

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**

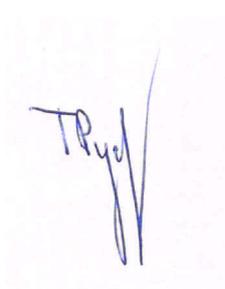
*Ведущая организация:* Институт геохимии и аналитической химии имени В.И. Вернадского Российской академии наук

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

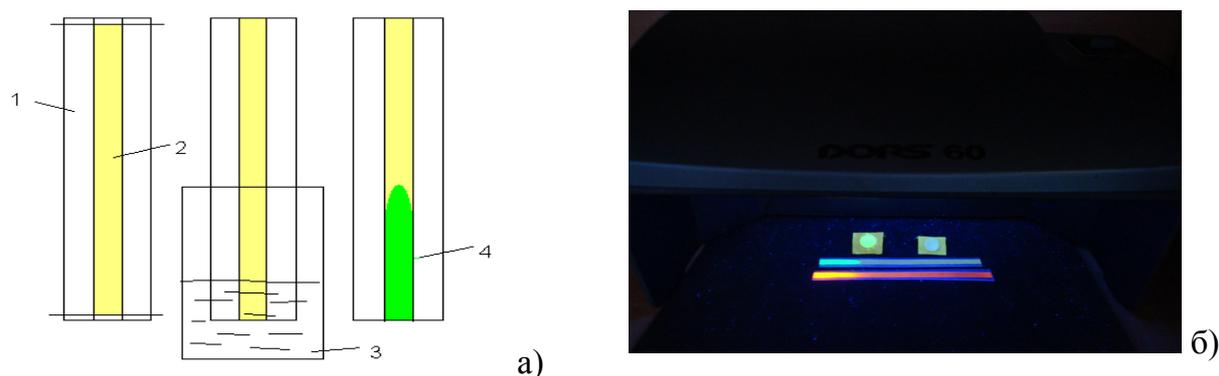
**Первая глава** представляет собой обзор литературы, в котором рассмотрены общие вопросы, касающиеся фотолюминесцентных переходов молекул и исследования твердофазной флуоресценции. Приведены факторы, влияющие на интенсивность флуоресценции, рассмотрены разработанные методики определения различных веществ 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  $4 \times 80$  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.



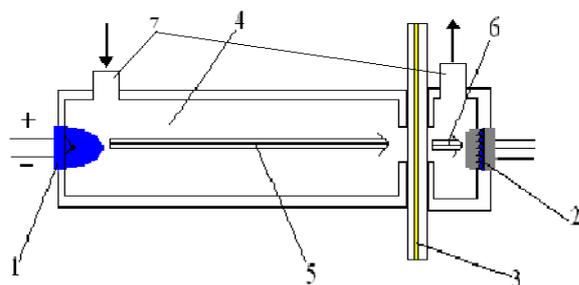
**Рис. 1.** Способ изготовления тест-полос и определения концентрации с их помощью (а), вид тест полос при облучении УФ светом (б).

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  $\Gamma$  (ммоль/г) рассчитывали по формуле:

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

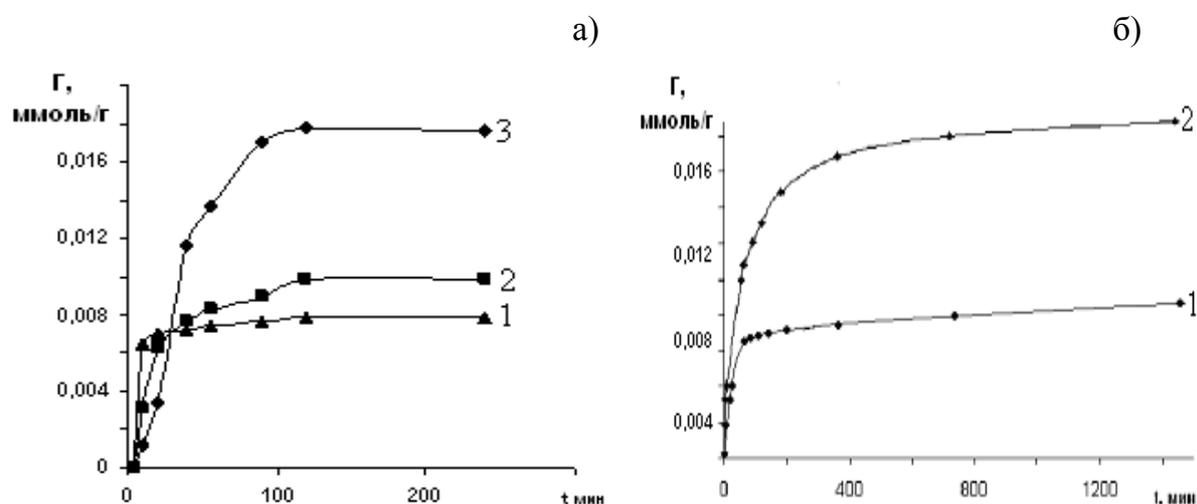
где  $c_0$  и  $c$  - концентрации реагентов в растворах до и после выдерживания в них образцов, мМ;  $V$  - объем раствора, л;  $m$  – масса образца площадью 7 см<sup>2</sup>, г.

**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  $\Gamma$  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.

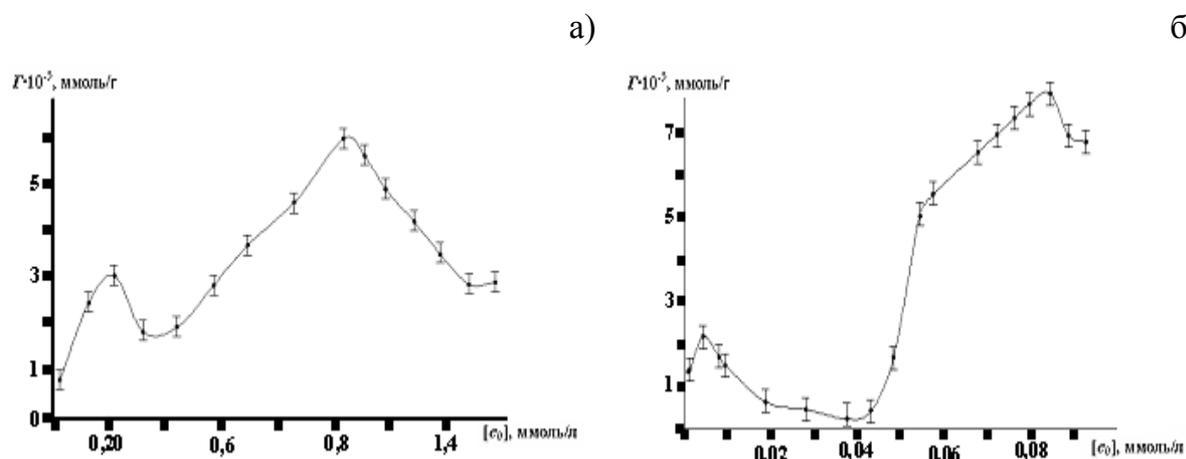
Динамические кривые сорбции при иммобилизации реагентов представлены на рис. 3.



**Рис. 3.** Динамические кривые адсорбции люмогаллиона (а) и морины (б) на целлюлозной бумаге  $c$ , мМ: 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	1M 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.

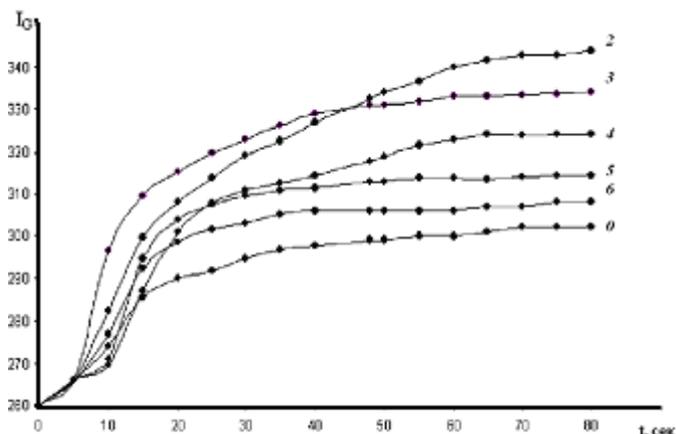
Установлено, что наилучшей характеристикой интенсивности флуоресценции при измерении сухой матрицы является отношение компонент  $I_R/I_G$  (при использовании люмогаллиона), и  $I_G/I_R$  (при использовании морины).

**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.

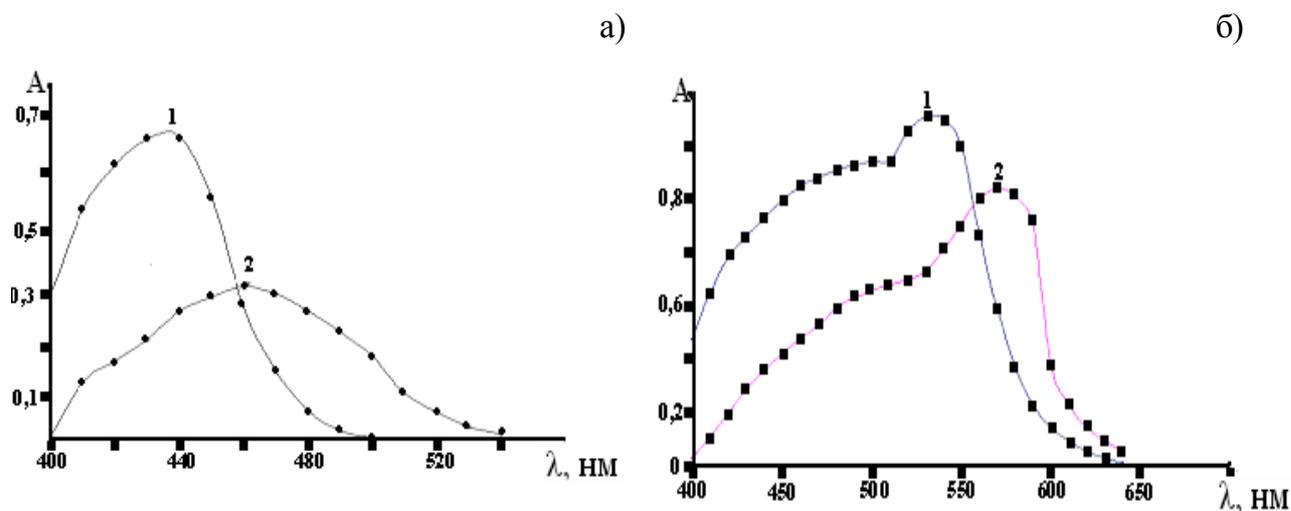


**Рис. 5.** Зависимость интенсивности флуоресценции (компонента G) от времени пропускания растворов с различным содержанием иона бериллия (цифры на графике соответствуют  $\rho_{\text{Be}^{2+}}$ , мг/л, 0 – холостая проба)

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

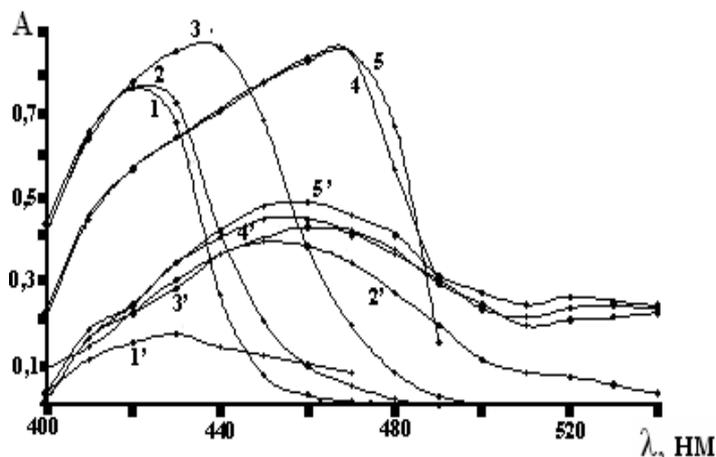
**В пятой главе** приведены спектрофотометрические и спектрофлуориметрические характеристики полученных индикаторных матриц

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



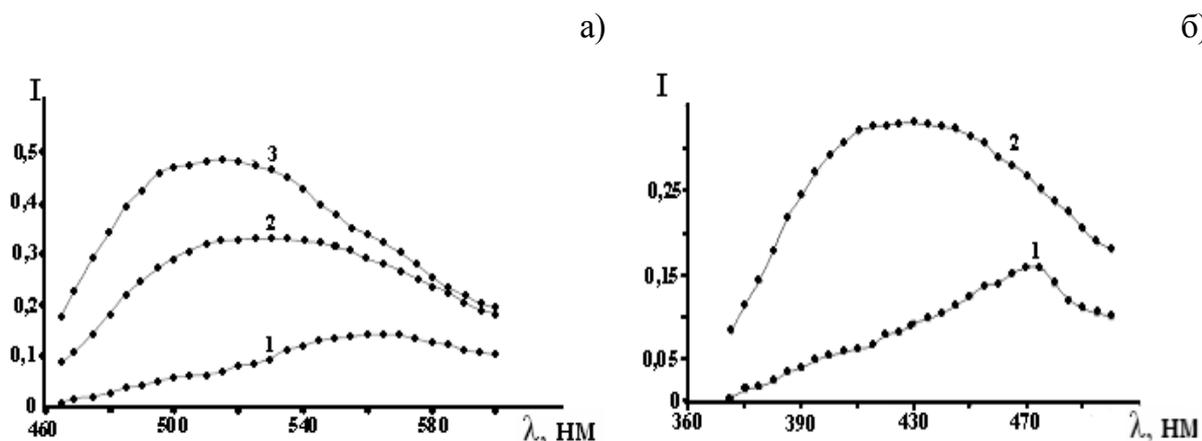
**Рис. 6.** Спектры поглощения морина (а) и люмогаллиона (б) в растворе (1) и иммобилизованного на матрице (2).

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).

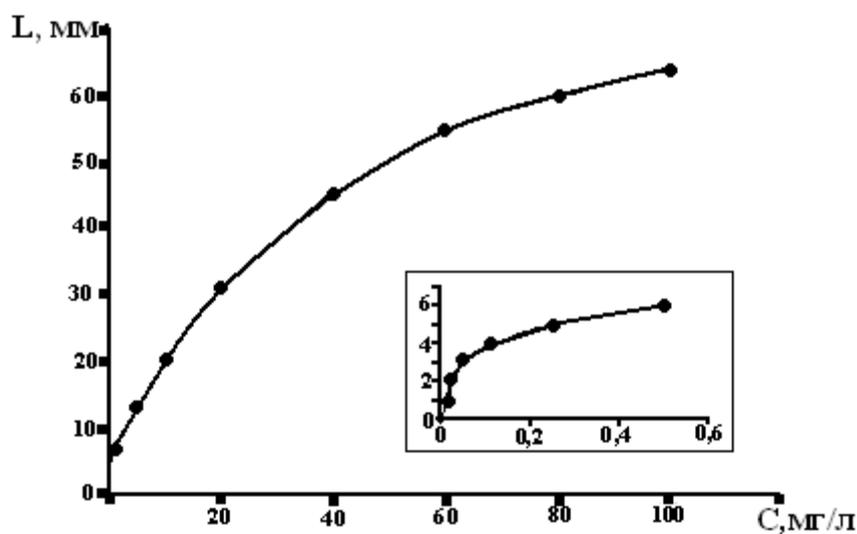
Максимумы в спектрах флуоресценции комплексов, сорбированных на матрице, наблюдаются значительно раньше чем для комплексов, находящихся в растворе. При этом наблюдается значительное увеличение интенсивности свечения. Из этого можно сделать предположение, что матрица в некоторой степени увеличивает квантовый 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  $\pi$ -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 <sup>-</sup>	комплекс Al-ЛГ	0,4-1000	1-70

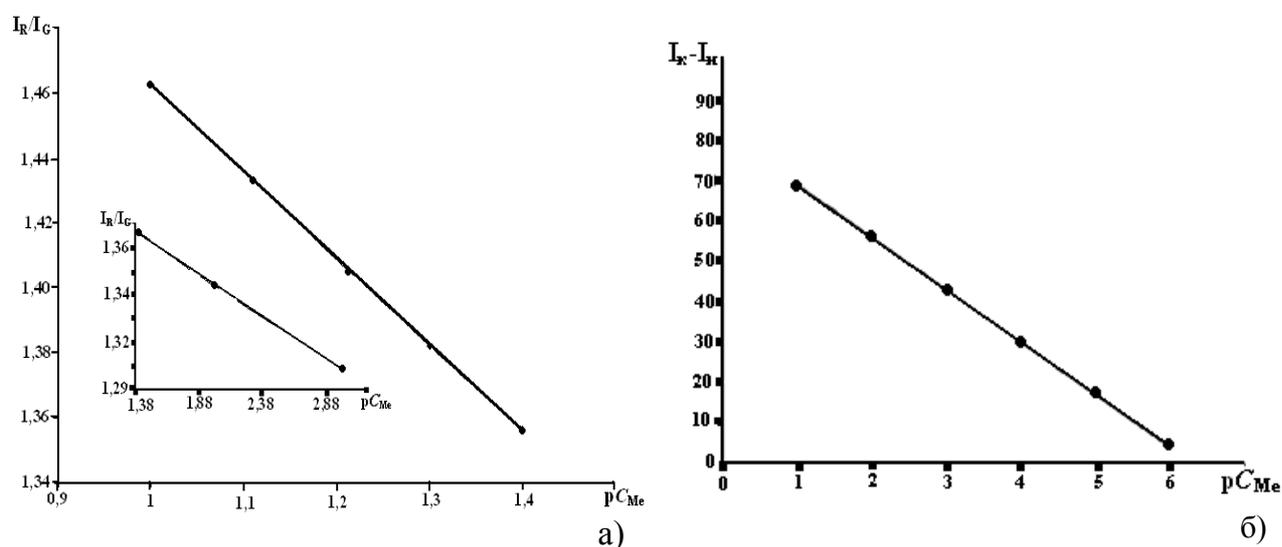
**Тест-системы, основанные на визуальной флуориметрии.** Определение основано на динамическом концентрировании индикаторной матрицей определяемых компонентов при пропускании через нее анализируемого раствора с последующим визуальным сравнением интенсивности флуоресценции индикаторной матрицы со стандартной 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 <sup>-</sup>	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 светопоглощения и к гипсохромному сдвигу спектров флуоресценции по сравнению со спектрами в водных растворах, что свидетельствует о взаимодействии  $\pi$ -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.