа.

Таблица 8

Маскирующие реагенты

Определяемый элемент	Мешающие элементы	Маскирующие реагенты
Be(II)	Fe(III), Al(III)	ЭДТА, аскорбиновая кислота, хлористый кальций
Al(III)	Fe(III), Be(II)	Аскорбиновая кислота
Ga(III)	Fe(III), Al(III), In(III), Zr(IV)	Буфер pH=3, фторид натрия, аскорбиновая кислота
Zr(IV)	Fe(III), Al(III), In(III), Ga(III)	Буфер pH=3

Продолжительность анализа во всех случаях — 3–15 минут, относительное стандартное отклонение не превышает 0,1 при использовании тест-полос, 0,4 при использовании визуального детектирования интенсивности флуоресценции и 0,2 при цветометрическом детектировании.

ВЫВОДЫ

1. Адсорбция морины и люмогаллиона имеет нехимическую природу и описывается изотермами L-типа. Изотермы L-типа и эффекты (подобные происходящим при глубокой заморозке), происходящие при адсорбции морины свидетельствуют о жестком послойном расположении адсорбированных молекул. Наличие ионодонорной группы в молекуле люмогаллиона препятствует образованию жесткого закрепления, поэтому эффект, аналогичный сорбции морины не наблюдается.

2. Адсорбция комплексов реагентов с ионами металлов происходит аналогично адсорбции реагентов, но при этом наблюдается увеличение сродства комплекса к целлюлозной матрице по сравнению со сродством реагента.

3. Установлено, что адсорбция реагентов и их комплексов с ионами металлов приводит к батохромному сдвигу спектров поглощения и к гипсохромному сдвигу спектров флуоресценции по сравнению со спектрами в водных растворах, что свидетельствует о взаимодействии π -электронов молекул реагентов с целлюлозной матрицей.

4. Установлены оптимальные условия получения твердофазной флуоресценции на целлюлозной матрице. Выявлены критерии предъявляемые к реагентам используемым при создании тест-средств, использующих флуоресценцию в качестве аналитического сигнала. Установлены оптимальные математические функции связывающие интенсивность флуоресценции и цветометрические компоненты при использовании цветометрического детектирования.

5. Разработаны следующие тест-методики:

- на основе измерения длины флуоресцирующей зоны тест-полос: определение 0,2-200 мг/л алюминия, 0,01-100 мг/л бериллия, 0,5-90 мг/л галлия, 0,2-120 мг/л циркония с иммобилизованным морином и 0,5-500 мг/л алюминия и 0,5-90 мг/л галлия с иммобилизованным люмогаллионом, методика определения 0,4-1000 мг/л фторид-ионов на основе измерения длины нефлуоресцирующей зоны тест-полосы с иммобилизованным комплексом алюминия с люмогаллионом.
- на основе динамического концентрирования и визуальной флуориметрии: определение 0,1-1000 мкг/л алюминия, 0,01-1000 мкг/л бериллия, 0,1-1000 мкг/л

галлия, 0,1-1000 мкг/л циркония с иммобилизованным морином и 0,1-1000 мкг/л алюминия и 1-1000 мкг/л галлия с иммобилизованным люмогаллионом.

- на основе динамического концентрирования и цветометрического измерения флуоресценции: определение 0,01-1000 мкг/л алюминия, 0,001-1000 мкг/л бериллия, 0,01-1000 мкг/л галлия, 0,01-1000 мкг/л с иммобилизованным морином и 0,01-1000 мкг/л алюминия и 0,1-1000 мкг/л галлия с иммобилизованным люмогаллионом.

Относительное стандартное отклонение не превышает 0,15 в первом, 0,6 во втором и 0,3 в третьем случае. Продолжительность анализа во всех случаях не превышает 20 минут.

Основные результаты работы изложены в следующих публикациях:

1. Амелин В.Г., **Алешин Н.С.** Твердофазная флуоресценция в химических тест-методах анализа, основанных на принципах планарной хроматографии // Журн. аналит. химии. 2009. Т. 64. № 11. С. 1217-1220.
2. Амелин В.Г., Николаев Ю.Н., Ломоносов И.А., **Алешин Н.С.** Твердофазно-спектрометрический анализ природных вод с одновременной пробоподготовкой и динамическим концентрированием определяемых компонентов на реагентных целлюлозных матрицах. // Журн. аналит. химии. 2010. Т. 65. №. 5. С. 460-469.
3. Амелин В.Г., **Алешин Н.С.**, Абраменкова О.И., Николаев Ю.Н., Ломоносов И.А., Твердофазно-флуориметрическое определение Al(III), Be(II) и Ga(III) с использованием динамического концентрирования на реагентных целлюлозных матрицах // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. №. 8. С. 824-828.
4. Абраменкова О.И., Амелин В.Г., **Алешин Н.С.**, Королев Д.С. Твердофазно-флуориметрическое определение галлия(III) с морином и люмогаллионом, иммобилизованными на целлюлозных матрицах // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. №. 9. С. 829-834.
5. Абраменкова О.И., Амелин В.Г., **Алешин Н.С.**, Королева О.В. Органические реагенты, адсорбционно закрепленные на целлюлозных матрицах, в химических тест-методах определения бериллия, алюминия, селена, теллура, титана и германия // Сборник статей международной научно-практической конференции «Ак-

туальные проблемы химической науки, практики и образования». Часть 1, Курск, 2009.

6. Абраменкова О.И., **Алешин Н.С.** Пентаоксифлавоны и оксиазосоединения, иммобилизованные на целлюлозной бумаге, в тест-методах определения галлия(III) // Материалы XVIII Международной конференции молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов-2010». Москва, МГУ, 2010.

7. Абраменкова О.И., **Алешин Н.С.** Твердофазно-флуориметрическое тест-определение галлия (III) // Тезисы докладов XX Российской молодежной научной конференции «Проблемы теоретической и экспериментальной химии». Екатеринбург, УрГУ, 2010.

8. Амелин В.Г., Чернова О.Б., Третьяков А.В., Колодкин И.С., **Алешин Н.С.**, Королева О.В. Успехи в области разработки химических тест-методов анализа // Материалы юбилейной научной конф., посвященной 80-летию Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Москва, 2009.

9. **Алешин Н.С.** Новые тест-методы химического анализа с использованием твердофазной флуоресценции // Материалы XVIII Международной конференции молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов-2009». Москва, МГУ, 2009.

10. **Алешин Н.С.** Экспресс определение бромидов, йодидов и селена (IV) с флуоресцеином методом твердофазной флуоресценции // Материалы XVIII Международной конференции молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов-2011». Москва, МГУ, 2011.

11. **Алешин Н.С.** Люминесцентные реагенты, адсорбционно закрепленные на целлюлозных матрицах и их применение в экспресс методах анализа // Материалы V всероссийской конференции студентов и аспирантов «Химия в современном мире». Санкт-Петербург, СПбГУ, 2011.