

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования «Национальный исследовательский Томский  
политехнический университет»**

На правах рукописи

**Остапенко Мария Сергеевна**

**Модифицированные на основе арендиазония углеродсодержащие  
электроды для определения неорганических элементов  
в биологических объектах**

1.4.2 Аналитическая химия

Диссертация на соискание учёной степени  
кандидата химических наук

**Научный руководитель:**

Доктор химических наук, профессор  
Слепченко Галина Борисовна

Томск – 2023

## Содержание

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	10
1.1 Современное состояние методов аналитического контроля неорганических элементов в биологических объектах.....	10
1.2 Электрохимические методы определения неорганических элементов в биологических объектах.....	16
1.3 Использование модифицированных электродов при определении неорганических элементов методом вольтамперометрии.....	17
ГЛАВА 2. АППАРАТУРА И МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА.....	32
2.1 Приборы, электроды, ячейки, посуда.....	32
2.2 Реактивы.....	34
2.3 Приготовление фоновых электролитов и рабочих растворов.....	35
2.4 Методика эксперимента.....	36
2.5 Статистическая обработка результатов .....	37
ГЛАВА 3. ВЫБОР УСЛОВИЙ МОДИФИЦИРОВАНИЯ ПОВЕРХНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ УГЛЕРОДСОДЕРЖАЩИХ ЭЛЕКТРОДОВ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ.....	40
3.1 Выбор заместителя арендиазония тозилата для модифицирования поверхности графитового и стеклоуглеродного электродов.....	40
3.2 Изучение поверхности модифицированных электродов с помощью современных методов исследования.....	49
3.3 Изучение вольтамперометрического поведения и устойчивости наночастиц железа в биологических жидкостях с использованием модифицированного УПЭ.....	54
ГЛАВА 4. ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ НА МОДИФИЦИРОВАННОМ УГЛЕРОДСОДЕРЖАЩЕМ ЭЛЕКТРОДЕ.....	64
4.1 Вольтамперометрическое определение селена на модифицированном ртутью и медью графитовом электроде.....	64

4.2	Определение селена на графитовых электродах, модифицированных солями АДТ с различными заместителями.....	68
4.3	Оценка обратимости процессов электроокисления-восстановления селена на органо-модифицированном электроде.....	71
4.4	Совместное определение ртути и меди в биологических объектах.....	73
4.5	Сравнение предлагаемого электрода с ранее известными модифицированными электродами для одновременного определения $Hg^{2+}$ и $Cu^{2+}$ .....	77
ГЛАВА 5. МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИХ МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ.....		80
ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ.....		93
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....		95
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....		96

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность работы.** Как известно, организм человека состоит из химических элементов, часть из которых является жизненно необходимыми, часть - условно необходимыми и часть - с неустановленной ролью, но достоверно известно, что их повышенное или пониженное содержание в организме человека играет важную роль. Особенно сильно сказывается дисбаланс эссенциальных элементов (жизненноважных – Zn, Se, Mg) с токсичными, что приводит к проблемам со здоровьем и сокращению жизни человека.

Проанализировав опубликованные материалы, можно сделать вывод о том, что количественное определение неорганических элементов в различных биологических объектах на сегодняшний день является актуальным и привлекает большое количество методов исследования: химических, физических биохимических, физико-химических. Значительное место занимают электрохимические методы анализа, которые широко известны в аналитической практике и используются в анализе объектов биологических жидкостей (кровь и ее фракции, моча, слюна, лимфа, спино-мозговая жидкость, слезная жидкость, семенная жидкость и т. д.), а также, окружающей среды и пищевых продуктов. В особенности вольтамперометрические методы, которые обладают рядом достоинств.

Для повышения эффективности ВА-анализа необходимо: повышение чувствительности определения элементов, точности и воспроизводимости измерений, развитие автоматизированного анализа, снижение стоимости электродов, упрощение процедуры регенерации электродов, а также повышение безопасности анализа. Действия, позволяющие достичь данных показателей, приводят к тому, что необходимо создание новых типов электродов.

Интерес к электродам с модифицированной поверхностью возник сравнительно недавно. Вначале основное внимание было сконцентрировано на способах приготовления таких электродов, их свойствах, механизмах переноса электронов, позднее стали изучать и области их применения.

Модифицированные электроды чаще всего представляют собой электропроводящую подложку, на которой закреплены электроактивные соединения такие, как комплексы металлов с органическими лигандами, полимерные комплексы, ферменты и т.п. Наиболее широко используемые подложки – это платина, золото, оксиды, силициды, нитриды металлов и углеродные материалы. Последние обладают рядом уникальных свойств, обеспечивающих применение для практических целей, а именно возможностью синтезировать материал компактной или дисперсной формы с заданной пористостью, составом поверхностных групп.

Недостаток или избыток вышеперечисленных элементов в биологических объектах могут служить источником возникновения и развития различного рода заболеваний, таких как болезнь Кешана (дисбаланс селена), болезнь Минамата (отравление ртутью), болезнь Вильсона-Коновалова (дисбаланс меди) . Данные элементы содержатся в малых количествах, что способствует использованию очень чувствительных методов исследования.

В связи с этим, актуальность работы заключается в том, что разработаны и представлены методики вольтамперометрического определения неорганических элементов в биологических средах на органо-модифицированных электродах, которые не уступают по чувствительности и селективности.

**Цель исследования:** создание новых органо-модифицированных электродов и изучение вольтамперометрического поведения неорганических элементов - Se, Cu и Hg, с целью разработки методик их количественного определения в биологических объектах

Для решения научной проблемы были поставлены следующие **задачи:**

1. Разработать методики модификации поверхности графитовых и стеклоуглеродных электродов арениаэона тозилатами для определения селена, меди и ртути

2. Осуществить выбор рабочих условий вольтамперометрического определения селена, меди и ртути на разработанных органо-модифицированных электродах.

3. Разработать новые и оптимизировать известные способы пробоподготовки биологических объектов (сыворотка крови, волосы) с учетом особенностей определения неорганических элементов методом инверсионной вольтамперометрии

4. Разработать алгоритм и провести метрологическую оценку вольтамперометрических методик анализа сыворотки крови на содержание селена и волос на содержание ртути и меди.

#### **Научная новизна работы:**

1. Созданы новые, с учетом экологической безопасности, органо-модифицированные электроды и изучено распределение модификатора по поверхности органо-модифицированного электрода и его состав современными методами исследования.

2. Впервые ртутно-графитовый электрод с добавками меди был успешно модифицирован арендиазониевыми тозилатами для вольтамперометрического определения селена в более широком диапазоне измеряемых концентраций.

3. Изучены физико-химические закономерности электроокисления селена методом циклической вольтамперометрии на графитовом электроде (ГЭ), модифицированном медью, ртутью и арендиазониевыми тозилатами. Предложен возможный механизм электродной реакции селена на поверхности органо-модифицированного электрода.

4. Установлены основные рабочие параметры совместного вольтамперометрического определения меди и ртути в волосах на модифицированном арендиазониевыми тозилатами золото-графитовом электроде.

#### **Практическая значимость работы:**

Введение в практику аналитического контроля экологически безопасных органо-модифицированных электродов позволяет экспрессно проводить ВА-анализ биологических объектов (сыворотка крови, волосы) на содержание ряда микроэлементов.

С использованием органо- модифицированного угольно-пастового электрода проведена оценка стабильности наночастиц железа с различными покрытиями в желудочном соке, позволяющая оценивать их с достаточной погрешностью.

На основании проведенных исследований предложены алгоритмы методик количественного химического анализа биологических объектов на содержание селена, меди и ртути и могут быть рекомендованы для применения в рамках фармакокинетических исследований, а также для их контроля в фармацевтических препаратах и в биологических объектах (кровь, моча), что и является практической значимостью работы.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Результаты выбора заместителя арендиазония тозилата и условия модифицирования поверхности графитового и стеклоуглеродного электродов при определении неорганических элементов.

2. Исследования поверхности модифицированных углеродсодержащих электродов методами ИК-спектроскопии, оптической, рамановской и атомно-силовой микроскопией.

3. Методика вольтамперометрического определения селена в крови на углеродсодержащем электроде, модифицированного тозилатными солями арендиазония с карбокси-группой.

4. Методика совместного определения меди и ртути в волосах при помощи инверсионной вольтамперометрии на углеродсодержащем электроде, модифицированного тозилатными солями арендиазония с карбокси-группой.

5. Метрологические аспекты вольтамперометрических методик количественного определения селена в сыворотке крови, меди и ртути в волосах.

**Личный вклад автора** заключался в поиске и анализе научных данных по теме диссертационной работы, в постановке целей и задач исследования, проведении научных экспериментов, осуществлена обработка и оценка полученных результатов. Совместно с научным руководителем проводилось планирование экспериментальной и теоретической частей работы, обсуждение

полученных результатов, подготовка материалов для публикаций по теме диссертационной работы.

**Достоверность полученных результатов** обеспечена воспроизводимостью результатов исследований, сопоставимостью с литературными данными, получением согласованных результатов и их оценкой основных метрологических характеристик результатов исследования с помощью методов математической статистики в соответствии с РМГ 61-2010 “Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа”, действующего на территории РФ.

### **Апробация работы**

Основные результаты работы докладывались и обсуждались на следующих международных и российских конференциях: Пятая Республиканская конференция по аналитической химии с международным участием «Аналитика РБ-2017», г.Минск, 19-20 мая 2017 г.; Химия и химическая технология в XXI веке Материалы XVIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени профессора Л.П. Кулёва, г.Томск, 29 мая-01 июня 2017.; Theoretical and experimental chemistry. Abstracts of the VIth International scientific conference, dedicated to EXPO-2017, 15–17 June, Karaganda 2017.; Труды Международной научно-практической конференции «Интеграция науки, образования и производства – основа реализации Плана нации» (Сагиновские чтения №9) Часть 2, 22-23 июня 2017 г., Караганда; Шестая республиканская конференция по аналитической химии с международным участием «Аналитика РБ-2018», г.Минск, 16-19 мая 2018 г.; Международная научно-практическая конференция «Интеграция науки, образования и производства– основа реализации Плана нации» (Сагиновские чтения № 10) часть7, 14-15 июня 2018 г. Караганда; X Международная научно-практическая конференция «Конкурентоспособность нации – основное условие повышения благосостояния народа», посвященная 55-летию юбилею Карагандинского государственного индустриального университета/ Темиртау, 29-30 ноября 2018г.; Международная научно-практической конференции «Актуальные направления развития науки и

образования в области естествознания», посвященная 75-летию со дня рождения доктора химических наук, профессора Джиембаева Б.Ж./ Алматы, 25 ноября 2022г.

**Публикации.** Результаты исследования диссертационной работы опубликованы в 13 работах, в числе которых 2 статьи в журналах, индексируемых базами SCOPUS и Web of Science, 1 статья в научном журнале, входящем в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, 10 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийский (в том числе с международным участием) научных конференций.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа состоит из введения, 5 глав, выводов, списка использованных источников из 132 наименований, изложена на 111 страницах, включает в себя 37 рисунков и 11 таблиц.

\*\*\*

*Автор выражает глубокую признательность своему научному руководителю д.х.н., профессору Галине Борисовне Слепченко за поддержание интереса к теме диссертации, полученные знания, всестороннее содействие и поддержку, ценные советы и наставления, помощь в проведении научных исследований.*

*Автор выражает особую благодарность начальнику центра коллективного пользования «Физико-химические методы анализа» НИ ТПУ, к.х.н. Моисеевой Е.С. за ценные советы и помощь в подготовке метрологической части рукописи.*

*Автор искренне признателен к.х.н., доценту, заведующей кафедрой «Химическая технология и экология» НАО Карагандинский индустриальный университет Кабиевой С.К. за помощь и поддержку на всех этапах работы.*

*Автор выражает искреннюю признательность Кемертелидзе Ш., Нигматулину Е.З. и Джаниашивили М. за ценные советы и поддержку.*

*Автор выражает особую благодарность членам семьи – Чижикову А.Н., Чижиковой Т.А., Лещенко Е.А., Горину В.И. и Гориной Н.А., а также Вахниной Н.Н. за моральную поддержку на всех этапах создания рукописи.*

## ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

### 1.1 Современное состояние методов аналитического контроля неорганических элементов в биологических объектах

Охрана здоровья человека стала приоритетной задачей для большинства стран мира. Следует отметить, что в настоящее время к анализу биологических объектов привлекается большое количество методов исследования: химических, биохимических, физико-химических, физических и т.д. Значительное место занимают электрохимические методы анализа, которые широко известны в аналитической практике и используются в анализе объектов окружающей среды, пищевых продуктов, а также, направления исследований которых в последнее десятилетие сильно ориентировано на анализ биологических жидкостей (кровь и ее фракции, моча, слюна, лимфа, спинно-мозговая жидкость, слезная жидкость, семенная жидкость и т.д.). Электрохимические методы обладают рядом преимуществ, а именно высокой чувствительностью, что обеспечивает определение следов неорганических примесей на требуемом уровне, селективностью, экспрессностью анализа, простотой используемого оборудования, возможностью определения как индивидуальных, так и интегральных параметров.

Организм человека состоит из клеток, которые в свою очередь включают в себя органические и неорганические соединения, выполняющие разные функции. Неорганические химические элементы важны для слаженной работы всего организма, поэтому дефицит или избыток каждого из них может привести к образованию тех или иных болезней.

В человеческом теле насчитывается 81 неорганических элементов. Все они обеспечивают функции жизнедеятельности:

- являются строительным материалом для органов тела;
- образуют соединения с витаминами и гормонами;

- участвуют в обмене веществ, а также в биохимических процессах;
- принимают участие в синтезе ферментов и белков.

Избыток, дефицит или дисбаланс микро- и макроэлементов соответственно обуславливает различного рода болезни, депрессию, усталость. Причинами этого являются – экологические проблемы, негативное влияние окружающей среды, вредная работа, плохой образ жизни, неполноценное питание.

Органические и неорганические соединения могут поступать в организм различными путями: ингаляционно, перорально, парентерально, а также через кожу и слизистые оболочки. Выводятся они чаще всего очень медленно, через почки, печень, слюнные и потовые железы, слизистые оболочки, что сопровождается поражением этих органов. [1-3]

Очень часто многоэлементный анализ используют в медицине при выяснении причин острых и хронических отравлений, а также при лечении профессиональных болезней, связанных с хроническим воздействием неорганических элементов на организм человека в условиях реального производства и экологических особенностей региона. Важнейшими «металлическими ядами» являются соединения бария, висмута, кадмия, марганца, меди, ртути, свинца, серебра, таллия, хрома, цинка и соединения некоторых неметаллов (мышьяка, сурьмы), для которых установлены предельно-допустимые содержания (таблица 1). Общеизвестно, что наиболее опасными элементами для человека, да и вообще для теплокровных животных, являются кадмий, ртуть и свинец (Cd, Hg, Pb). [4]

Таблица 1

Предельно-допустимые концентрации неорганических элементов в биологических жидкостях человека

Элемент	Кровь( мкг/мл)	Моча (мкг/мл)
Cd	0.005	0.04
Pb	0.25	0.08
Bi	0.03	0.02
Mn	0.06	0.07

Элемент	Кровь (мкг/мл)	Моча( мкг/мл)
As	0.2	0.004
Zn	1.2	0.07
Pb	0.01	0.002
Cu	0.9	0.1
Cr	0.004	0.02
Ba	0.08	0.8
Ag	0.1	0.06
Fe	447	0.005 - 0.3
I <sub>2</sub>	0.057	100 - 250
Se	0.171	0.2 - 5
Hg	0.0078	0 - 0.01

Литературный обзор аналитических возможностей физико-химических методов определения неорганических элементов электрохимическими методами был проведен на основании журналов, индексируемых в таких базах, как Scopus, Web of Science, Springer, РИНЦ и др. К таким изданиям относятся: «Journal of Analytical Methods in Chemistry», «ChemElectroChem»; «Russian Journal of Electrochemistry» («Электрохимия»); «Journal of Analytical Chemistry» («Журнала аналитической химии»), «Аналитика и контроль», «Журнала Заводская лаборатория. Диагностика Материалов» и др.

Проанализировав опубликованные материалы, можно сделать вывод о том, что количественное определение неорганических элементов в различных биологических объектах на сегодняшний день является актуальным. Описаны различные физико-химические методы анализа, которые различаются по чувствительности, а также по стоимости, как самого анализа, так и используемого оборудования.

Определение общего содержания неорганических элементов методом МС биологических средах проводят с ионизацией образца в индуктивно-связанной

плазме (ИСП - МС) и в сочетании с генерацией гидридов (ГГ-ИСП-МС) [5-15]. Метод обеспечивает возможность одновременного определения свыше 60 элементов при малых навесках с пределом обнаружения (ПО) на уровне  $10^{-12}$  г/мл., но МС не свободна от влияния матрицы на результат анализа. При таком влиянии коэффициенты относительной чувствительности нестабильны, следовательно, ухудшаются воспроизводимость и правильность определения, а ПО могут повышаться из-за наложения линий сложных и многоатомных ионов матрицы на аналитические линии микроэлементов. Использование стандартных образцов снимает эти ограничения, но эти образцы существуют в ограниченном ассортименте [16].

Способы ААС могут быть рекомендованы как простые и точные для серийных анализов неорганические элементы в различных биологических материалах [17-20]. Метод ААС характеризуется высокой селективностью, воспроизводимостью, низкими ПО ( $10^{-9}$  г/мл), возможностью автоматизации, но применение этого метода часто требует сброса матрицы [16]. Важно отметить, что содержание некоторых неорганических элементов в реальных объектах находится на границе чувствительности метода, что лишает возможности его обнаружения с необходимой точностью. Одним из недостатков метода ААС является сложная и дорогостоящая аппаратура. До недавнего времени, для данного метода использовались приборы зарубежного производства, однако, в настоящее время созданы отечественные аналоги данного оборудования, не уступающее по своим характеристическим свойствам [21, 22]. Этим методом невозможно определять формы ионов, что также является в некоторых случаях недостатком данного метода

В методе АЭС для повышения чувствительности определения элементов в различных объектах использовали различные способы введения гидридов в плазму: вдувание пробы в разряд, ультразвуковое распыление, микроволновое индуцирование плазмы [18-19, 23-25] в сочетании с различными вариантами пробоподготовки. В целом метод АЭС чувствительнее пламенных ААС, но уступает в этом отношении непламенным ААС.

*Флуориметрический* метод анализа (ФЛ) включает следующие стадии: мокрое сжигание образца окислительной смесью (азотной и хлорной кислот) при высокой температуре; восстановление Se(VI) до Se(IV) соляной кислотой при нагревании; образование комплекса селенистой кислоты с 2,3-диаминонафталином (ДАН) в результате которого образуется 4,5-бензпиазселенол, и его экстракцию гексаном. Интенсивность флуоресценции в гексане пропорциональна концентрации селена в пробе. Максимальная скорость реакции наблюдается при pH от 1 до 2. Исследования показали, что образующийся селенодиазоловый комплекс флуоресцирует, при волне возбуждения 364 нм. Данный метод использовали для определения селена в биологических материалах [1, 26-29] после различных способов пробоподготовки. Метод доступен, имеет хороший ПО (0,08 мкг/кг). Но у него есть существенные недостатки: длительность пробоподготовки (мокрое сжигание занимает 16 - 22 ч.), использование органических растворителей и мешающее влияние  $\text{NO}_3^-$  и  $\text{NO}_2^-$ , способствующих разложению реагента и образованию сильно флуоресцирующих продуктов окисления. Тем не менее, метод широко применяется в практике анализа, так как надежен и достаточно селективен.

Одним из наиболее перспективных методов определения неорганических элементов в различных объектах является *рентгенофлуорисценция* (РФА), где анализируемые вещества облучают рентгеновскими лучами и измеряют энергию и интенсивность возникающего вторичного (флуоресцентного) излучения [30]. Его достоинства - возможность проведения определения без разрушения образца, простота подготовки как твердых, так и жидких проб, высокая скорость проведения измерений. Однако при анализе реальных объектов с малыми содержаниями определяемых элементов возникают затруднения, связанные с отсутствием стандартных образцов и понижением чувствительности метода из-за высокого уровня фонового сигнала. Сорбционное концентрирование микроэлементов с последующим анализом концентрата, оптимальный вариант которого – сорбционные фильтры, содержащие активные функциональные группы (например, аминогруппы), является одним из способов пробоподготовки

для РФА биологических жидкостей. Однако наиболее перспективен вариант РФА с применением синхронного излучения с мощностью рентгеновского пучка на уровне  $10^{16} - 10^{22}$  фотон/см<sup>2</sup>, который благодаря линейно поляризованному излучению, обеспечивает наименьший по сравнению с другими источниками фон. К сожалению, этот метод относится к дорогостоящим и малодоступным, но при этом обеспечивает ПО на уровне 1 нг/г.

Методы флуоресцентной спектрометрии (СФ) просты, доступны, обеспечены необходимыми приборами, но в большинстве своем пригодны лишь для одноэлементного или суммарного определения группы элементов, а схемы анализа не всегда отличаются простотой и требуют иногда большого труда. Например, для определения селена в биологических материалах методом СФ, окрашенные соединения получают с использованием 2,4-динитрофенил гидразин гидрохлорида в растворе соляной кислоты или 4-аминорезорсинол гидрохлорида в серной кислоте, которые дают с селеном соединения окрашенные в ярко-розовый и оранжевый цвет с пиками при длине волны 520 нм и 495 нм соответственно. Чаще всего в качестве спектрофотометрических реагентов для определения селена используют о-фенилендиамин, диаминобензидин, реже пиррол и кодеин [31]. В работе [32] показан простой, экспрессный и чувствительный способ кинетического спектрофотометрического определения селена (ПО 50-300 нг/мл), в котором для слежения за ходом реакции предложен доступный краситель – метиловый оранжевый. Возможно определение Se(IV) в варианте проточно-инжекционного анализа (ПИА) с использованием фотометрической индикаторной реакции окисления железа( II) нитрат-ионами. Для нахождения оптимальных условий проведения этой реакции была апробирована одно- и двухканальная система ПИА. Аналитический сигнал детектировали при  $\lambda = 440$  нм и скорости потока 3 мл/мин, обеспечивающей лучшую воспроизводимость результатов и производительность. При использовании двухканальной системы ПО составляет 0,02 мкг/мл Se(IV) без предварительного концентрирования, при использовании одноканальной – 0,001 мкг/мл Se(IV) [33].

## 1.2 Электрохимические методы определения неорганических элементов в биологических объектах

Электрохимические методы анализа основаны на явлениях, происходящих на электродах или в межэлектродном пространстве. В качестве аналитического сигнала в этих методах используют параметры, которые связаны с концентрацией (активностью) или массой определяемого компонента: разность потенциалов электродов, сила тока, количество электричества, электропроводность, омическое сопротивление, ёмкость и др. Современные варианты электрохимических методов анализа характеризуются широким интервалом определяемых содержаний исследуемых компонентов, избирательностью и экспрессностью в сочетании с относительно невысокой стоимостью аппаратуры и простотой выполнения определений. Многие из этих методов легко автоматизируются и компьютеризируются. Они основаны на использовании электрохимических процессов, происходящих в электролитической ячейке. Она представляет собой электрохимическую систему, состоящую из электродов и электролитов, контактирующих между собой. На границе раздела фаз может происходить электродная реакция между компонентами этих фаз, в результате которой электрический заряд переходит из одной фазы в другую, и на межфазной границе устанавливается потенциал. [35-42]

Возможности электрохимических методов при анализе биологических объектов и лекарственных препаратов включают в себя обнаружение тяжелых металлов в пределах от  $0,5 \cdot 10^{-3}$  до  $1,9 \cdot 10^{-9}$  г/мл в крови, моче, слюне, зубах и других биосубстратах, а также в лекарственных препаратах.

Инверсионная вольтамперометрия – современный высокочувствительный и экспрессивный метод определения неорганических, органических веществ, пригодный для анализа биологических, медицинских, фармацевтических и других объектов. Является одним из вариантов электрохимических методов анализа, основанных на предварительном концентрировании определяемого компонента в пробах. Предварительное концентрирование осуществляется за

счет перевода определяемого компонента из большого объема раствора с малой концентрацией на поверхность или в малый объем электрода. Перевод определяемого компонента из раствора на поверхность или в объем электрода может быть осуществлен за счет протекания соответствующей электрохимической реакции или за счет процесса адсорбции.

Существенными преимуществами инверсионных электрохимических методов (ИЭМ) перед другими методами определения следовых количеств являются: возможность определения значительного числа неорганических элементов и органических веществ; возможность одновременного определения нескольких компонентов в широком линейном диапазоне концентраций и определение различных сосуществующих форм элементов; низкие пределы обнаружения, достигающие для некоторых элементов (Hg, Cd, Pb, As) и органических веществ уровня  $10^{-9} - 10^{-10}$  М; высокая селективность ИЭМ и хорошие метрологические характеристики методик на их основе; легкость компьютеризации и автоматизации аналитических определений; относительная простота и сравнительная дешевизна приборов для ИЭМ.

### **1.3 Использование модифицированных электродов при определении неорганических элементов методом вольтамперометрии**

Интерес к электродам с модифицированной поверхностью возник сравнительно недавно. До середины 70-х годов XX века в качестве индикаторных электродов применяли, в основном, электроды, изготовленные из ртутит и углеродных материалов, а также из благородных металлов – золото, платина, серебро. Основным недостатком таких электродов является то, что электрохимические реакции на них зачастую протекают необратимо и с большим перенапряжением. Большинство таких электродов имеют недостаточную коррозионную стойкость и не позволяют определять вещества, имеющие относительно близкие потенциалы окисления/восстановления.[35]

В настоящее время стало очевидным, что модифицирование электродной

поверхности является решением вышеуказанных проблем, так как нанесение химического соединения или полимерной пленки способствуют значительному изменению его способности к вольтамперометрическому отклику, когда перенос электронов протекает с высокой скоростью и с малым перенапряжением. Вначале основное внимание было сконцентрировано на способах приготовления таких электродов, их свойствах, механизмах переноса электронов, позднее стали изучать и области их применения.

Модифицирование электродов, получившее распространение в производстве электрохимических сенсоров, основано на физических методах, включающих выращивание монокристаллических граней, ионную имплантацию, создание монокристаллических структур, разрыхление поверхности, физическую адсорбцию и др. и химических методах. Чаще всего они представляют собой электропроводящую подложку, на которой закреплены электроактивные соединения такие, как комплексы металлов с органическими лигандами, полимерные комплексы, ферменты и т.п. Наиболее широко используемые подложки – это платина, золото, оксиды, силициды, нитриды металлов и углеродные материалы. Последние обладают рядом уникальных свойств, обеспечивающих применение для практических целей, а именно возможностью синтезировать материал компактной или дисперсной формы с заданной пористостью, составом поверхностных групп.

Большое число публикаций как отечественных, так и зарубежных исследователей по данному вопросу можно классифицировать на шесть групп, определяемых типом применяемых углеродсодержащих электродов. К первой группе относятся работы по применению электродов на основе стеклоуглерода, ко второй – угольно-пастовых электродов, к третьей – углеродсодержащих композитных, к четвертой – импрегнированных графитовых, к пятой – screen-printed и толсто пленочных графитсодержащих электродов и к шестой – ультрамикрорелектродов из углеродных материалов и их ансамблей. [35]

Наибольшее число работ относится к электродам на основе стеклоуглерода, однако в последние годы интерес вызывают планарные тонкопленочные и

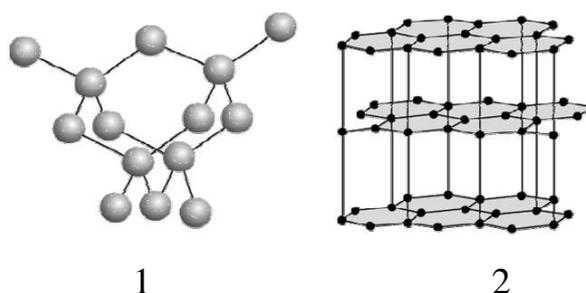
толсто пленочные графитсодержащие электроды, полученные методами трафаретной и струйной печати. В качестве модификаторов стеклоуглеродных электродов служат металлы – золото, кадмий, медь, висмут, органические вещества, биологически активные соединения, полимеры, нанотрубки. Как правило, иммобилизацию водорастворимых компонентов на поверхности электрода проводят в режиме *in situ*, а малорастворимых – в режиме *ex situ*. [35]

С развитием современных технологий и применением новых подходов к синтезу углеродных материалов появилось большое число новых промышленных углеграфитовых материалов. С целью выбора электродного материала для различных вариантов концентрирования в методе ИВ исследованы электрохимические свойства более 30 отечественных и импортных промышленных углеграфитовых материалов, относящихся к группам крупнозернистых (ГМЗ, СК- 2), мелкозернистых (МГ, МГ- П, АРВ- 1, РБМ- К), высокопрочных и малозольных (МПГ- 6, МПГ- 8, МПГ- П), пропитанных смолами (ЭГ- ФФ, МНГ- ФФФ).[36]

С увеличением плотности и уменьшением пористости в ряду крупнозернистых- мелкозернистых- высокопрочных- пропитанных- неграфитируемых материалов уменьшается остаточный ток, увеличивается диапазон рабочей области потенциалов, улучшается воспроизводимость аналитических сигналов различных элементов. Способность к адсорбционному концентрированию, на примере определения хрома (VI) и селена (IV), была выявлена только на графитах, пропитанных смолами, в структуре которых присутствовали ароматические кольца углерода. По совокупности оценочных показателей ни один из исследованных промышленных углеродных материалов не был рекомендован для изготовления электродов. Согласно этой информации, важным условием реализации разных вариантов концентрирования элементов на электроде является графитоподобная структура материала электрода.

Несвязанный углерод в природе встречается в виде графита, алмаза, а также ископаемых углей. К искусственным структурным формам углерода относятся активированные угли, сажи, пирографит, стеклоуглерод, углеситалл, углеродные

волокна. Структура алмаза может быть представлена как пространственный полимер, в котором атомы углерода соединены тетраэдрическими связями и находятся в состоянии  $sp^3$  – гибридизации. Графит состоит из непрерывного ряда слоев параллельных основной плоскости, гексагонально связанных атомов углерода, находящихся в состоянии  $sp^2$ – гибридизации( рисунок 1).



1– алмаз, 2 – графит

Рисунок 1 – Состояние гибридизации материалов

Искусственные формы углерода такие, как стеклоуглерод и углеситалл, могут рассматриваться как промежуточные между графитом и алмазом [36].

Электроды из этих материалов могут использоваться как индикаторные или в качестве подложки для модифицирования соответствующим модификатором. Широкое распространение они получили как вспомогательные электроды в трехэлектродных ячейках.

Стеклоуглерод( СУ) может быть получен при термическом разложении некоторых углеродных материалов, которые при пиролизе ( $t \geq 2000$  °С), минуя жидкую фазу, превращаются в карбонизированные продукты. Структура стеклоуглерода не имеет трехмерного упорядочения и состоит из двух видов углерода: тетраэдрической модификации с расположением атомов, как у алмаза, и тригональной с расположением атомов, как графита.

Тетраэдрические атомы структуры обуславливают высокую твердость СУ и его высокую механическую прочность. СУ хорошо проводит электрический ток: его удельное сопротивление составляет 45 - 55 Ом\*мм<sup>2</sup>/м. Он обладает незначительной пористостью, которая зависит от температуры его изготовления (СУ-2000, СУ-2500 и др.). СУ обладает устойчивостью к таким средам, как

щелочи, кислоты, окислители, но разрушается в смеси концентрированных серной и азотной кислот [37].

Вследствие высокой механической прочности СУ может использоваться как электродный материал при высоких плотностях токов, например, его применяют как вспомогательный электрод вместо платины.

Адсорбция кислорода и водорода незначительна, как у графита. Адсорбция органических молекул, напротив, велика, особенно в анодной области. Наиболее прочно на СУ адсорбируются аминокислоты – цистеин, тирозин, триптофан. Стеклоуглерод применяется для изготовления электродов с рабочей поверхностью в виде диска или стержня (цилиндра). Для этого стержни из СУ запрессовывают в инертную трубку (полиэтилен, фторопласт) или покрывают пленками различных полимеров. Рабочую поверхность шлифуют и полируют различными абразивными материалами (тканевой эльборовый шкуркой с зернистостью 20 - 30 мкм, а затем алмазной пастой типа АСМ-2,3). Электрод промывают бидистиллированной водой. Рекомендуется использовать УЗ ванну для окончательной отмывки.

Разные области промышленности ежедневно испытывают необходимость в активном применении изделий, произведенных из графита. Графитовые электроды относят к представителям категории неплавких. Они популярны, благодаря разновидностям марок и типоразмерам. Могут иметь поверхность, обработанную с помощью процедуры омеднения фольгой. Данная технология позволяет существенно повысить устойчивость к току большой плотности.

Среди отличительных особенностей графитовых электродов можно выделить их способность проводить электричество и не плавиться при этом. Это выгодно отличает их от других видов. Основные характеристики этих изделий, которые можно отнести к достоинствам, это:

- способность материала не окисляться и при самых высоких температурах;
- хорошая электропроводность и, как следствие, уменьшение потерь во время работы;
- отсутствие необходимости в применении специального держателя (для

графитовых электродов подходит стандартный);

- легкость изготовления;
- большое многообразие видов, что делает их незаменимыми;
- демократичная стоимость.

Графитовый электрод лучше угольного практически по всем параметрам. Кроме того, они более доступны, так как могут изготавливаться из отходов аналогичных изделий, которые использовались в дуговых электроплавильных печах.

К недостаткам относят:

- малый спектр действия (требуется использовать электроды с разными видами наконечников в разных видах работ);
- возможное повышение количества углерода в основном металле в процессе работы;

Графитовые электроды делят на несколько видов:

ЭГ – сырьем здесь служат нефтяной кокс и каменноугольный пек. Они выпускаются для работы в оборудовании с плотностью тока, не превышающей значение в  $25 \text{ A/cm}^2$ ;

ЭГС – производятся из игольчатого кокса и каменного пека. Выпускаются в одном варианте для работы с рафинировочными устройствами и руднотермическими печами;

ЭГП – пропитанные графитовые электроды предназначены для резки. Материал для их изготовления – каменноугольный пек, нефтяной кокс и пропитка из пека;

ЭГСП – произведены из игольчатого кокса и пропитанного каменноугольного пека. Изготавливают их для электродуговых аппаратов и различных электротермических устройств. Показатели удельного сопротивления зависят от диаметра конкретного изделия.

Наличие свободных электронов придает проводимости графита металлический характер. Характерной особенностью графита является его высокая пористость, достигающая 25 – 30%. Поры заполнены воздухом, в

катодной области потенциала кислород может восстанавливаться, давая высокий остаточный ток. Указанный недостаток устраняют путем пропитки (импрегнирования) электродов различными составами под вакуумом. Чаще всего используются смесь полиэтилена и парафина, а также эпоксидные смолы.

В водных растворах фонов в условиях методов ИВ и ВА графит проявляет достаточную химическую и электрохимическую инертность. В анодной области потенциалов в зависимости от рН на графитовых электродах выделяется молекулярный кислород или хлор (в хлоридных растворах), что приводит к окислению материала электрода( вплоть до СО и СО<sub>2</sub>). Коррозионная стойкость уменьшается в ряду:

пирографит > стеклоуглерод > углеситалл >графит

Импрегнированный графит имеет достаточно высокое перенапряжение выделения водорода и кислорода и рабочая область потенциалов охватывает интервал от -1,1 В до + 1,3 В в зависимости от рН и состава фонового электролита. Особенностью графитовых электродов в водных средах является весьма малая адсорбционная способность по отношению к кислороду и водороду в рабочей области потенциалов. Это затрудняет протекание электродных процессов с их участием.

Многочисленные методики приготовления модифицированных электродов могут быть разделены на следующие основные группы (рисунок 2):

- адсорбция (хемосорбция) реагента на поверхности электрода;
- химическое привязывание с фиксацией модификатора через различные группы с образованием ковалентных связей;
- включение в полимерную или неорганическую пленку;
- помещение в пасту из графитовых материалов различных веществ, в том числе и неорганических соединений;
- электрохимический синтез на поверхности электрода металлокомплексного или полимерного модификатора.

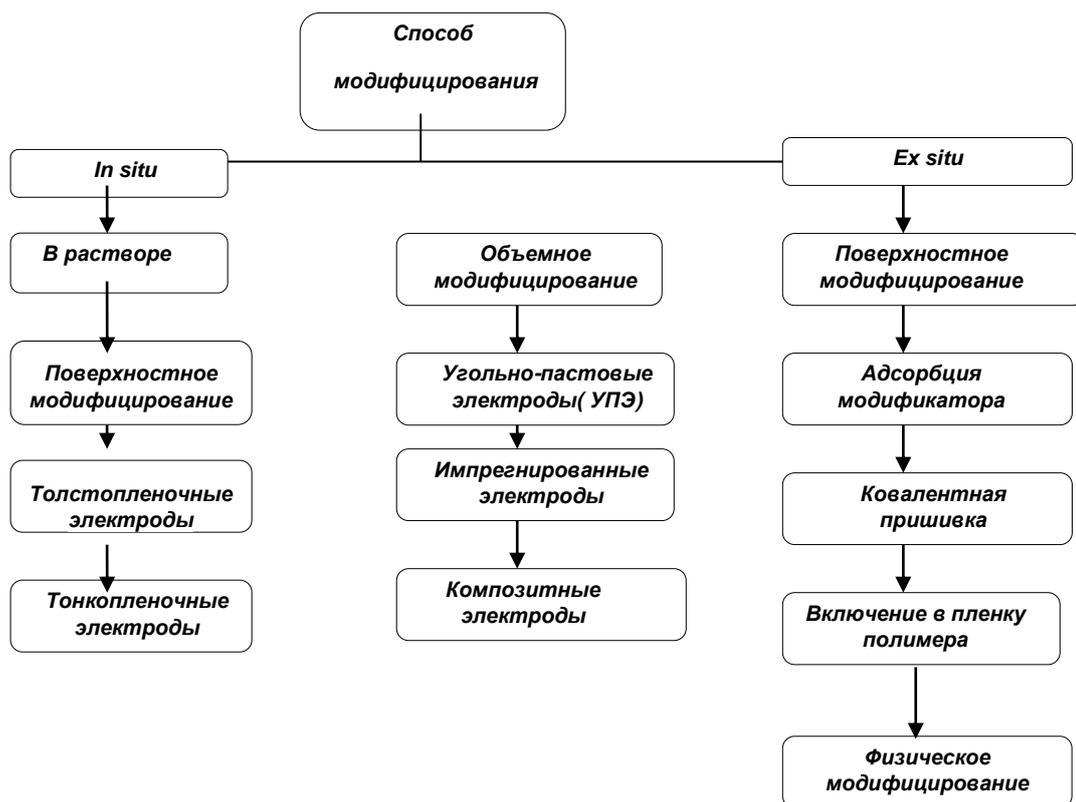


Рисунок 2 – Основные способы модифицирования электродов [37]

Модифицированные электроды находят широкое применение в анализе неорганических элементов в различных биологических объектах. Анализ литературных источников свидетельствует о том, что для определения микроэлементов ВА-методом, наиболее перспективными подложками для модификации можно считать, помимо металлических, ГЭ и СУЭ.

На рисунке 3 представлены некоторые примеры модификаторов, которые наиболее часто используются в исследованиях.

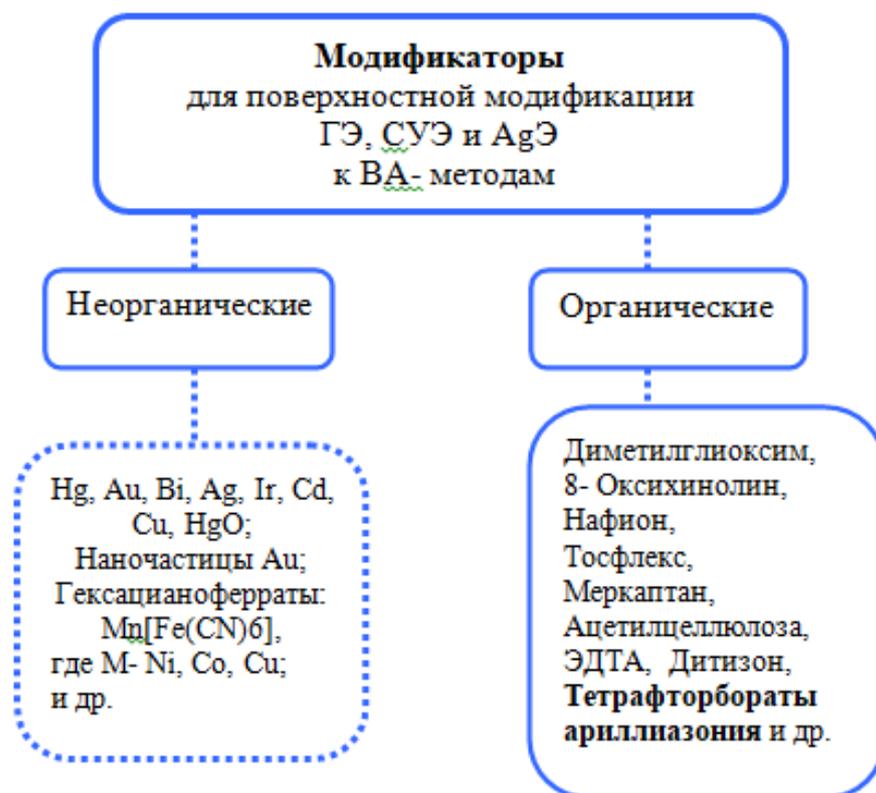


Рисунок 3 – Примеры модификаторов для поверхностной модификации ГЭ, СУЭ и AgЭ применительно к методам ВА [37]

Модификация поверхностей электродов путем ковалентного связывания с некоторыми органическими функциональными группами, приводит к увеличению селективности и чувствительности определения органических и неорганических веществ [38].

Несмотря на широкий ассортимент органических модификаторов, используемых для модификации твердых электродов, наиболее перспективными органическими агентами для поверхностной модификации электродов являются тозилатные соли арендиазония, которые в ходе электролиза обеспечивают ковалентное связывание функциональных групп Ar- с поверхностью электрода.

Использование ароматических солей диазония, как реагентов для поверхностей модификации началась с работы Delamar [38]. Авторы проанализировали поведение ряда арендиазоний тетрафторборатов (4-циано- 4-карбоксо-,4-( карбоксиметил) бензолдиазоний тетрафторбораты) в реакции

электрохимической функционализации поверхности стеклоуглеродных электродов( рисунок 4).

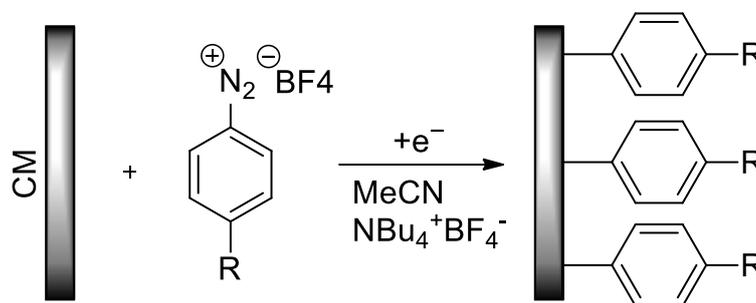


Рисунок 4 – Схема модификации поверхности (CM = углеродный материал)

Электрохимическая функционализация осуществлялась в ацетонитрильных растворах солей диазония в разных концентрациях с добавками 0,1%  $\text{NBu}_4^+\text{BF}_4^-$ . Изучено влияние концентрации солей диазония на структуру и свойства полученного слоя: самый плотный слой может быть получен при концентрации реагента 5 моль/л. Органические слои образуются довольно прочно. Они связаны с поверхностью и не разрушаются, даже при долговременном ультразвуковом облучении в среде органических растворителей. Выведенные материалы исследовались методами рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (XPS).

В работе [39] авторы занимались изучением в области применения модифицированных электродов. Модифицирование электродов проводилось по методу, предложенному в работе [39] с использованием 4-нитробензолдиазоний и 4-карбоксибензолдиазоний тетрафторборатов. Проводились исследования влияния процессов модификационной поверхности стеклоуглеродных электродов на их поведение при анализе известных редокс-систем:  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3+}$  и  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ , гидрохинон и ферроцен. В отношении  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3+}$  модифицированные электроды продемонстрировали полный блокирующий эффект – без наблюдения характеристических волн окисления/восстановления  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3+}$ .

При изучении редокс-системы  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$  (1 мМ  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ , 0,1 М KCl, pH

7, фосфатный буфер при 10 мВ/с) найденный эффект блокирования не наблюдается для модифицированного 4- карбоксифенил электрода, но имеет место для  $C_6H_5NO_2$  модификатора. Подобная ситуация отслеживается и при использовании в качестве редокс-системы гидрохинона (1 мМ гидрохинона, 0,1 М КСl и 1 М НСl при 10 мВ/с). Авторы объясняют данный эффект депротонированием карбокси-группы при  $pH=7$ , который не препятствует доступу к поверхности электрода  $Ru(NH_3)_6^{3+}$ , и, с другой стороны, закрывает доступ к  $Fe(CN)_6^{3+}$ , имеющему отрицательный потенциал Доннана. Для подтверждения авторами был повторен эксперимент с  $Fe(CN)_6^{3+}$  при различных уровнях  $pH$ . Эксперимент продемонстрировал значительное увеличение аналитического отклика при понижении  $pH$ , следовательно, при протонировании карбокси-групп. Блокирующий эффект нитрофенильного слоя авторы объединяют, прежде всего, с более высокой гидрофобностью 4-нитрофенильных групп, по сравнению с исходным стеклоуглеродом и карбоксифенильным слоем. Те же эффекты были замечены при использовании в качестве редокс-системы гидрохинона, при низком  $pH$ . Авторами была допущена гипотеза, что в случае 4-нитрофенил модифицированного электрода, органический слой имеет более плотную упаковку, и возможно, частично полимолекулярен.

В работе [40] авторы проводили исследования в процессе образования мультислойных покрытий на поверхности стеклоуглеродных электродов по схеме (рисунок 5):

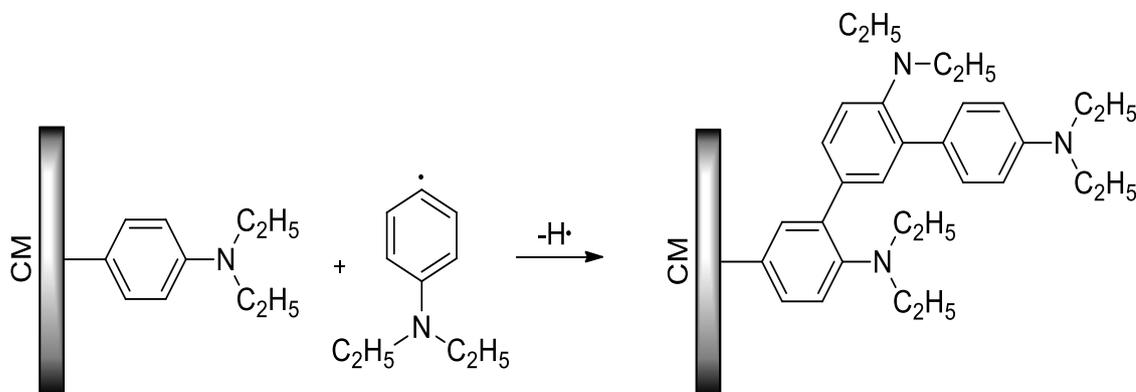


Рисунок 5 – Образование арильного радикала

Арильный радикал в данном процессе образуется в результате электрохимического восстановления согласно рисунку 5. Процесс электрохимического восстановления протекал в течение 10, 20 и 30 мин (5 мМ 4-диазо-N,N-диэтиланилин тетрафторборат, 0,1 М  $\text{NBu}_4^+\text{BF}_4^-$ /ацетонитрил, 1,2 В). Толщина образующегося слоя измерялась с помощью сканирующей силовой микроскопии (SFM). Авторами было показано, что толщина слоя возрастает (данные SFM) с увеличением времени электрохимического восстановления от 0,8 нм до 20 нм (при 30 мин). Увеличение толщины слоя также коррелирует с увеличением площади характеристических полос колебаний в ИК-спектрах полученных материалов. Аналитиками также был обнаружен полный блокирующий эффект органической пленки.

В работах [41] разрабатывались мономолекулярные слои 4-нитроазобензола (NAB) нанесенного на стеклоглеродные электроды в ходе электрохимического восстановления 4-нитрофенилбензолдиазоний тетрафторбората.

Аналитики заметили, что при ковалентном взаимодействии с поверхностью стеклоглерода NAB пребывает в сильном сопряжении с конденсированной системой стеклоглерода.

Проведение исследования структуры поверхностных органических слоев рассматривается в работе [42]. При сравнении спектров комбинационного рассеяния и AFM-изображений органических поверхностных слоев ковалентно связанных с поверхностью (по методу [43] и физически сорбированных на ней, позволяет доказать наличие связей C-C между органическими радикалами и поверхностью углерода.

В работе [44] изучалась модификация электродов электрохимическим восстановлением диазониевых солей (4-нитрофенилбензолдиазоний и 4-нитробензолдиазоний тетрафторбораты) в разных растворителях (вода и ацетонитрил) методами AFM, XPS и циклической вольтамперометрии.

Анализ циклических вольтамперограмм показал отсутствие принципиальных отличий между процессами электрохимического

восстановления в воде и ацетонитриле. Между тем, методами XPS и AFM было обнаружено, что в воде предпочтительно образуется более тонкий слой, который характеризуется меньшей степенью покрытия.

Аналитики, все чаще ставили перед собой задачу решения практического использования поверхностно-модифицированных электродов.

Развитие вольтамперометрических сенсоров на основе краун-эфиров, ковалентно связанных с поверхностями, описывается в работе [45].

В 2001 году было обнаружено, что соли диазония при электрохимическом восстановлении способны образовывать ковалентные связи с металлами [46]. Авторами исследовалась активность 11 арендиазоний тетрафторборатов и 1 одного образца «fast red AI salt» при электрохимическом восстановлении в присутствии железного (99,999% Fe) электрода. Все соли диазония показали сходную активность при модификации поверхности железа в ходе электрохимического восстановления. Авторами, при изучении ИК-спектров модифицированных поверхностей, были обнаружены характеристические частоты колебаний функциональных групп соединений ароматических радикалов. Кроме того, в ИК-спектрах были обнаружены частоты колебаний в районе  $800\text{-}860\text{ см}^{-1}$ , а также  $682\text{ см}^{-1}$  и  $762\text{ см}^{-1}$ , характерные для деформационных колебаний C-H связей 1,4-замещенного бензольного кольца. По данным XPS были обнаружены энергетические пики, характеризующие ковалентную связь между углеродом и металлом. Таким образом, исследователями подтверждено, что ароматические соли диазония также могут являться реагентами для модификации металлических поверхностей в ходе электрохимического восстановления.

В работе [47] существенно расширен круг металлических субстратов для ковалентной модификации органическими функциональными группами. Авторы показали, что, кроме железа, ковалентной модификации в ходе электрохимического восстановления диазониевых солей могут подвергаться такие металлы, как Co, Ni, Cu, Zn, Pt, и Au. Полученные материалы охарактеризованы методами ИК-спектроскопии, XPS, циклической

вольтамперометрии и спектроскопии обратного резерфордского рассеяния (RBS).

Авторами работы [48] был разработан сенсор для электрохимического анализа белков на основе модифицированного электрода. В качестве модификаторов поверхности выступали тетрафторбораты диазония **1** и **2**:

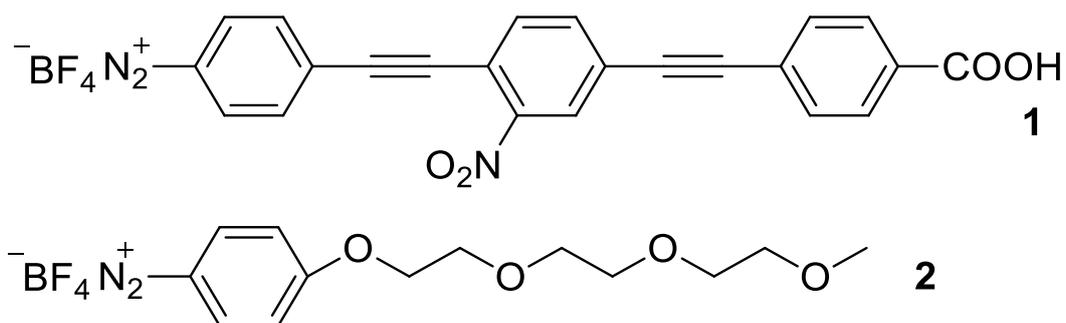


Рисунок 6 – Тетрафторбораты диазония (1,2)

Использование разнообразных по структуре модификаторов позволило создать эффективный проводящий органический слой и снизить блокирующий эффект. Полученные электроды использовались для определения различных протеинов (бычий альбумин, пероксидаза хрена).

В создании подходов к синтезу активных функциональных групп на поверхности в работе [49] авторами предлагается использование 4-аминоэтилбензолдиазоний тетрафторбората для электрохимической функционализации поверхности электрода 4-аминоэтилфенильный остаток, по мнению аналитиков, является универсальным субстратом для дальнейших превращений в рамках получения специфических сенсоров.

В работах [50, 51] модифицированные аминифенольными органическими слоями стеклоуглеродные электроды использовались для селективного определения витамина С и мочевой кислоты. Электроды модифицировались по методу [52] с использованием 3-нитро-4-гидроксибензолдиазоний хлорида, синтезируемого «in-situ» в электрохимической ячейке. Для получения аминифенольной пленки, полученный нитрофенольный слой восстанавливался

электрохимическим методом.

Одним из последних успехов в области электрохимической модификации поверхности электродов является проведение процесса в воде [53]. Для растворения в воде тетрафторборатов арендизония авторами были получены комплексы типа хозяин-гость с  $\beta$ -циклодекстрином. В данной работе была выделена важность проведения процессов модификации в воде.

Из представленных материалов следует, что большинство публикаций по методам количественного анализа неорганических элементов посвящены широко распространенным за рубежом методам масс-спектрометрии и атомно-абсорбционной спектрометрии, которые ограничено используются в аналитических лабораториях нашей страны, в основном, в связи с высокой стоимостью аналитического оборудования. Альтернативой, наряду с другими методами, могут являться вольтамперометрические методы, которые в последнее время успешно развиваются за счет применения модифицированных электродов. В связи с этим электрохимические методы занимают достойное место для определения широкого ряда неорганических элементов, по причине использования различных типов модифицированных электродов, в том числе и на основе тозилатных солей арендизония.

Оценивая перспективы применения модифицированных электродов хочется отметить, что направление развития вольтамперометрии, как и других методов электрохимического анализа, все больше смещается к разработке новых электродов, сенсоров и датчиков, позволяющих проводить определения «быстрее, дешевле, проще и лучше». Обилие публикаций по применению и выбору модификаторов, их иммобилизации на поверхности электрода убедительно свидетельствует об интересе исследователей к этой проблеме.

## ГЛАВА 2. АППАРАТУРА И МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

### 2.1 Приборы, электроды, ячейки, посуда

Для экспериментальных исследований использовали комплекс аналитический вольтамперометрический СТА (ТУ 4215-001-20694097-98), содержащий три электрохимические ячейки, подключенный к персональному компьютеру и установленным пакетом программ «СТА». В анализаторе СТА реализованы различные режимы регистрации вольтамперограмм: постоянно-токовый, ступенчатый, накопительный, дифференциально-импульсный, квадратно-волновой, позволяющие выбрать оптимальные рабочие условия получения аналитических сигналов определяемых компонентов. Перемешивание раствора осуществляется за счет вибрации электродов. Прибор оснащен системой подвода газообразного азота. Подготовку и проверку комплекса СТА вольтамперометрического аналитического в комплекте с персональным компьютером производят в соответствии с инструкцией по эксплуатации и техническому описанию прибора.

*Электрохимические ячейки и электроды.* В состав электрохимической ячейки входит кварцевые стаканчики объемом 20 см<sup>3</sup>, которые устанавливали в специальное отверстие на платформе вольтамперометрического анализатора.

В качестве индикаторных электродов использовали углеродсодержащие электроды (стеклоуглеродный (СУЭ), графитовый (ГЭ) и на его основе угольно-пастовый (УПЭ) с обновляемой поверхностью). В качестве модификаторов использовался раствор золота и раствор аренидиазония.

УПЭ представляет собой графитовый стержень диаметром 1,5 – 2,0 мм, запрессованный во фторопластовый держатель диаметром 5 – 6 мм так, чтобы длина выступающей части фторопластового держателя составляла 2- 3 мм. Перед применением УПЭ осуществляли срезание слоя поверхности электрода толщиной 0,3-0,5мм с помощью специального устройства для обновления поверхности УПЭ.

Графитовый электрод (ГЭ) изготовлен из пропитанного различными

веществами графитового стержня с диаметром рабочей поверхности 3-5 мм. Обновление поверхности графитового электрода производилось шлифованием поверхности о фильтровальную бумагу.

Стеклоуглеродный электрод( СУ) изготовлен запрессовыванием стеклоуглеродного стержня СУ-2500 в трубку из тефлона. Перед работой на стеклоуглеродном электроде его отполировывали алмазной пастой до зеркального блеска, обезжиривали этиловым спиртом и промывали бидистиллированной водой. Площадь рабочей поверхности игольчатого электрода не менее 60-80 мм<sup>2</sup>. Габаритные размеры электрода – длина: не более 82 мм; диаметр не более 6 мм. Продолжительность непрерывной работы - не более 12 ч. Средний срок службы - не менее 1000 ч. Рабочую поверхность подготавливают протиранием стержня фильтровальной бумагой. Полученные электроды хранятся в сухом виде. Перед работой стеклоуглеродный электрод промывался дистиллированной водой, далее стержень хорошо протирался фильтровальной бумагой.

Полученные СУ и ГЭ сохраняют свою стабильность в работе в течении 3-4 суток и устойчивы при хранении в бидистиллированной воде. По истечении срока службы электродов возможна их повторная модификация, после снятия слоя модификатора с поверхности электрода путем зачистки ее фильтровальной бумагой.

В качестве вспомогательного и электрода сравнения использовали хлоридсеребряные электроды. Они представляют собой полипропиленовый корпус с полупроницаемой пробкой из оксида алюминия, в который помещена спираль из серебряной проволоки, покрытой хлоридом серебра. Перед применением хлоридсеребряного электрода его корпус заполняют 1М раствором КСl, закрывают пробкой отверстие и выдерживают не менее 2-х часов для установления равновесного значения потенциала при первом заполнении. Готовые ХСЭ хранили, погрузив в 1М растворе КСl, перед применением ополаскивали дистиллированной водой.

*Посуда.* В работе использовали стеклянную посуду: мерные колбы 25, 50, 100, 1000 см<sup>3</sup>, пипетки мерные лабораторные стеклянные 2-го класса точности

вместимостью 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 см<sup>3</sup>, а также дозаторы пипеточные типа ДП-1-50 или ДП-1-1000. Для каждого раствора использовали отдельную пипетку и сменный наконечник дозатора.

Подготовку кварцевых стаканчиков проводят следующим образом: протирают фильтром с пищевой содой, ополаскивают водопроводной водой и бидистиллированной водой. Далее, обрабатывают концентрированной серной кислотой (0,1-0,2 см<sup>3</sup> или 4-6 капель) и помещают комплекс пробоподготовки Темос-экспресс, нагревают до 400 °С до прекращения выделения паров кислоты. Затем, прокаливают в данном комплексе под закрытой крышкой при температуре 500-600 °С в течение 20-30 минут. Затем снова ополаскивают бидистиллированной водой. Обработку стаканчиков серной кислотой проводят не реже одного раза в две недели. Сменные кварцевые стаканчики хранят закрытыми калькой или в эксикаторе.

Чистоту посуды проверяли перед началом каждой серии опытов путем регистрации вольтамперограммы «холостого» раствора фонового электролита. Посуда и фоновый электролит считались чистыми при отсутствии пиков на циклических вольтамперограммах.

*Условия измерений.* При выполнении измерений соблюдают следующие условия:

- Температура окружающего воздуха ( $25 \pm 10$ )° С;
- Атмосферное давление ( $97 \pm 10$ ) кПа;
- Относительная влажность ( $65 \pm 15$ ) %;
- Частота переменного тока ( $50 \pm 5$ ) Гц;
- Напряжение в сети ( $220 \pm 22$ ) В.

## **2.2 Реактивы**

В работе были использованы следующие реактивы и стандартные растворы:

– Государственные стандартные образцы состава растворов ионов селена, меди, ртути

- Кислота азотная концентрированная
- Кислота серная концентрированная
- Калий хлористый

Все реактивы должны быть квалификации ос.ч. или х.ч. В противном случае они должны проверяться на чистоту по определяемому элементу.

### 2.3 Приготовление фоновых электролитов и рабочих растворов

Метод вольтамперометрии предъявляет повышенные требования к чистоте применяемых реактивов, очистке воды, материалам электродов и посуде.

#### *Приготовление фоновых электролитов.*

Фоновый электролит 1 М КСl готовят следующим образом: 3,725 г КСl взвешивают на аналитических весах с точностью до 0,0001 знака и растворить в 50 мл дистиллированной воды.

Фоновый электролит 0.1 М HNO<sub>3</sub> готовят следующим образом: 0,5мл HNO<sub>3</sub> ( $\rho = 1,513 \text{ г/см}^3$ ) отмеряют мерным цилиндром и выливают в мерную колбу, содержащую 25 – 30 мл дистиллированной воды (под тягой), затем доливают дистиллированную воду до 50 мл и, закрыв пробкой, перемешивают.

Фоновый электролит при определении селена - раствор соляной кислоты концентрации 0,6 моль/дм<sup>3</sup> готовят одним из способов:

- в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, наполовину заполненную бидистиллированной водой, вносят 10,0 см<sup>3</sup> раствора соляной кислоты концентрации 6 моль/дм<sup>3</sup> и, после перемешивания, доводят объем до метки бидистиллированной водой;

- непосредственно в электрохимической ячейке: в кварцевый стаканчик вместимостью (20 – 25) см<sup>3</sup>, наливают 9 см<sup>3</sup> бидистиллированной водой и 1,0 см<sup>3</sup> соляной кислоты концентрации 6,0 моль/дм<sup>3</sup>.

Определение меди и ртути проводили на фоне децимолярного раствора азотной кислоты. В стаканчик, подготовленный для проведения измерений, с

помощью пипетки или дозатора вносили 10.0 см<sup>3</sup> бидистиллированной воды, 0.10 см<sup>3</sup> HNO<sub>3</sub> (конц.), степень чистоты о.с.ч. или х.ч.

*Приготовление рабочих растворов:*

Все растворы готовились в мерных колбах с притертыми пробками, были использованы одноканальные дозаторы переменного объема.

Рабочий раствор селена концентрацией 10 мг/дм<sup>3</sup> приготовлен путем разбавления стандартного раствора селена 100 мг/ дм<sup>3</sup>.

Рабочие растворы диазониевых солей готовили растворением навески сухого порошка арендиазоний тозилатов в бидистиллированной воде.

Поверхностная модификация угольно-пастового, золото-графитового, стеклоглеродного и графитового электродов тозилатными солями арендиазония с такими заместителями, как –COOH, –CN, –NO<sub>2</sub> осуществлялась двумя способами: путем помещения электродов в водные растворы диазониевых солей в режиме «in-situ», а также нанесение модификатора на поверхность графитового электрода осуществлялось электрохимически.

## 2.4 Методика эксперимента

В электрохимическую ячейку помещали 10 см<sup>3</sup> фонового электролита, индикаторный модифицированный углеродсодержащий электрод и два хлоридсеребряных электрода, применяемых в качестве вспомогательного и электрода сравнения. Подключали электроды к вольтамперометрическому анализатору СТА. Далее, без удаления кислорода воздуха, не менее трех раз проводили регистрацию вольтамперограмм фонового электролита методом катодной постоянноточковой вольтамперометрии при следующих условиях: рабочий диапазон потенциалов от 1,2 до -1,2 В, время электролиза 10 с, потенциал электролиза 0,1 В, время успокоения 20 с, скорость сканирования потенциала 100 мВ/с.

После подтверждения доказательств чистоты фонового электролита в электрохимическую ячейку дозатором вносили определенный объем

исследуемого раствора и проводили съемку вольтамперограмм анализируемых солей и неорганических элементов.

## 2.5 Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка результатов измерения является завершающей стадией химического анализа. Она позволяет оценить случайные, систематические погрешности, а также основные метрологические характеристики метода анализа, такие как воспроизводимость, правильность и точность.

Согласно ГОСТ Р 5725-1-2002 и ГОСТ Р 5725-6-2002 прецизионность – это степень близости независимых результатов измерений друг к другу, полученных в конкретных установленных условиях. Эта характеристика зависит только от случайных факторов и не связана с истинным или условно истинным значением измеряемой величины.

Степень близости среднего значения, полученного на основании серии результатов измерений, к истинному или принятому опорному значению, характеризуется правильностью. Показателем правильности обычно является значение систематической погрешности.

Точность – это общий термин, используемый в отношении как «правильности», так и «прецизионности» и выражает суммарное отклонение результата от эталонного (опорного) значения, вызванное как случайными, так и систематическими причинами.

Опорное значение - значение, которое служит в качестве согласованного, в качестве которого может быть принято:

- теоретическое или научно установленное значение;
- аттестованное значение СО;
- аттестованное значение смеси (АС);
- математическое ожидание измеряемой характеристики, т.е. среднее значение заданной совокупности результатов анализа.

Различные факторы, такие как время, оборудование, оператор, параметры

окружающей среды и т.д. могут оказывать влияние на результаты анализа. В зависимости от влияющих факторов прецизионность включает:

- прецизионность анализа в условиях повторяемости – условия, при которых результаты анализа получают по одной и той же методике в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором с использованием одного и того же оборудования, практически одновременно (параллельные определения);

- прецизионность анализа в условиях воспроизводимости - условия при которых результаты анализа получают по одной и той же методике в разных лабораториях, варьируя различными факторами (разное время, оператор, условия окружающей среды);

- внутрилабораторную прецизионность анализа – условия, при которых результаты анализа получают по одной и той же методике в одной и той же лаборатории при вариации различных факторов (время, оператор, разные партии реактивов и т.д.).

Мерой оценки прецизионности является среднеквадратическое отклонение (СКО):  $\sigma_r$  - СКО повторяемости;  $\sigma_R$  - СКО воспроизводимости;  $\sigma_{RЛ}$  - СКО внутрилабораторной прецизионности.

Предел обнаружения (от англ. limit of detection или LOD) - это минимальное содержание анализируемого вещества в пробе, которое может быть обнаружено с приемлемым уровнем достоверности.

Установление пределов обнаружения для того или иного метода анализа зависит от многих факторов. Нижний предел LOD представляет теоретическое значение для помехоустойчивых образцов, в три раза превышающее уровень флуктуационных шумов (помех), согласно стандартному определению LOD. Однако, не все образцы являются помехоустойчивыми. Верхний предел диапазона представляют образцы с более сложными составляющими и характерен для распространенных в промышленности наиболее сложных образцов. Самый верхний предел диапазона LOD достигается в результате повторяемых тестов на образцах с различным композиционным составом.

Предел количественного определения (от англ. limit of quantification или

LOQ) - наименьшая концентрация или количество анализируемого вещества в анализируемой пробе, которая может быть количественно определена с приемлемым уровнем точности и достоверности, что может быть продемонстрировано с помощью совместных испытаний лабораторий или другого подходящего метода валидации.

### ГЛАВА 3. ВЫБОР УСЛОВИЙ МОДИФИЦИРОВАНИЯ ПОВЕРХНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ УГЛЕРОДСОДЕРЖАЩИХ ЭЛЕКТРОДОВ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ

#### 3.1 Выбор заместителя арендиазония тозилата для модифицирования поверхности графитового и стеклоуглеродного электродов

При выборе углеродсодержащей подложки, можно сделать вывод о том, что на токопроводимость влияет выбор не только самого электрода, но и выбор модификатора, который нанесен на поверхность электрода, имеющего в своем составе различные заместители, такие как  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{CN}$  и  $-\text{NO}_2$ , а также при его различных концентрациях и времени выдержки углеродсодержащего электрода в нем.

На рисунке 7 приведен возможный механизм модификации поверхности углеродсодержащего электрода в водных растворах диазониевых солей с разными заместителями. При взаимодействии поверхности изучаемых электродов с модификатором происходит спонтанное выделение азота и генерирование свободных радикалов  $\text{Ar}\cdot$ , ковалентно связывающихся с поверхностью углеродсодержащего электрода согласно рисунка 7:

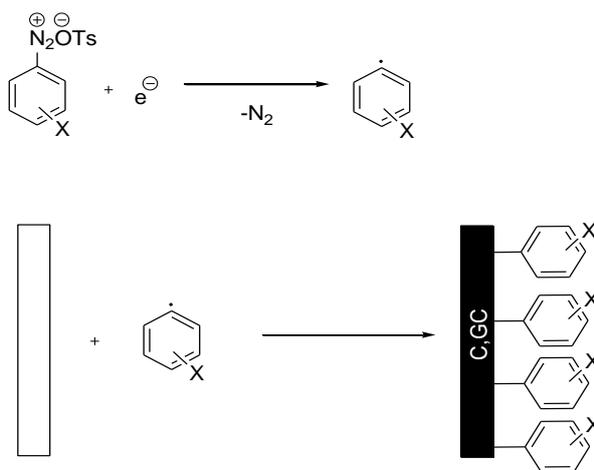


Рисунок 7 – Механизм модифицирования поверхности твердых углеродсодержащих электродов, где С – графитовый электрод; GC – стеклоуглеродный электрод.

В работе приведены исследования по выбору условий модифицирования: времени контакта и концентрации модификатора. Время контакта подложки графитового и стеклоуглеродного электродов с раствором диазониевой соли с различными заместителями определялось в пределах от 1 до 60 секунд. Концентрация модификатора также изменялась от 10 до 60 мг/л.

На графиках представлен сравнительный анализ аналитического сигнала смеси гексацианоферратных солей  $K_3[Fe(CN)_6]$  и  $K_4[Fe(CN)_6]$ , который определяется зависимостью тока пика гексацианоферратной соли от времени контакта углеродсодержащей подложки с солями арендиазония при различных их концентрациях.

Данные, представленные на рисунке 8, отображают нанесение модификатора АДТ-СООН различной концентрации, на рабочую поверхность графитового электрода в режиме «in-situ».

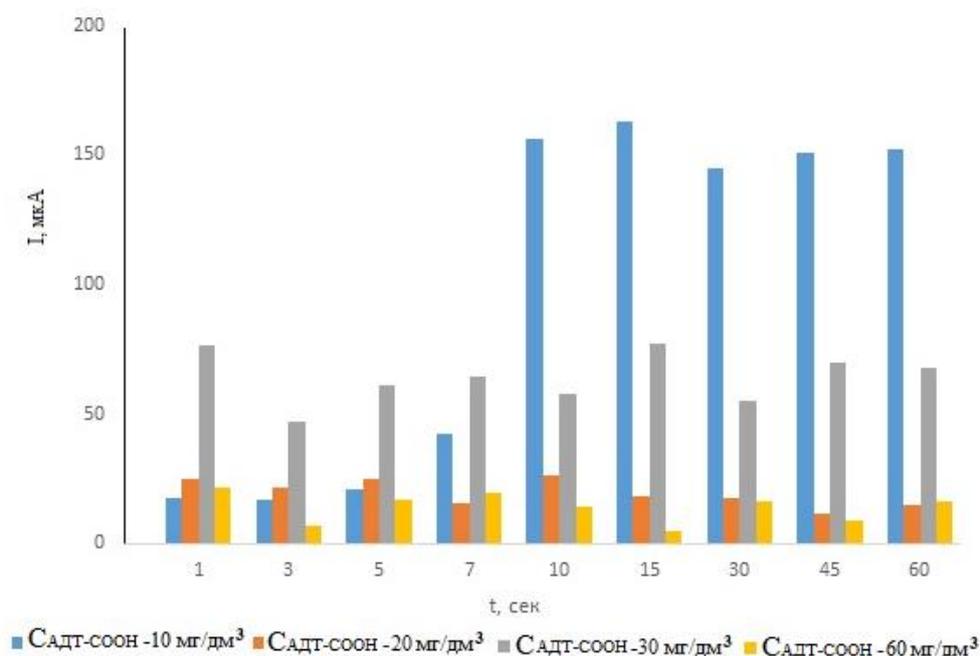


Рисунок 8 – Зависимость тока пика гексацианоферратных солей  $K_3[Fe(CN)_6]$  и  $K_4[Fe(CN)_6]$  от времени контакта графитового электрода с солью арендиазония с заместителем – СООН при различных концентрациях и времени контакта подложки с водным раствором модификатора

Как видно из данного графика, максимальная высота аналитического сигнала гексацианоферратных солей  $K_3[Fe(CN)_6]$  и  $K_4[Fe(CN)_6]$  наблюдается при времени контакта 10-15 сек и концентрации 10 мг/дм<sup>3</sup>.

Также, проведены исследования аналогичных зависимостей для модификатора арендиазония тозилата с такими заместителями, как  $-CN$  (рисунок 9) и  $-NO_2$  (рисунок 10)

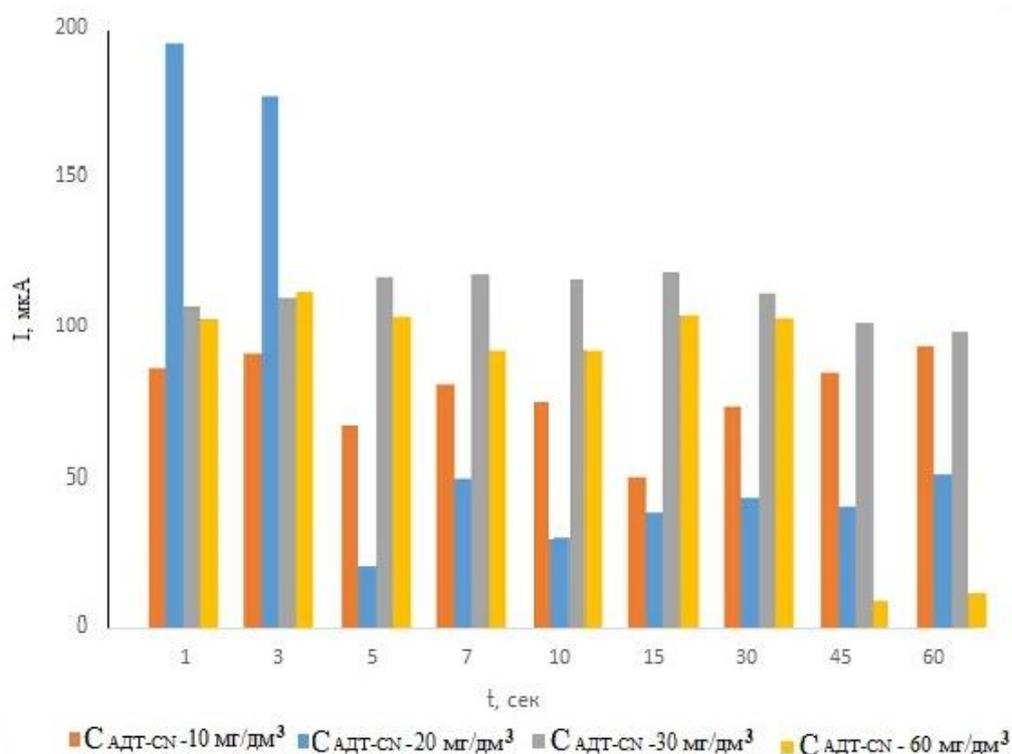


Рисунок 9 – Зависимость тока пика гексацианоферратных солей  $K_3[Fe(CN)_6]$  и  $K_4[Fe(CN)_6]$  от времени контакта графитового электрода с солью арендиазония с заместителем  $-CN$  при различных концентрациях и времени контакта подложки с водным раствором модификатора

Из рисунка 9 можно сделать вывод о том, что наилучший результат наблюдается при концентрации модификатора 20 мг/л и времени выдержки – 1-3 секунд. При дальнейшем увеличении времени выдерживания электрода в растворе модификатора происходит резкое уменьшение аналитического сигнала

гексацианоферратных солей, что можно объяснить блокировкой активных центров поверхности электрода.

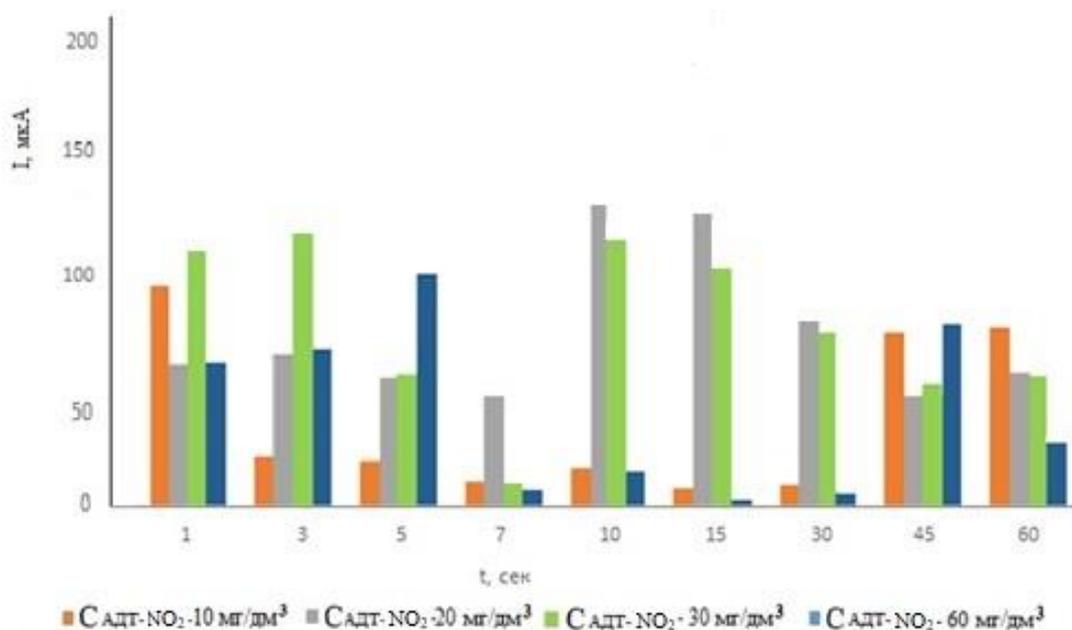


Рисунок 10 – Зависимость тока пика гексацианоферратных солей  $K_3[Fe(CN)_6]$  и  $K_4[Fe(CN)_6]$  от времени контакта графитового электрода с солью арендиазония с заместителем  $-NO_2$  при различных концентрациях и времени контакта подложки с водным раствором модификатора

По данному графику можно сделать вывод о том, что наилучший результат наблюдается при концентрации модификатора 20 мг/л и времени выдержки – 10-15 секунд. При модифицировании графитового электрода тозилатными солями арендиазония с большей концентрацией и большим временем выдержки показывают меньшие значения токов пика, что говорит о нецелесообразности использования более концентрированных растворов модификатора.

Помимо этого, были проведены аналогичные исследования со стеклоуглеродным электродом. Для исследования также брали тозилатные соли арендиазония с заместителями  $-COOH$  (рисунок 11),  $-CN$  (рисунок 12) и  $-NO_2$  (рисунок 13).

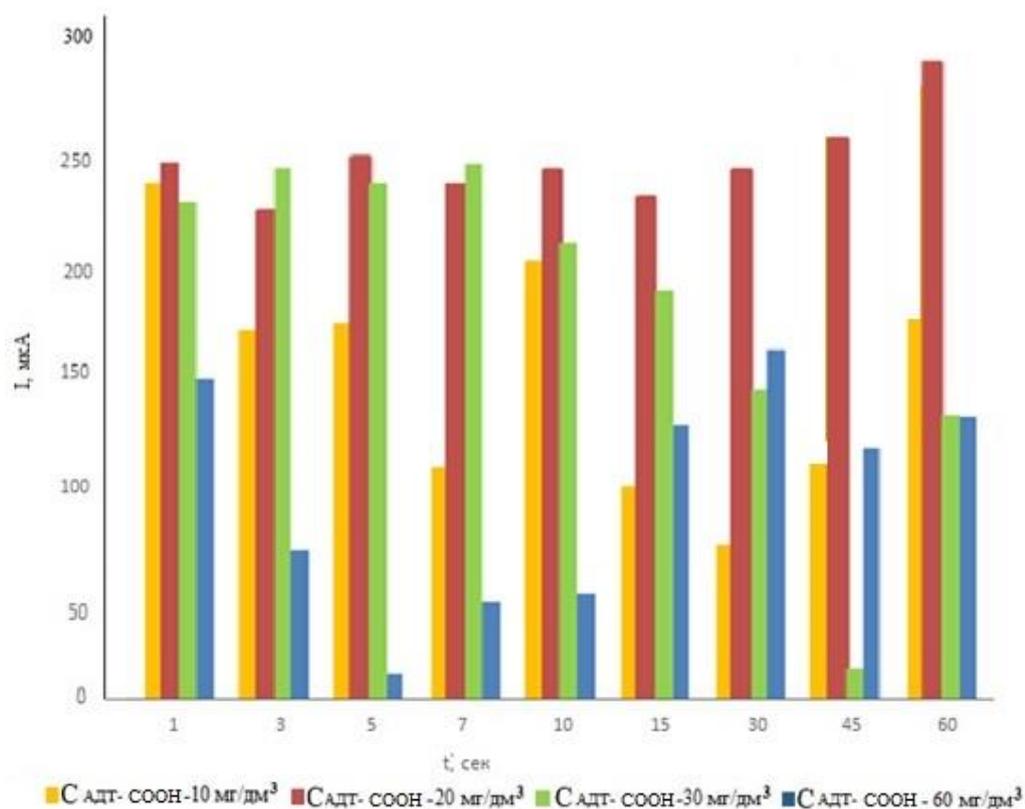


Рисунок 11 – Зависимость тока пика гексацианоферратных солей  $K_3[Fe(CN)_6]$  и  $K_4[Fe(CN)_6]$  от времени контакта стеклоуглеродного электрода с солью арендиазония с заместителем  $-COOH$  при различных концентрациях и времени контакта подложки с водным раствором модификатора

По данному графику можно сделать вывод о том, что наилучший результат наблюдается при концентрации модификатора 20 мг/л и времени выдержки – 60 секунд. Дальнейшее увеличение времени выдерживания электрода в модификаторе не дает увеличения тока пика.

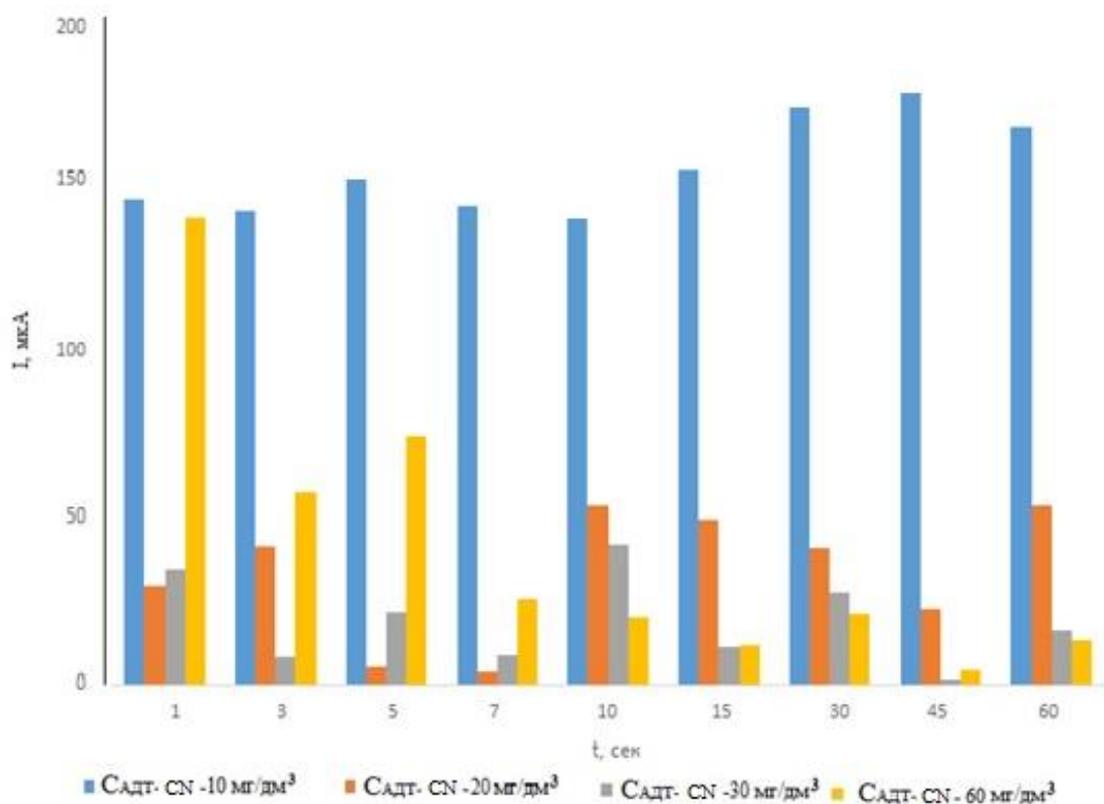


Рисунок 12 – Зависимость тока пика гексацианоферратных солей  $K_3[Fe(CN)_6]$  и  $K_4[Fe(CN)_6]$  от времени контакта стеклоуглеродного электрода с солью арендиазония с заместителем  $-CN$  при различных концентрациях и времени контакта подложки с водным раствором модификатора

Как видно из данного рисунка, при концентрации модификатора 10 мг/л наблюдается увеличение силы тока с увеличением выдерживания стеклоуглеродного электрода в модификаторе. Оптимальной концентрацией для этого модификатора является концентрация 10 мг/л и время выдерживания – 30-60 секунд.

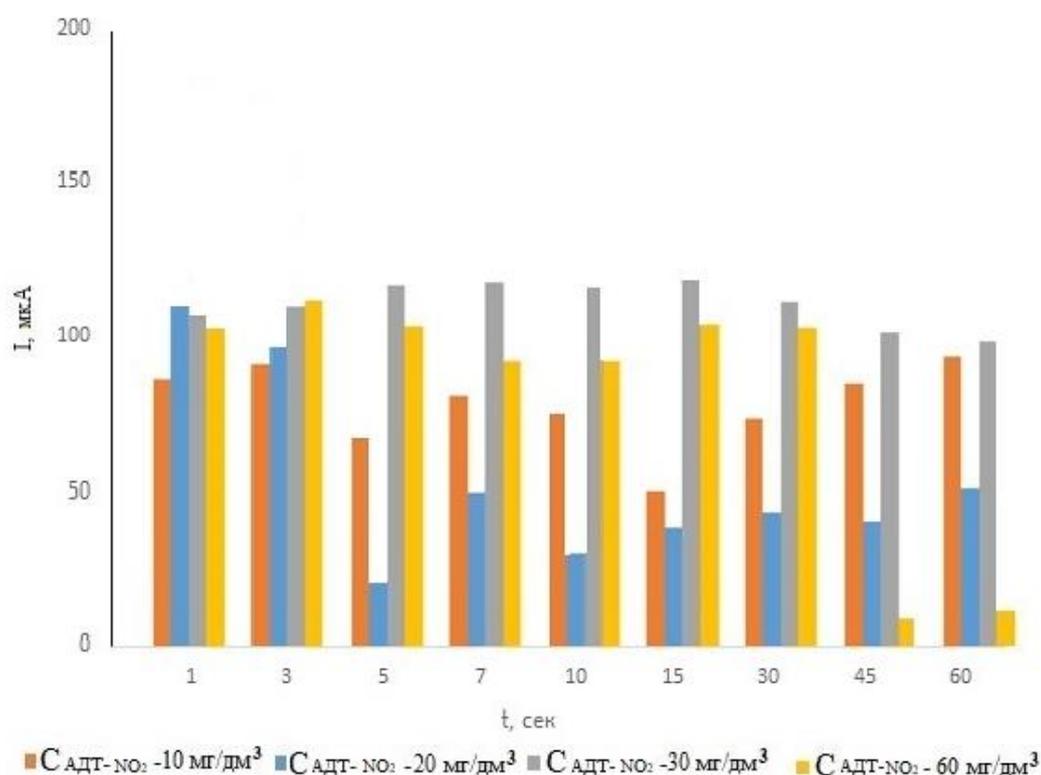


Рисунок 13 – Зависимость тока пика гексацианоферратных солей  $K_3[Fe(CN)_6]$  и  $K_4[Fe(CN)_6]$  от времени контакта стеклоуглеродного электрода с солью арендиазония с заместителем  $-NO_2$  при различных концентрациях и времени контакта подложки с водным раствором модификатора

Из полученных данных видно, что при использовании данного модификатора существенного увеличения тока не происходит. Использование арендиазониевого тозилата с нитро- группой является нецелесообразным.

Таким образом, выбраны подобраны условия модифицирования поверхности графитового и стеклоуглеродного электродов. Подобраны концентрации исходных диазониевых солей для приготовления модифицированного электрода в зависимости от заместителей.

Как было замечено, наилучшие значения были получены при модифицировании поверхности графитового электрода солью арендиазония тозилатов с карбокси-группой. Увеличение концентрации данной соли и длительное выдерживание в водном растворе приводит к снижению аналитического сигнала.

Для подтверждения полученных результатов дополнительно изучили циклические вольтамперограммы гексацианоферрата калия на графитовом электроде, модифицированного тозилатными солями арендазона с выбранными заместителями при времени выдержки 10, 30 и 60 секунд, концентрация модификатора 10 мг/дм<sup>3</sup>. Максимальные сигналы железа наблюдаются на графитового электрода, модифицированном арендиазонием с заместителем карбокси-группой при времени модифицирования 10 с (рисунок 14).

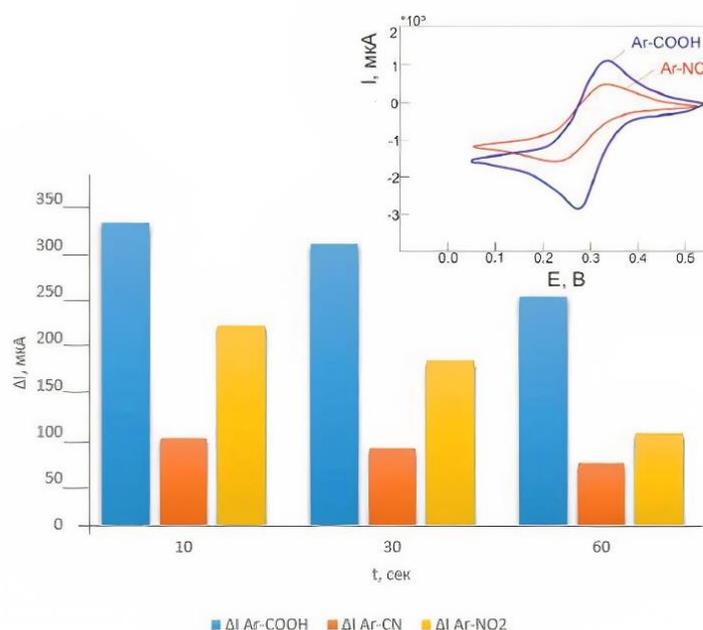


Рисунок 14 – Зависимость тока пика железа от времени контакта арендиазониевых солей с различными заместителями с поверхностью графитового электрода.

Условия: концентрация модификаторов – 10 мг/дм<sup>3</sup>; фон 1 М КСl.

Как увеличение концентрации модификатора на поверхности электрода, так и более длительное время модифицирования поверхности графитового электрода приводит к уменьшению как анодных, так и катодных сигналов солей калия. Этот эффект можно объяснить образованием многослойных и менее прочных покрытий поверхности графитового электрода органическими фрагментами.

Время контакта подложки графитового электрода с раствором диазониевой

соли в пределах 5 – 10 секунд незначительно влияет на величину аналитического сигнала, однако при увеличении времени контакта (от 10 до 30 с) наблюдается его увеличение, при выдерживании подложки в модификаторе более 60 с наблюдается снижение аналитического сигнала. Данные эффекты при увеличении концентрации diazonиевых солей и продолжительном контакте с электродами можно объяснить образованием многослойных и менее проницаемых покрытий поверхности графитового электрода органическими фрагментами, которые действуют как барьер для восстановления-окисления органических веществ.

Геометрическая площадь графитового электрода составляла 12.6 мм<sup>2</sup>, а эффективную площадь поверхности электрода оценивали с помощью ЦВА (измерение проведено три раза) на фоне 0.1 М КСl с добавкой солей гексацианоферрата калия ( $C = 5 \cdot 10^{-4}$  моль/л) и рассчитывали с использованием уравнения Рэндлса-Шевчика для обратимого электродного процесса

$$i_p = (2.69 * 10^5) n^{3/2} A D^{1/2} c v^{1/2} \quad (1)$$

где  $i_p$  – ток пика, мкА;  $n$  – количество перенесенных электронов ( $n = 1$ );  $A$  – площадь электрода, см<sup>2</sup>;  $D$  – коэффициент диффузии, см<sup>2</sup>/с;  $c$  – концентрация электроактивного вещества, моль/ см<sup>3</sup>;  $v$  – скорость изменения потенциала (скорость поляризации, скорость развертки), мВ/с.

Эффективная площадь поверхности составляет  $8.66 \pm 0.32$  и  $6.76 \pm 0.31$  мм<sup>2</sup> для графитового и стеклоуглеродного электродов соответственно, что хорошо согласуется с изменением величины токов окисления  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ -ионов на этих электродах. Таким образом, нами разработан способ модифицирования рабочей поверхности графитового и стеклоуглеродного электродов и произведен выбор модификатора.

### 3.2 Изучение поверхности модифицированных электродов с помощью современных методов исследования

Для изучения модифицированной поверхности графитового и стеклоуглеродного электродов были получены снимки при помощи научно-исследовательского комплекса Centaur U. Данный комплекс включает в себя комбинацию методов сканирующей зондовой микроскопии (атомно-силовой микроскопии), оптической микроскопии, спектроскопии комбинационного (рамановского) рассеяния или флуоресцентной спектроскопии позволяет проводить анализ состава и структуры органических и неорганических веществ, традиционных и композитных материалов, получать распределение в поверхности и/или объёме различных соединений и сопоставлять особенности морфологии образцов со спектральными данными. [75]

В данном случае он использовался для проведения исследования по изучению распределения модификатора по поверхности углеродсодержащих электродов и изучения его состав методами оптической, рамановской и атомно-силовой микроскопии.

Благодаря использованию растрового микроскопа видна ячеистая структура графитового электрода со слабовыраженной пленкой модификатора (рисунок 15).

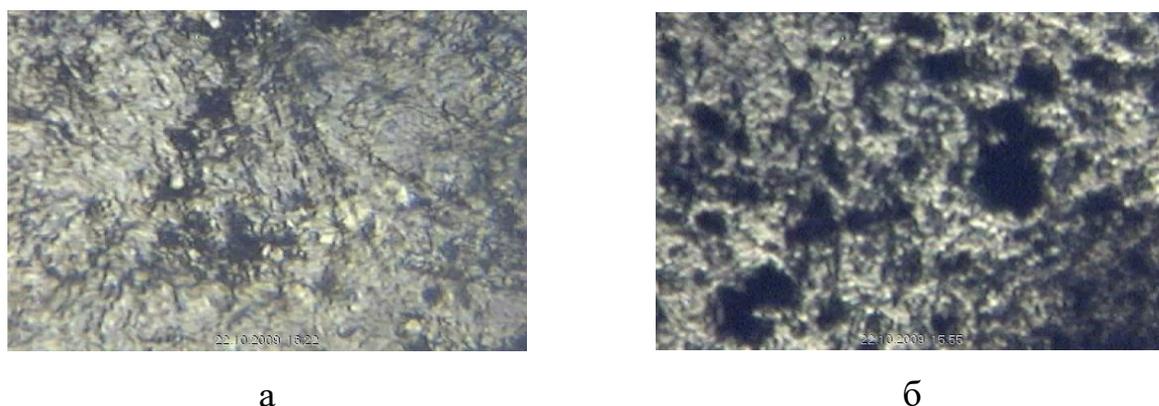


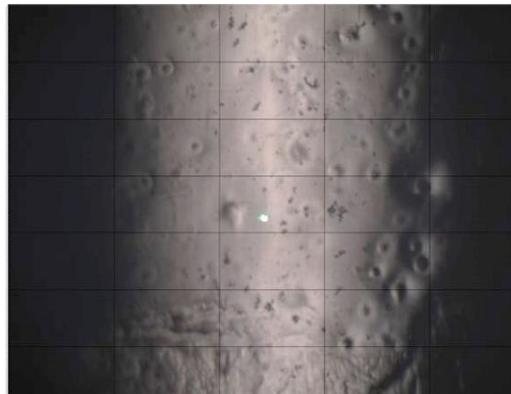
Рисунок 15 – Фото поверхности графитового электрода  
(увеличение в 1000 раз):

а – поверхность ГЭ; б – поверхность ГЭ-Ar-COOH

Для более детального исследования нами получены снимки стеклоуглеродного органо-модифицированного электрода на растровом электронном микроскопе Наноцентра ТПУ (рисунок 16).



а



б

Рисунок 16 – Фото поверхности графитового электрода  
(увеличение в 1000 раз):

а – поверхность СУЭ; б – поверхность СУЭ-Ar-COOH

Помимо этого, были получены снимки поверхности электродов до модификации и после при помощи оптической микроскопии (рисунок 17)



а



б

Рисунок 17 – Фото поверхности графитового электрода  
(увеличение в 1000 раз):

а – поверхность ЗГЭ; б – поверхность ЗГЭ-Ar-COOH

Из-за неоднородности графитового электрода даже при увеличении наблюдается недостаточно четкая поверхность, дефекты которой проявляются в

виде ступеней, обнажающих края графитовых слоев (боковые плоскости). В связи с этим, неоднородность поверхности электрода выражена в энергетической неравноценности активных центров. Металлический модификатор, попадая на поверхность, распределяется по выгодным энергетическим центрам либо по дефектам поверхности (рисунок 17 а). На фото (рисунок 17 б) хорошо видно, что при нанесении на поверхность электрода соль арендиазония с заместителем – COOH, соли диазония предпочтительно «связываются» с центрами, покрытые золотом.

Таким образом, можно сказать, что модификация поверхности графитового и стеклоуглеродного электродов происходит не сплошной пленкой, а островками, лишь в энергетически выгодных активных центрах и в определенной последовательности.

Для дополнительного подтверждения наличия органических функциональных групп на поверхности МГЭ получен спектр отражения ИК поверхности МГЭ-COOH. В спектре (рисунок 18) наблюдаются полосы поглощения при 3659, 1685, 1590, 786  $\text{см}^{-1}$ , отвечающие карбоксильной группе и фенильному ядру.

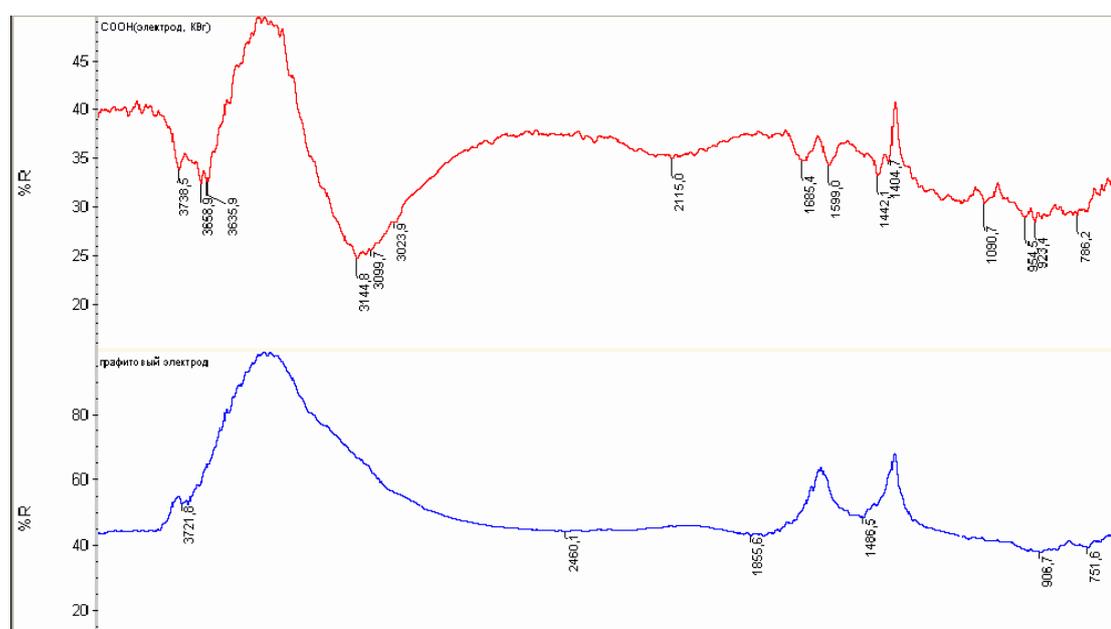
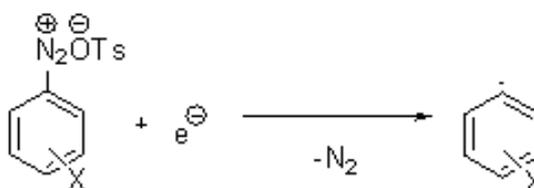


Рисунок 18 – Спектр отражения ИК поверхности ГЭ-Ar-COOH и графитового электрода

Таким образом, нами подтвержден вероятный механизм самопроизвольной модификации с образованием ковалентной связи:



где X – COOH, -CN, -NO<sub>2</sub>.

Рисунок 19 – Механизм самопроизвольной модификации с образованием ковалентной связи

Хотя методы ИК-Фурье и рамановской спектроскопии во многих случаях взаимозаменяемы и хорошо дополняют друг друга, существуют различия, которые следует учитывать при выборе того или иного метода на практике. Большинство молекул, обладающих симметрией, проявляют себя и в инфракрасном, и в рамановском спектрах. Особый случай представляют молекулы с центром инверсии. Если молекула обладает центром инверсии, то полосы рамановского рассеяния и ИК-полосы будут взаимоисключающими, то есть связь будет активна либо в рамановском, либо в ИК-спектре.

Существует общее правило: функциональные группы с сильными изменениями дипольного момента хорошо заметны в ИК-спектре, тогда как функциональные группы со слабыми изменениями или с высокой степенью симметрии лучше видны в рамановских спектрах.

Данный вид исследования применялся из-за того, что необходимо было выявить углеродные связи, которые трудно увидеть в ИК-спектрах, а данный вид исследования является весьма избирательным, что позволяет идентифицировать и дифференцировать молекулы и химические образцы. [76]

Помимо вышеизложенных методов, поверхность графитового и стеклоуглеродного электрода изучалась при помощи рамановской спектроскопии.

Получение рамановских спектральных изображений - это мощная методика для создания подробных химических изображений, основанных на рамановских спектрах образца. В каждой точке образца снимается полный спектр, затем на основе массива спектров создается псевдоцветное изображение, содержащее информацию о составе и структуре материала:

- Интенсивность рамановского пика позволяет визуализировать концентрацию и распределение вещества
- Положение рамановского пика дает изображение молекулярной структуры и фазы, внутренних напряжений
- Ширина рамановского пика выявляет кристаллическую структуру и фазу

Рамановские спектральные изображения предоставляют информацию об образце, которая не может быть получена с помощью традиционной оптической микроскопии. В частности, они могут использоваться для определения:

- Распределения компонент и определения размеров зерен или частиц.
- Изменений кристаллической структуры или фазы в образце
- Размера и формы частиц примесей
- Взаимодействия и смешивания компонент на границе фаз

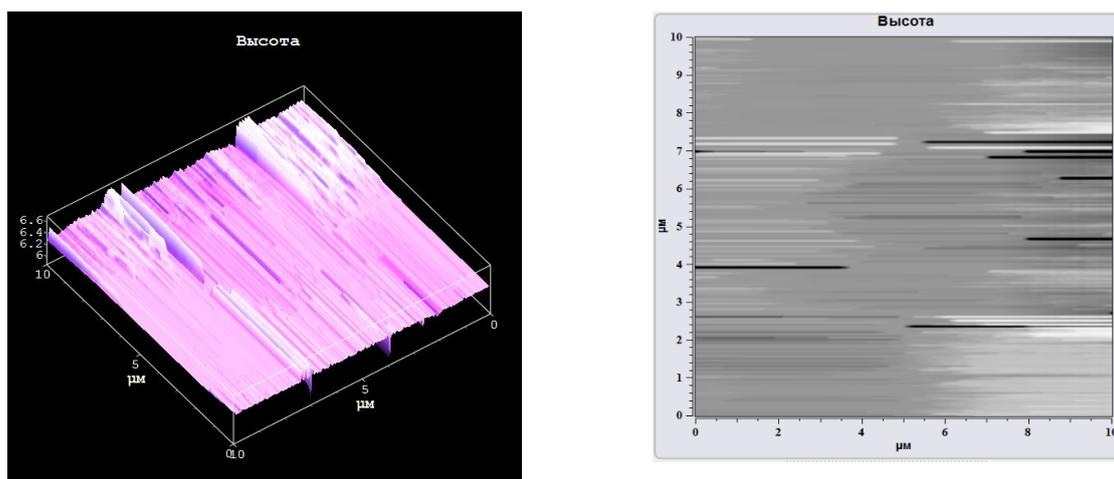


Рисунок 20 – Графитовый электрод, модифицированный АДТ с карбокси-группой

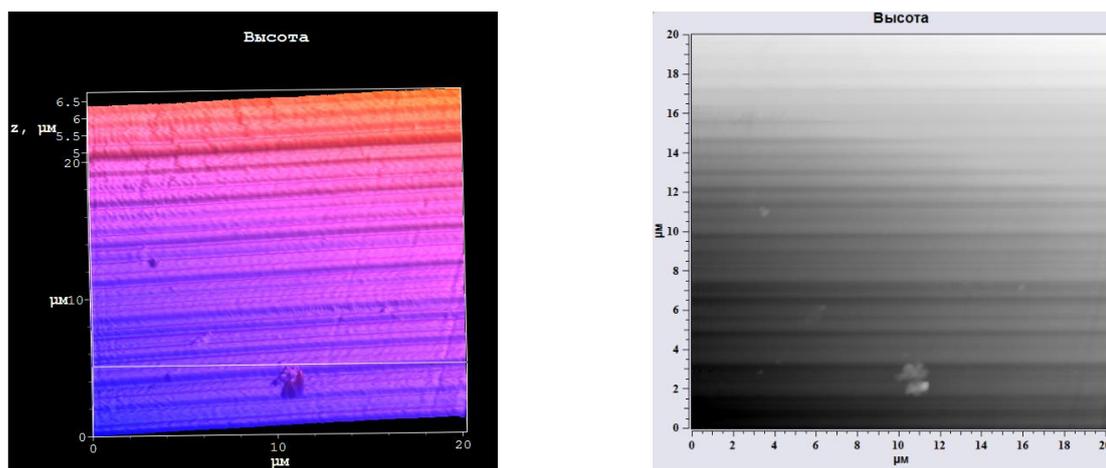


Рисунок 21 – Стеклоуглеродный электрод, модифицированный АДТ с нитро- группой

Как видно из рисунка 20 при модифицировании поверхности графита АДТ с карбокси-группой видно, что полученные частицы модификатора имеют удлиненную форму с высотой до нескольких микрон. Из-за большого размера частиц почти все они группируются в систему ансамблевых ультрамикродов, что существенно увеличивает эффективную площадь поверхности электрода. Анализ рисунка 21 показал, что морфология поверхности полосчатой части соответствует модификатору АДТ с нитрогруппой. высота частиц составляла менее 1 мкм и создание ансамбля ультрамикродов практически не наблюдалось, что подтверждается ранее полученными нами результатами.

### 3.3 Изучение вольтамперометрического поведения и устойчивости наночастиц железа в биологических жидкостях с использованием модифицированного УПЭ

Уникальные физические и химические свойства наночастиц металлов (в том числе на основе железа) позволяет использовать их в различных отраслях народного хозяйства из-за широкого спектра потенциального применения в медико-биологических, оптических и электронных приложениях [54, 55]. В

биологии и медицине наноматериалы используются, в частности, для разработки средств направленной доставки лекарственных препаратов в патологический очаг организма, в качестве магнитоуправляемого сорбента токсинов. Эффект или транспорт наночастиц часто реализуется в достаточно электрохимически агрессивной биологической среде, например, пищеварительного тракта (слюна, желудочный и кишечный сок), что способствует деградации наночастиц с выделением ионов, обладающих собственной, дополнительной токсичностью для организма, вызывающей полиорганную патологию [56]. В связи с расширением технологического применения наночастиц, растет угроза экологического загрязнения, при котором их поступление с водой и пищей, наряду с воздухом, представляется одним из основных путей попадания нанообъектов в организме человека и животных.

Для уменьшения вредного воздействия наночастиц на организм человека ведутся исследования по нанесению различных защитных покрытий на их поверхность, например, углеродными материалами и органическими веществами [57-61]. Поэтому остро стоят задачи качественной и количественной идентификации как самих наночастиц, так и продуктов их химического взаимодействия с теми средами, в которых они были помещены.

В научной литературе приводятся основные методы, используемые для оценки физических и химических показателей функциональных свойств наноматериалов. Такие исследования были проведены, например, авторами [62-67]. Кроме того, применяются высокочувствительные, достаточно недорогие вольтамперометрические методы. Для идентификации и количественного определения веществ в фазовом анализе полупроводников, материалов, обладающих сверхпроводимостью, используется метод вольтамперометрии с применением угольного пастового электрода [68-72].

Следует отметить, что в настоящее время практически отсутствуют данные об определении наночастиц на основе железа в биологических жидкостях методом вольтамперометрии с использованием угольного пастового электрода (СРЕ) [73, 74]. По этой причине, создание методик количественного определения

и идентификации наночастиц в биологических жидкостях методом вольтамперометрии является одной из актуальных задач.

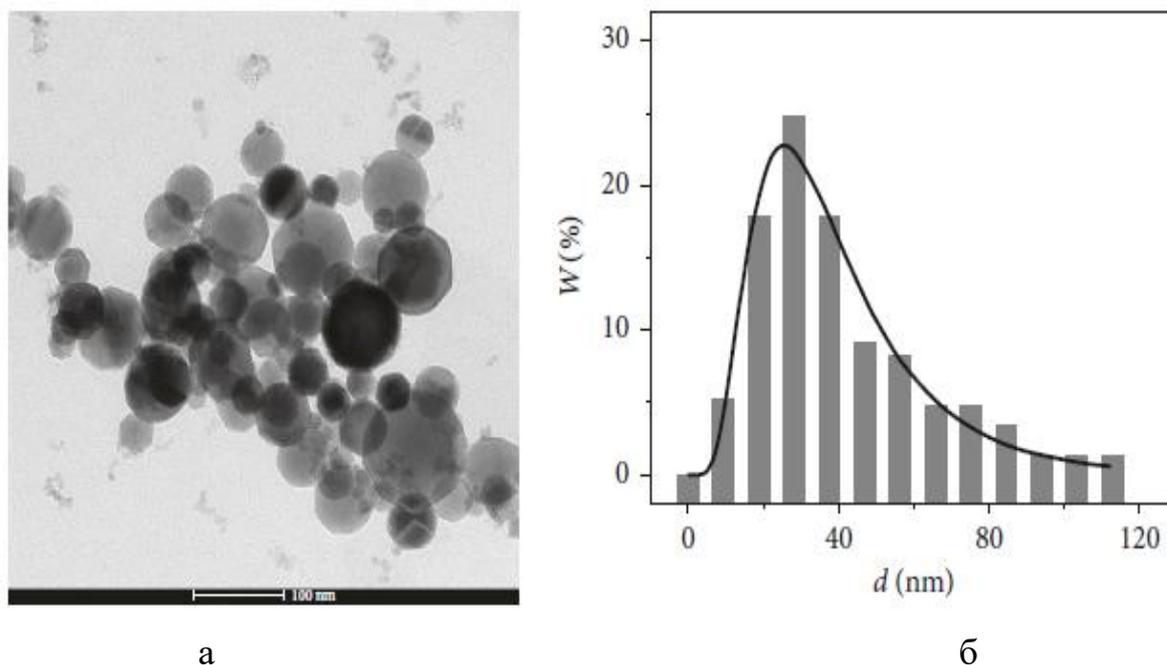


Рисунок 22 – Светлое поле (а) и распределение по размерам (б) наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

На рисунке 22 показано изображение просвечивающего электронного микроскопа (ПЭМ) и размер распределения наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) проводилась в лаборатории электронной микроскопии Новосибирского государственного технического университета (г.Новосибирск) с использованием просвечивающего микроскопа Tecnai 20 G2 TWIN, компании (США), для изучения морфологии и распределения по размерам магнитных наночастиц.

Согласно ПЭМ, наночастицы  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  имеют многогранную форму с округлыми краями (рисунок 22( а)). Анализ изображений ПЭМ показывает логнормальное распределение по размеру со средним значением 25 (6–110) нм (рисунок 22( б)).

Электрохимические превращения наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , наночастиц железа, покрытых слоем углерода и солями диазония с поверхности УПЭ при его катодной и анодной поляризации. Все исследования проведены в фоновом электролите  $0,02 \text{ моль/дм}^3$  раствора трилона Б (рН 3,5).

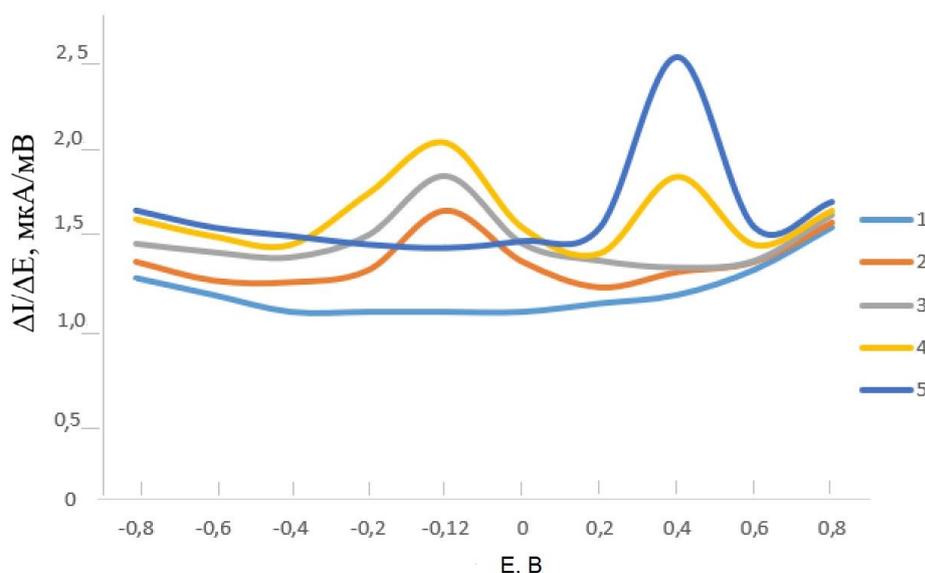


Рисунок 23 – Анодные вольтамперограммы наночастиц из УПЭ на фоне 0,02 М трилон Б, рН 3-4.

1 – фон 0,02М трилон Б, рН 3-4; 2 – наночастицы  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ;  
3 – наночастицы железа с углеродным покрытием; 4 – наночастицы железа с покрытием углеродом и солями диазония; 5 – соли диазония

Катодные и анодные вольтамперные кривые электропревращений различных наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  регистрировались в постоянно токовом режиме (1-ая производная) с изменением потенциала со скоростью 80 – 90 мВ/с в диапазоне -от +1,0 до -1,2 В катодная развертка; от -1,2 до +1,0 В (анодная развертка). Воспроизводимый аналитический сигнал наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  наблюдался только на анодной вольтамперной кривой при потенциале  $E = -0,12$  В (рисунок 23, кривая 2).

Поскольку анодный пик на вольтамперограмме происходит только после катодной поляризации угольно пастового электрода, он, скорее всего, связан с электрическим окислением железа (II) до железа (III) от наночастиц на поверхность УПЭ.

Анодная вольтамперограмма наночастиц углерода, покрытых железом (образец 2), также показала, как и следовало ожидать, только один анодный сигнал при потенциале,  $E = -0,12$  В (рисунок 23, кривая 3), совпадающая со

значением анодного пика потенциала наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (образец 1). Значение анодного пикового потенциала практически не изменилась с увеличением количества наночастиц в УПЭ. Следовательно, в качестве аналитического сигнала для идентификации и количественного определения твердофазных наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (образца 1) и углеродных наночастиц железа (образец 2) мы выбрали анодный пик при потенциале  $-(0,12 \pm 0,01)$  В, который был записан в анодном режиме после катодной поляризации электрода.

Для изучения влияния фонового электролита на вид вольтамперных кривых наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  из УПЭ (образца 1) и углеродных наночастиц железа (образец 2), проводилось выдерживание УПЭ с различным содержанием наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  в фоновом электролите без наложения потенциала на электрод в течение различного времени (от 1 до 30 минут).

Сохранение УПЭ с наночастицами образцов 1 и 2 в фоновом электролите в течение определенного времени не привело к изменению вольтамперметрических кривых, наблюдалось постоянное значение потенциала анодного пикового.

Величина максимального анодного тока с увеличением времени выдержки УПЭ с наночастицами  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  в фоновом растворе практически не уменьшилось. Незначительное уменьшение анодного тока наблюдалось только после выдержки УПЭ с наночастицами  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  в фоновом электролите в течение 20 минут и более, но не превышало погрешность измерения сигнала. Этот факт свидетельствует об отсутствии химического растворения (деградации) наночастиц с поверхности угольно пастового электрода в фоновый электролит и подтверждает тот факт, что аналитический сигнал напрямую связан с непосредственно электропревращениями  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  из УПЭ.

Кроме того, сохранение образцов 1 и 2 в фоновом электролите не привело к появлению дополнительных сигналов и анодному пиковому сдвигу. Это доказывает отсутствие формирования некоторых новых электрически активных соединений на поверхности УПЭ с наночастицами  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  и наночастицами железа с углеродным покрытием.

На анодного вольтамперной кривой наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , покрытых слоем углерода и солями диазония( образец 3), помимо пика( при потенциале  $(-0,12 \pm 0,01)$ ) наблюдался еще один дополнительный анодный сигнал при потенциальном  $E = (0,45 \pm 0,05)\text{В}$ ( рисунок 23, кривая 4), который, очевидно, связана с электр опрерращениями солей диазония. Этот факт подтверждает вольтамперограмма, приведенная на рисунке 23, кривая 5. На ней изображена вольтамперограмма солей диазония из УПЭ. Величина сигнала возрастала с увеличением концентрации солей диазония в УПЭ. Таким образом, аналитический сигнал при потенциале  $E = (-0,12 \pm 0,01)\text{В}$  из наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ( образец 1) с углеродным покрытием с поверхности УПЭ (образец 2) на анодной вольтамперограмме и аналитическом сигнале при потенциале  $E_{\text{п}} = (0,45 \pm 0,05)\text{В}$  наночастиц железа, покрытых слоем углерода и солей диазония (образец 3), можно использовать для их идентификации.

Значение анодных пиков в  $E_{\text{п}} = - (0,12 \pm 0,01)\text{В}$  в образцах 1 и 2 линейно увеличивалось с увеличением количества (весом %) наночастиц в УПЭ( рисунок 24), что позволяет использовать их для количественного изучения и определения наночастиц.

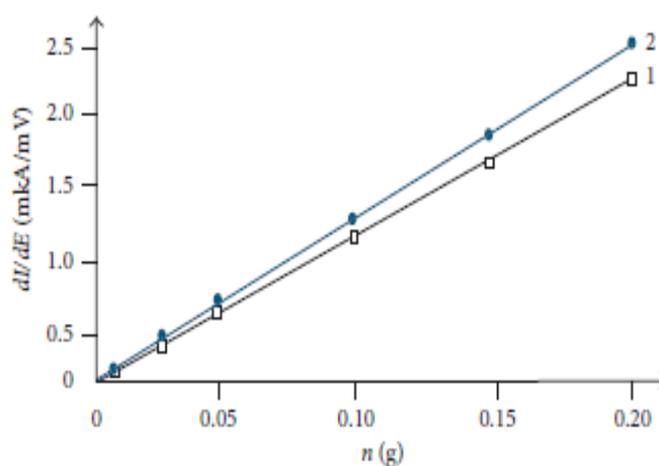


Рисунок 24 – Зависимость величины анодного пика при  $E_{\text{п}} = -(0,12 \pm 0,01)\text{В}$  на количественное содержание наночастиц в УПЭ. 1 - наночастицы  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  наночастицы; 2 - наночастицы железа в углеродной оболочке

Мы оценили количественное число наночастиц  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  и наночастиц железа в

оболочке углерода после контакта с физиологическим раствором (0,5 М NaCl) в течение 20 минут, используя метод солидной фазы вольтамперометрии в соответствии с калибровочной диаграммой, построенной для массовой фракции наночастицы Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (рисунок 24, кривая 1) и массовая фракция наночастиц железа в углеродной оболочке (рисунок 24, кривая 2) в углеродной пасте в диапазоне (0,3–15)%. Оценка количества наночастиц проводилась после отделения от физиологического раствора путем фильтрации, а затем их помещали в УПЭ и регистрировались аналитические сигналы. Оценка правильности результатов вольтамперометрического определения наночастиц в физиологическом растворе (P = 0.95; n = 3) с помощью метода «введено и найдено» была получена методом, и была получена удовлетворительная сходимость с ошибкой определения не более чем, чем, кроме 15%. Эти исследования показывают возможность использования метода вольтамперометрии с УПЭ не только для идентификации наночастиц на основе железа, но и для их количественного определения.

Как указывалось выше, помимо разработки методов идентификации и количественного определения твердофазных наночастиц на основе железа, большой интерес представляет изучение стабильности наночастиц с различными покрытиями (углеродные и диазониевые соли) в растворе желудочного сока. Естественно было предположить, что при нанесении наночастиц на моделируемый раствор желудочного сока будет происходить частичное химическое растворение. Нами предложен метод исследования стабильности(деградации) наночастиц железа после различных периодов времени контакта наночастиц с модельным желудочным соком путем определения растворенного в нем железа(III) методом инверсионной вольтамперометрии (ИВ).

При изучении деградации различных наночастиц образцы помещали в моделируемый раствор желудочного сока (0,1 моль/л HCl) и выдерживали в течение различных промежутков времени (от 1 до 22 часов).

Анализ модельного раствора желудочного сока после контакта с наночастицами на содержание ионов железа(III) проводили после фильтрования(отделения наночастиц от модельного раствора желудочного сока) методом ИВ с

использованием метода добавки в следующих условиях: режим вольтамперограмм постоянного тока (с регистрацией 1-й производной); поляризующее напряжение для электрического накопления  $E_э \leq -1,0$  В; скорость линейного изменения потенциала 80 мВ/с; фоновый электролит – 0,01 моль/дм<sup>3</sup> трилона Б.

В этих условиях потенциал аналитического сигнала на золотографитовом электроде (потенциал анодного пика трилонатного комплекса окисления железа) составляет  $E_p \leq -0,15$  В. На рисунке 25 дифференциальная ВА-кривая моделируемого раствора желудочного сока (кривая 1) на фоне трилона Б после контакта с наночастицами.

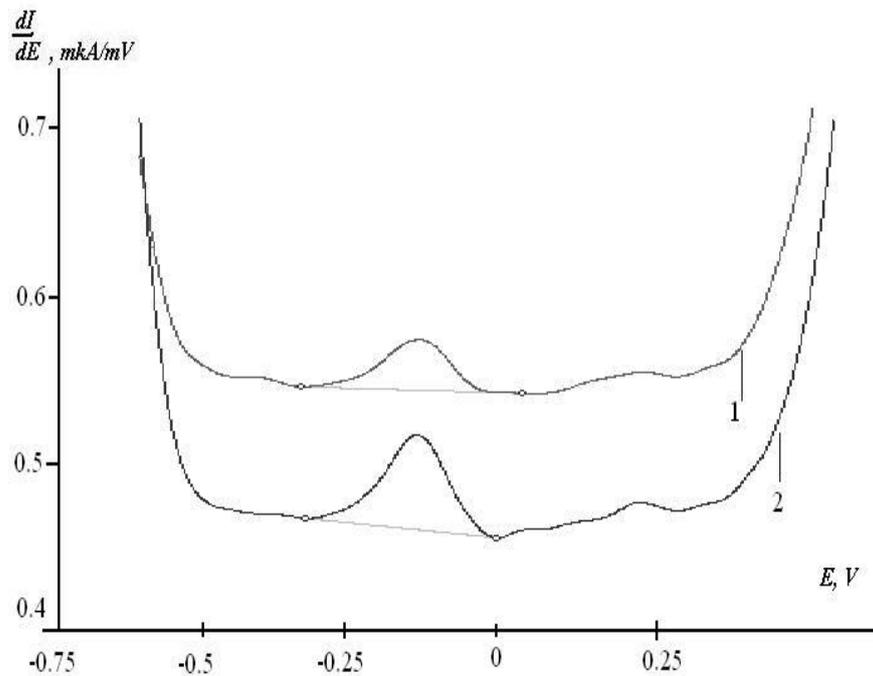


Рисунок 25 – Дифференциальные вольтамперограммы модельного раствора желудочного сока (1) и модельного раствора с добавкой железа (III)  $C = 0,1$  мг/дм<sup>3</sup> (2).

Фон - 0,01 М Трилон Б, золото-графитовый электрод

Потенциал анодного пика, полученный из исследуемых анализируемых растворов (находящихся в контакте с наночастицами), совпадает с потенциалом анодного пика ионов железа(III) и увеличивается при добавлении стандартного

раствора железа(III) (рисунок 25, кривая 2). что так или иначе доказывает наличие в исследуемом растворе железа(III), то есть химическое растворение наночастиц.

На рисунке 26, кривая 1, представлена зависимость величины анодного тока ионов железа от времени выдержки наночастиц без покрытия в растворе 0,1 М HCl.

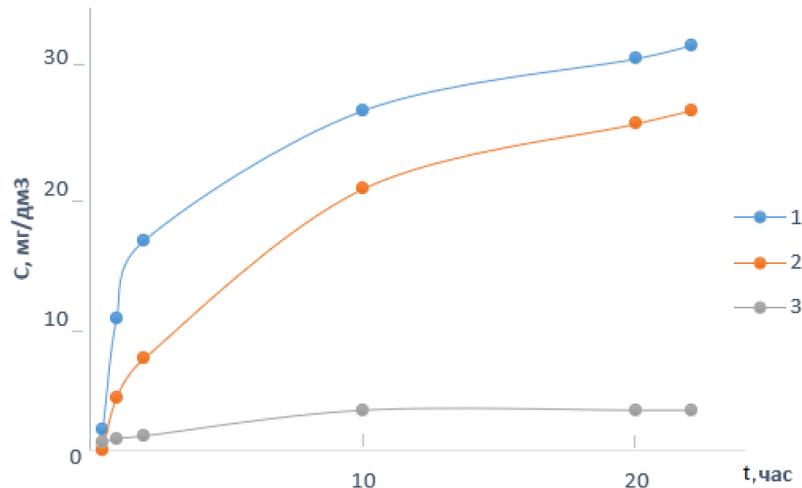


Рисунок 26 – Концентрация Fe<sup>3+</sup> в модельном растворе желудочного сока после выдержки наночастиц в течение различного времени в 0,1 М HCl.

- 1 – наночастицы Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>; 2 – наночастицы железа с углеродным покрытием;  
3 – наночастицы железа с покрытием углеродом и солями диазония

Проведенные исследования показали, что при непокрытом покрытии наночастиц Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (образец 1) практически сразу происходит химическое растворение наночастиц и появление ионов железа (III) в растворе 0,1 М HCl. Количество ионов железа (III), перешедших в раствор, возрастает примерно в 10 раз при увеличении времени выдержки до 120 мин (рисунок 26, кривая 1).

Для железосодержащих наночастиц с углеродным покрытием (образец 2) появление ионов железа(III) в исследуемом растворе желудочного сока наблюдали только после выдерживания их в 0,1 М растворе HCl в течение 1 часа (рисунок 26, кривая 2), что свидетельствует о большей стабильности таких наночастиц в модельном растворе по сравнению с наночастицами железа без углеродного покрытия.

При покрытии наночастиц железа слоем солей углерода и диазония (образец

3) и их помещении в моделируемый раствор желудочного сока наблюдалось повышение химической стабильности наночастиц в исследуемых интервалах времени. Ионы железа (III) появлялись в моделируемом растворе через 2 часа, а их концентрация в исследуемом растворе уменьшалась примерно в 3–5 раз по сравнению с предыдущим случаем( рисунок 2б, кривая 3).

Изучение стабильности наночастиц с различными покрытиями показало, что они наиболее устойчивы к агрессивным средам (например, желудочному соку), а следовательно, наночастицы, покрытые солями углерода и арендиазония, наименее вредны для организма человека.

Таким образом, для оценки стабильности наночастиц с различными покрытиями применим метод инверсионной вольтамперометрии, позволяющий в широком диапазоне определяемого содержания ионов железа (III) оценивать его с достаточной погрешностью. Метод вольтамперометрии твердых фаз применим для идентификации и количественного определения твердофазных наночастиц на основе железа.

## ГЛАВА 4. ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ НА МОДИФИЦИРОВАННОМ УГЛЕРОДСОДЕРЖАЮЩЕМ ЭЛЕКТРОДЕ

### 4.1 Вольтамперометрическое определение селена на модифицированном ртутью и медью графитовом электроде

Как известно, селен (Se) является одним из важных микроэлементов и сильным антиоксидантом, который участвует в биологических процессах организма человека. Недостаток селена приводит к снижению защиты организма и является одной из причин смерти и сокращения продолжительности жизни.[77] Алиментарный дефицит селена является причиной таких эндемических заболеваний как болезни Кешана и Кашина-Бека.[78] Прослеживается связь между недостаточным потреблением этого микроэлемента и онкологическими заболеваниями, сердечно-сосудистыми, некрозом печени, катарактой.

Токсичность селена зависит от состояния валентности. Селен (IV) обычно более токсичен, чем селен (VI). Хотя селен является важным микроэлементом, но при поглощении большого количества селена приводит к хроническим отравлениям. Селен имеет самый узкий диапазон между дефицитом питательных веществ (<40 мкг / день) и токсичностью (> 400 мкг / день) в отношении его потребления. [79-81]

К современным методам определения селена относятся: атомно-абсорбционный и флуориметрический методы, [82, 83] нейтронно-активационный анализ,[84] масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой,[85] атомно-флуоресцентная спектрофотометрия (AFS).[86] На сегодняшний день для количественного определения в биологических объектах используется атомно-абсорбционная спектрофотометрия (ААС).[87] Хотя традиционные методы очень чувствительны и избирательны, все же эти методы включают в себя дорогостоящее и сложное оборудование, дорогостоящие реагенты, высококвалифицированный персонал, длительную подготовку

образцов и процессы эксплуатации системы, что ограничивает их применения в медицинских лабораториях.

В качестве альтернативы, вольтамперометрические методы являются многообещающим инструментом для реализации автоматизированной и экспрессной системы благодаря их преимуществам с точки зрения высокой чувствительности, простой измерительной аппаратуры, возможности миниатюризации, удобства для пользователя, портативности и небольшого времени анализа. Однако эффективность этого метода сильно зависит от аналитических характеристик материала датчика или электрода. Метод инверсионной вольтамперометрии, широко используемый в настоящее время, применим для определения крайне низких концентраций определяемых компонентов и отличается высокой экспрессностью.

Характеристики чувствительного электрода, касающиеся отношения сигнал/шум, чувствительности, селективности, воспроизводимости, потенциального окна, долговременной стабильности, токсичности и стоимости, были основным показателем эффективности при исследовании материалов для вольтамперометрического зондирования неорганического селена.[88] В последние годы для определения селена в водных и биологических объектах наиболее часто используют твердые электроды (золото,[89-91] платина,[92-94] серебро[95,96] и графит [97,98]).

Среди них наиболее часто используются ртутно-графитовый (РГЭ) [99] в режиме «in situ», серебряный [100] и толстопленочный модифицированный графит (ТМГЭ) [101]. В последнее время широкое распространение получило использование менее токсичных и более стабильных углеродсодержащих электродов для электроаналитического определения селена(IV) с помощью трафаретных графитовых макроэлектродов,[102] в частности модифицированных графитовых, для определения в пробах воды и пищевых продуктов,[103] но для определения этого вида в биологических жидкостях диапазон определяемых содержаний не соответствует требованиям, и требуется дополнительная концентрация на этапе пробоподготовки, что удлиняет анализ реальных проб.

Поэтому, учитывая сложность матрицы, необходима разработка новых электродных материалов и их модификаторов, превосходящих традиционные углеродсодержащие электроды по чувствительности, воспроизводимости и другим метрологическим характеристикам. Для углеродных материалов поверхностей электродов наиболее часто используют методы ковалентной модификации, связанные с окислительными превращениями поверхности углеродного материала с использованием солей диазония.

В связи с этим предложенный здесь арендиазония тозилат (АДТ) показывает хорошую растворимость как в воде, так и в органических растворителях. Кроме того, более важным и актуальным является проведение модификации поверхности в водной среде в максимально мягких условиях. Использование АДТ для модификации поверхности вольтамперометрического электрода позволит получать модифицированные материалы с высоким содержанием активных групп.

Для определения низких содержаний селена ранее были рассмотрены два варианта вольтамперометрического определения - анодная вольтамперометрия на золото-графитовом электроде (ЗГЭ) и катодная вольтамперометрия на ртутно-графитовом электроде (РГЭ) [104] и в этих случаях электроактивным в растворе является селен (4+). В результате накопления селена на РГЭ образуется селенид, а на ЗГЭ - селен (0). Оказывают мешающее влияние анионы, образующие при анодной поляризации ЗГЭ нерастворимые осадки или комплексы, такие как, хлориды, хотя HCl используют для восстановления селена (6+) до (4+) [105, 106].

Проведены исследования катодного восстановления селена на фоновом электролите HCl (0,60 моль/дм<sup>3</sup>), в присутствии ртути (II) (3.10<sup>-5</sup> моль/дм<sup>3</sup>). На вольтамперограмме наблюдается пик селена при потенциале -0,55 В, что отражает процесс восстановления селенида ртути. При добавлении меди (II) (0,5 мг/дм<sup>3</sup>) на вольтамперограмме появляется новый пик (-0,7... -0,75 В), незначительно изменяющийся от концентрации меди (II) до 3,0 мг/дм<sup>3</sup> и обусловленный восстановлением селена из селенида меди (рисунк 27).

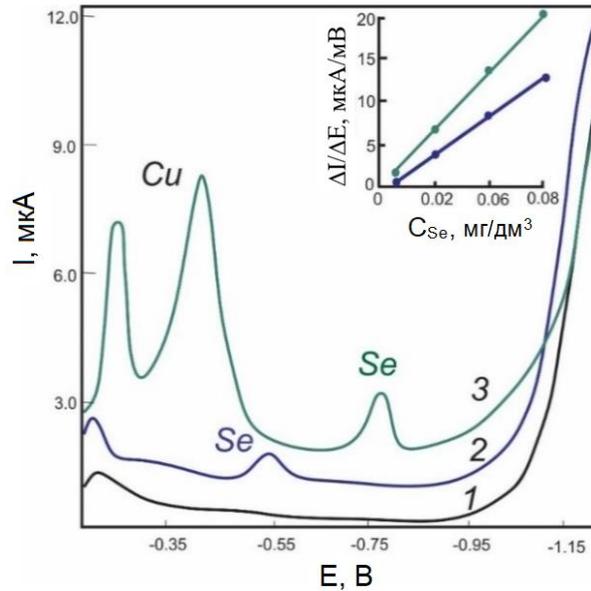
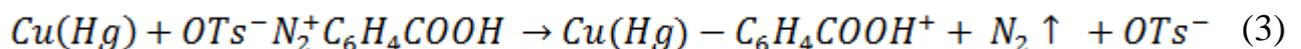
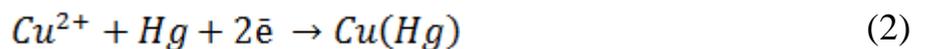


Рисунок 27 – Вольтамперограммы электровосстановления селена на РГЭ на фоновом электролите ( $\text{HCl } 0,6 \text{ моль/дм}^3 + \text{Hg}^{2+} 100 \text{ мг/дм}^3$ ) в отсутствие и в присутствии меди.

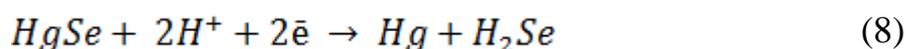
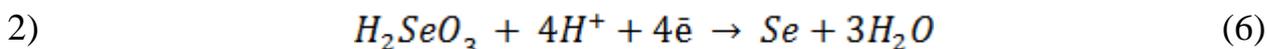
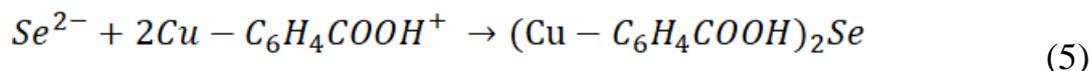
1 - фоновая кривая; 2 - добавки –  $0,020 \text{ мг/дм}^3 \text{ Se}^{4+}$  ;

3 -  $0,020 \text{ мг/дм}^3 \text{ Se}^{4+} + 2 \text{ мг/дм}^3 \text{ Cu}^{2+}$ .

На вольтамперограмме наблюдается увеличение пика селена в присутствие ионов меди и можно сделать предположения, что медь образует комплексы с селеном, известные как селениды меди состава  $\text{Cu}_2\text{Se}$ ,  $\text{CuSe}$  и  $\text{Cu}_3\text{Se}_2$ , которые увеличивают чувствительность сигнала  $\text{Se}(\text{Hg})$  системы  $\text{HgSe}$  за счет более высокой растворимости из соединений  $\text{Cu}_x\text{Se}_x$ , при использовании РГЭ с добавкой меди. Механизм электродного процесса можно описать, как:



Далее, представлен процесс электроконцентрирования селена на поверхности модифицированного электрода:



Таким образом, накопление селена происходит по двум механизмам. Аналитический сигнал селена возрастает по сравнению с традиционными методами. Это хорошо согласуется с литературными данными [107].

#### 4.2 Определение селена на графитовых электродах, модифицированных солями АДТ с различными заместителями

Значительные исследовательские усилия были предприняты в отношении способов модификации электродов для достижения хорошей чувствительности определения селена путем применения новых органических модификаторов. Ранее авторами показано, что для поверхностной модификации углеродсодержащих электродов наиболее перспективными органическими агентами являются арендиазоний тозилаты  $ArN_2^+OTs^-$ , которые стабильны, хорошо растворимы в воде и во многих органических растворителях.

Изучено вольтамперометрическое поведение селенит-ионов на фоне 0,6М HCl на графитовых электродах, модифицированных солями арендиазония. В качестве модификаторов использованы арендиазоний тозилаты  $ArN_2^+OTs^-$  с различными заместителями (где: Ar = p-CNC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; p-HOOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> и p-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>).

Впервые изучено вольтамперометрическое поведение селенит-ионов на фоне 0,6М HCl на РГЭ-Cu, модифицированных солями арендиазония. Использовались те же самые модификаторы. Структурные формулы арендиазоний тозилатов

представлены на рисунок 28.

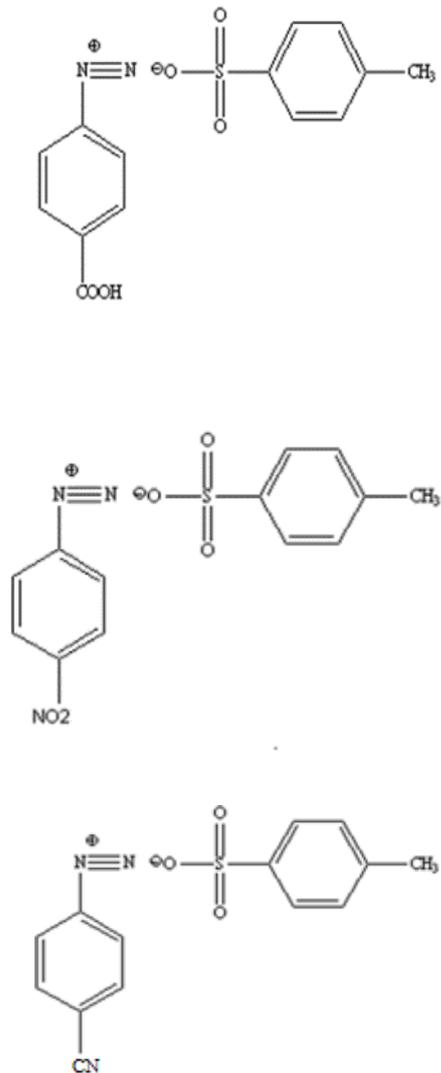


Рисунок 28 – Структурные формулы аренидазоний тозилатов с различными заместителями

Для объяснения процессов, происходящих на поверхности, были получены данные зондовой микроскопии поверхности электрода при различных концентрациях модификатора. По этим результатам можно предположить, что при концентрации 10 мг/л на поверхности формируется система ансамбля. Основное их преимущество перед электродами обычных размеров состоит в том, что емкостная составляющая тока, являющаяся лимитирующим фактором для быстрых электрохимических процессов на твердых электродах, на

ультрамикроэлектродах снижается до практически незначительного уровня. Скорость массопереноса деполяризатора к ним также увеличивается с уменьшением их диаметра, а стационарное состояние достигается значительно быстрее, чем на электродах обычных размеров, что значительно повышает чувствительность аналитического сигнала.

Также, была получена вольтамперограмма электроокисления селенит-ионов на органо-модифицированном электроде с добавками металлических модификаторов (медь и ртуть), нанесенными в режиме «in situ» (рисунок 29 С и Д).

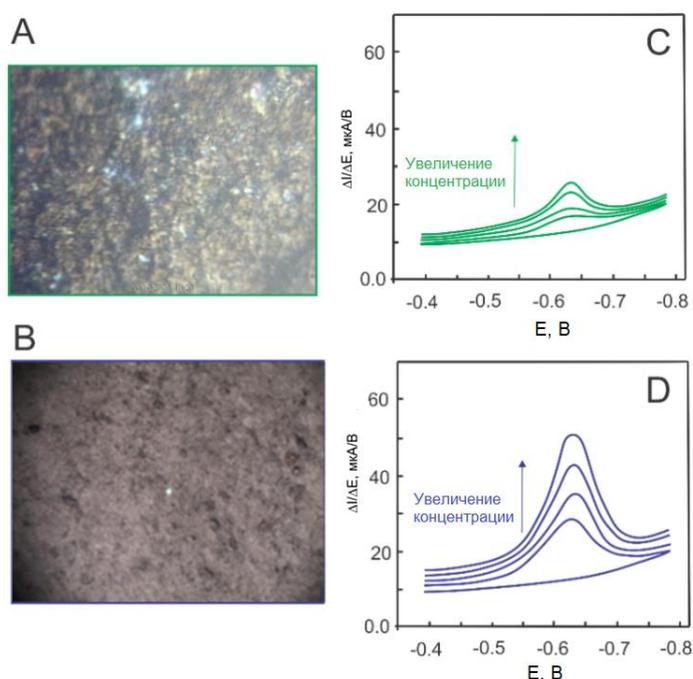


Рисунок 29 – Изображения поверхностей РГЭ-Cu методом СЭМ до (А) и после модификации  $\text{ArN}_2^+\text{OTs-COOH}$  (В), а также вольтамперограммы восстановления селена до (С) и после модификации  $\text{ArN}_2^+\text{OTs-COOH}$  (D).

Условия: фоновый электролит  $\text{HCl } 0,6\text{M} + \text{Cu}^{2+} (100 \text{ мг/дм}^3) + \text{Hg}^{2+} (100 \text{ мг/дм}^3)$ .

Концентрация  $\text{Se}^{4+}$  увеличивалась от 0,01 до 0,08 мг/дм<sup>3</sup>.

В процессе исследований показана возможность регистрации аналитического сигнала селена на РГЭ-Cu, модифицированного  $\text{ArN}_2^+\text{OTs-COOH}$  в присутствии растворенного кислорода. Полученные результаты показали применимость

разработанного электрода для определения селена в присутствии кислорода.

### 4.3 Оценка обратимости процессов электроокисления-восстановления селена на органо-модифицированном электроде

Для установления лимитирующей стадии электродного процесса и изучения механизма электровосстановления селена исследовали методом инверсионной вольтамперометрии. Механизм электроокисления селена на органо-модифицированном электроде на фоне 0,6 М HCL ранее не исследовался, поэтому их изучение представляет практический интерес.

Исследована обратимость электродного процесса электроокисления селена на органо-модифицированном электроде на фоне 0,6 М HCL.

Характер изменения потенциала анодного пика селена от логарифма скорости изменения потенциала, и тока пика от количества электричества при электроокислении селена на органо-модифицированном электроде на фоне 0,6 М HCl представлены на рисунках 30 и 31.

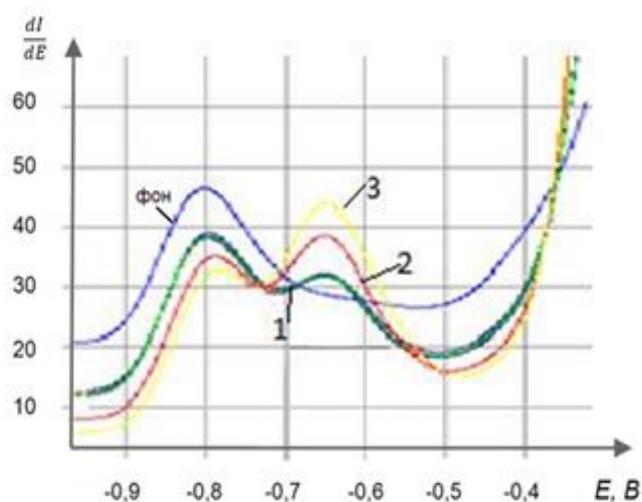


Рисунок 30 – Вольтамперограмма электроокисления селенит-ионов на модифицированных электродах

Условия: Фон HCl 0,6M +  $\text{Cu}^{2+}$  100 мг/дм<sup>3</sup> +  $\text{Hg}^{2+}$  100 мг/дм<sup>3</sup>

1- 3ГЭ-Cu (МГЭ); 2- МГЭ –COOH без газ N<sub>2</sub>; 3- МГЭ –COOH + газ N<sub>2</sub>

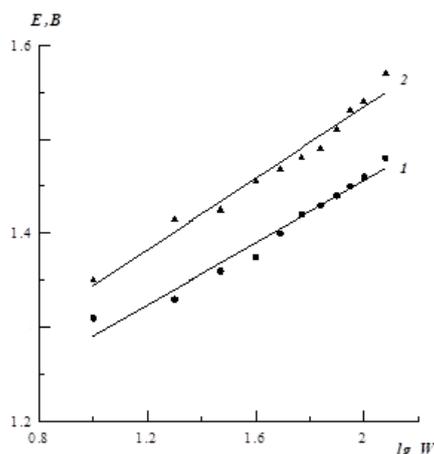


Рисунок 31 – Зависимость потенциала пика селена от логарифма скорости развертки потенциала

Фон 0,6 М НСl ,  $C = 5 \cdot 10^{-4}$  моль/л:

1–покоящийся ОМЭ; 2–вращающийся СУЭ,  $\omega = 300$  об/мин

Отношение тангенсов углов наклона прямых 1 и 2 в координатах  $E - \lg w$  составляет 1,412. Отношение тангенсов углов наклона прямых 1 и 2 в координатах  $I - Q$  для покоящегося и вращающегося электродов равно 0,965 (для обратимого процесса - 0,79).

Дополнительным критерием необратимого протекания процесса электроокисления селена на органо-модифицированном электроде может служить разница потенциалов пиков и полупиков вольтамперных кривых.

$$\Delta E_{\text{па}} = E_{\text{па}} - E_{\text{па}/2} = \frac{1,857RT}{\beta z_{\beta} F} = \frac{0,048}{\beta z_{\beta}}. \quad (6)$$

Из уравнения 6 можно рассчитать число электронов, участвующих в анодном процессе. Подставляя экспериментальные данные потенциалов пика и полупика, получаем:

$$-0.652\text{В} - (-0.696\text{В}) = \frac{0,048}{\beta z_{\beta}}; \quad (7)$$

$\beta_Z = 1.09$ , если допустить, что  $\beta = 0.5$ , то число электронов, участвующие в процессе соответствует 2.

Таким образом, полученные опытные данные показывают, что электроокисление селена на ОМЭ протекает практически необратимо, т.е. замедленной стадией является стадия переноса электрона.

#### **4.4 Совместное определение ртути и меди в биологических объектах**

Аналитический контроль за содержанием микроэлементов в биологических и экологических объектах является актуальной задачей, которая способствует сохранению и поддержанию здоровья. [113-115] Необходим непосредственный мониторинг микроэлементов и веществ от поступления, до выведения из организма человека посредством изучения биологических материалов, полученных не только инвазивными способами (кровь, плазма, ткани и др.), но также и семантическими (моча, волосы, ногти и др.). В связи с этим, перед учеными-аналитиками поставлена цель: создание новых электрохимических сенсоров, обладающие высокой чувствительностью и селективностью определения микроэлементов в широком диапазоне определяемых содержаний. [116-120]

Для определения микроэлементов в организме человека (волосы, моча, цельная кровь, зубная дентин, слюна и т.д.) в настоящее время в диагностической практике применяют традиционные методы. Для анализа крови и мочи эти методы уже давно используются многими медицинскими специалистами для тестирования интоксикации в организме человека, другие, электрохимические (определение свинца, кадмия и др. в волосах, костной ткани) – только сейчас входят в широкую, повсеместную практику. Волосы могут быть как индикатором для оценки экологической обстановки, так и количественным показателем содержания в органах и тканях тела человека некоторых микроэлементов.

Правомерность и эффективность использования волос в анализе доказана результатами нескольких международных координированных программ, выполненных под эгидой Международного агентства по атомной энергии (МАГАТЭ).

Дисбаланс содержания меди в организме приводит к различным функциональным нервным расстройствам, болезням печени и почек, отрицательно сказывается на кроветворении, функциях щитовидной железы. Отравление соединениями ртути приводит к психическим нарушениям, тахикардии, нарушению зрения и слуха, мозжечковой атаксии.

Исследовалась возможность совместного вольтамперометрического определения меди и ртути на графитовых электродах, модифицированных золотом и солями арендиазония, а также в выборе рабочих условий измерений и разработке методики их определения в волосах человека.

На рисунке 32 показаны градуировочные зависимости для меди на графитовом модифицированном электроде (фон – 0.1М HNO<sub>3</sub>) в условиях полярографирования с применением и без использования УФ.

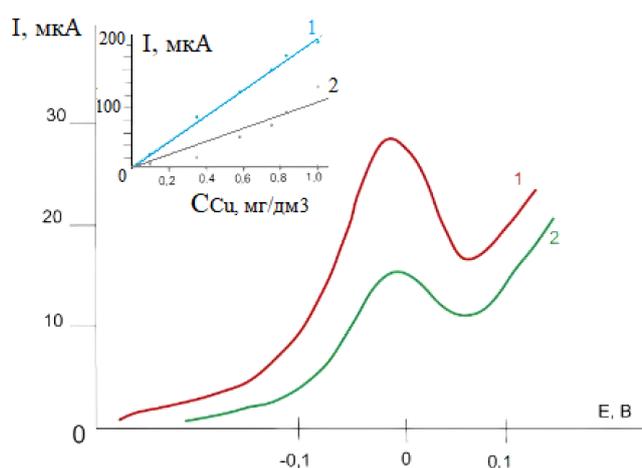


Рисунок 32 – Вольтамперограмма меди и градуировочные кривые, полученные на различных электродах. Условия:  $\tau_3 = 60$  с; 2-х электродная система;  $W = 70$  мВ/сек,  $E_{\text{нак.}} = -0.8$  В: 1 – МГЭ-СООН без УФ на фоне, 0.1М HNO<sub>3</sub>; 2– РПЭ с УФ на фоне HCOOH.

Из рисунка 32 видно, что чувствительность у графитового модифицированного электрода на фоне 0.1 М  $\text{HNO}_3$  возросла и данный электрод по чувствительности не уступает ртутно-пленочному электроду.

Ранее ртуть определяли на графитовом электроде в присутствии модификатора золота, нанесенного в режиме «*in-situ*» (ЗГЭ). Выбирая в качестве модификатора золото для определения ртути, можно значительно сдвинуть потенциал электронакопления в положительную область за счет образования интерметаллического соединения, что позволяет определять меньшие концентрации ртути и устранять мешающее влияние ионов, которые при этом потенциале не накапливаются. Таким образом, использование золота позволяет получить условия устойчивого определения ртути на уровне  $10^{-2}$  мкг/дм<sup>3</sup> [121]. Для повышения чувствительности ЗГЭ в режиме «*in-situ*» нами предлагается нанесение дополнительного модификатора арендиазония с карбокси-группой.

На рисунке 33 представлена зависимость тока пика ртути на ЗГЭ и МЗГЭ с карбокси-группой.

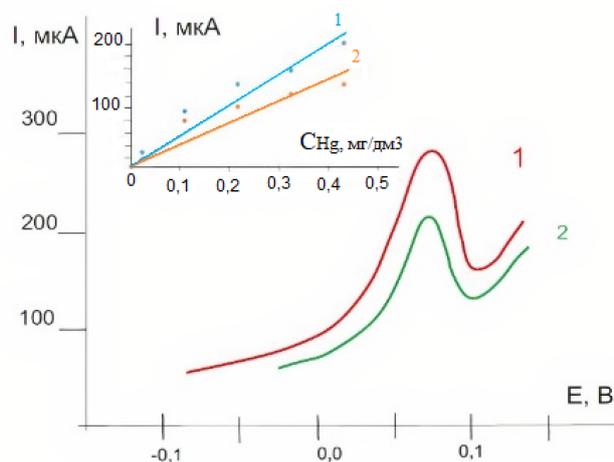


Рисунок 33 – Вольтамперограмма ртути и градуировочные кривые, полученные на различных модифицированных электродах.

Условия:  $\tau_э = 60$  с; 2-х электродная система; фон 0.1 М  $\text{HNO}_3$ :

1 – МЗГЭ с карбокси-группой; 2 – ЗГЭ.

На рисунке 34 приведена циклическая вольтамперограмма совместного определения меди и ртути на золото-графитовом электроде модифицированном арендиазонием с карбокси-группой при различном содержании определяемых элементов.

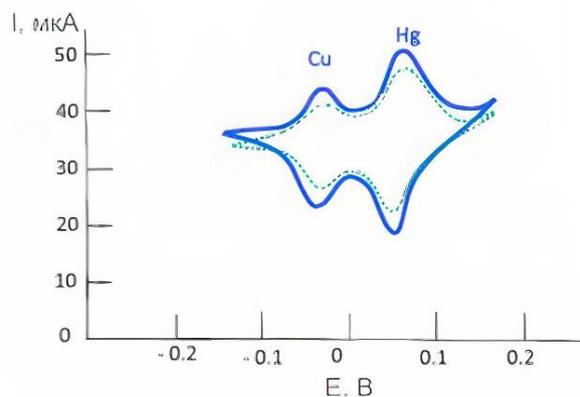
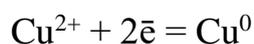


Рисунок 34 – Циклическая вольтамперограмма совместного определения меди и ртути на золото-графитовом электроде модифицированном арендиазонием с карбокси-группой.

Фон 0.1 М HNO<sub>3</sub>; W = 70 мВ/сек, E<sub>нак.</sub> = -0.8 В: 1 – Cu 0.05 мг/дм<sup>3</sup>,  
Hg 0.14 мг/дм<sup>3</sup>; 2 – Cu 0.10 мг/дм<sup>3</sup>, Hg 0.20 мг/дм<sup>3</sup>.

Полученный модифицированный электрод может работать более 2-3 рабочих дней без обновления поверхности.

При изучении механизма электродного процесса восстановления двухвалентной меди происходит следующее [122]:



Как показано в работе [123], электроосаждение меди происходит в две стадии:

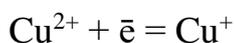
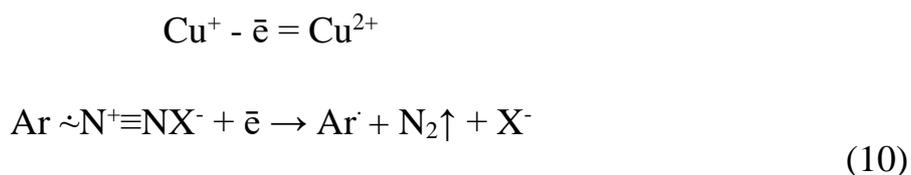
медленная стадия



быстрая стадия



Механизм модификации поверхности тозилатными солями арендиазония выглядит следующим образом:



На основе полученных данных по электрохимическому поведению меди и ртути на новом модифицированном сенсоре разработан алгоритм методики количественного определения этих микроэлементов для осуществления эффективного контроля за обнаружением минимально допустимых количеств их в волосах. Пробоподготовку волос проводили по методике МУ 08-47/197. Методика внесена в Государственный Реестр методик выполнения измерений, применяемых в сферах распространения государственного метрологического контроля и надзора ФР.1.31.2006.02273.

#### **4.5 Сравнение предлагаемого электрода с ранее известными модифицированными электродами для одновременного определения $\text{Hg}^{2+}$ и $\text{Cu}^{2+}$**

Сравнение предлагаемых модифицированных с ранее известными модифицированными электродами для одновременного определения  $\text{Hg}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  приведено в таблице 2.

Сравнение некоторых характеристик различных модифицированных электродов для вольтамперометрического определения  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Hg}^{2+}$ .

Электрод	Аналит	Линейный диапазон (нг/мл <sup>-1</sup> )	LOD (нг/мл <sup>-1</sup> )	Ссылка
Золотой электрод, модифицированный меркаптоэтансульфонатом	Cu	317.7–3177	281.4	[124]
	Hg	–	–	
Графито-полиуретановый электрод, модифицированный БТСБА	Cu	–	0.8	[125]
	Hg	–	0.6	
Вибрирующий электрод из золотой микропроволоки	Cu	0.3–20.0	0.3	[125]
	Hg	0.06–2.0	0.06	
Вибрирующий электрод из золотой микропроволоки	Cu	0.4	0.4–30	[126]
	Hg	0.2	0.2–20	
Графитовый электрод, модифицированный Au и солями арендиазония	Cu	0.8– 3200.0	0.2	[127]
	Hg	0.1–2000.0	0.05	

Как видно из данной таблицы, линейный диапазон этой работы настолько шире, чем у других описанных электродов, а также предел обнаружения предлагаемого электрода намного лучше, чем что для электродов, о которых сообщалось ранее [124-127].

В результате проведенных исследований разработан высокочувствительный электрохимический сенсор для совместного определения меди и ртути в волосах. Золото-графитовый электрод был успешно модифицирован арендиазониевыми

тозилатами и полученные результаты показали высокую чувствительность и селективность по сравнению с золото-графитовым электродом.

Изучено влияние концентрации модификатора арендиазоний тозилаты  $\text{ArN}_2^+\text{OTs}^-$  и различные заместители. Кроме того, было продемонстрировано аналитическое применение полученного нового электрода для анализа образцов волос. Установлены основные рабочие параметры вольтамперометрического совместного определения микроэлементов и предложена методика их определения. Время анализа одной пробы при анализе волос сокращено до 25 минут. Проверку правильности проводили методом «введено-найдено».

Установлен линейный диапазон определяемых концентраций при вольтамперометрическом определении микроэлементов на модифицированном арендиазонием золото-графитовом электроде – от 0.1 до 12 мкг/г. Погрешность их определения не превышала 25%. Методика отличается простотой исполнения, минимальным расходом реактивов и улучшенными метрологическими характеристиками.

## ГЛАВА 5. МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИХ МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ

Электроаналитические методы анализа занимают достойное место среди других инструментальных методов. Обладая высокой чувствительностью, селективностью, доступностью, данные методы находят большое применение для экспрессной оценки качества и безопасности исследуемых образцов. Современной тенденцией является создание безопасных модифицированных электрохимических сенсоров для количественного определения неорганических элементов в различных объектах.

Разработанная вольтамперометрическая методика количественного химического анализа для определения селена в биологических объектах имеет преимущества перед другими, ранее известными методами. Она отличается высокой чувствительностью с хорошей воспроизводимостью получаемых аналитических сигналов, а также простотой исполнения пробоподготовки и аппаратного обеспечения.

*Алгоритм* вольтамперометрического определения селена в крови включает следующие стадии:

1. Взятие пробы сыворотки пробы
2. Обработка 6М раствором концентрированной азотной кислоты объемом 2 см<sup>3</sup>,  $t^0 = 90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\tau = 40$  минут
3. Упаривание с H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 см<sup>3</sup>) при  $t_0 = 150\text{ }^{\circ}\text{C}$  до влажных солей
4. Восстановление Se<sup>+6</sup> до Se<sup>+4</sup> в присутствии 6М HCl,  $t^0 = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\tau = 15-20$  минут
5. Вольтамперометрическое определение селена в образцах сыворотки крови

На рисунке 35 представлена градуировочная зависимость селенит-ионов на графитовых электродах, модифицированные ртутью, медью и солями арендиазония с различными заместителями

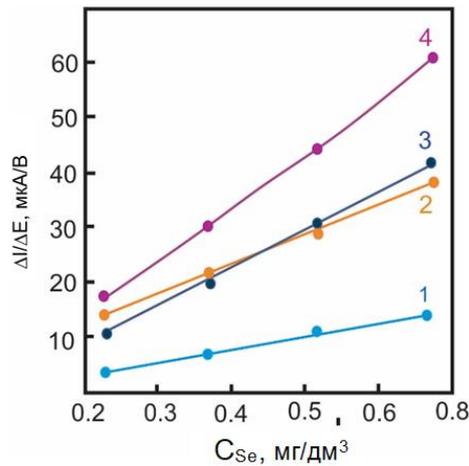


Рисунок 35 – Градуировочная зависимость селенит-ионов на графитовых электродах, модифицированных солями ртути, меди и арендиазония с различными заместителями. Условия: фон – 0,6 М НСl +  $Cu^{2+}$  100 мг/л +  $Hg^{2+}$  100 мг/л + газ  $N_2$ ; 1 - РГЭ–Cu; 2 - РГЭ Cu–NO<sub>2</sub> (20 мг/л); 3 - РГЭ–Cu–CN (20 мг/л); 4 - РГЭ–Cu–COOH (20 мг/л).  $E_э = 0,80$  В, режим первой производной тока по потенциалу со ступенчатым изменением потенциала.

На основании полученных уравнений линейной корреляции были рассчитаны коэффициент корреляции ( $r$ ) и коэффициент детерминации ( $r^2$ ) (таблица 3), позволяющие дать оценку адекватности построенным уравнениям регрессии по критерию Фишера.

Таблица 3

Коэффициент корреляции и коэффициент детерминации

Состав электрода	Уравнение регрессии	$r$	$r^2$	Критерий Фишера (F)	Значимость F-критерия $p < 0.05$
РГЭ-Cu	$y = 1.29 + 13.07 * x$	0.9564	0.9147	21.4	0.043
РГЭ-Cu - NO <sub>2</sub>	$y = 3.58 + 36.13 * x$	0.9880	0.9763	82.3	0.012
РГЭ-Cu -CN	$y = 2.60 + 34.00 * x$	0.9954	0.9909	216	0.005
РГЭ-Cu - COOH	$y = 3.49 + 71.07 * x$	0.9959	0.9918	243	0.004

Как видно из рисунка 35 и таблицы 3, что при использовании органического модификатора арендиазоний тозилат  $\text{AgN}_2^+\text{OTs}^-$  значительно увеличивается аналитический сигнал селенит-ионов на графитовых электродах с металлическими модификаторами Hg и Cu. Оценка значимости F-критерия доказывает наличие линейной зависимости величины аналитического сигнала от концентрации селенит-иона, полученного на всех исследуемых модификациях электродов.

Неопределенность результатов измерений зависит от количества входных величин, которые могут вносить существенный вклад в конечную составляющую ошибку результата. Выходной величиной является массовая концентрация селенит-иона. На диаграмме показаны «причино-следственная» связь измерительного процесса для вольтамперометрического метода.



Рисунок 36 – Причино-следственная диаграмма факторов, влияющих на точность измерения селенит-иона методом вольтамперометрии

Неопределенность измерений включает случайную составляющую - неопределенность типа А и источники, связанные с априорной информацией - неопределенность типа В. Стандартная неопределенность типа В вычисляется

путем суммирования составляющих неопределенности, обусловленных инструментальными и методическими составляющими. Инструментальные источники неопределенности измеряются непосредственно в ходе анализа. Инструментальными источниками неопределенности, характерными для потенциометрического метода являются: неопределенности измерений потенциала от концентрации (активности) определяющих ионов. Методические источники неопределенности, от выполняемых операций по разработанной методике, определялись путем проведения многофакторного эксперимента, результаты которого подвергались регрессионному анализу.

Оценка показателя повторяемости выполнялась в соответствии с РМГ 61-2010 (п.5.2.1., С. 15-17) и РМГ 76-2014 (Приложение Б, п. Б.3.2.3., С. 66-67).

Для этого рассчитывали среднее арифметическое значение  $\overline{X_{ml}}$  и выборочную дисперсию  $S_{ml}^2$  результатов единичного анализа содержаний селенит-иона в образце для оценивания( ОО), полученных в условиях повторяемости (параллельные определения), по ним оценивали среднее квадратичное отклонение (СКО), характеризующие повторяемость результатов единичного анализа.

$$\overline{X_{ml}} = (\sum_{i=1}^n x_{mli})/n; \quad (11)$$

$$S_{ml}^2 = (\sum_{i=1}^n (x_{mli} - \overline{x_{ml}})^2)/n - 1; \quad (12)$$

где  $\overline{X_{ml}}$  – среднее арифметическое значение;

$S_{ml}^2$  – выборочная дисперсия;

$m = 1, \dots, M$  (число образцов);  $l = 1, \dots, L$  (число контрольных измерений).

Далее показатель повторяемости результатов анализа в виде среднего квадратичного( стандартного) отклонения результатов, полученных в условиях повторяемости( СКО,  $u_r$ ) для содержаний селенит-иона в  $m$ -м образце, устанавливали, принимая равным  $S_r$ . СКО рассчитывают по формуле:

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{m=1}^M (S_{mi})^2}{M}}; \quad (13)$$

$$u_r = S_r. \quad (14)$$

Неопределенность измерений по каждой модификации электродов была установлена по относительному среднеквадратическому отклонению результатов анализа четырех водных эталонов различных концентраций селена. Используемые концентрации и соответствующие процентные доли RSD (%) приведены в таблице 4.

Таблица 4

Модифицирующие агенты и введенное ( $C_{st}$ ) и найденное ( $C$ ) содержание селена в стандартных образцах водных растворов.

$C_{st}$ , мг/дм <sup>3</sup>	РГЭ-Cu		РГЭ-Cu- COOH		РГЭ-Cu -CN		РГЭ-Cu -NO <sub>2</sub>	
	$C$ , мг/дм <sup>3</sup>	RSD (%)						
0.020	0.018	10.0	0.017	15.0	0.022	10.0	0.021	5.0
0.040	0.038	5.0	0.037	7.5	0.039	2.5	0.039	2.5
0.060	0.063	5.0	0.058	3.3	0.061	1.7	0.061	1.7
1.00	1.02	2.0	0.98	2.0	0.97	3.0	1.01	1.0

Кроме того, изучено влияние концентрации модификатора  $ArN_2^+OTs^-$  АДТ на поверхность металл-модифицированного электрода( таблица 5). Можно заметить, что при концентрации модификатора  $C = 10$  мг/л высота аналитического сигнала селена максимальна, и в дальнейшем эти условия были выбраны для дальнейших

исследований, так как с увеличением концентрации модификатора, происходит резкое снижение аналитического сигнала.

Таблица 5

Влияние концентрации модификатора на поверхности графитового электрода на высоту пика селена. Модификатор - арендиазоний тозилаты  $\text{ArN}_2^+\text{OTs}-\text{COOH}$  ( $C(\text{Se}^{4+}) = 0,08 \text{ мг/дм}^3$ )

Концентрация модификатора, мг/дм <sup>3</sup>	5.0	10.0	20.0	60.0
Ток пика $\text{Se}^{4+}$ (А)	64.4	80.4	60.8	8.36
RSD (%)	10.4	9.2	9.5	7.5

В процессе исследований показана возможность регистрации аналитического сигнала селена на РГЭ-Cu, модифицированного  $\text{ArN}_2^+\text{OTs}-\text{COOH}$  в присутствии растворенного кислорода (таблица 6).

Таблица 6

Сравнение пределов обнаружения (LOD) селена на различных электродах\*

Электрод	Линейный диапазон (мг/л)	LOD (мг/л)	Ссылка на литературу
ТПРЭ	от 2 до 20	0.06	128
ВРПЭ	от 2 до 50	0.07	129
РГЭ	от 10 до 600	4.97	130
РГЭ-Cu	от 3 до $10 \cdot 10^2$	1.97	131
РГЭ-Cu-COOH	от 0.2 до $4 \cdot 10^3$	0.057	132

\*ТПРЭ- тонкопленочный ртутный электрод; ВРПЭ - Вi/Hg пленочный электрод; РПЭ- ртутно-пленочный электрод, РГЭ-Cu – графитовый электрод, модифицированный ртутью и медью, РГЭ- Cu-COOH - графитовый электрод, модифицированный ртутью и медью и арендиазонием.

Изучено влияние различных соединений и ионов наиболее токсичных тяжелых металлов (железа, цинка, свинца, кадмия и хрома), которые электрохимически активны и могут содержаться в исследуемых образцах, на

аналитический сигнал селена. Влияние растворенных в растворе этих металлов на пик селена оказалось незначительным. Избыток ионов галогенов, таких как  $I^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$  и  $F^-$ , также не влияет на характеристики аналитического сигнала селена. Оценивался эффект количественной оценки влияния мешающих компонентов:

$$C, \% = \frac{I_{Se}^o - I_{Se}^i}{I_{Se}^o} \times 100; \quad (15)$$

РГЭ–Cu–COOH показал высокую чувствительность и селективность даже в присутствии различных мешающих ионов ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Co^{2+}$  и  $Mn^{2+}$ ). Для определения максимально допустимого объема приготовленной пробы для определения селена исследовали зависимость аналитического сигнала от объема пробы в фоновом электролите. На рисунке 36 представлены градуировочные зависимости селена при различных добавках приготовленных образцов сыворотки крови.

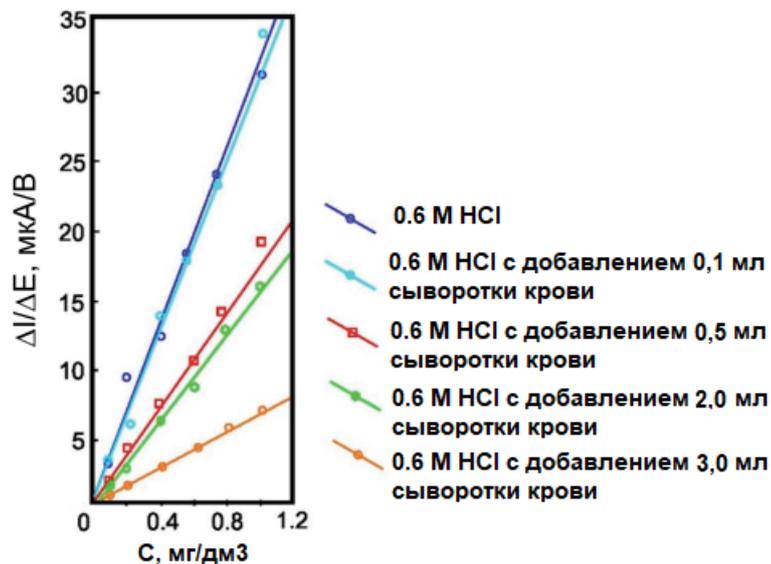


Рисунок 37 – Зависимости тока электровосстановления селена от концентрации: фон - 0,6 М НСl;  $t_{\tau} = 30$  с;  $w = 30$  мВ/с;  $E_s = -0,80$  В, режим первой производной тока по потенциалу со ступенчатым изменением потенциала.

Показано, что оптимальный объем для анализа сыворотки составляет 0,5–2,0 мл в зависимости от содержания селена. При уменьшении объема сыворотки, содержащей низкие количества селена, возможно увеличение составляющей случайной ошибки его определения, тогда как при увеличении объема пробы свыше 2,0 мл наблюдается систематическая ошибка, обусловленная влиянием матрица образца сыворотки с выбранными оптимальными объемами приготовленного образца сыворотки крови; величина тока и форма вольтамперных кривых селена не изменяются.

Предел обнаружения (LOD) и количественного определения (LOQ) составил 0.057 мкг/дм<sup>3</sup> и 0.166 мкг/дм<sup>3</sup> соответственно. Расчет LOD и LOQ, выполнялся с использованием уравнения:

$$LOD = \frac{3S}{m} \quad (16)$$

$$LOQ = \frac{10S}{m} \quad (17)$$

где  $S$  - стандартное отклонение тока пика, а  $m$  - наклон градуировочной кривой (таблица 7)

Таблица 7

Предел обнаружения( LOD) и количественного определения( LOQ) при различном добавлении сыворотки в фоновый раствор

Содержание сыворотки в фоне, дм <sup>3</sup>	Уравнение регрессии	S	LOD, мкг/дм <sup>3</sup>	LOQ, мкг/дм <sup>3</sup>
0	$y = 0.2555 + 12.7457 \cdot x$	0.561	0.057	0.166
0.5	$y = 0.18 + 6.8515 \cdot x$	0.564	0.103	0.311
2.0	$y = 0.0788 + 4.0478 \cdot x$	0.379	0.116	0.354

Проведена проверка правильности разработанной методики определения

селена в сыворотке крови методом «введено-найдено» и рассчитан показатель расширенной неопределенности и коэффициентов охвата равным 2 ( $k=2$ ).

Одной из отличительных особенностей предлагаемого метода является отсутствие процесса предварительной экстракции образца сыворотки крови. Исследовали образец сыворотки крови без селена с известным введенным количеством [132]. Результаты обнаружения пяти образцов сыворотки крови приведены в таблице 8.

Таблица 8

Применение органо-модифицированного электрода для определения селена в сыворотке крови человека ( $n=5$ ,  $P=0,95$ )

<b>Образцы сыворотки крови</b>	<b>Введено (мкг/дм<sup>3</sup>)</b>	<b>Найдено (мкг/дм<sup>3</sup>)</b>	<b>Расширенная неопределенности измерения (<math>k=2</math>)</b>
Образец 1	1.00	0.92±0.13	0.16
Образец 2	2.50	2.42±0.11	0.40
Образец 3	5.00	5.23±0.78	0.75
Образец 4	10.00	9.72±1.35	1.5
Образец 5	12.00	12.09±1.04	1.1

Показатели качества методики анализа (в виде характеристики погрешности и ее составляющих) оценены с применением расчетно-экспериментального метода (РМГ 61-2010, приложение В).

Показатель расширенной неопределенность определяется по формуле:

$$U_p = k \times U_c, \quad (18)$$

где  $k$  при  $P = 0,954$  равен 2.

Помимо этого, была проведена оценка неопределенности измерения лабораторного смещения (правильности), проводилась путем расчета относительного отклонение неисключенной систематической погрешности. Для этого рассчитывали значение смещения анализа –  $\Theta_m$  как разность между средним значением результатов анализа  $X_m$ , полученного по разработанной нами методике и результатами, полученными по аттестованному методу (М У К 4.1.1483— 03 Определение содержания химических элементов в диагностируемых биосубстратах, препаратах и биологически активных добавках методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной аргоновой плазмой) –  $C_{атт}$ :

$$\Theta_m = X_m - C_{атт} \quad (19)$$

Проверяли значимость вычисленных значений  $\Theta_m$  по критерию Стьюдента. Для этого рассчитывали значение t-критерия для АС -  $t_m$ :

$$t_m = \frac{\Theta_m}{\sqrt{\frac{S_R^2}{L} + \frac{\Delta_{атт}^2}{3}}} \quad (20)$$

Сравнивали  $t_m$  с  $t_{табл.}$  при  $P=0,95$ ,  $f=L-1=5-1=4$ ,  $t_{табл.}=2,78$  (таблица И.3, приложения И РМГ 61).

$\Delta_{атт}$  - погрешность аттестованной методики

Границы, в которых неисключенная систематическая погрешность лаборатории находится с принятой  $P=0,95$  (показатель правильности) рассчитывали следующим образом:

$$U_c \approx \Delta_c = \sqrt{\frac{(S_R)^2}{L} + \frac{U_0^2}{3}}, \quad (21)$$

Где  $U_0$  -неопределенность измерения погрешности аттестованного значения образца для контроля. Все данные приведены в таблице 9.

Таблица 9

Применение органо-модифицированного электрода для определения селена в сыворотке крови человека (n=5, P=0,95)

Метод ВА, мг/дм <sup>3</sup>		Метод АЭС- ИСП, мг/дм <sup>3</sup>		Мат. ожидание, мг/дм <sup>3</sup>	Критерий Стьюдента для f =5		Мат.ожида- ние $\Theta$ , как результат сравнения $t_{расч}$ и $t_{табл}$	Оценка значимости
$X_m$	$S_R$	$C_{атг}$	$\Delta_{атг}$		$t_{расч}$	$t_{табл}$		
0.73	0.075	0.68	0.12	0.05	0.37	2.78	0	Незначимо
0.89	0.09	0.91	0.22	-0.020	0.12	2.78	0	Незначимо

Данные, представленные в таблице, показывают, что результаты, полученные двумя «независимыми» методами, отличаются незначительно.

Ртутно-графитовый электрод с добавками меди был успешно модифицирован арениаэноиевыми тозилатами и полученные результаты показали высокую чувствительность и селективность по сравнению с ртутно-графитовым электродом. Кроме того, было продемонстрировано аналитическое применение полученного нового электрода для анализа образцов сыворотки крови.

Исследовано влияние некоторых мешающих элементов, содержащиеся в крови. Полученные результаты показали применимость разработанного электрода для определения селена в присутствие мешающих компонентов. Разработанная методика количественного химического анализа для определения селена в биологических объектах имеют преимущества перед другими, ранее известными методами.

Также, в таблице 10 приведены данные о проверке правильности методики измерения ртути и меди в модельных растворах волос методом «введено-найдено»

Таблица 10

Содержание ртути и меди в модельном растворе и проверка правильности методом «введено-найдено» ( $n = 3$ .  $P = 0,95$ )

Содержание элемента, мг/дм <sup>3</sup>					
введено		найдено		σ, %	
Cu	Hg	Cu	Hg	Cu	Hg
0.10	0.10	0.11±0.01	0.09±0.01	10	11.1
0.50	1.00	0.62±0.15	1.12±0.13	24	12

На основе полученных данных по электрохимическому поведению меди и ртути на новом модифицированном сенсоре разработан алгоритм методики количественного определения этих микроэлементов для осуществления эффективного контроля за обнаружением минимально допустимых количеств их в волосах. Пробоподготовку волос проводили по методике МУ 08-47/197. Методика внесена в Государственный Реестр методик выполнения измерений, применяемых в сферах распространения государственного метрологического контроля и надзора ФР.1.31.2006.02273.

*Алгоритм* совместного вольтамперометрического определения меди и ртути в модельных пробах волос включает следующие стадии:

1. Взятие навески пробы;
2. Растворение 2.0 см<sup>3</sup> в концентрированной азотной кислотой;
3. Нагревание при температуре 100 °С с применением дефлегматоров;
4. Фильтрование полученного осадка;
5. Вольтамперометрическое определение содержания меди и ртути в волосах человека.

Проверка правильности предлагаемой методики проведена методом «введено-найдено» (таблица 11).

Таблица 11

Проверка правильности вольтамперометрической методики определения содержания меди и ртути в модельных пробах волос методом «введено-найдено», ( $P = 0.95$ ;  $n = 5$ ).

Объект	Элемент	Содержание меди и ртути, мкг/г		
		В пробе	Введено	Найдено
Проба волос №1	Cu	2.15±0.34	2.00	3.90±0.65
	Hg	0.24 ±0.04	0.20	0.41±0.06
Проба волос №2	Cu	4.94±0.85	4.00	8.9±1.5
	Hg	0.41±0.08	0.40	0.87±0.16
Проба волос №3	Cu	8.9±1.6	8.00	17.1±2.9
	Hg	2.08±0.31	4.00	5.95±0.91

Данные этой таблицы показывают, что вольтамперометрическое совместное определение меди и ртути возможно проводить с погрешностью измерений 15-20 % в диапазоне концентраций от 0.1 до 12 мкг/г. Предложенная методика проста, не требует большого количества реактивов и трудозатрат.

Вольтамперометрическая методика отличается высокой чувствительностью с хорошей воспроизводимостью получаемых аналитических сигналов, а также простота исполнения пробоподготовки и аппаратного обеспечения и может быть рекомендован к использованию в фармакокинетических и фармацевтических исследованиях.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. С использованием нового класса тозилатных солей арендиазония предложены органо-модифицированные электроды для определения Se, Cu и Hg, изучены различные факторы ( время и способ контакта, концентрация тозилатных солей арендиазония и др.), а также разработана методика модифицирования электрода для их определения.

2. Изучено влияние различных заместителей тозилатных солей арендиазония на вольтамперометрическое определение Se, Cu и Hg. Показано, что на аналитический сигнал данных элементов значительное влияние оказывает природа заместителя модификатора в ряду: ГЭ-Ar-NO<sub>2</sub> <ГЭ-Ar-CN <ГЭ-Ar-COOH, для определения селена влияет порядок нанесения тозилатной соли арендиазония, золота и меди (II) на поверхность графитового электрода. Как показали исследования, арендиазоний тозилат более предпочтительнее осаждается на энергетические центры, покрытые золотом.

3. Проведены исследования по изучению распределения модификатора по поверхности органо-модифицированного электрода и изучен его состав методами оптической, рамановской и атомно-силовой микроскопией. Установлено, что модификатор неравномерно распределен по поверхности электрода. Произведен расчет эффективной площади поверхности модифицированного электрода, которая оценивалась с помощью циклической вольтамперограммы на фоне 0.1 М KCl с добавкой солей гексацианоферрата калия ( $C=5 \cdot 10^{-4}$  моль/л) и рассчитывалась с использованием уравнения Рэндлса-Шевчика для обратимого электродного процесса.

4. На основании проведенных исследований впервые разработан способ вольтамперометрического определения селена на органо-модифицированном электроде на фоне HCl 0,6М + Cu<sup>2+</sup> (100 мг/дм<sup>3</sup>) + Hg<sup>2+</sup> (100 мг/дм<sup>3</sup>). Полученные результаты показали высокую чувствительность и селективность по сравнению с ртутно-графитовым электродом.

5. Изучены физико-химические закономерности электроокисления селена

методом циклической вольтамперометрии на стеклоуглеродном электроде (СУЭ), модифицированном медью, ртутью и арендиазониевыми тозилатами. Предложен возможный механизм электродной реакции селена с участием 2 электронов на поверхности органо-модифицированного электрода. Электроокисление селена на ОМЭ протекает практически необратимо, т.е. замедленной стадией является стадия переноса электрона

6. В результате проведенных исследований выбраны условия для совместного определения меди и ртути в волосах. Золото-графитовый электрод успешно модифицирован арендиазониевыми тозилатами и полученные результаты показали высокую чувствительность и селективность. Установлен линейный диапазон определяемых концентраций при вольтамперометрическом определении меди и ртути на модифицированном арендиазонием золото-графитовом электроде - от 0.1 – 12 мкг/г. Погрешность их определения не превышала 25%.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

РЭМ	–	растровый электронный микроскоп
РФА	–	рентгенофлуоресцентный анализ
ОВРД	–	отравляющие вещества раздражающего действия
ГХ	–	газовая хроматография
ААС	–	атомно-абсорбционная спектрофотометрия
ИВ	–	инверсионная вольтамперометрия
ПАВ	–	поверхностно-активные вещества
РПЭ	–	ртутно-пленочный электрод
ВГЭ	–	висмутовый графитовый электрод
ИВ	–	инверсионная вольтамперометрия
ВА	–	вольтамперометрия
КХА	–	количественный химический анализ
ХСЭ	–	хлорсеребряный электрод
СУЭ	–	стеклоуглеродный электрод
ОМЭ	–	органо-модифицированный электрод
ПО	–	предел обнаружения
$E_n$	–	потенциал накопления, В
$E_p$	–	потенциал пика, В
$\tau_n$	–	время накопления, с
$I$	–	значение тока, мкА
$C$	–	концентрация, моль/дм <sup>3</sup> , мг/дм <sup>3</sup> , мг/кг
$w$	–	скорость изменения потенциала, мВ/с

Остальные обозначения пояснены в тексте

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ**

1. Лужников Е.А. Медицинская токсикология./ Е.А. Лужников. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2014. -928 с.
2. Серегина И. Ф., Ланская С. Ю. , Окина О. И., Большов М. А., Ляпунов С. М., Чугунова О. Л., Фоктова А. С. Определение химических элементов в биологических жидкостях и диагностических субстратах детей методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой // Журн. аналит. химии.- 2010.- Т.65.- № 9.- С. 986-994.
3. Synergistic effects of heavy metals and pesticides in living systems / Singh N, Gupta VK, Kumar A, Sharma B // Front Chem. - 2017. - Vol.5(70). doi: 10.3389/fchem.2017.00070
4. Chen SX, Wiseman CL, Chakravartty D, Cole DC. Metal concentrations in newcomer women and environmental exposures: a scoping review. // Int. J. Environ Res. Public Health. -2017.- Vol 14(3).-P.277. Doi.org/10.3390/ijerph14030277.
5. Иваненко Н. Б., Соловьев Н. Д., Иваненко А. А., Москвин Л.Н. Определение химических форм микроэлементов в биологических объектах. // Аналитика и контроль. –2012. – Т.16, №2. - С. 108-133.
6. Lobinski R., Edmonds J.S., Suzuki K.T. [et all]. Species-selective determination of selenium compounds in biological materials. // Pure Appl. Chem. – 2000. –V.72, №3. –P. 447- 461.
7. Magnuson M. L., Creed J. T., Brockhoff C. A. Speciation of selenium and arsenic compounds by capillary electrophoresis with hydrodynamically modified electroosmotic flow and on-line reduction of selenium(VI) with hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometric detection. // Analyst. – 1997. –V.122, №10. – P. 1057-1061.
8. Айсувакова О.П. Применение масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой для speciation-анализа соединений мышьяка и ртути в волосах

человека. / Айсувакова О.П., Скальный А.В. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2018. – Т.21, №7. – С. 36-41.

9. Richter R. C., Swani K., Chace St., Husian L. Determination of arsenic, selenium, and antimony in cloud water by inductively coupled plasma mass spectrometry. // *Fresenius' J. Anal. Chem.* – 1998. – V.361, № 2. – P. 168-173.

10. Lythgoe P. R., Polya D.A., Parker C. Improved determination of arsenic and selenium species in water by coupled IC-ICP-MS with post column reaction and ultrasonic-nebulization. // *ICP Inf. Newslett.* – 1998. – V.24, № 7. – P. 555.

11. Garraud H., Seyb F., Locage P., Griefault L., Donard O. F. X. Simultaneous speciation of redox species of arsenic and selenium in thermal water by HPLC-ICP high resolution MS. // *ICP Inf. Newslett.* – 1998. – V.24, №6. – P. 475 - 476.

12. Ko F., Yang M. Online removal of interferences via anion-exchange column separation for the determination of germanium, arsenic and selenium in biological samples by inductively-coupled plasma-mass spectrometry // *J. Anal. Atom. Spectrom.* – 1996. – V.11, № 6. – P. 413-420.

13. Centineo G., Montes Bayon M., Sanz-Medel A. Simultaneous determination of As, Bi, Ge, Hg, Sb, Se, and Sn in urine by flow injection-hydride generation-inductively coupled plasma-time-of-flight mass spectrometry (FI-HG-ICP-TOFMS). // *ICP Inf. Newslett.* – 2000. – V. 26, № 6. – P. 441- 442.

14. Kosmus W., Zheng J. Application of HPLC-ICP-MS to elemental speciation studies. // *ICP Inf. Newslett.* – 1999. – V.24, № 8. – P. 679.

15. Wrobel Kazimierz, Wrobel Katarzyna, Parker B. [et all]. Determination of As(III), As(V), monomethylarsonic acid, dimethylarsinic acid and arsenobetaine by HPLC-ICP-MS: analysis of reference materials, fish tissues and urine. // *Talanta.* – 2002. – V.58, № 5. – P. 899-907.

16. Townsend A. T. The determination of arsenic and selenium in standard reference materials using sector field ICP-MS in high resolution mode. // *Fresenius' J. Anal. Chem.* – 1999. – V.364, №6. – P. 521-526.

17. Золотов Ю.А., Кузьмин Н. М. Концентрирование микроэлементов. / Золотов Ю.А., Кузьмин Н. М. // Москва: Химия.- 1982. – 288 с.
18. Szpunar J. Bio-inorganic speciation analysis by hyphenated techniques// *Analyst.* – 2000. – V.125, № 5. – P. 963-988.
19. Smith F.E., Arsenault E.A. Microwave-assisted sample preparation in analytical chemistry.// *Talanta.* –1996. –V.43. – P. 1207-1268.
20. Nobrega J.A, Gelinas Y., Krushevska A., [et all]. Determination of elements in biological and botanical materials by inductively coupled plasma atomic emission and mass spectrometry after extraction with a tertiary amine reagent. / *Journal of Atomic Spectrometry.* – 1997. – V.12. – P. 1239-1242.
21. Bermejo-Barrera P., Moreda-Pifieiro A., Bermejo-Barrera A. Sample pre-treatment methods for the trace elements determination in seafood products by atomic absorption spectrometry.// *Talanta.* – 2001. –V. 57. – P. 969-984.
22. Katskov D.A., Khanye G.E. Simultaneous multi-element. electrothermal atomic absorption determination using a low resolution CCD spectrometer and continuum light source: The concept and methodology // *S. Afr. J. Chem.* -2010. -V. 63. -P. 45–57.
23. В.И. Казимиров, А.Д. Зорин, В.Ф. Занозина. Определение Cu, Sb, Pb методом атомно-абсорбционной спектроскопии с непламенной атомизацией при исследовании компонентов продуктов выстрела// *Вестник.*- 2004.- Т.4.- С. 225-233.
24. D.R. Jones, J.M. Jarrett, D.S. Tevis, [et all]. Analysis of whole human blood for Pb, Cd, Hg, Se, and Mn by ICP-DRC-MS for biomonitoring and acute exposures // *Talanta.*- 2017.- V. 162.- P. 114–122.
25. Arpadjan S., Vuchkova L., Kostadinova E. Sorption of arsenic, bismuth, mercury, antimony, selenium and tin on dithiocarbamate loaded polyurethane foam as a preconcentration method for their determination in water samples by simultaneous inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and electrothermal atomic absorption spectrometry. // *Analyst.*–1997.–V.122, № 3. –P. 243 - 246.

26. Tian X., Zhuang Z., Chen B. [et all]. Movable reduction bed hydride generator coupled with inductively coupled plasma optical emission spectrometry for the determination of some hydride forming elements. // *Analyst.* – 1998. –V.123, № 4. – P. 627-632.
27. Голубкина Н.А. Флуориметрический метод определения селена.// *Журн. аналит. химии.* – 1995.– Т.50, №5. –С. 492 – 497.
28. Измерение массовой концентрации химических веществ люминисцентными методами анализа в объектах окружающей среды // *Сборник метод. указаний МУК 4.1.057-4.1.081-96/Минздрав России.* –Москва.- 1997.– 256 с.
29. Ahmed M.J., Stalikas C.D., Veltsistas P.G. Simultaneous spectrofluorimetric determination of selenium (IV) and (VI) by flow injection analysis. // *Analyst.* – 1997. – V.122. – P.221-226.
30. Пяткова Л.Н., Дмитриенко С.Г., Ульянова Е.В. и др. Сорбционно-флуориметрическое определение селена в пищевых добавках // *Завод. лаб.* – 2003. –Т. 69, №4. –С.13-15.
31. Макаровская Я. Н., Экспериандова Л. П., Бланк А. Б. Экстракционно-рентгенофлуоресцентное определение селена и мышьяка в питьевой воде // *Журн.. аналит. химии.* – 1999.–Т.54,№ 11. – С. 1167-1169.
32. Колориметрические (фотометрические) методы определения неметаллов: Пер. с англ. З. И. Подгайской. / Под ред. д.х.н. А.И. Бусева. // Москва: Изд-во Иностранной литературы.- 1963. – 467 с.
33. Sun Y., Li H. Determination of trace selenium in human plasma and hair with ternary inclusion compound- fluorescent spectrophotometry. // *Analyst.* –2000.– V .125. –P. 2326-2329.
34. Будников Г.К., Фицев И.М., Сабитова Ф.Ф., и др. Использование реакции комплексоната железа( II) с нитрат-ионами для кинетического

определения селена (ШМ) методом проточно-инжекционного анализа// Журн. аналит. химии. –1994.– Т.49, № 12. – С.1328-1330.

35. Г.Б. Слепченко, Н.П. Пикула, Н.М. Дубова, И.А. Хлусов, Л.Д. Быстрицкий. Электрохимические методы контроля в медицинской диагностике // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.- 2009.- Т.23.- С. 102-105.

36. Белова Е.В., Герман К.Э., Афанасьев А.В., Слюсар О.И., Иванова Т.А. Химические и физико-химические методы исследования в медицине и биологии. Учебное пособие / Медицинский университет Реавиз // Москва: Издательство «Граница».- 2016. -120 с.

37. Будников Г.К., Г.А. Евтюгин, Майстренко В.Н. Модифицированные электроды для вольтамперометрии в химии, биологии и медицине / Будников Г.К., Г.А.Евтюгин, Майстренко В.Н. // Москва:БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. – 416с.

38. Захарова Э.А., Аканеев Ю.А., Слепченко Г.Б. Электроды в вольтамперометрии/ Учебно-методическое пособие. - Томск.- 2004.- 58с.

39. Арбуз Г.С. Разработка модифицированных электродов с синергетическим эффектом на основе новых носителей и поливалентных металлов/ Диссертация на соискание степени доктора философии (PhD)/ Республика Казахстан Алматы, 2017.- 136 с.

40. Delamar M., Hitmi R. and other. Covalent modification of carbon surface by grafting of functionalized aryl radicals produced from electrochemical reduction of diazonium salts // J. Am. Chem. Soc. – 1992. – V. 114. – P. 5883–5884.

41. Saby C., Ortiz B., Champagne G.Y. and others. Electrochemical modification of glassy carbon electrode using aromatic diazonium salts. 1. Blocking effect of 4-nitrophenyl and 4-carboxyphenyl groups // Langmuir. – 1997. – V.13. – P. 6805–6813.

42. Kariuki J.K., McDermott. Formation of multilayers on glassy carbon electrodes via the reduction of diazonium salts//*Langmuir*.–2001.– V.17. – P. 5947–5951.
43. Itoh T., McCreery R.L. In situ Raman spectroelectrochemistry of electron transfer between glassy carbon and a chemisorbed nitroazobenzene monolayer // *J. Am. Chem. Soc.* – 2002. – V.124. – T.36. – P.10894–10902.
44. Anariba F., Viswanathan U., Bocian F. D. Determination of the structure and orientation of organic molecules tethered to flat graphitic carbon by ATR-FT-IR and Raman Spectroscopy // *Anal. Chem.* – 2006. – V.78. – T.9. – P.3104–3112.
45. Delamar M., Hitmi R. and other. Covalent modification of carbon surface by grafting of functionalized aryl radicals produced from electrochemical reduction of diazonium salts // *J. Am. Chem. Soc.* – 1992. – V.114. – P.5883–5884.
46. Brooksby P.A., Downward A.J. Electrochemical and atomic force microscopy study of carbon surface modification via diazonium reduction in aqueous and acetonitrile solution // *Langmuir*. – 2004. – V.20. – P.5038–5045.
47. Isbir A.A., Solak A.O. Preparation and characterization of diethylene glycol bis(2-aminophenyl)ether-modified glassy carbon electrode // *Anal. Chim. Acta.* – 2006. – V.573. – P. 26–33.
48. Adenier A., Bernard M.-C., Chehimi M.M. Covalent modification of iron surfaces by electrochemical reduction of aryldiazonium salts // *J. Am. Chem. Soc.* – 2001. –V. 123. –P. 4541–4549.
49. Bernard M.-C., Chausse A., Cabet-Deliry E. [et all]. Organic layers bonded to industrial, coinage, and noble metals through electrochemical reduction of aryldiazonium salts // *Chem. Mater.* – 2003. – V.15. – T.18. – P. 3450–3462.
50. Liu G., Gooding J.J. An interface comprising molecular wires and poly(ethylene glycol) spacer units self-assembled on carbon electrodes for studies of protein electrochemistry // *Langmuir*. – 2006. – V.22. – T.17. –P.7421–7430.

51. Griveau S., Mercier D. and other. Electrochemical grafting by reduction of 4-aminoethylbenzenediazonium salt: application to the immobilization of biomolecules // *Electrochem. Commun.* – 2007. – V.9. – P. 2768–2773.
52. Nassef H.M., Radi A.-E., O’Sullivan C. Simultaneous detection of ascorbate and uric acid using a selectively catalytic surface // *Anal. Chim. Acta.* – 2007. – V.583. – P.182–189.
53. Nassef H.M., Civit L. and other. Amperometric sensing of ascorbic acid using a disposable screen-printed electrode modified with electrografted o-aminophenol film // *Analyst.* – 2008. – V.133.– P.1736–1741.
54. Santos L., Ghilane J., Martin P. Host-guest complexation: a convenient route for the electroreduction of diazonium salts in aqueous media and the formation of composite materials // *J. Am. Chem. Soc.* – 2010. – V.132. – P. 1690-1698.
55. Jitaru Maria. Voltamperometric data on the biological active systems Cu(II), Pd(II) and Ni(II)-salicylic aldehyde thiosemicarbazone/ Jitaru Maria.// *Stud. Univ. Babeş-Bolyai. Chem.* – 2006. – V.51, №.2. – P. 103-109.
56. Taylor R., Coulombe S., Otanicar T. [et all]. Small particles, big impacts: a review of the diverse applications of nanofluids // *Journal of Applied Physics.* – 2013. – V. 113, № 1, article 011301.
57. Hewakuruppu Y. L., Dombrovsky L.A., Chen C. [et all]. Plasmonic «pump–probe» method to study semi-transparent nanofluids // *Applied Optics.* – 2013. – V. 52, № 24.- P. 6041–6050.
58. Chekanova A. E., Sorkina T., Nikiforov V. N. [et all]. New environmental nontoxic agents for preparation of core-shell magnetic nanoparticles// *Mendeleev Communication.* – 2009. - V. 19, № 2.- P. 72–74.
59. Shagholani H. and Ghoreishi S.M. Synthesis of nanocomposition of polyacrylic acid/chitosan coated-magnetite nanoparticles to investigation of interaction with BSA and IGG proteins // *International Journal of Nanomaterials, Nanotechnology and Nanomedicine.* – 2017. V. 3, № 1.- P. 27–33.

60. Thiesen B. and Jordan A. Clinical applications of magnetic nano particles for hyperthermia // International Journal of Hyperthermia. – 2008. - V. 24, № 6.- P. 467–474.
61. Landeghem F.K.H.V., Maier-Hauff K., Jordan A. [et all]. Post-mortem studies in glioblastoma patients treated with thermotherapy using magnetic nanoparticles // Biomaterials.- 2009. - V. 30, № 1. P. 52–57.
62. Xu T.Ji,X., Wang X., Zhou Q., Chen G.. Monodisperse water-stable SiO<sub>2</sub>-coated fluoride upconversion nanoparticles with tunable shell thickness // International Journal of nanomaterials, nanotechnology and nanomedicine. -2017. - V. 3, № 1. P. 15–18.
63. Wu C.-Y., Lin C.-H., Chen Y.-C. Using glucose-bound Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles as photothermal agents for targeted hyperthermia of cancer cells // Journal of Nanomedicine and Nanotechnology. – 2015. - V. 6, №1. - P. 264.
64. Kalska-Szostko B., Klekotka U., Piekut K., Satula D. Stability of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles in various simulated solutions // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. – 2014. - V. 450, №. 1. - P. 15–24.
65. Shtansky D.V. Transmission electron microscopy of high resolution in nanotechnology research // Russian Journal of General Chemistry. – 2002. - V. 46, №. 5.-P. 81–88.
66. Chebanov V.A. and Mironchenko S.I. Methods and evaluation nanoparticle characterization in pharmaceutical // Success of Modern Science. - 2014. - V. 6, P. 111-112.
67. Belyakova L.D., Larionov O.G., Revina A. A., Kolomiets L. N. Modern problems of physical chemistry of nanomaterials // Digest of Articles.- 2011.-V. 47.- P. 691-697.
68. Yao C., Xin-wei Y., Jian-Ping L., Guo-Peng Z., Yuan- Fang P. Methods for determining the content of SiO<sub>2</sub> nanoparticles in composite coatings // Diandu yu Tushi: Electroplat. - 2005. - V. 24, №2.- P. 27–29.

69. Шипилин А.М. Мессбауэровская спектроскопия наночастиц оксида железа. Автореферат диссертации на соискание степени доктора физико-математических наук. Ярославль, Россия, 2000. – 248 с.
70. Tsurin V. A., Ermakov A. E., Uimin M. A. [et all]. Synthesis, structure, and magnetic properties of iron and nickel nanoparticles encapsulated into carbon // *Physics of the Solid State*. - 2014. - V. 56, № 2. - P. 287–300.
71. Firooz A.A., Nia B.H., Beheshtian J., Ghalkhani M. Voltammetric sensor based on Fe-doped ZnO and TiO<sub>2</sub> nanostructures-modified carbon-paste electrode for determination of levodopa // *Journal of Electronic Materials*. – 2017.- V. 46, №10. -P. 5657–5663.
72. Dingab M., Zhouab Y., Liangab X. [et all]. An electrochemical sensor based on graphene/poly( brilliant cresyl blue) nanocomposite for determination of epinephrine // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. – 2016. - V. 763.- P. 25–31.
73. Nikodimos Y. and Amare M. Electrochemical determination of metronidazole in tablet samples using carbon paste electrode // *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. – 2016. Article ID 3612943, 7 pages.
74. Silva A.C.O., L. Oliveira C.F., Delfino A.V., Meneghetti M.R., Abreu F.C. Electrochemical study of carbon nanotubes/ nanohybrids for determination of metal species Cu<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> in water samples // *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. – 2016. Article ID 9802738. 12 pages.
75. Dubova N.M., Slepchenko G.B., Ho Shi L., Maximchuk I. O. Investigation of iron-based nanoparticles action by solid-phase voltammetry // *Procedia Chemistry*. – 2014. -V.10. -P. 378–382.
76. Филимонов И.Д., Краснокуцкая Е.А., Полещук О.К., Лесина Ю.А. Теоретический анализ реакций электрофильного иодирования и хлорирования бензола и полициклических аренов в приближении теории функционала плотности // *Журнал органической химии*. – 2008. – Т. 44.- С. 681–687.
77. URL: <http://www.nanoscantech.com/ru/products/confocal/confocal-138.html>

78. URL: <https://www.mt.com>
79. Asiabi H., Yamini Y., Seidi S., Shamsayei M., Safari M., Rezaei F. On-line electrochemically controlled in-tube solid phase microextraction of inorganic selenium followed by hydride generation atomic absorption spectrometry. // *Analitica Chimica Acta*, 2016, 922, 37–47. DOI: 10.1016/j.aca.2016.04.001. PMID: 27154830
80. Azizi Z. and Babakhanian A. Fabricating a new electrochemically modified pencil graphite electrode based on acetophenone (2,4-dinitrophenyl) hydrazone for determining selenium in food and water samples // *Analytical Methods*.- 2018.- V.10-P.5205–5213.
81. Monsen E. R. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids // *J. Am. Diet. Assoc.*- 200.- V. 100.- P. 637–640. DOI: 10.1016/S0002-8223(00)00189-9.
82. Дерябина В.И. Разработка и оптимизация способов пробоподготовки растительного сырья и пищевых продуктов при инверсионно-вольтамперометрическом определении мышьяка и селена/ Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук. Томск, 2007. – 151 с.
83. Дерябина В. И. Вольтамперометрический контроль показателей токсичности и биологической ценности кормов и кормовых добавок : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора химических наук : спец. 02.00.02 / В. И. Дерябина ; Национальный исследовательский Томский политехнический университет (ТПУ), Институт природных ресурсов (ИПР), Кафедра физической и аналитической химии (ФАХ) ; науч. конс. Г. Б. Слепченко. — Томск, 2014. — 43 с.
84. Hong W., Dawei P., Yuanding C., Haiying L., Guangheng G., Jianjun X. Anodic stripping determination of selenium in seawater using an electrode modified with gold nanodendrites perforated reduced graphene oxide // *Int. J. Electrochem. Sci.* - 2020.- V.15.- P. 1669 – 1680. DOI: 10.20964/2020.02.51.

85. Kurkova T., Skrypnik L., Zalieckiene E. Features of plant material pre-treatment for the selenium determination by atomic absorption and fluorometric methods // *Chemija*.- 2008.- V.19.- P. 40–43.
86. Beni V., Collins G., Arrigan D.W.M. Stripping voltammetry at micro-interface arrays: a review // *Analitical Chimica Acta*.- 2011. -V. 699.- P. 127–133.
87. Deryabina V.I., Slepchenko G.B., N'Ung F.K. and Lin H.S. Voltammetry behavior of iodine and selenium on new organo-modified electrodes: Development of a procedure for the determination of iodine and selenium // *Journal of Analytical Chemistry*.- 2013.- V. 68. P. 896–899.
88. Nascimento P.C., Jost C.L., Carvalho L.M., Bohrerand D., Koschinsky A. Voltammetric determination of Se (IV) and Se (VI) in saline samples: Studies with seawater, hydrothermal and hemodialysis fluids // *Analitical Chimica Acta*.- 2009.- V. 648.- P.162–166.
89. Fairweather-Tait S.J., Bao Y., Broadley M.R. [et all]. Selenium in human health and disease // *Antioxid Redox Signal*. – 2011. V.14(7). P.1337–1383. DOI: 10.1089/ars.2010.3275
90. Fakude C.T., Arotiba O.A., Moutloali R., Mabuba N. Detection of selenium and nickel metal ion in water using Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Cn-modified electrode // *Internation Journal of Electrochemistry*.- 2021. Article ID 6650542. DOI.ORG/10.1155/2021/6650542.
91. Filichkina O.G., Zakharova E.A., Slepchenko G.B. Determination of selenium in foodstuffs by cathodic stripping voltammetry at a mercury–graphite electrode // *Journal of Analytical Chemistry*.- 2004. – V. 59. P. 481–486.
92. Grass R.N., Athanassiou E.K., Stark W. J. Covalently functionalized cobalt nanoparticles as a platform for magnetic separations in organic synthesis // *Covalently Functionalized Cobalt Nanoparticles as a Platform for Magnetic Separations in Organic Synthesis*.- 2007.- V. 46. P. 4909–4912. DOI.ORG/10.1002/anie.200700613.

93. Гусельникова О.А., Кутонова К.В., Трусова М.Е., Постников П.С., Филимонов В.Д. Первые примеры 4-додецилбензолсульфонаты арендиазония: синтез и характеристика //Русский химический бюллетень.- 2014. Т. 63.- С 289–290.
94. Hegde R.N., Swamy B.E.K., Shetti N.P., Nandibewoor S.T.. Electro-oxidation and determination of gabapentin at gold electrode // Journal of Electroanalytical Chemistry.- 2009.- V. 635. P.51–57.
95. Ishiyama T. and Tanaka T. Cathodic stripping voltammetry of selenium(IV) at a silver disk electrode // Analytical Chemistry.- 1996.- V. 68(21).- P. 3789–3792. DOI: 10.1021/ac960446r.
96. Koudelkova Z., Bytesnikova Z., Xhaxhiu K. [et all]. Electrochemical evaluation of selenium (IV) removal from its aqueous solutions by unmodified and modified graphene oxide // Molecules.- 2019.-V.24(6). P. 1063–1075. doi.org/10.3390/molecules24061063.
97. Kurkova T., Skrypnik L., Zalieckiene E. The features of plant samples Features of plant material pre-treatment for selenium determination by atomic absorption and fluorimetric methods // Chemija.- 2008. -V.19(1).- P.40–43.
98. Maranowski B., Strawski M., Osowiecki W., Szklarczyk M. Study of selenium electrodeposition at gold electrode by voltammetric and rotating disc electrode techniques // Journal of Electroanalytical Chemistry.- 2015.- V. 752. -P. 54–59. DOI:10.1016/j.jelechem.2015.05.037
99. Postnikov P.S., Trusova M.E., Filimonov V.D., Slepchenko G.B. The new method of covalent grafting of organic functional groups on the graphite/GC electrodes using arenediazonium tosylates // In Proceedings of the 15th European Conference on Composite Materials: Composites at Venice. ECCM 2012, Venice, Italy, 24–28 June 2012.

100. Антонова С.Г., Елесова Е.Е., Носкова Г.Н., Драчева Л.Д. Содержание и определение селена в пищевых продуктах // Пищевая промышленность. - 2009. - № 2. - С. 8-10.
101. Stozhko N., Shalygina Z., Malakhova N. Thick-film graphite-containing electrodes for determining selenium by stripping voltammetry // Journal of Analytical Chemistry.- 2004.- V. 59.- P. 374–380.
102. Bakather O.Y., Kayvani Fard A., Khraisheh M., [et all]. Enhanced adsorption of selenium ions from aqueous solution using iron oxide impregnated carbon nanotubes // Bioinorganic Chemistry Applications.- 2017. ISSN 432361923
103. Dennis B., Moyers J., Wilson G. Determination of selenium as selenide by differential pulse cathodic stripping voltammetry // Analytical Chemistry.- 1976.- V. 48. P. 1611–1616
104. Мартынюк О.А., Слепченко Г.Б., Приходько В.А., Постников П.С., Трусова М.Е. Возможности применения новых органо-модифицированных электродов в контроле качества соков и нектаро // Известия ТПУ.- 2011.-Т. 3 (318).- С. 65–68.
105. Filichkina O.G., Zakharova E.A., Slepchenko G.B. Determination of selenium in foodstuffs by cathodic stripping voltammetry at a mercury-graphite electrode // Journal of Analytical Chemistry.- 2004.- V. 59(5). -P. 481–486.
106. Антонова С.Г., Носкова Г.Н., Колпакова Н.А. Определение селена (IV) с использованием метода анодной инверсионной вольтамперометрии // Известия ТПУ. - 2010.- Т. 317(3).- С. 103–107.
107. Santos M. C. and Machado S.A.S. Microgravimetric, rotating ring-disc and voltammetric studies of the underpotential deposition of selenium on polycrystalline platinum electrodes // Journal of Electroanalytical Chemistry.- 2004.- V. 567(2).-P. 203–210. DOI:10.1016/j.jelechem.2003.12.026.

108. P. Padrón [et al.] Trace element levels in vegetable sausages and burgers determined by ICP-OES // *Biological trace element research.*- 2020.- V.194.- P. 616–626.

109. X. Tan [et al]. Determination of trace metals in garlic bulbs (*allium sativum* l.): a variety discrimination by inductively coupled plasma mass spectrometry // *J. of Applied Spectroscopy.*- 2020. -V. 87.- P. 194–199.

110. Slepchenko G., Moiseeva E., Khlusov I. Zinc in the body and somatic health of industrial workers // *Materials Science and Engineering. International Scientific and Practical Conference on Modern Problems of Ecology, Transport and Agricultural Technologies.*- 2020. -№ 941. – P.12001.

111. В.И. Дерябина [и др.]. Изучение вольтамперометрического поведения йода и селена на органно-модифицированных электродах // *Ж. аналитической химии.*- 2013.- Т. 68. № 10. -С. 991-994.

112. M.Ogunlesi [et al.]. Electrochemical determination of the levels of cadmium, copper and lead in polluted soil and plant samples from mining areas in Zamfara State, Nigeria // *J. of Electrochemical Science and Engineering.*- 2017. -V.7. - P. 167-179.

113. Дерябина В.И., Сlepченко Г.Б., Щукина Т.И. Применение арилдиазоний тозилатов для поверхностной модификации электродов при определении неорганических элементов методами вольтамперометрии // *Современные проблемы науки и образования.* -2014. -№ 1. -С. 445.

114. Кашуро В.А., Глушков Р.К. Лабораторная диагностика отравлений токсичными металлами // *Биомедицинский журнал Medline.ru.*- 2020. -Т. 21.№ 96.-С. 1237-1247.

115. Kariuki J.K., McDermott M.T. Formation of multilayers on glassy carbon electrodes via the reduction of diazonium salts // *Langmuir.* -2001. -V.17. -P. 5947–5951.

116. K.A. Howell [et al.]. The determination of trace metals in estuarine and coastal waters using a voltametric in situ profiling system // *Analyst.*- 2003. - V.128. -P. 734–741.
117. C. Garnier [et al.] Voltammetric procedure for trace metal analysis in polluted natural waters using homemade bare gold-disk microelectrodes // *Analytical and Bioanalytical Chemistry.*- 2006.- V. 386.- P. 313-323
118. M. Zaib [et al.] Electrochemical determination of inorganic mercury and arsenic // *Biosensors and Bioelectronics.*- 2015. -V.74.- P. 895-908.
119. Kariuki J.K., McDermott M.T. Formation of multilayers on glassy carbon electrodes via the reduction of diazonium salts // *Langmuir.*- 2001. -V. 17. -P. 5947–5951.
120. C. Saby [et al.] Electrochemical modification of glassy carbon electrode using aromatic diazonium salts // *Langmuir.* -1997.- V.13.- P. 6805–6813.
121. Hasanjani H.R.A, Zarei K. An electrochemical sensor for attomolar determination of mercury (II) using DNA/poly-L-methionine-gold nanoparticles/pencil graphite electrode // *Biosensors & bioelectronics.*- 2019. -V.128.- P 1-8.
122. A. Afkhamia [et al.] Fabrication and application of a new modified electrochemical sensor using nano-silica and a newly synthesized Schiff base for simultaneous determination of  $Cd^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  and  $Hg^{2+}$  ions in water and some foodstuff samples // *Analytica Chimica Acta.*- 2013. -V. 771.- P 21-30.
123. Булавина Е.В. Электровосстановление нитрат-ионов на медьсодержащих композитных электродах с ионообменной/углеродной основой. Диссертация на сосискание уч.степени кандидата хим. Наук. Воронеж. 2015, 137 с.
124. Grujicic D. Electrodeposition of copper: the nucleation mechanisms / D. Grujicic, B. Pesic // *Electrochimica Acta.* – 2002. – V. 47, № 18. – P. 2901-2912.

125. McCord C.P., Ozerac T., Henry Ch.S.. Synthesis and grafting of diazonium tosylates for thermoplastic electrode // *Analytical Methods*. -2021. -V.13. -P. 5056 – 50641.
126. Колпакова Н.А., Ларина Л.Н. Электроокисление ртути из бинарного сплава Au-Hg // *Известия ТПУ*.- 2004.- Т. 307. № 2.- С. 123-127.
127. Abbasi S., Bahiraei A., Abbasai F. A highly sensitive method for simultaneous determination of ultra trace levels of copper and cadmium in food and water samples with luminol as a chelating agent by adsorptive stripping voltammetry // *Analytical Methods*.- 2011. -V. 129.- P. 1274-1280.
128. Cesarino I., Cavaleiro T.G., Brett C.M.A. Simultaneous determination of cadmium, lead, copper and mercury ions using organofunctionalized SBA-15 nanostructured silica modified graphite–polyurethane composite electrode // *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*.- 2010. -V. 22. -P. 61-68.
129. A. Afkhami [et al.] Construction of modified carbon paste electrode for highly sensitive simultaneous electrochemical determination of trace amounts of copper (II) and cadmium (II) // *Electroanalysis*. -2015. -V. 28. -P. 296-303.
130. Alves G.M.S., Magalhães J.M.C.S., Soares H.M.V.M. Voltammetric quantification of Zn and Cu, together with Hg and Pb, based on a gold microwire electrode, in a wider spectrum of surface waters // *Electroanalysis*. -2013. -V. 25. -P. 493-502.
131. C. Yang, M. E. Denno, P. Pyakurel, B. J. Venton. Recent trends in carbon nanomaterial-based electrochemical sensors for biomolecules: A review // *Anal. Chim. Acta*. – 2015. – Vol. 887. – pp. 17-37. doi.org/10.1016/j.aca.2015.05.049.
132. Slepchenko G.B., Moiseeva E.S., Dorozhko E.V., Ostapenko M.S. [et all.] An electrochemical sensor for detecting selenium in biological fluids on an arenediazonium tosylatmodified metal electrode // *Analytical Methods*. -2021. DOI: 10.1039/d1ay00156f.