

Суханов Алексей Викторович

**ХИМИКО-АНАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
ХИНОНИМИНОВЫХ ИНДИКАТОРОВ, ИММОБИЛИЗОВАННЫХ
В ПОЛИМЕТАКРИЛАТНУЮ МАТРИЦУ**

02.00.02 – аналитическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Томск – 2011

Работа выполнена на кафедре аналитической химии
Томского государственного университета

Научный руководитель: кандидат химических наук, доцент
Гавриленко Наталия Айратовна

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор
Романенко Сергей Владимирович

кандидат химических наук, доцент
Князева Елена Петровна

Ведущая организация: Химический факультет Московского
государственного университета
имени М.В. Ломоносова

Защита состоится 04 мая 2011 г. в 16.30 часов на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 212.269.04 при ГОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» по адресу: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30, ГОУ ВПО НИ ТПУ, 2 корпус, химико-технологический факультет.

С диссертацией можно ознакомиться в Научно-технической библиотеке ГОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» по адресу: ул. Белинского, 53.

Автореферат разослан 01 апреля 2011г.

Ученый секретарь совета,
кандидат химических наук, доцент



Т.М. Гиндуллина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Оптические химические сенсоры, появившиеся чуть более 20 лет назад, уже заняли важное место в промышленном, экологическом и клиническом мониторинге благодаря их низкой стоимости и универсальности по числу идентифицируемых веществ. Действие большинства оптических химических сенсоров основано на проведении реакций определяемых веществ с оптическим чувствительным элементом, представляющим собой твердый, как правило, неорганический или полимерный носитель с иммобилизованным хромофорным реагентом. В большинстве существующих оптических сенсоров используются реакции комплексообразования между иммобилизованным лигандом и аналитом. Применение окислительно-восстановительных реакций не находит широкого применения по сравнению с комплексообразующими реакциями несмотря на тот факт, что существует множество веществ, обладающих окислительно-восстановительной способностью и представляющих аналитический интерес. В связи с этим перспективны исследования, связанные с изучением влияния иммобилизации на химико-аналитические свойства окислительно-восстановительных индикаторов и возможности их использования для создания оптических сенсоров.

В качестве окислительно-восстановительных реагентов применяются различные классы органических веществ, среди которых следует выделить хинониминовые соединения (индофенолы и производные дифениламина), в частности 2,6-дихлорфенолиндифенол (ДХФ) и вариаминовый синий (ВС). Для этих соединений характерна зависимость окислительно-восстановительного потенциала от pH и низкая стабильность в кислых растворах. Иммобилизация реагентов на твердые носители способствует их стабилизации и расширению возможности применения в анализе.

В качестве носителей для иммобилизации реагентов чаще всего используют полимеры, целлюлозу, силикагели. Наибольший интерес представляют сенсоры на основе оптически прозрачных полимеров, так как последние обеспечивают возможность спектрофотометрического измерения оптического сигнала, формирующегося в результате взаимодействия аналита с иммобилизованным в полимер реагентом (чувствительный элемент сенсора). Метод спектрофотометрии и соответствующее оборудование наиболее часто используют в аналитических лабораториях из-за его доступности и простоты эксплуатации. Миниатюрность чувствительного элемента сенсора и современная оптическая и электронная база позволит миниатюризировать спектрофотометрические устройства.

Цель работы. Изучить окислительно-восстановительные превращения и химико-аналитические свойства 2,6-дихлорфенолиндифенола и вариаминового синего, иммобилизованных в прозрачную полиметакрилатную матрицу (ПММ); создать чувствительный оптический элемент сенсора и сопровождающую его методику для определения веществ, обладающих восстановительными свойствами на примере аскорбиновой кислоты.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи.

1. Исследовать взаимодействие и сорбционную способность полиметакрилатной матрицы в отношении ДХФ и ВС при их иммобилизации сорбцией из растворов.

2. Исследовать влияние иммобилизации на спектральные, кислотно-основные и окислительно-восстановительные характеристики ДХФ и ВС.

3. Исследовать взаимодействие аскорбиновой кислоты с окислительно-восстановительным индикатором, иммобилизованным в полиметакрилатную матрицу.

4. На основании проведенных исследований разработать чувствительный оптический элемент сенсора и сопровождающую его методику для определения аскорбиновой кислоты в пищевых продуктах.

Диссертационная работа выполнялась при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (ГК № П990 и ГК № 16.740.11.0334); программы Фонда содействия развитию малых предприятий в научно-технических сфере У.М.Н.И.К. (тема № 11, проект № 12641).

Научная новизна. Впервые исследовано влияние иммобилизации в полиметакрилатную матрицу на химико-аналитические свойства ВС и ДХФ. Установлено, что ДХФ после иммобилизации в ПММ сохраняет химико-аналитические свойства. Впервые определены константа ионизации и формальные окислительно-восстановительные потенциалы ДХФ, иммобилизованного в полиметакрилатную матрицу. Установлено, что ВС утрачивает свои химико-аналитические свойства после иммобилизации в ПММ в результате блокирования =NH-группы, определяющей кислотно-основные и окислительно-восстановительные свойства индикатора в растворе.

Впервые получен прозрачный оптический чувствительный элемент на основе полиметакрилатной матрицы с иммобилизованным ДХФ и предложена методика для определения аскорбиновой кислоты с его использованием.

Практическое значение работы. Разработанный чувствительный оптический элемент на основе полиметакрилатной матрицы с иммобилизованным 2,6-дихлорфенолиндофенолом может применяться для визуального и спектрофотометрического определения аскорбиновой кислоты в различных образцах пищевых продуктов, в том числе и интенсивно окрашенных без предварительной пробоподготовки.

Положения и результаты, выносимые на защиту.

1. Результаты исследования взаимодействия ДХФ и ВС с полиметакрилатной матрицей в зависимости от условий иммобилизации реагентов.

2. Влияние иммобилизации в полиметакрилатную матрицу ДХФ и ВС на их оптические, кислотно-основные и окислительно-восстановительные свойства.

3. Результаты исследования взаимодействия аскорбиновой кислоты с ДХФ, иммобилизованным в полиметакрилатную матрицу.

4. Методика определения аскорбиновой кислоты с использованием оптического чувствительного элемента на основе полиметакрилатной матрицы с иммобилизованным ДХФ.

Личный вклад автора. В диссертационную работу вошли результаты теоретических и экспериментальных исследований выполненных автором. Автором проведены анализ литературных данных по теме диссертации и экспериментальные исследования свойств иммобилизованных реагентов, выявлены оптимальные условия взаимодействия 2,6-дихлорфенолиндофенола с аскорбиновой кислотой в ПММ, разработана методика определения аскорбиновой кислоты.

Автор (совместно со студентами лаборатории) провел апробацию разработанных методик на реальных объектах. Постановка задач и обобщение полученных результатов проводились совместно с научным руководителем.

Диссертант и его научный руководитель благодарят за ценные советы при постановке данного исследования и при обсуждении его результатов д.х.н., профессора Г. М. Мокроусова.

Апробация работы. Основное содержание работы изложено в 9 публикациях. Результаты исследований представлены в докладах на Международном конгрессе по аналитическим наукам "ICAS-2006" (Moscow, 2006), на Общероссийской с международным участием научной конференции, посвященной 75-летию химического факультета Томского государственного университета «Полифункциональные химические материалы и технологии» (Томск, 2007), на X Юбилейной Всероссийской научно-практической конференции студентов и аспирантов «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2009), на III Всероссийской конференции с международным участием «Аналитика России» (Краснодар, 2009), на I Всероссийской конференции «Современные методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции» (Москва, 2009) и на Съезде аналитиков России (Москва, 2010).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 9 работ: 3 статьи, в том числе 2 по списку ВАК и 6 тезисов докладов.

Структура и объем диссертации.

Результаты, полученные в диссертационной работе, изложены на 126 страницах машинописного текста, включая 26 рисунков, 10 таблиц и список цитируемой литературы из 125 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Первая глава посвящена обзору литературы, в котором представлена общая характеристика иммобилизованных окислительно-восстановительных реагентов. Обобщены данные о влиянии иммобилизации на окислительно-восстановительные свойства реагентов и их использовании для определения различных веществ, а также рассмотрены методы исследования их свойств.

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

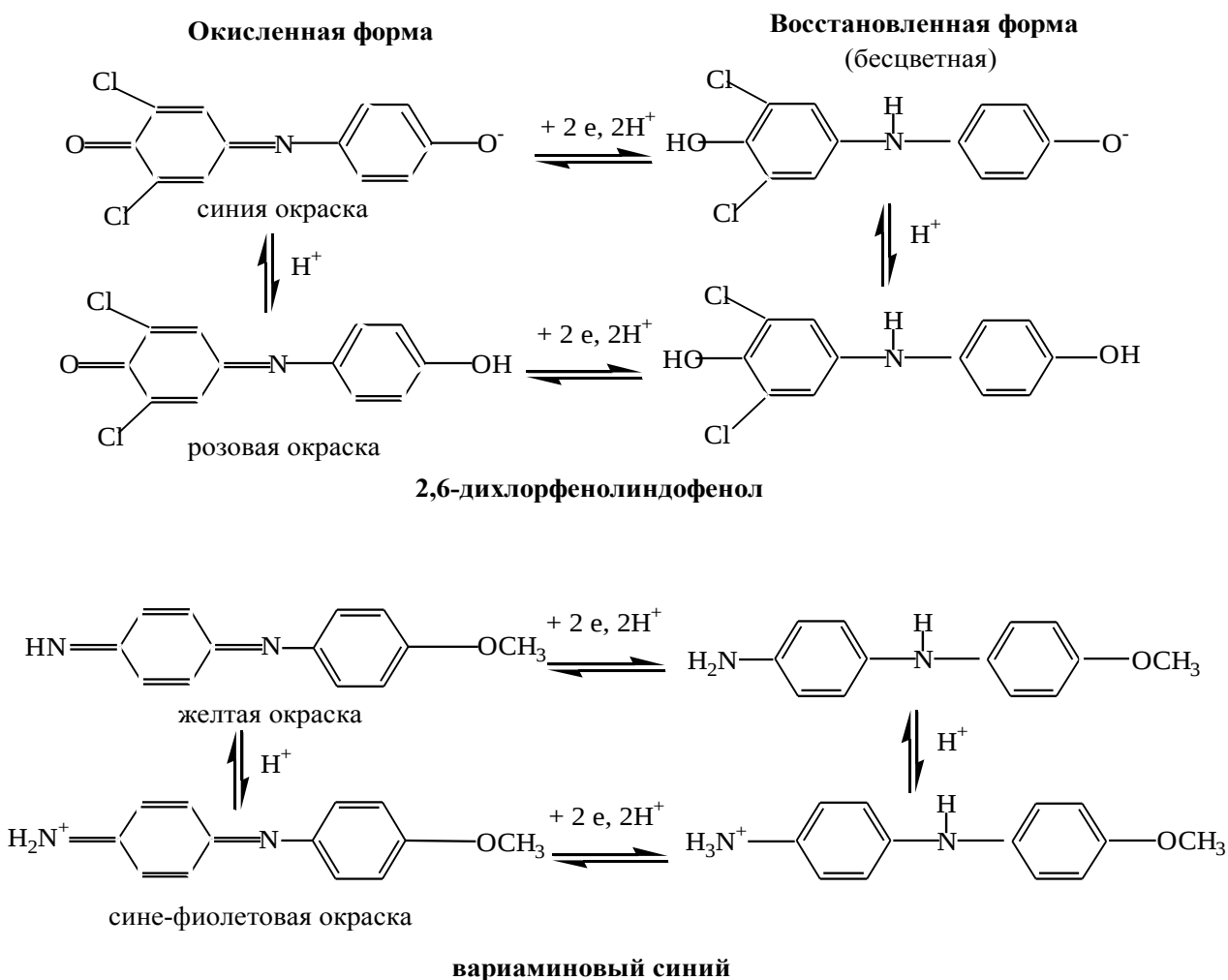
Полиметакрилатную матрицу (ПММ) в виде прозрачной пластины толщиной $(0,60 \pm 0,04)$ мм получали радикальной блочной полимеризацией метакриловых мономеров. Из исходной пластины вырезали пластины размером $6,0 \times 8,0$ мм массой около 0,05 г.

Спектры поглощения и оптическую плотность растворов реагентов и полиметакрилатной матрицы измеряли на спектрофотометрах «Specol 21», «Shimadzu UV mini – 1240», «Evolution 600». Для контроля pH растворов и потенциометрических измерений использовали лабораторный иономер И-160. Перемешивание растворов проводили с использованием универсального вибромеханического смесителя WU-4. Опыты проводили при комнатной температуре без дополнительного термостатирования.

В третьей главе приведены основные результаты исследования химико-аналитических свойств вариаминового синего и 2,6-дихлорфенолиндифенола иммобилизованных в ПММ, полученные при изучении влияния иммобилизации на

кисотно-основные, окислительно-восстановительные и спектральные свойства реагентов.

Схемы кислотно-основного и окислительно-восстановительного равновесия ДХФ и ВС приведены ниже:



Иммобилизация 2,6-дихлорфенолиндофенола и вариаминового синего в полиметакрилатную матрицу.

Иммобилизацию ДХФ и ВС в полиметакрилатную матрицу проводили сорбцией из водного раствора в статическом режиме.

На рис. 1 приведены спектры ДХФ в растворе при различных pH. ДХФ является хорошо изученным окислительно-восстановительным индикатором. Восстановленная форма ДХФ бесцветна, а окисленная форма действует как кислотно-основной индикатор, окрашенный в красно-розовый цвет в кислом растворе (молекулярная форма, HR, $\lambda_{\max} \approx 510$ нм) и в синий цвет в щелочном растворе (ионная форма, R⁻, $\lambda_{\max} \approx 605$ нм). При этом синяя окраска интенсивнее красной, индикатор в кислом растворе в молекулярной форме неустойчив и выпадает в осадок. На рисунке 2 приведены спектры поглощения ДХФ в ПММ после иммобилизации из водных растворов с различным pH. Видно, что реагент в матрице преимущественно находится в молекулярной форме с максимумом поглощения при 530 нм при сорбции из растворов с pH 2 - 3.5 и в ионной форме с максимумом поглощения при 630 нм для растворов с pH 4 - 8. Максимумы поглощения молекулярной и ионной форм ДХИФ, иммобилизованного в ПММ,

смещаются на 20 – 25 нм в длинноволновую область по сравнению с водными растворами (табл. 1).

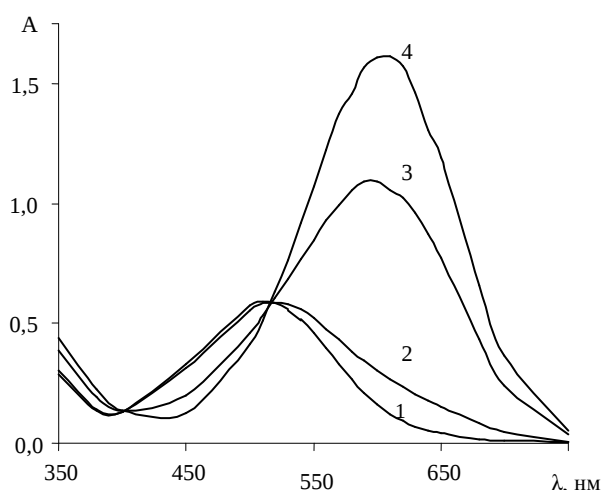


Рис. 1 – Спектры поглощения ДХФ в растворе при различном рН 4,0 (1); 5,0 (2); 6,7 (3); 8,0 (4) ($C_{\text{ДХФ}} = 0,05$ г/л)

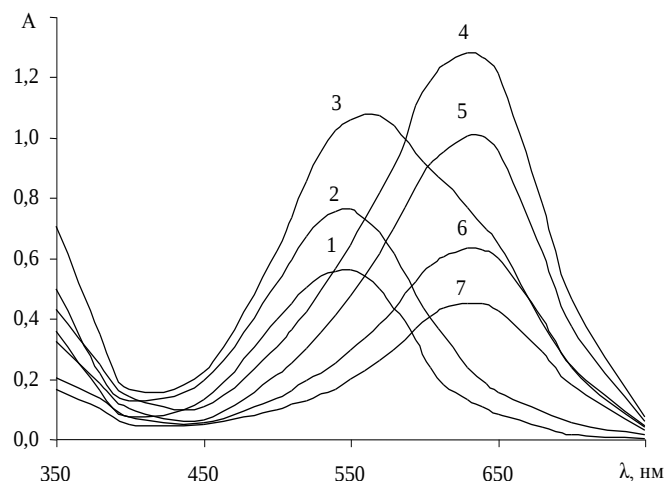


Рис. 2 – Спектры поглощения ДХФ в ПММ после иммобилизации из растворов с рН: 2,0 (1), 2,5 (2), 3,2 (3), 5,0 (4), 6,7 (5), 7,3 (6), 8,0 (7) ($C_{\text{ДХФ}}=0,1$ г/л, $t_{\text{имм}}=5$ мин)

Таблица 1

Значения λ_{max} и pK_a ДХФ в ПММ и водном растворе

среда	λ_{max} , нм		pK_a
	молекулярная форма	ионная форма	
ПММ	530	630	$(6,0 \pm 0,1)^*$
раствор	510	605	5,7**

* – $n=4$, $P=0,95$;

** – Индикаторы. Под ред. Э. Бишоп. М.: Мир, 1976. Т.2. С.62

Наблюдаемый батохромный сдвиг можно объяснить искажением валентных углов при связывании молекул ДХФ с жесткой полимерной матрицей. При этом происходит изменение углов между направлениями связей атомов, что проявляется в искажении формы молекулы без значительного изменения плоскостности молекулы, при котором сопряжение π -электронов существенно не нарушается, так как оси симметрии облаков π -электронов остаются параллельными. Однако, возникающее в молекуле напряжение приближает уровень ее энергии в основном состоянии к уровню возбужденного состояния, снижая тем самым энергию возбуждения, т.е. смещая максимум поглощения в длинноволновую область.

На рис. 3 приведены спектры ВС в растворе при различных рН. Согласно литературным данным окисленная форма ВС в кислых растворах находится в протонированной форме в виде однозарядного катиона (HR^+) и имеет сине-фиолетовую окраску ($\lambda_{\text{max}} \approx 540$ нм), в щелочных растворах желтеет вследствие диссоциации и перехода в молекулярную форму (R) с максимумом поглощения $\lambda_{\text{max}} \approx 450$ нм. Спектры поглощения ВС в ПММ (рис. 4) после иммобилизации из растворов с различным рН характеризуются наличием одного максимума поглощения при $\lambda=490$ нм независимо от рН раствора, из которого проводилась сорбция. Сравнение спектров поглощения ВС в растворе и в ПММ позволяет

предположить, что реагент в полиметакрилатной матрице находится в смешанном виде катионной и молекулярной форм.

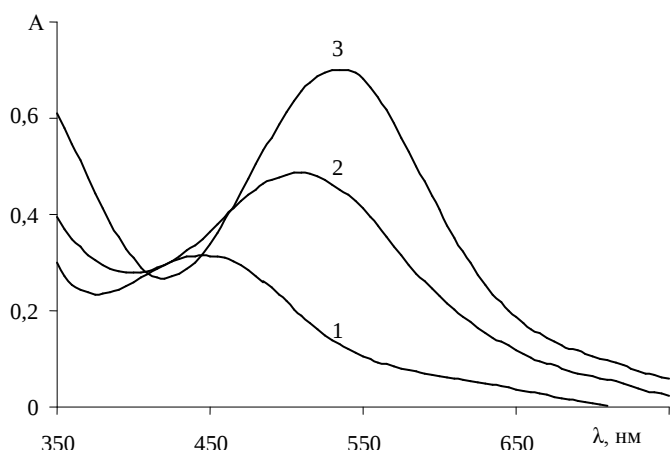


Рис. 3 – Спектры поглощения ВС в растворе при рН 9,3 (1); 6,6 (2); 4,5 (3) ($C_{\text{BC}} = 0,5$ г/л)

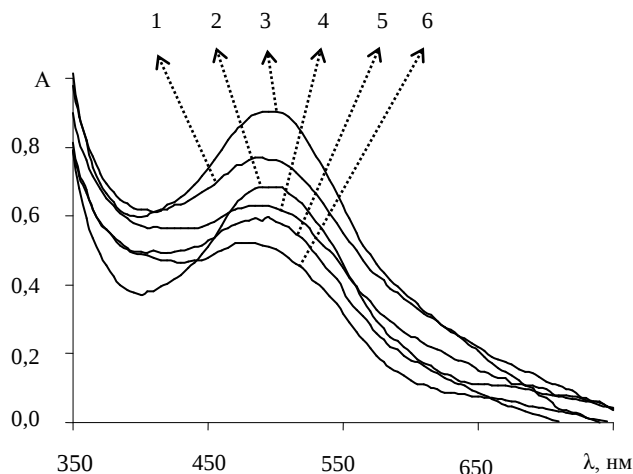


Рис. 4 – Спектры поглощения ВС в ПММ при сорбции из растворов с рН: 3,0 (1); 3,8 (2); 4,5 (3); 6,7 (4); 8,1 (5); 9,3 (6) ($C_{\text{BC}}=0,1$ г/л, $t_{\text{имм}}=5$ мин)

Исследование кислотно-основных свойств окислительно-восстановительных индикаторов, иммобилизованных в полиметакрилатную матрицу

Для количественной оценки влияния полимерной матрицы на кислотно-основные свойства индикаторов были определены значения кажущейся константы ионизации иммобилизованных индикаторов (pK_a).

Константу ионизации (pK_a) определяли стандартным спектрофотометрическим методом и рассчитывали по формуле:

$$pK_a = pH + \lg \frac{[HR]}{[R^-]} = pH + \left(\frac{(A_{\text{cm}} - A_{\text{HR}})}{(A_{\text{R}^-} - A_{\text{cm}})} \right), \text{ где } A_{\text{HR}} \text{ и } A_{\text{R}^-} - \text{оптическая}$$

плотность матриц, в условиях, когда реагент полностью находится в молекулярной (HR) и ионной (R^-) формах соответственно, A_{cm} – оптическая плотность матрицы в условиях, когда присутствуют обе формы реагента. Для измерений применяли область длин волн, в которой наблюдается наибольшее различие в величинах A_{HR} , A_{R^-} , A_{cm} .

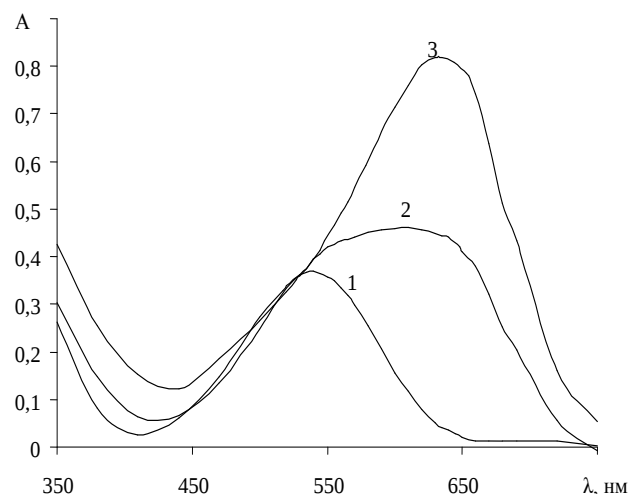


Рис. 5 – Спектры поглощения ПММ, содержащей форму R^- (1), HR (2) и обе формы (3) ДХФ

При исследовании кислотно-основных свойств ДХФ, иммобилизованного в полиметакрилатную матрицу, получены спектры поглощения матрицы с иммобилизованным ДХФ после контакта с растворами при различных рН (рис. 5). Определенная по этим спектрам константа ионизации иммобилизованного индикатора приведена в табл. 1. Уменьшение константы ионизации ДХФ при иммобилизации в полиметакрилатную матрицу свидетельствует о стабилизации молекулярной формы.

При исследовании влияния иммобилизации на кислотно-основные свойства ВС были получены спектры поглощения ПММ с иммобилизованным ВС после контакта с растворами при различных рН (рис. 6). Как видно варьирование рН в диапазоне от 1 до 10 не приводило к изменению вида спектра поглощения реагента, что свидетельствует об утрате способности ВС к кислотно-основному взаимодействию при иммобилизации в ПММ, по-видимому, вследствие блокирования =NH-группы реагента, обуславливающей кислотно-основные свойства ВС. Кроме того, при воздействии кислых сред на ПММ с иммобилизованным ВС наблюдается разрушение реагента в матрице.

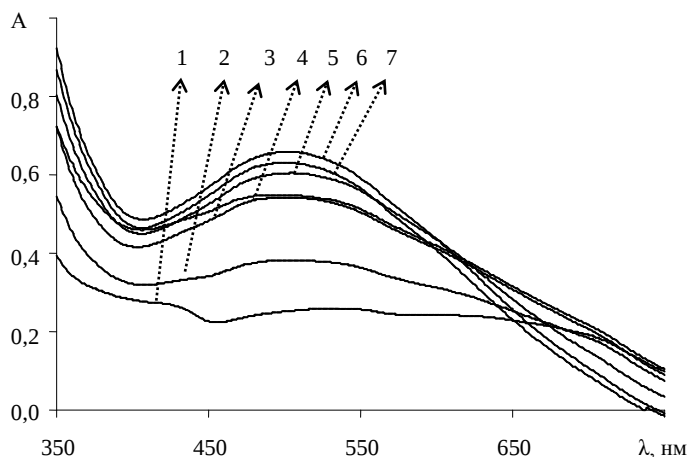


Рис. 6 – Спектры поглощения ВС в ПММ после контакта растворами с разным рН: 1,1 (1); 2,1 (2) 3,0 (3); 4,5 (4); 5,6 (5); 7,0 (6); 8,2 (7)

Также следует отметить, что при исследовании кислотно-основных свойств иммобилизованных реагентов не наблюдали их вымывания из ПММ в раствор независимо от кислотности среды.

Изучение сорбции реагентов полиметакрилатной матрицей

Проведенные исследования показали, что иммобилизация реагентов в ПММ по-разному влияет на оптические и кислотно-основные свойства реагентов. Очевидно, это вызвано различной природой взаимодействия реагентов с полимерной матрицей.

Для получения дополнительной информации о природе взаимодействия ДХФ и ВС с полиметакрилатной матрицей получены изотермы сорбции ДХФ и ВС полиметакрилатной матрицей из водных растворов, представленные на рисунках 7 и 8, соответственно.

Полученная изотерма сорбции ДХФ (рис. 7) может быть отнесена к изотерме С-типа по классификации Гильса. Такого типа изотерма обычно характерна для сорбции на микропористом сорбенте, когда в результате сорбции происходит увеличение поверхности сорбента пропорционально количеству сорбированного вещества, т.е. происходит раскрытие ранее недоступной поверхности, что

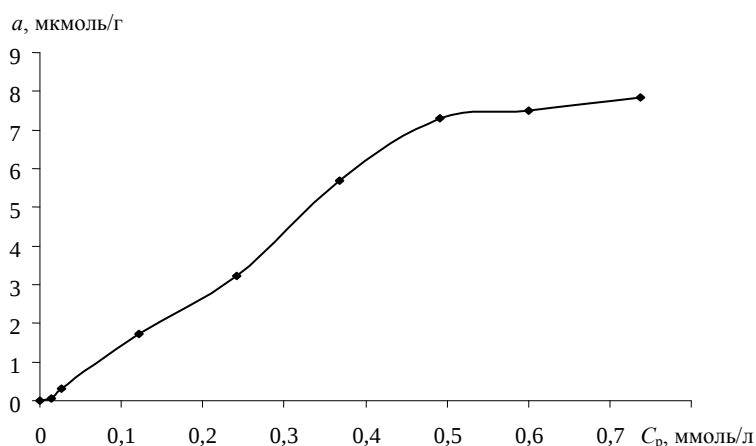


Рис.7 – Изотерма сорбции ДХФ полиметакрилатной матрицей

способствует проникновению реагента из раствора вглубь материала, и при этом легче, чем растворитель. В результате этого набухание ПММ не происходит, что

выгодно, т.к. согласно литературным данным – чем меньше набухание носителя, тем меньше энергетические затраты системы на протекание реакций в твердой фазе. Кроме того, отсутствие набухания ПММ не приводит к искажению величины аналитического сигнала, так как данная система (чувствительный оптический элемент сенсора) используется при спектрофотометрических измерениях, для которых важно постоянство толщины поглощающего слоя.

Полученная изотерма сорбции ВС (рис. 8) может быть отнесена к изотерме S-типа. Такие изотермы характерны для веществ обладающих малым сродством к сорбенту, т.е. силы взаимодействия между сорбированными молекулами больше сил взаимодействия между растворенным веществом и сорбентом. При таком типе сорбции молекулы растворенного вещества стремятся расположиться на поверхности в виде цепей или агрегатов.

Различный характер взаимодействия реагентов с ПММ вызван, вероятно, различием в структуре молекул ДХФ и ВС. Основным отличием является то, что молекула ДХФ имеет два заместителя в виде атомов хлора в орто-положениях бензольного кольца относительно гидроксильной группы, которые, по-видимому, препятствуют межмолекулярному взаимодействию иммобилизованных (сорбированных) молекул. Несмотря на меньшее сродство к сорбенту, характерное для веществ с изотермой S-типа, количество сорбированного ВС выше по сравнению с ДХФ. Данный факт вполне согласуется с принятым в литературе допущением, что красители с плоской конфигурацией молекулы сорбируются в больших количествах, чем краситель, близкий по строению, но с иной конфигурацией молекулы.

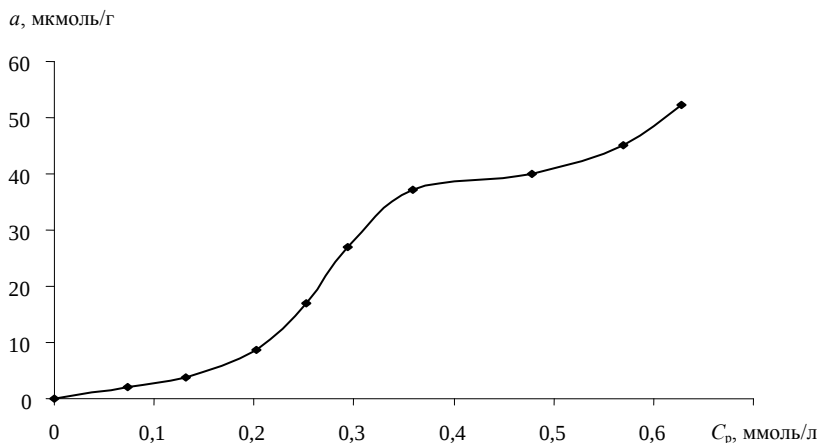


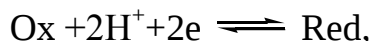
Рис. 8 – Изотерма сорбции ВС полиметакрилатной матрицей

Окислительно-восстановительные свойства реагентов иммобилизованных в полиметакрилатную матрицу

Для количественной характеристики влияния иммобилизации на окислительно-восстановительные свойства реагентов были определены формальные потенциалы реагентов.

Окислительно-восстановительное равновесие реагента в растворе и ПММ исследовано при наблюдении изменения поглощения реагента в соответствии с изменением окислительно-восстановительного потенциала медиатора в растворе, находящегося с ним в контакте. В качестве медиатора выбрана система гексацианоферрата(II)/гексацианоферрата(III).

Реакцию восстановления ДХФ и ВС в общем виде можно записать как



где Ox и Red - окисленные и восстановленные формы реагентов, соответственно.

Согласно уравнению Нернста, при 25 °С потенциал для данной системы будет определяться выражением

$$E(\text{мВ}) = E_0 + \frac{59}{2} \lg \frac{[Ox][H^+]^2}{[Red]}, \quad (1)$$

где E_0 – нормальный потенциал пары окислитель-восстановитель.

Преобразуя уравнение (1)

$$E = E_0 + 59 \lg [H^+] + \frac{59}{2} \lg \frac{[Ox]}{[Red]} \quad (2)$$

получаем

$$E = E_m + \frac{59}{2} \lg \frac{[Ox]}{[Red]}, \quad (3)$$

где $E_m = E_0 - 59\text{pH}$.

E_m – так называемый формальный потенциал, т.е. потенциал реагента в растворе, содержащего в равных концентрациях (необязательно молярных) окислитель и восстановитель, при точно определенных условиях. Значение формального окислительно-восстановительного потенциала при заданном значении pH находили согласно выражению:

$$E_m(\text{мВ}) = E - \frac{59}{2} \cdot \lg \frac{[Ox]}{[Red]}, \quad (4)$$

где $[Ox]$ и $[Red]$ – концентрация окисленной и восстановленной формы реагента в растворе или полиметакрилатной матрице; E – потенциал индикаторного электрода в растворе, измеренный относительно насыщенного хлоридсеребряного электрода, мВ; значение $\lg([Ox]/[Red])$ рассчитывали как $\lg(A_i/(A - A_i))$, где A – исходная оптическая плотность раствора реагента или полиметакрилатной матрицы с иммобилизованным реагентом, A_i – оптическая плотность раствора реагента или полиметакрилатной матрицы с иммобилизованным реагентом после контакта с раствором, содержащим различное соотношение гексацианоферрата(II)/гексацианоферрата(III), выбранного в качестве медиатора.

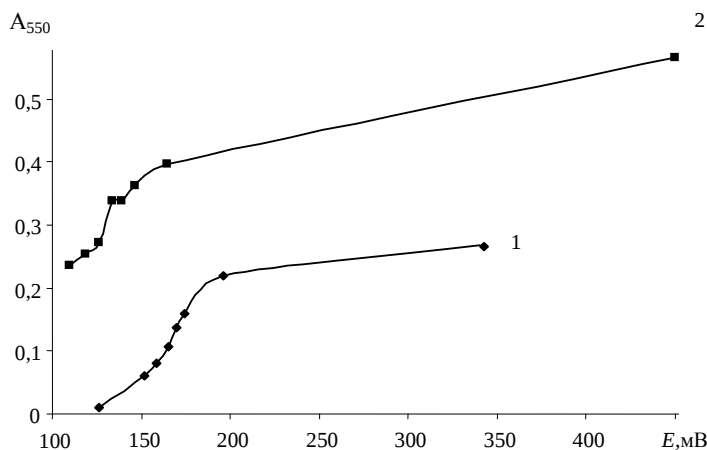


Рис.9 – Зависимость оптической плотности ДХФ в растворе (1) и ПММ (2) от потенциала при pH 5

В ходе исследования окислительно-восстановительных свойств ДХФ исследовано влияние потенциала медиатора в растворе на изменение оптической плотности в максимуме полосы реагента (A_{550}) и степени восстановления реагента (α , %). В качестве примера на рис. 9 и 10 представлено изменение A_{550} и α реагента в растворе и ПММ от потенциала медиатора при pH 5. При уменьшении потенциала начинает преобладать восста-

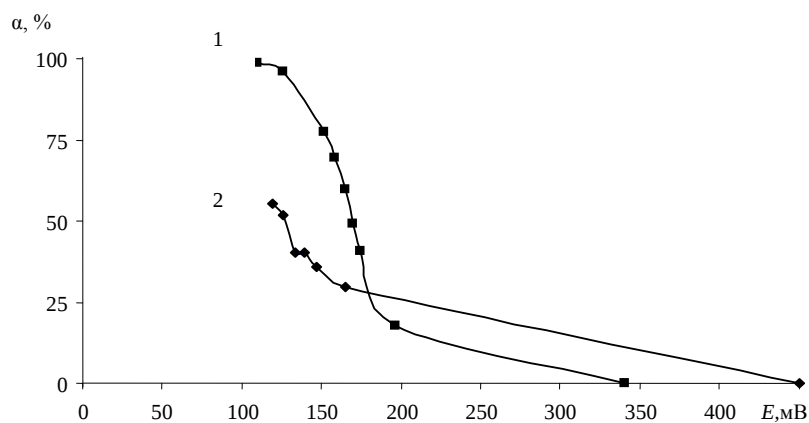


Рис.10 – Зависимость степени восстановления ДХФ в растворе (1) и ПММ (2) от потенциала при pH 5

новленная форма реагента, которая бесцветна и, как следствие этого, происходит уменьшение оптической плотности. При высоких потенциалах реагент находится преимущественно в окисленной форме, которая имеет интенсивную окраску и, как результат этого, происходит увеличение оптической плотности.

Следовательно, представленные на рис. 9 и 10 зависимости подтверждают

наличие связи между соотношением окисленной и восстановленной форм иммобилизованного индикатора от потенциала медиатора в растворе по выражению (4).

В данной работе формальный потенциал ДХФ в растворе измерен при pH 4 – 6, в иммобилизованном состоянии при pH 2 – 6. При pH<4 индикатор в растворе неустойчив, однако, как уже было отмечено выше, устойчивость индикатора в молекулярной форме в ПММ повышается, что позволило измерить формальный потенциал для иммобилизованного ДХФ при pH<4. При pH>6 индикатор полностью не восстанавливается, поскольку потенциал медиатора в растворе не может быть достаточно уменьшен вследствие невозможности приготовления раствора гексацианоферрата(II) большей концентрации. Результаты определения формального потенциала ДХФ в растворе и ПММ представлены в табл. 2 и в виде графической зависимости от pH на рис. 11.

Таблица 2

Формальные окислительно-восстановительные потенциалы (E_m , мВ)

ДХФ в растворе и ПММ

среда	pH				
	2	3	4	5	6
водный раствор	–	–	466±4	394±6	332±10
ПММ	451±21	420±14	385±11	356±10	330±13

Из результатов, приведенных в табл. 2, видно, что окислительная активность иммобилизованного ДХФ снижается по сравнению с его активностью в растворе. Возможно, это обусловлено диффузионными и стерическими ограничениями. При pH 6 формальные потенциалы иммобилизованного ДХФ и в растворе практически совпадают; с уменьшением pH раствора величина снижения формального потенциала иммобилизованного ДХФ по сравнению с потенциалом индикатора в растворе увеличивается. Такой характер изменения окислительно-восстановительного потенциала ДХФ при иммобилизации указывает на менее эффективное связывание при низких pH восстановленной формы индикатора ПММ по сравнению с окисленной формой и уменьшение этого различия с ростом pH.

Представленные на рис. 11 зависимости E_m -pH для ДХФ в растворе и ПММ имеют угол наклона 67 и 30 мВ, соответственно. Согласно литературным данным

уменьшение угла наклона зависимости E_m -рН в растворе ДХФ до 30 мВ теоретически возможно при рН более 11,5 за счет уменьшения количества протонов, участвующих в окислительно-восстановительной реакции. Таким образом, изменение формального потенциала ДХФ в ПММ в зависимости от рН, происходит аналогично изменению формального потенциала ДХФ в растворе при рН более 11,5. Это позволяет предположить, что восстановление ДХФ в ПММ в исследованном диапазоне рН происходит с участием меньшего

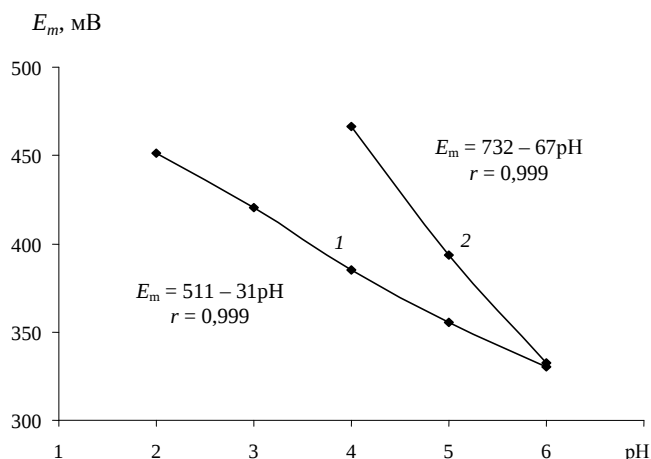


Рис. 11 – Зависимость формального потенциала ДХФ в ПММ (1) и в растворе (2) от рН

количества протонов, чем это требуется для восстановления реагента при соответствующих рН в растворе.

В табл. 3 приведен формальный потенциал ДХФ в растворе и в иммобилизованном состоянии, полученный при экстраполяции экспериментальных зависимостей E_m -рН к рН=0 в данной работе и в работе авторов G. Goodlet и R. Narayanaswamy для ДХФ, иммобилизованного на амберлите XAD-4 (размер гранул 71 – 90 мкм). Как видно из представленных результатов, при иммобилизации реагента происходит снижение его формального потенциала. При этом формальный потенциал ДХФ при иммобилизации на амберлит уменьшается в меньшей степени, чем при иммобилизации в ПММ. Это вызвано, возможно, различной природой носителя, а также тем, что закрепление реагента при иммобилизации на амберлит XAD-4, происходит по поверхности гранул сорбента. В случае иммобилизации ДХФ в ПММ реагент распределен по всему объему матрицы, вследствие этого диффузионные и стерические ограничения оказывают более заметное влияние на окислительно-восстановительные свойства реагента. Однако следует отметить, что использование монолитных образцов при разработке чувствительных элементов оптических сенсоров имеет значительные преимущества по сравнению с зернистыми образцами, вследствие большей механической стабильности и возможности применения в оптоволоконных оптических схемах.

Таблица 3

Формальные окислительно-восстановительные потенциалы ДХФ при рН 0, в растворе (E'_0) и иммобилизованном состоянии ($E'_{0имм}$)

носитель	$E'_{0имм}$, мВ	E'_0 , мВ	Ссылка
ПММ (монолитный образец)	511	732	Данная работа
амберлит XAD-4 (размер гранул 71-90 мкм)	605	733	[*]

[*] Goodlet G., Narayanaswamy R.// *Analitica Chimica Acta*. — 1993 — V. 279. — P.335-340.

В ходе исследования окислительно-восстановительных свойств вариаминного синего были получены зависимости оптической плотности и процента восстановления от потенциала в растворе при различных рН. Как и в случае раствора ДХФ, в растворе ВС наблюдается количественное изменение окисленной и восстановленной форм индикатора от потенциала раствора.

При исследовании окислительно-восстановительных свойств иммобилизованного ВС установлено, что при контакте ПММ с иммобилизованным ВС с раствором медиатора оптическая плотность ПММ остается практически постоянной. Из чего можно сделать вывод, что ВС при иммобилизации в полиметакрилатную матрицу утрачивает способность к окислительно-восстановительному взаимодействию. Как было отмечено выше, иммобилизация ВС в ПММ приводит к блокированию =NH-группы, которая помимо кислотно-основного взаимодействия участвует в окислительно-восстановительных реакциях.

Таким образом, сравнительное изучение оптических, кислотно-основных и окислительно-восстановительных свойств ДХФ и ВС в ПММ и растворе показало, что после иммобилизации в полиметакрилатную матрицу аналитические свойства сохраняет только ДХФ.

В четвертой главе приведены результаты изучения взаимодействия иммобилизованного в полиметакрилатную матрицу ДХФ с аскорбиновой кислотой, а также результаты определения аскорбиновой кислоты в пищевых продуктах с использованием разработанного оптического элемента.

Для установления оптимальных условий определения аскорбиновой кислоты исследовано влияние рН раствора, время контакта с анализируемым раствором аскорбиновой кислоты и содержание реагента в матрице.

В результате проведенных исследований установлено, что наиболее полное восстановление иммобилизованного реагента наблюдается при рН=3 (рис. 12), содержании реагента в матрице 0,30 – 0,35 мг/г (рис. 13) и времени контакта полиметакрилатной матрицы с иммобилизованным ДХФ с раствором аскорбиновой кислоты 15 минут (рис. 14).

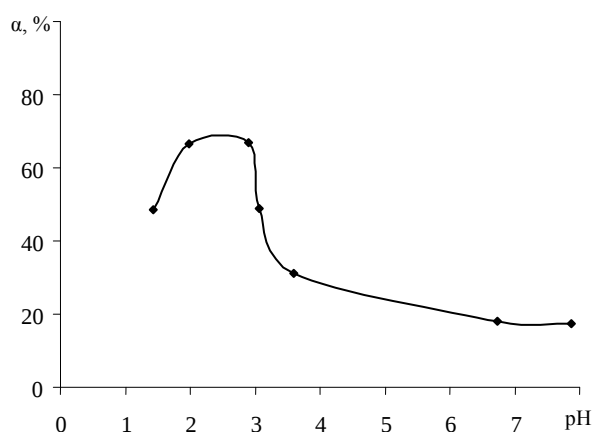


Рис. 12 — Зависимость степени восстановления ДХФ в ПММ аскорбиновой кислотой от рН раствора ($C_{\text{Asc}} = 50 \text{ мг/л}$; $V = 50 \text{ мл}$)

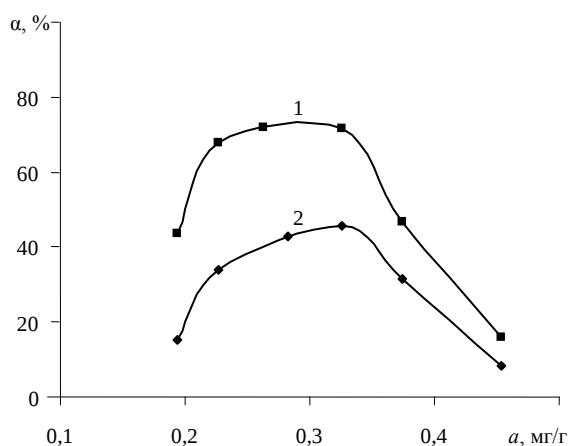


Рис. 13 — Зависимость степени восстановления ДХФ в ПММ аскорбиновой кислотой от содержания реагента в матрице, C_{Asc} : 1) 50; 2) 30 мг/л (рН=3, $t = 15 \text{ мин}$, $V=50 \text{ мл}$.)

На рис. 15 представлены спектры поглощения ДХФ, иммобилизованного в ПММ, после контакта с раствором аскорбиновой кислоты различной концентрации

при выбранных условиях. Как видно интенсивность окраски полиметакрилатной матрицы уменьшается и обесцвечивание сопровождается снижением оптической плотности при 550 нм пропорционально содержанию аскорбиновой кислоты в растворе. Изменение оптической плотности при данной длине волны было выбрано в качестве аналитического сигнала. Изучение мешающего влияния органических (кверцетин, рутин, таннин, галловая кислота, гидрохинон) и неорганических восстановителей (Fe(II), Sn (IV), Mn (II)) показало, что определению аскорбиновой кислоты при соизмеримых концентрациях в большей степени мешают органические восстановители по сравнению с неорганическими.

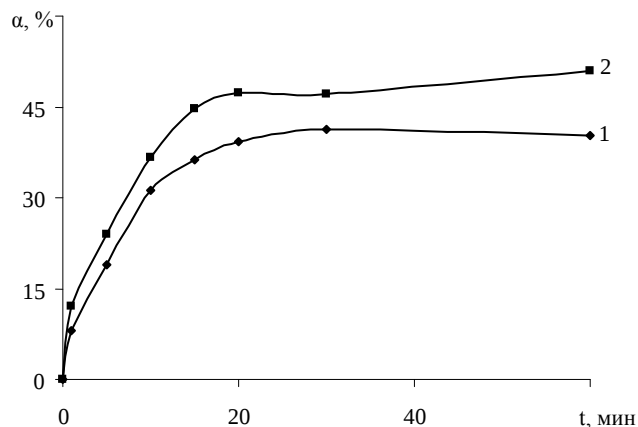


Рис. 14 – Зависимость степени восстановления ДХФ в ПММ от времени контакта с растворами аскорбиновой кислоты: концентрацией 30 (1); 70 (2) мг/л

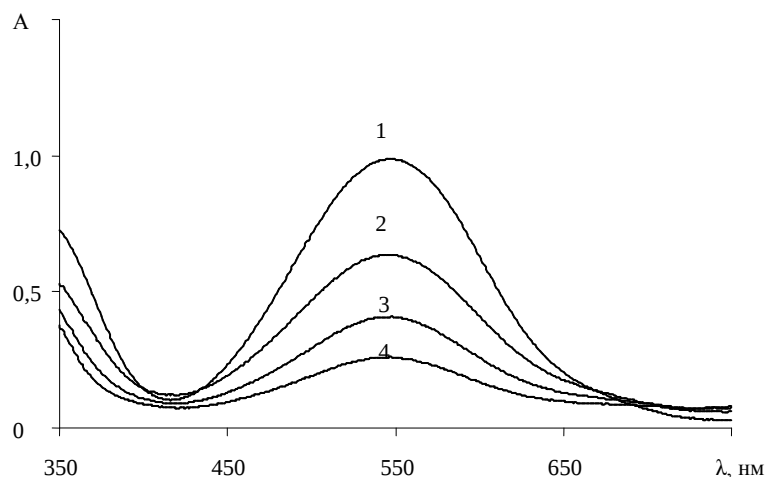


Рис. 15 – Спектры поглощения ДХФ в ПММ после контакта с раствором аскорбиновой кислоты: 0 (1); 50 (2); 70 (3); 100 (4) мг/л ($V=50$ мл, $t=15$ мин, pH 3)

На основании проведенных исследований разработана методика определения аскорбиновой кислоты в пищевых продуктах.

Методика определения.

Аликвоту анализируемого раствора с содержанием аскорбиновой кислоты 0,5 – 5 мг вносили в колбу вместимостью 50 мл, создавали pH 3,0 цитратным буфером и разбавляли водой до метки. В раствор помещали пластинку ПММ с иммобилизованным ДХФ и перемешивали в течение 15 минут. Затем пластинку высушивали между листами фильтровальной бумаги и измеряли оптическую плотность при 550 нм. Содержание аскорбиновой кислоты находили по градуировочному графику (рис. 16). Уравнение градуировочной зависимости имеет вид: $A_{550} = (0,76 \pm 0,06) - (0,0042 \pm 0,0008) \cdot C_{\text{Asc}}$, коэффициент корреляции $r=0,999$.

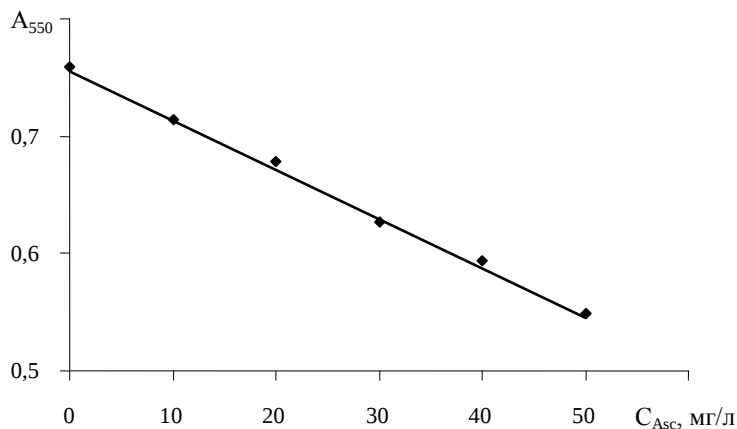


Рис. 16 – Градуировочная зависимость для определения аскорбиновой кислоты ($V=50$ мл, $t=15$ мин, pH 3)

Таблица 5

Экспериментальные данные и метрологические характеристики для оценки правильности методики определения аскорбиновой кислоты в различных объектах ($n=5$, $P=0,95$, $t_{табл}=2,7$)

Объект	средние результаты анализа		добавка, мг/л	значение экспериментально найденной добавки $\bar{x}_d = \bar{x}' - \bar{x}_l$, мг/л	S_1	S_2	Θ	$t_{расч}$	σ_c	
	пробы без добавки $\bar{x}_l$, мг/л	пробы с добавкой $\bar{x}'$, мг/л							мг/л	%
Сыворотка с соком «Актюаль» (апельсин манго)	13,80	22,92	10,00	9,12	0,86	0,70	0,88	1,79	0,50	5,0
Пюре из яблок Фруто-няня	9,23	21,34	13,00	12,10	0,88	0,74	-0,90	1,73	0,52	4,0
Сироп шиповника	11,78	19,26	8,00	7,48	0,82	0,78	-0,52	1,02	0,51	6,4
Сок «Spring» (апельсиновый)	26,14	36,87	10,00	10,73	0,63	0,89	0,73	1,48	0,49	4,9
Сок «Я» (персиковый)	13,93	23,23	10,00	9,30	0,74	0,76	-0,70	1,46	0,48	4,8

Пояснения к таблице:

S_1 - СКО, характеризующее случайный разброс результатов анализа пробы без добавки; S_2 - СКО, характеризующее случайный разброс результатов анализа пробы с добавкой; Θ - оценка математического ожидания систематической погрешности методики анализа; $t_{расч}$ - рассчитанное значение t -критерия; σ_c , % - среднее квадратическое отклонение неисключенной систематической погрешности.

Проверку правильности определения аскорбиновой кислоты в экстрактах проводили с использованием метода сравнения на примере определения аскорбиновой кислоты в экстракте шиповника. В качестве методики сравнения использовали титриметрический метод определения аскорбиновой кислоты. Результаты, полученные предлагаемым методом и по методике сравнения равны $(0,29 \pm 0,08)$ и $(0,29 \pm 0,02)$ мг/100мл и относительное среднее квадратическое отклонение составило 12 и 3 %, соответственно. Сравнения средних значений результатов анализа, полученных по предлагаемой методике и методике сравнения, с использованием критерия Стьюдента, показали статистически незначимую разницу в результатах, полученных по предлагаемой методике и методике сравнения ($t=0,30$; $t_{\text{табл}}=4,60$).

Использование титриметрического метода для окрашенных образцов сока, сиропа шиповника, пюре и сыворотки с добавлением сока представляло трудности, поэтому оценку метрологических характеристик проводили по результатам определения добавок аскорбиновой кислоты в пробах сока, пюре, сиропа шиповника и сыворотки с добавлением сока в соответствии с рекомендациями по межгосударственной стандартизации РМГ 61-2003.

Экспериментальные данные и метрологические характеристики для оценки правильности результатов анализа проб на содержание аскорбиновой кислоты показаны в табл. 5. Результаты определения и показатели прецизионности в условиях повторяемости и внутрилабораторной воспроизводимости приведены в табл. 6.

Таблица 6

Результаты определения аскорбиновой кислоты ($n=3 \div 5$, $P=0,95$)

Объект	$\bar{X}_L$, мг/100г продукта	S_r ,		S_{R_L} ,		Δ_L ,	
		мг/100г продукта	%	мг/100г продукта	%	мг/100г продукта	%
Пюре из яблок Фруто-няня	12,4	0,5	4,4	0,7	5,3	1,3	10
Сыворотка с соком «Актуаль» (апельсин-манго)	17,8	0,4	2,0	0,9	4,9	1,7	9,6
Сироп шиповника	147	5	3	10	7	20	14
Сок «Фруто-няня»	31,6	0,4	1,2	2,2	7,0	4,3	13
Сок «Я» (персиковый)	8,7	0,4	4,2	0,5	5,3	0,9	10
Сок "Да" (апельсиновый)	17,51	0,13	0,8	0,29	1,7	0,56	3,2
Сок "Spring" (апельсиновый)	16,34	0,14	0,9	0,40	2,4	0,78	4,8
Сок «J-7» (апельсиновый)	21,3	0,3	1,2	0,9	4,4	1,8	8,6

Пояснения к таблице:

$\bar{X}_L$ - общее среднее значение результатов анализа, полученных в условиях внутрилабораторной воспроизводимости; S_r - показатель повторяемости; S_{R_L} - показатель прецизионности в условиях внутрилабораторной воспроизводимости; Δ_L - показатель точности.

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о пригодности предлагаемой методики определения аскорбиновой кислоты в пищевых продуктах с относительной погрешностью, не превышающей 14%.

ВЫВОДЫ

1. При исследовании сорбции ДХФ и ВС полиметакрилатной матрицей установлено, что природа взаимодействия реагентов с ПММ зависит от их структуры. Наличие заместителей в *орто*-положениях бензольного кольца относительно гидроксильной группы в молекуле ДХФ препятствует межмолекулярному взаимодействию сорбированных молекул, приводящему к образованию агрегатов в случае сорбции ВС в ПММ.
2. При исследовании взаимодействия ДХФ с полиметакрилатной матрицей при иммобилизации путем сорбции из растворов различной кислотности установлено, что сорбция ДХФ наблюдается в диапазоне pH 2 – 8. Реагент в матрице находится в молекулярной форме при сорбции из растворов с pH 2 – 3,5 и в ионной форме – с pH 4 – 8. Максимумы поглощения молекулярной и ионной форм ДХФ, иммобилизованного в полиметакрилатную матрицу, смещены на 20 – 25 нм bathochromно по сравнению с водными растворами. Определены константа ионизации и формальные окислительно-восстановительные потенциалы ДХФ. Установлено, что при иммобилизации в полиметакрилатную матрицу наблюдается повышение устойчивости молекулярной формы ДХФ и снижение окислительной активности по сравнению с водным раствором.
3. При исследовании взаимодействия ВС с полиметакрилатной матрицей при иммобилизации путем сорбции из растворов различной кислотности установлено, что сорбция ВС наблюдается в диапазоне pH 2 – 9. При изучении влияния иммобилизации на кислотно-основные и окислительно-восстановительные свойства ВС показано, что реагент утрачивает свои химико-аналитические свойства при иммобилизации в ПММ, вероятно в результате блокирования =NH– группы.
4. При исследовании взаимодействия аскорбиновой кислоты с ДХФ в ПММ, установлено, что наиболее полное восстановление иммобилизованного ДХФ наблюдается при контакте ПММ с раствором аскорбиновой кислоты с pH 3 и содержанием реагента в матрице 0,30 – 0,35 мг/г при времени контакта 15 минут.
5. Разработан оптический чувствительный элемент для определения аскорбиновой кислоты в пищевых продуктах на основе реакции окисления–восстановления с ДХФ, иммобилизованным в полиметакрилатную матрицу. Время выполнения определения аскорбиновой кислоты в анализе составляет 15 минут, относительная погрешность не превышает 14%.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Гавриленко Н.А., Суханов А.В., Мохова О.В. Окислительно-восстановительные и кислотнo-основные свойства 2,6-дихлорфенолиндофенола, иммобилизованного в полиметакрилатную матрицу // Журнал аналитической химии. – 2010. – Т. 65, № 1. – С. 20-24.
2. Суханов А.В., Гавриленко Н.А. Твердофазно-спектрофотометрическое определение аскорбиновой кислоты с использованием 2,6-дихлорфенолиндофенола, иммобилизованного в полиметакрилатную матрицу // Известия Томского политехнического университета. – 2010. – Т. 316, № 3. – С. 72-76.
3. Мохова О.В., Суханов А.В., Гавриленко Н.А. Определение аскорбиновой кислоты 2,6-дихлорфенолиндофенолом, иммобилизованным в полиметакрилатную матрицу // Полифункциональные химические материалы и технологии : сборник статей : в 2 т. / под ред. Ю.Г. Слизова. – Томск, 2007. – Т. 2. – С. 268-270.
4. Gavrilenko N.A., Mokhova O.V., Mokrousov G.M., Sukhanov A.V. Analytical properties of 2,6- dichlorphenolindophenol immobilized onto polymethacrylate matrix // International Congress on Analytical Sciences, ICAS – 2006, June 25-30, 2006, Moscow, Russia. – М., 2006. – P. 620.
5. Гавриленко Н.А., Мохова О.В, Суханов А.В. Оптический сенсор на витамин С на основе полиметакрилатной матрицы с иммобилизованным 2,6-дихлорфенолиндофенолом // Тезисы докладов XVIII Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. Москва, 23-28 сентября 2007 г. – М., 2007. – С. 1718.
6. Гавриленко Н.А., Суханов А.В. Аналитические свойства окислительно-восстановительных индикаторов, иммобилизованных в полиметакрилатную матрицу // Аналитика России 2009 : материалы III Всероссийской конференции с международным участием. Краснодар, 27 сентября – 3 октября 2009. – Краснодар, 2009. – С. 171.
7. Суханов А.В., Гавриленко Н.А. Твердофазно-спектрофотометрический метод определения аскорбиновой кислоты в экстрактах лекарственных растений // Современные методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции : тезисы I всероссийской конференции. Москва, 1-4 декабря, 2009 г. – М., 2009. – С. 140-141.
8. Гавриленко Н.А., Саранчина Н.А., Суханов А.В. Оптические элементы на основе полиметакрилатной матрицы // Тезисы Съезда аналитиков России. Москва, 26-30 апреля, 2010. – М., 2010. – С. 75.
9. Суханов А.В. Оптические чувствительные элементы на основе полиметакрилатной матрице // Химия и химическая технология в XXI веке : материалы X Всероссийской научно-практической конференции. – Томск, 2009. – С. 193.

Тираж 100 экз.
Отпечатано в ООО «Позитив-НБ»
634050 г. Томск, пр. Ленина 34а