

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Саратовский национальный исследовательский
государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»

На правах рукописи

ЦЫГУЛЁВА ЭЛЬМИРА ИРШАТОВНА

**МИЦЕЛЛЯРНО-ЭКСТРАКЦИОННОЕ КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ
И ТЕСТ-ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛА
И НЕКОТОРЫХ ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ**

Специальность 1.4.2 – Аналитическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор

Доронин Сергей Юрьевич

Саратов 2024

Работа выполнена на кафедре
аналитической химии и химической экологии Института химии
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Саратовский национальный исследовательский
государственный университет имени Н.Г.Чернышевского»

ОГЛАВЛЕНИЕ

Сокращения и обозначения.....	5
Введение.....	7
ГЛАВА 1. Обзор литературы.....	13
1.1. Мицеллярно-экстракционное концентрирование и определение фенолов.....	13
1.2. Интегральные характеристики в анализе вод.....	26
ГЛАВА 2. Экспериментальная часть.....	40
2.1. Применяемые в работе посуда, реактивы и аппаратура.....	40
2.2. Методики приготовления растворов.....	42
2.3. Методы исследования.....	46
ГЛАВА 3. Спектрофотометрическое изучение реакций фенола и его некоторых замещенных с органическими и неорганическими реагентами в водной среде.....	48
3.1. Состояние исходных реактантов при различных рН.....	52
3.1.1. Исследованные фенолы.....	52
3.1.2. 4-Нитроанилин, 4-аминоантипирин, реактив Фолина-Чокальтеу.....	54
3.2. Реакции образования азосоединений с 4-нитрофенилдиазонием.....	56
3.2.1. Диазотирование 4-нитроанилина и влияние NaOH на устойчивость 4-нитрофенилдиазония.....	56
3.3. Реакции окислительной конденсации с 4-аминоантипиринном.....	62
3.4. Особенности реакции с реактивом Фолина-Чокальтеу.....	65
3.5. Сравнительная оценка некоторых метрологических характеристик исследуемых систем.....	67
ГЛАВА 4. Мицеллярно-экстракционное концентрирование окрашенных производных исследуемых фенолов.....	70
4.1. Особенности формирования фаз неионных ПАВ в политермическом и изотермическом режимах.....	70

4.2. Факторы, влияющие на фазовое разделение системы I:	
фенолы - 4-нитрофенилдиазоний.....	77
4.3. Особенности фазового разделения в системе II:	
фенолы – 4-аминоантипирин – $K_3[Fe(CN)_6]$ – неионный ПАВ.....	84
4.3.1. Влияние температуры на характер фазового разделения.....	84
4.3.2. Варьирование концентрации Тритона X-100.....	85
4.3.3. Изучение влияния концентрации Na_2SO_4 на систему: фенол - 4-аминоантипирин - $K_3[Fe(CN)_6]$ - Na_2CO_3 - Тритон X-100.....	87
4.4. Фазовое разделение в системе III: фенолы - реактив Фолина– Чокальтеу - неионный ПАВ.....	89
4.4.1. Исследование характера фазового разделения в зависимости от температуры.....	89
4.4.2. Влияние природы неорганических высаливателей на фазообразование.....	90
4.4.3. Варьирование концентрации неионного ПАВ.....	96
ГЛАВА 5. Практическое применение результатов исследований.....	103
5.1. Спектрофотометрическое определение фенолов с предварительной мицеллярной экстракцией.....	104
5.2. Цветометрическое определение фенолов с применением математической обработки окрашенных зон цветовых изображений.....	109
5.3. Цветометрическое и ВЭЖХ определение 1- и 2-нафтолов в их смесях.....	115
5.4. Примеры определения фенолов в модельных растворах и реальных объектах. Оценка правильности результатов.....	120
Выводы.....	125
Список использованных источников.....	128

Сокращения и обозначения

- АОА – антиоксидантная активность;
- аПАВ – анионное ПАВ;
- БАД – биологически активные добавки;
- ВАМ – вольтамперометрический метод;
- ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;
- Генапол Х-080 - моноалкиловый эфир полиэтиленгликоля;
- ГК – галловая кислота;
- ГХ – газовая хроматография;
- ДОС - диапазон определяемых содержаний;
- ИП – интегральный показатель;
- ККМ - критическая концентрация мицеллообразования;
- кПАВ – катионное ПАВ;
- КЭ – капиллярный электрофорез;
- ЛД – лепестковые диаграммы;
- МС - масс-спектрометрия;
- нПАВ – неионное ПАВ;
- ООС – объекты окружающей среды;
- ОП-10 – полиэтилированный эфир диалкилфенола;
- ПАВ – поверхностно-активное вещество;
- ПДК – предельно допустимая концентрации;
- ПрО – предел обнаружения;
- ПЭГ 6000 – полиэтиленгликоль;
- СФМ - спектрофотометрический метод;
- Твин-80 – полиоксиэтилен сорбитан моноолеат;
- Тп – температура точки помутнения;
- Тритон Х-100 – полиэтиленгликоль *n*-(1,1,3,3-тетраметилбутил)-фениловый эфир;
- Тритон Х-114 – полиэтиленгликоля моно(тетраметилбутанол) фениловый эфир (*n* = 7-8);
- УЗ – ультразвук;
- ФА – фенольные антиоксиданты;
- ФЧ – Фолин-Чокальтеу;
- ЦФК – цифровая фотокамера;
- ЭХМ- электрохимические методы анализа;
- ЯМР- ядерный магнитный резонанс;
- 4-АА - 4-аминоантипирин;
- 4-НА - 4-нитроанилин;
- АСN – ацетонитрил;
- ATPS, aqueous biphasic systems, two-phase systems – водная двухфазная система;

D – коэффициент распределения;

DPPH - 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (реактив для определения АОА);

d_w – сухой вес;

FRAP - ferric reducing antioxidant power (метод определения АОА);

GAE – эквивалент галловой кислоты;

LDH, Layered double hydroxides – слоистые двойные гидроксиды;

$\lg P$ – отрицательный десятичный логарифм коэффициента распределения соединения между октанол – вода;

Q - сорбционная емкость;

R – степень извлечения;

S_r – относительное стандартное отклонение;

Tergitol 15-S-9 – ПАВ, который представляет собой вторичный этоксилированный спирт;

τ (ч, мин) – время;

pK_a – отрицательный десятичный логарифм константы диссоциации;

CP-экстракция – «Cloud point extraction» (экстракция на основе «точки помутнения»);

TPC – total phenolic content (общее содержание фенолов).

Введение

Актуальность. Фенольные соединения – обширный класс органических веществ, которые часто встречаются в объектах окружающей среды (ООС), например, в природных и сточных водах (влияют на органолептические характеристики вод, пищевых продуктов и т.п.). Фенолы, с одной стороны, проявляют токсичные свойства (ПДК на фенол – в воздухе 5 мг/м³, в водоёмах – 0.001 мг/л), но при этом широко применяются в промышленности для производства синтетических пластмасс, красок, лекарств, полимеров, пестицидов, моющих средств, дезодорантов, бумаги, целлюлозы и др. Они способны к бионакоплению, устойчивы в ООС и обладают канцерогенными свойствами.

С другой стороны, фенолы известны как биологически активные компоненты, входящие в состав большого числа растений, биологически активных добавок и др. В таких объектах присутствуют фенолы различной природы (одно-, двух-, трехатомные фенолы, фенолкарбоновые кислоты, флавоны, флавононы, катехины, лейкоантоцианы и др.). Они могут оказывать стимулирующее, гипотензивное, спазмолитическое, седативное, мочегонное и антимикробное действие на организм человека. Уровень содержания фенолов, необходимый для их надежного контроля в различных объектах, находится в области долей микрограммовых (нанограммовых количеств), что требует, как правило, предварительного их концентрирования.

Разработка простых в исполнении, недорогих, чувствительных и селективных аналитических способов, в том числе *тест*-методов определения фенолов, является актуальной аналитической задачей. Для концентрирования (извлечения) фенолов применяют твердофазные сорбенты и жидкость-жидкостную экстракцию. Последняя, как правило, реализуется с применением токсичных и летучих органических растворителей.

Альтернативой органическим растворителям являются разбавленные водные растворы нелетучих, малотоксичных ПАВ для концентрирования веществ по методологии экстракции на основе "точки помутнения" («cloud point» extraction, СР-экстракция; фазообразование осуществляется под действием температуры) или в присутствии высаливателей (aqueous biphasic

systems, two-phase systems, ATPS) с формированием фаз без дополнительного нагревания при температуре 20 – 25°C. Такие варианты применимы для концентрирования аналитов как неорганической, так и органической природы с высокими значениями степени извлечения. Они сочетаются со спектрофотометрическим (СФМ) определением, а также с гибридными методами, позволяющими совмещать разделение компонентов сложных смесей со СФМ определением методами ВЭЖХ, капиллярного электрофореза, мицеллярно-электрокинетической хроматографии. Развитие и совершенствование указанных способов концентрирования фенолов системами на основе дифильных соединений (неионных ПАВ (нПАВ), их смесей с ионными ПАВ) *актуально* для разработки способов их *тест*-определения.

Цель исследования – разработка способов мицеллярно-экстракционного концентрирования окрашенных производных фенола и его некоторых замещенных для спектрофотометрического и *тест*-определения.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Спектрофотометрически исследовать реакции взаимодействия фенола, резорцина, флороглюцина, тимола, 1-, 2-нафтолов с 4-нитрофенилдиазонием, 4-аминоантипирином, реактивом Фолина-Чокальтеу (ФЧ) в водной среде.
2. Установить закономерности фазообразования в водных растворах неионных и катионных ПАВ, а также в присутствии компонентов исследованных систем при варьировании рН, концентрации реагентов, природы растворителя и высаливателей.
3. Изучить концентрирование окрашенных производных исследуемых фенолов с применением СР-методологии и ATPS в политермическом и изотермическом режимах.
4. Выявить факторы, позволяющие проводить раздельное и суммарное *тест*-определение фенола и его производных, концентрируемых в жидких мицеллярных фазах нПАВ (их комбинации с кПАВ), с применением цифровых технологий .
5. Применить полученные закономерности мицеллярно-экстракционного концентрирования аналитических форм фенолов для их колориметрического

определения в водных объектах.

Научная новизна.

- Предложено развитие СР-методологии концентрирования мицеллярно-насыщенными фазами нПАВ окрашенных производных фенола и некоторых его замещенных с последующим их *тест*-определением на уровне долей ПДК.

- Установлены закономерности мицеллярно-экстракционного концентрирования аналитов при варьировании рН, концентрации реактантов, высаливателей и органических растворителей. Рассчитаны основные количественные характеристики экстракции (степень извлечения, коэффициент распределения).

- Предложены мицеллярно-насыщенные фазы неионных (Тритон Х-110, ОП-10, Тритон Х-114, Бридж-35) и катионных (цетилтриметиламмония хлорид) ПАВ для экстракции аналитических форм исследованных фенолов, образованных реакциями с 4-аминоантипирином, 4-нитрофенилдиазонием, реактивом ФЧ в присутствии неорганических высаливателей.

- Разработаны оригинальные способы мицеллярно-экстракционного концентрирования фенола, резорцина, флороглюцина, тимола, 1- и 2-нафтолов жидкими фазами неионных и катионных ПАВ. Предложены *тест*-средства (мицеллярные фазы нПАВ) для колориметрического определения фенолов на уровне десятых и сотых долей ПДК с применением цифровых технологий.

Практическая значимость. Мицеллярно-насыщенные фазы нПАВ и их смеси с кПАВ могут быть применены в качестве эффективных экстрагентов окрашенных производных фенола и его некоторых замещенных как альтернатива классическим токсичным растворителям.

Предложенное сочетание экстракционные системы предварительного мицеллярного концентрирования окрашенных аналитических форм фенола (и его некоторых замещенных) с последующим *тест*-определением позволило проводить экспресс-оценку фенолов в природных и питьевых водах на уровне сотых долей ПДК с удовлетворительной погрешностью.

Разработанные способы позволяют проводить как суммарное, так и

раздельное определение фенолов и некоторых их производных на уровне долей ПДК и ниже.

Автор выносит на защиту.

1. Особенности реакций фенолов с 4-нитрофенилдиазонием, 4-аминоантипирином, реактивом ФЧ в водной среде и в присутствии неионных и катионных ПАВ и их смесях.

2. Результаты исследования фазового поведения систем «фенольное соединение – реагент – ПАВ» в политермическом и изотермическом режимах; закономерности фазообразования в таких системах при варьировании рН, концентраций реагентов, природы растворителя и высаливателей.

3. Результаты мицеллярно-экстракционного концентрирования фенола, резорцина, флороглюцина, тимола, 1- и 2-нафтолов мицеллярно-насыщенными фазами неионных и катионных ПАВ, для создания *тест*-методов их определения с применением цифровой обработки окрашенных зон.

4. Способы определения фенола, резорцина, флороглюцина, тимола; 1-нафтола, 2-нафтола (их суммы) в водных средах методами колориметрии.

Личный вклад автора заключался в постановке задач, а также в выполнении основных теоретических и экспериментальных работ по ключевым направлениям исследования. В диссертации обобщены результаты, полученные лично автором или совместно с соавторами публикаций.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность полученных результатов подтверждена применением современного аналитического оборудования, результатами статистической обработки экспериментальных данных, отсутствием систематических погрешностей, а также хорошей воспроизводимостью результатов при анализе «модельных» смесей и реальных объектов.

Основные результаты работы доложены на XI Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии» (Саратов, 2016), X Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2016»

(Углич, 2016), Третьем съезде аналитиков России (Москва, 2017). V Всероссийском симпозиуме с международным участием «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар, 2018), IV Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» с международным участием (Краснодар, 2020), VI Всероссийском симпозиуме с международным участием «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар, 2021), IV Всероссийской конференции по аналитической спектроскопии с международным участием (Краснодар, 2023).

Публикации. Опубликовано 25 работ, из них 23 по теме диссертации: 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК, 10 статей в научных сборниках, 8 тезисов докладов международных и Всероссийских конференций.

Структура и объём работы. Диссертация состоит из введения, пяти глав, выводов, библиографического списка, состоящего из 109 наименований. Работа изложена на 140 листах, включает 26 таблиц и 81 рисунок.

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и задачи исследования, изложены новизна и практическая значимость работы, основные результаты, представленные к защите. **В первой главе** приведен обзор данных литературы, рассмотрены и обобщены способы безэкстракционного определения фенолов, а также их СР-концентрирования с последующим определением в различных объектах. Приведены примеры определения интегральных характеристик в водах, например, фенольного индекса. **Во второй главе** приведено обоснование и выбор объектов исследования, а также представлены применяемые в работе аппаратура, посуда, реактивы и методики проводимых исследований. **В третьей главе** приведены результаты спектрофотометрического и цветометрического изучения особенностей реакций фенола и его замещенных с 4-нитрофенилдиазонием, реактивом ФЧ, 4-аминоантипирином в водной среде. Дана сравнительная оценка некоторых метрологических характеристик таких систем, показаны недостатки и установлены причины нецелесообразности их применения в отсутствие

органических растворителей или организованных сред ПАВ. **В четвертой главе** приведены результаты найденных условий отдельного и суммарного колориметрического определения исследуемых производных фенола, сконцентрированных в жидкие мицеллярные фазы ПАВ, для разработки *тест*-вариантов их определения, основанных на математической обработке цифровых изображений окрашенных зон. Приведены количественные характеристики соответствующих экстракционных процессов. **Пятая глава** посвящена практическому применению установленных закономерностей мицеллярно-экстракционного концентрирования аналитических форм фенолов для разработки методик спектрофотометрического и цветометрического определения в водных объектах. **В заключении** обсуждается соответствие полученных результатов ранее поставленным задачам, намечены перспективы дальнейших исследований.

ГЛАВА 1. Обзор литературы

1.1. Мицеллярно-экстракционное концентрирование и определение фенолов

Фенольные соединения известны как биологически активные компоненты, которые входят в состав пищевых продуктов, растений, лекарственных препаратов и т.п. Также фенолы применяются в сельском хозяйстве и промышленности, что приводит к тому, что они становятся распространенными загрязнителями объектов окружающей среды (ООС). Уровень содержания фенолов, необходимый для их контроля в различных объектах лежит в области очень малых количеств, что требует предварительных способов их извлечения и концентрирования перед количественным определением.

В литературе [1-29] сведены данные о безэкстракционных методах идентификации и количественного определения фенолов и их производных. Одни авторы фокусируются на подробном обсуждении результатов изучения фенолов как пищевых добавок [13] и фитохимикатов [22]. Другие авторы основываются на описании различных методов определения каких-либо фенолов (процедуры экстракции с использованием сверхкритических жидкостей, микроволн, ультразвука [23]), (экстракция сверхкритической жидкостью [25]). В работе [26] автором были описаны методы экстракции и процедуры с использованием ВЭЖХ и СФМ для определения фенольных соединений в рисе. Таким образом, можно сделать вывод о многих попытках систематизации сбора данных по классификации различных методов определения фенолов и их производных (табл. 1.1).

Для определения фенолов применяют такие методы анализа как: хроматографический [1, 4, 5, 10-12, 16, 18, 19, 21, 22, 24-26, 28-36], спектрофотометрический (СФМ) [6, 8, 9, 14, 17, 19-21, 27, 37, 38], электрохимические [2, 3, 7], а также капиллярный электрофорез [22, 39].

Таблица 1.1. Некоторые характеристики методик безэкстракционного определения фенолов

№ п/п	Аналит	Объект	Реагент, условия определения	Метрологические характеристики (ДОС, ПрО, Sr и др.)	Метод определения	Лит-ра
1	2	3	4	5	6	7
1	<i>n</i> -Нитрофенол, <i>n</i> -хлорфенол, 2,6-дихлорфенол, 2,3-дихлорфенол	Вода	Микропористая органическая сетка	ПрО = 0,13-0,62 мкг/л	ВЭЖХ	1
2	Фенол	Вода	NH ₄ VO ₃ , H ₃ PO ₄ графитовый порошок,	ПрО =30 нМ	ВАМ	2
3	2-Хлорфенол, 2,4-дихлорфенол, 2,4,6-трихлорфенол, 2,4-диметилфенол, 4-нитрофенол, фенол	Воды	Электрохимические и оптические сенсоры на основе фенолоксидазы	ПрО =0,86 (±0,1) мкг/л	ЭХМ	3
4	2,4- Динитрофенол, 2,4- дихлорфенол	Вода	Супрамолекулярный неионный растворитель с добавлением нПАВ, покрытого магнетитовым активированным углем	ПрО = 0,0318-0,0384 мкг/л	ВЭЖХ	4
5	Фенол, Нитро, хлорпроизводные фенола, 1-нафтол, бисфенол А, В, С	Почва, питьевая вода, фрукты	Смесь гидроксидов железа, модифицированные магнитополимером	ПрО = 0,01-0,3 мкг/л	ВЭЖХ	5
6	Фенол	Вода	Гибридные тройные полимерные нанокompозиты с многостенными углеродными нанотрубками и графеновыми нанопластинами	ПрО = 2,94 нмоль/л	ЭХМ	6
7	Фенол	Вода	Zn ₄ Al-LDH	-	СФМ	8
8	<i>o</i> -Крезол, 2-хлорфенол, резорцин, фенол	Вода	1-этил-3-метилимидазолий бис(фторсульфонил) имидазида	ПрО = 1 мг/ л	СФМ	9

Продолжение таблицы 1.1

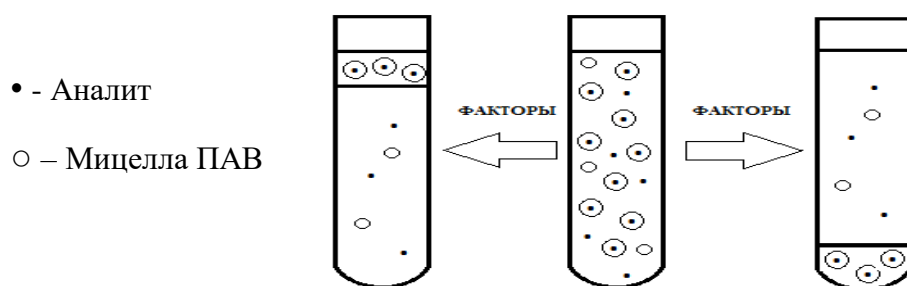
1	2	3	4	5	6	7
9	Бисфенол А, 4-нонилфенол, 4-октилфенол	Мясо	Fe ₃ O ₄ , ACN	ПрО = 1,4-8,7 мкг/л	ВЭЖХ	10
10	Фенолокислоты, флавоноиды, фенолоспирты	Семена масличных культур	Fe ₃ O ₄ , CH ₃ OH, ACN	ДОС = 0,02-90,00 мкг/кг	ЖХ	11
11	Фенол, нитро-, метил-, хлорпроизводные фенола	Вода	Ковалентный триозиновый каркас/Fe ₂ O ₃ , CH ₃ OH, ACN	ПрО = 0,09-0,53 нг/мл	ВЭЖХ-УФ	12
12	Фенолы	Сточные воды оливковых мельниц	H ₂ O ₂ и соли железа	ПрО = 50–100 мг/л	-	13
13	Фенолы	Бурые виды морских водорослей	Водно-этанольная смесь, реагент Фолина–Чокальтеу, Na ₂ CO ₃	ТРС(общее содержание фенола) с концентрацией до 173,65 мг экв, ГК / г экстракта	ГХ-МС	14
14	Фенол, 2-метоксифенол, 2-метокси- <i>n</i> -крезол, 4-этил-2-метоксифенол, 2,6-диметоксифенол, 1 - (4-гидрокси-3-5- диметоксифенил)-этанол	Модельное масло, каменноугольн ая смола	Этилацетат, NaOH, C ₂ H ₅ OH, 1-октен, HClO ₂ , холин	ПрО = 0,02 мкг/л	ГХ-МС	15
15	Фенолы	Бионефти	Дикатионные ионные жидкости	ПрО= 3,9 г/дм ³ , R=97%	ГХ	16
16	Фенолы	Яблочные выжимки	Реагент Фолина–Чокальтеу, Na ₂ CO ₃ , C ₂ H ₅ OH	АОА=5,63 ± 0,10 мг чая/г экстракта	ВЭЖХ	17
17	Фенолы	Виноградные выжимки	Реагент Фолина–Чокальтеу, Na ₂ CO ₃ , смесь этанола и воды	Общие фенольные соединения (ТРС) 65,68 мг GAE/ г	ВЭЖХ	18
18	Фенолы	Листья оливы	Смесь этанол–вода (60:40), реагент Фолина–Чокальтеу, Na ₂ CO ₃	ДОС = 0,18 – 115 г/кг	ВЭЖХ	19

1	2	3	4	5	6	7
19	Фенол, <i>o</i> -крезол, резорцин	Вода	Неароматический (<i>1</i> -гексил- <i>1</i> -метилпирролидиний бис(трифторметилсульфонил) имидада, и ароматический (<i>1</i> -гексил- <i>3</i> -метилимидазолий бис(трифторметилсульфонил)имидный	ПрО = 100 мг/л	СФМ	20
20	Флавоноиды, гидроксibenзойные кислоты	Апельсиновые корки	Смесь этанол– деионизированная вода, давление	ПрО = 19,3 ± 0,9 мг/г	ВЭЖХ, СФМ	21
21	Флоротаннин	Бурые водоросли	Полярные/неполярные растворители (этанол, метанол), реагенты Фолина–Чокальтеу, Фолина–Дени, берлинская лазурь	Общие фенольные соединения (ТРС) 277 мг GAE/ г	ВЭЖХ, КЭ, ЯМР	22
22	Фенолы	Агропродовольственные отходы	C ₂ H ₅ OH, CH ₃ OH, ацетон	ДОС = 0,7–114,7 мг GAE/ г	-	23
23	Фенолы	Кожура винограда	Смесь этанол–вода; ультразвук; реагент Фолина–Чокальтеу, Na ₂ CO ₃	ДОС = 0,0078–0,192 мг/мл	СФМ, ВЭЖХ	24
24	Фенольные кислоты и флавоноиды	Природные растительные материалы	CO ₂ , давление, температура, сорастворители (C ₂ H ₅ OH, H ₂ O, CH ₃ OH)	Общие фенольные соединения (ТРС) 27,1 мг GAE/г	ГХ, ВЭЖХ, МС	25
25	Фенольные кислоты, флавоноиды, проантоцианиды	Рис	Смесь ацетон/ вода, смесь ацетон/вода/уксусная кислота; NaOH, α-амилаза; реагент Фолина–Чокальтеу; AlCl ₃ , ванилин	-	ВЭЖХ, СФМ	26
26	Фенолы	Листья грецкого ореха	Смесь этанол: вода	ПрО = 470,03 мг/кг	СФМ	27
27	Фенол	Нефтяные смеси	<i>1,3</i> -диметилксантин, Изоникотинамид, L-лизин	ПрО = 1,57 г/л 1,64 г/л, 1,77 г/л	ГХ- МС	28
28	Бисфенолы, <i>4</i> -трет-октилфенол	Вода и молоко	Fe ₃ O ₄ -олеиновая кислота, HCl, NaOH	ПрО = 0,09-0,17 мкг/л;	ВЭЖХ	29

Анализ данных литературы, приведенных в табл. 1.1, показал, что фенол и его алкил-, гидрокси-, галоген-, метилпроизводные, фенольные отходы, антиоксиданты, пестициды и т.д. можно определять и безэкстракционно: спектрофотометрическим и хроматографическими методами, которые представлены: высокоэффективной жидкостной (ВЭЖХ), газовой (ГХ), тонкослойной (ТСХ) хроматографией. Также для определения полифенольных соединений применялись такие методы как люминесцентные, электрохимические и капиллярный электрофорез[40-42].

Для определения малых содержаний фенолов в природных объектах используют различные способы выделения и концентрирования: жидкостно-жидкостную экстракцию (в том числе жидкостную микроэкстракцию) [15, 17, 19, 21, 37], твердофазную экстракцию [1, 10-12, 29], сорбционные методы [2, 4, 5, 8, 9], экстракцию в «точке помутнения» [6,30, 32,36, 38, 43].

Экстракция на основе точки помутнения (СР) - экологичная процедура предварительного концентрирования и разделения различных аналитов, обладающая рядом преимуществ. Процедура быстрая, недорогая и достаточно избирательная, ее называют зеленой экстракцией, поскольку она не требует токсичных органических растворителей, а в ряде случаев осуществляется без них. Классическая процедура СР основана на свойстве неионного поверхностно-активного вещества (ПАВ) образовывать мицеллярную фазу в водной среде при нагревании выше определенной температуры (называемой точкой помутнения или температурой помутнения) или в присутствии электролитов, например, солей (явление высаливания). При этом образуется две фазы (водная фаза, обедненная ПАВ и фаза, богатая ПАВ) (рис. 1.1).



- - Аналит
- – Мицелла ПАВ

Рисунок 1.1. Схема фазового разделения водных растворов ПАВ. Факторы: температура, концентрация ПАВ, высаливателя, рН и др.

Разделение фаз в мицеллярной системе. СР зависит от образования мицелл при нагревании раствора выше точки помутнения используемого ПАВ. В водных растворах небольшое количество нПАВ присутствует в виде мономеров. При нагревании выше точки помутнения концентрация нПАВ превышает критическую концентрацию мицеллообразования (ККМ), и молекулы располагаются так, что образуют мицеллы (рис. 1.2). В типичной мицелле гидрофобные хвосты располагаются во внутренней части, чтобы свести к минимуму их контакт с водой. Напротив, гидрофильные головки обращены к молекулам воды на внешней поверхности.

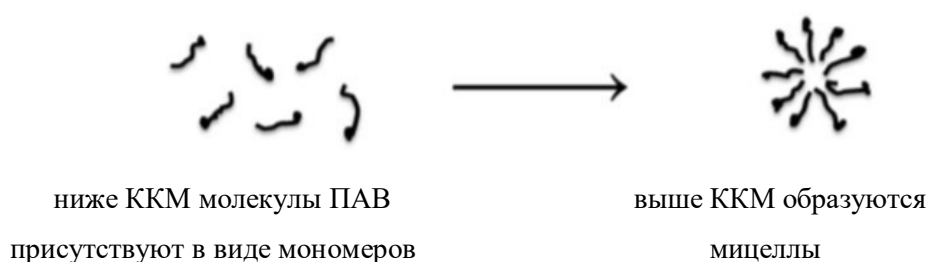


Рисунок 1.2. Схема образования мицелл ПАВ.

Образование мицелл может быть достигнуто при комнатной температуре при добавлении сильного электролита, например, Na_2SO_4 , явление, называемое эффектом высаливания. После образования мицелл разделение фаз может быть достигнуто и ускорено центрифугированием. Разделение фаз происходит в основном за счет дегидратации полярных групп ПАВ при нагревании. Это уменьшает отталкивания между молекулами мицелл и, следовательно, способствует их агрегации.

Требования СР.

1. Вещество, подлежащее отделению СР-экстракцией, должно быть гидрофобным или может быть преобразовано в гидрофобное вещество. Гидрофобность является необходимым условием для обеспечения его включения в мицеллярную систему. Примером являются ионы металлов, которые должны быть преобразованы в гидрофобные комплексы путем хелатирования с подходящим лигандом перед СР, органические вещества, такие как фенолы, лекарственные средства и пестициды.

2. Поверхностно-активные вещества являются важнейшими реагентами в СР. Они необходимы для образования мицелл, которые захватывают материал, подлежащий разделению. Они представляют собой амфипатические молекулы, состоящие из неполярной цепи с заряженной или полярной неионной головкой. Неионные типы ПАВ наиболее широко применяют в СР. Они - водорастворимы, их ионизация очень слабая. Примерами коммерческих ПАВ являются серии Triton X, такие как Triton X-100 (полиоксиэтилен-9,5-октилфеноксифир) и Triton X-114 (полиоксиэтилен-7,5-октилфеноксифир). Они представляют собой полиоксиэтилен по своей природе с общей формулой $RO(CH_2CH_2O)_nH$. Неионные ПАВ являются относительно высокостабильными и не подвержены влиянию pH. Амфипатическая их природа повышает растворимость как в воде, так и в органических растворителях [30].

На характер и количественные характеристики СР-экстракции оказывают влияние различные факторы, например, температура, солевой эффект, pH, природа ПАВ [43].

В большинстве работ определение фенолов после проведения СР-экстракции осуществляют спектрофотометрически или различными вариантами ВЭЖХ (табл. 1.2). Так в работе [30] автором рассмотрена СР-методология для разделения и предварительной концентрации фенолов. Представлена процедура СР для их извлечения из сточных вод оливкового завода с использованием Triton X-100 в качестве экстрагирующего растворителя. Степень извлечения составила 66.5% после применения одноэтапного СР. Приведены методики СР для извлечения фенола, 4-метилфенола и 4-нитрофенола из водных растворов с использованием оксиэтилированных метилдодеканоатов в качестве ПАВ в присутствии электролита высаливания - NaCl.

В работе [43] изучены эффективность и кинетика извлечения фенола из водных растворов с использованием нПАВ (неонолы AF9-8, AF9-9, AF9-10 и AF9-12; этоксилированные жирные спирты C12E4 и C12E5; плюроники PE6200 и 6400; и синтанол Brij 35) при температуре точки помутнения.

Таблица 1.2. Некоторые характеристики методик определения фенолов с предварительной СР-экстракцией

№ п/п	Аналит	Объект	ПАВ, реагент	Метрологические характеристики (ДОС, ПрО, Ст, R)	Метод определения	Литра
1	2	3	4	5	6	7
1	Фенол, 4-метилфенол, 4-нитрофенол	Вода	Тритон X-100, NaCl	R = 66.5%	ВЭЖХ, СФМ	30
2	Фенол	Водные растворы	Неонолы AF9-8, AF9-9, AF9-10, AF9-12, этоликсированные жирные спирты C12E4, C12E5, плюроники PE6200, PE6400, синтанол Brij 35	R = до 80%	ЯМР	43
3	Фенол	Вода	4-ААР, K ₃ [Fe(CN) ₆], NH ₄ OH дихлорметан, трихлорметан, CCl ₄ , гексан, гидрофосфат калия, NaOH, HCl	ДОС = 5,0-300 мкг/л; ПрО = 1,7-5,7 мкг/л	СФМ, ВЭЖХ, ГХ	31
4	Фенол, 4-хлорфенол, 2,4-дихлорфенол	Вода	4-ААР, K ₃ [Fe(CN) ₆], H ₂ O ₂ , NH ₄ OH, метанол, этанол, изопропанол, ацетон, ACN, дихлорметан, хлороформ, KCl, MgSO ₄ , Na ₂ CO ₃	ПрО = 0,10-0,22 мкг/л	СФМ	37
5	Гидрохинон, резорцин, катехол, фенол, β- нафтол, бисфенол А, α- нафтол, 4- <i>m</i> -бутилфенол, 4- <i>m</i> -октилфенол, нонилфенол, октилфенол, 4- <i>n</i> -нонилфенол	-	Тергитол 15-S-7, ACN, Na ₂ SO ₄ , фосфатный буфер	ПрО = 0,03-8,5 мкг/л	ВЭЖХ	32

1	2	3	4	5	6	7
6	Фенол	Сточные воды для переработки оливок	Генапол X-080, Тритон X-100, Твин-80, NaOH, HCl, pH=2, 70°C	R= 62% (Твин-80) R= 65% (Тритон X-100) R= 68% (Генапол X-080)	ВЭЖХ	33
7	Алкилфенол, 4- <i>n</i> -пропилфенол, 4- <i>m</i> -бутилфенол, 4-аминофенол, 4-гексилфенол	Вода	20 % ПЭГ 6000, 0,6 М Na ₂ SO ₄ , ACN	ПрО = 0,18-0,42 мг/л	ВЭЖХ	34
8	Фенол, <i>o</i> -крезол, <i>m</i> -крезол, <i>n</i> -крезол, 2,4- диметилфенол	-	Тергитол 15-S-7, <i>n</i> -пентанол, 0,2 М Na ₂ SO ₄ , буферный р-р цитрата натрия с гидрофосфатом натрия, pH = 4,0	ПрО = 0,061-0,166 мкг/л; S _r = 1,7-5,0%; ДОС = 0,25–480 мкг/л	ВЭЖХ	35
9	Фенол, <i>m</i> -нитрофенол, бисфенол А, α -нафтол, β -нафтол	Вода	Тритон X-114, NaCl, HCl, NaOH,	ПрО (фенол) = $2 \cdot 10^{-6}$ М ПрО (<i>m</i> -нитрофенол) = $2,5 \cdot 10^{-6}$ М ПрО (бисфенол А) = 0,50 мкг/л ПрО (α -нафтол) = 0,24 мкг/л ПрО (β -нафтол) = 0,20 мкг/л	КЭ	39
10	Алкилфенол, 4- <i>n</i> -пропилфенол, 4- <i>m</i> -бутилфенол, 4-аминофенол, 4-гексилфенол	Вода	ПЭГ 6000, Na ₂ SO ₄ , ACN	ПрО = 0,18-0,42 мг/л	ВЭЖХ	36
11	Фенол	Вода	β -Циклодекстрин, Тритон X-100, NaOH, Na ₂ CO ₃ ,	R = 91,9-116,1%	СФМ	6
12	Фенолы и флавоноиды	Кожура граната	Тритон X-114, NaCl, ст. р-р галловой кислоты, CH ₃ OH, реагент Фолина–Чокалтеу, Na ₂ CO ₃	R = 95%	СФМ	38

1	2	3	4	5	6	7
13	Фенол, 2,4-дихлорфенол, <i>β</i> -нафтол, бисфенол А	Вода	Na ₂ SO ₄ , ацетон/н-гексан (1:3)	ПрО = 0,01- 1,0 г /л	ГХ–МС	44
14	Фенол	Вода	4-АА, K ₄ [Fe(CN) ₆], буферный раствор (хлорид аммония), хлороформ	ПрО = 2 мкг /л	-	45
15	Фенол, 3-метилфенол, 4-нитрофенол, 2-хлорфенол, <i>m</i> -бутилфенол	Вода	Уксусный ангидрид, 2,4-дибромэтан	ПрО = 0,1- 0,9 мкг л ⁻¹	ГХ	46
16	Фенолы	Винный осадок	Лецитин, NaCl, рН 3	-	СФМ с ДРPH	47

Эффективность экстракции с использованием неололов и этоксилированных жирных спиртов варьировали в диапазоне 40–60% и достигала 80% при использовании плюронигов PL6200 и PE6400.

В работе [31] приведены методики для определения фенола в водах с использованием колориметрической системы на базе смартфона. Они основаны на реакции фенола с 4-аминоантипирином в присутствии окислителя, образуя коричнево-оранжевого цвета продукт, который извлекался при помощи ультразвуковой дисперсионной жидкостно–жидкостной микроэкстракции с последующей регистрацией параметров цветности - значений RGB. В оптимизированных условиях достигнут рабочий диапазон от 5,0 до 300 мкг/л фенола, предел обнаружения и предел количественного определения составили 1,7 и 5,7 мкг/л соответственно.

В работе [32] авторами предложен чувствительный метод, основанный на СР-экстракции для разделения и концентрирования 12 фенольных соединений из вод ООС для последующего анализа методом ВЭЖХ. В качестве экстрагента применяли нПАВ - Тергитол 15-S-7. В оптимальных условиях все коэффициенты корреляции были выше 0,997, а пределы обнаружения для анализируемых фенолов варьировали от 0,03 до 8,5 мкг/л.

Реализована [33] СР-экстракция для предварительного концентрирования природных фенолов из сточных вод переработки столовых оливок с использованием трех различных неионных ПАВ: Genapol X-080, Triton X100 и Tween 80. Оптимальные условия для СР фенольных соединений были изучены в отношении различных экспериментальных параметров, концентрации ПАВ, рН раствора, температуры. Степень извлечения для каждого из неионных ПАВ составила: 62% (Твин-80), 65% (Тритон X-100), 68% (Генапол X-080).

В работах [34,35] авторами представлены варианты предварительного концентрирования и определения фенолов и хлорфенолов в образцах воды, основанные на быстром синергетическом СР-извлечении. В качестве экстрагента применен раствор Тергитола 15-S-7. Предел обнаружения фенолов в работе [34] составил от 0,275 до 0,419 мг/мл. Разработанная методика была

успешно применена для количественного анализа фенолов в пробах воды со степенью извлечения $\geq 90,0\%$. В работе [35] диапазон относительных стандартных отклонений составил 1,7%-5,0%, а диапазон пределов обнаружения составил 0,061–0,166 мкг/л.

В работе [37] предложена СР-экстракция в сочетании с дисперсионной жидкость-жидкостной микроэкстракцией для извлечения и предварительной концентрации фенола и хлорфенолов в пробах воды. При оптимальных условиях калибровочные кривые были линейными в диапазоне 1-300 мкг/л, а предел обнаружения находился в диапазоне 0,10–0,22 мкг/л. Коэффициенты извлечения варьировались от 94,80% до 106,1% и от 78,12 до 82,53 соответственно.

В работе [39] разработан двойной вариант СР для анализа фенола и *m*-нитрофенола. Данный метод применяется как метод обогащения образца для капиллярного электрофореза. При такой СР-экстракции извлечение фенолов проводилось два раза для одного образца. На первом этапе СР-экстракция проводилась аналогично традиционной СР. Вторым этапом водный раствор лиганда добавляли к фазе, богатой ПАВ, для образования гидрофильного комплекса с анализируемым веществом, после чего нагревали и центрифугировали раствор. В качестве экстрагента использовали Тритон X-114. Были получены следующие данные: ПрО (фенол) = $2 \cdot 10^{-6}$ моль/л, ПрО (*m*-нитрофенол) = $2,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л, ПрО (бисфенол А) = 0,50 мкг/л, ПрО (α -нафтол) = 0,24 мкг/л, ПрО (β -нафтол) = 0,20 мкг/л.

В работе [36] авторами разработана быстрая синергетическая экстракция на основе точки помутнения для девяти алкилфенолов в сочетании с ВЭЖХ с флуоресцентным детектором. НПав полиэтиленгликоль 6000 (ПЭГ 6000) выбран в качестве экстрагента. Ацетонитрил использовали в качестве восстановителя и синергического реагента с Na_2SO_4 для снижения температуры «точки помутнения» экстрагента до комнатной. Эффективность извлечения девяти алкилфенолов варьировалась от 91,4% до 99,5%. Хорошая линейность ($r > 0,994$) была получена в диапазоне 0,6–200 мкг/л для восьми алкилфенолов и

1,8–600 мкг/л для нонилфенола. Одновременно метод показал низкий предел обнаружения (0,17–0,39 мкг/л).

В работе [16] описан простой и недорогой способ СР-экстракции для извлечения фенола из проб воды перед его спектрофотометрическим определением. Два варианта СР были разработаны на основе Тритона X-100/ β -циклодекстрина (TX-100/ β -CD) с использованием электролитов гидроксида и карбоната натрия в качестве агентов, вызывающих разделение фаз. В оптимизированных условиях СР-(TX- β CD)-NaOH был выбран для извлечения фенола из реальных проб воды из-за его превосходных характеристик по сравнению с СР-(TX- β CD)-Na₂CO₃. Степень извлечения фенола в реальных образцах воды находилась в диапазоне 91,9 - 116,1%.

В работе [38] авторами представлена экстракция на основе точки помутнения для предварительного концентрирования и отделения биоактивных соединений из кожуры граната. Проведена оптимизация для отделения общих фенолов и флавоноидов с максимальным извлечением (% R), коэффициентов разделения (K_s/a), концентрации фракции (f_c), используя композитную конструкцию. Оптимальные условия составляли 8,22% ПАВ (Triton X-114), 4%-ый раствор соли (NaCl) при температуре 36,80°C и pH 4, что приводило к 95% извлечению фенолов.

В работе [44] изучен новый дисперсионный способ жидкость-жидкостной микроэкстракции, основанный на температурном разделении фаз, индуцированного полимером - циклодекстрин-поли (N-изопропилакриламид) (-CD-PNIPAM), для определения фенола, 2,4-дихлорфенола, β -нафтола и бисфенола А. Затем вводили 200 мл экстрагента ацетон/н-гексан (1 : 3), и фенолы десорбировали из -CD-PNIPAM под воздействием ультразвука в течение 5 мин. Пределы обнаружения для всех анализируемых веществ варьировались от 0,01 до 1,0 г/л.

Предложено [45] простое и портативное устройство на основе смартфона для определения фенольного индекса. Способ основан на комбинации микроэкстракции и зондирования с помощью смартфона. Фенол реагировал с

4-аминоантипирином в растворе образца с получением окрашенного соединения. Окрашенный продукт экстрагировали с помощью метода микроэкстракции. Затем было проведено количественное определение анализируемого вещества с использованием смартфона. Оптимизированный метод показал линейный диапазон 5-100 мкг/л с пределом обнаружения и пределом количественного определения 2 и 5 мкг/л соответственно.

В работе [46] предложена дисперсионная жидкофазная микроэкстракция для извлечения фенола, 3-метилфенола, 4-нитрофенола, 2-хлорфенола, *трет*-бутилфенола из водных сред с последующим ГХ-определением. В оптимальных условиях градуировочные зависимости линейны в диапазоне 1-500 мкг/л с пределами обнаружения от 0,1 до 0,9 мкг/л и повторяемостью в диапазоне от 2,6 до 10,0%.

Предложен вариант [47] СР для извлечения фенольных соединений из отходов винного осадка с использованием лецитина в качестве поверхностно-активного вещества. Согласно результатам при использовании нескольких стадий СР, концентрация ПАВ 5%, рН 3 и температура 40°C были оптимальными условиями для отделения фенольных соединений от винного осадка с использованием лецитина в качестве нПАВ.

1.2. Интегральные характеристики в анализе вод

Сточные воды многих крупных промышленных предприятий (нефтехимических комплексов) имеют в своем составе широкий спектр вредных веществ различных классов, в том числе фенол и его замещенные.

В зависимости от технологического процесса производства, компонентный состав фенольных соединений в исследуемых пробах разнообразен (табл. 1.3). Поэтому определение состава (т.е., какие фенолы и в каком количестве) фенольных соединений характеризуется низкой точностью результатов анализа [48].

Таблица 1.3. Гидрохимические показатели качества вод [49]

Натуральные	Относительные расчетные		
	По степени обобщения и формализации	По характеру отображаемой информации	По формам выражения
1) Дифференцированные (характеризуют только одно свойство: Cl^- , SO_4^{2-} , Ca^{2+} и др.);	1) Статистические (среднее арифметическое и среднее ВЗ: мода, медиана и др.);	1) Покомпонентные (отображают ЗВ отдельными компонентами: Cl^- , Ca^{2+} и др.);	1) Коэффициенты загрязненности (комплексные оценки первого, реже второго уровня обобщения: КЗ);
2) Групповые (информация об отдельных группах химических веществ: БПК, ХПК и др.);	2) Косвенные (кратность и повторяемость случаев превышения ПДК);	2) Групповые (информация по отдельным группам однородных химических веществ: ТМ, растворенные газы, биогенные вещества и др.);	2) Индекс качества (загрязненности) («относительная числовая величина, количественно и однозначно характеризующая разнородную совокупность компонентов и соединений химического состава поверхностных вод»);
3) Интегральные (группа однородных свойств воды, обуславливающих физико-химическими и биохимическими процессами: рН, ТМ, жесткость воды и др.)	3) Обобщенные (ОЗ поверхности вод через условные (цифровые) показатели: показатель общей нагрузки или относительного объема загрязненного стока воды);	3) Комплексные (оценка загрязненности воды с учетом большинства числа параметров, в т.ч. и разнородных свойств воды – КИЗВ, УКИЗВ)	3) Классификация качества (загрязненности) (распределение ПЗ согласно определенному общему признаку по классам с образованием системы)
	4) Интегральные (ОЗ поверхностных вод, уплотняющих информацию о наиболее информативных гидрохимических параметров		

Список сокращений, применяемых в табл. 1.3:

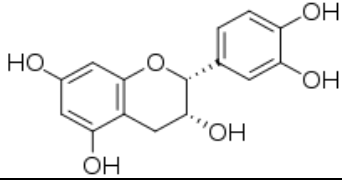
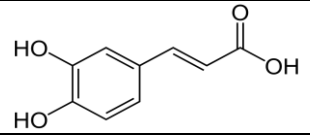
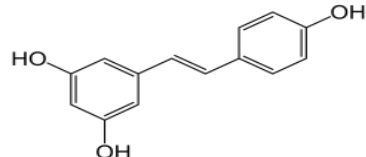
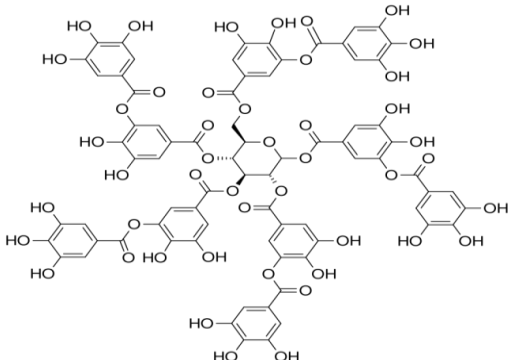
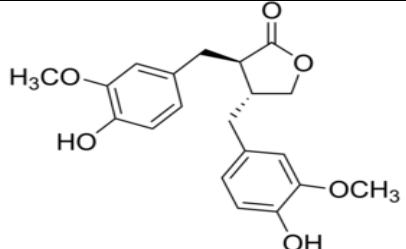
ТМ – тяжелые металлы;	ЗВ – загрязненность воды;
БПК – биологическое потребление кислорода;	КИЗВ – комбинаторный индекс загрязненности воды;
ХПК – химическое потребление кислорода;	УКИЗВ – удельный КИЗВ;
ВЗ – взвешенное значение;	КЗ – коэффициент загрязненности;
ОЗ – оценка загрязненности;	ПЗ – показатели загрязненности

Однако близость значений ПДК, а также сходство химико-аналитических свойств различных фенолов позволяют не определять каждый фенол в отдельности, а контролировать их суммарное содержание [50-52]. Определение суммарного содержания фенолов проводят различными методами

(бромометрический, гравиметрический, колориметрический, хроматографический, фотометрический, флуориметрический, спектрофотометрический) [49, 53-55].

Известно, что полифенолы являются антиоксидантами, которые содержатся в продуктах питания (чайные и кофейные напитки, соки, вина, овощи и фрукты, зерновые культуры и т.д), входят в состав фармацевтических препаратов и биологически активных добавок (БАД) [56-58]. Поэтому важной задачей является определение их содержания в исследуемых объектах, так как дополнительный прием этих веществ может нанести вред организму [59]. Некоторые основные группы фенольных антиоксидантов (ФА) представлены в таблице 1.4.

Таблица 1.4. Некоторые группы фенольных антиоксидантов

Класс полифенола	Фенольное соединение	Формула
Флавоноиды	Эпикатехин	
Фенольные кислоты	Кофейная кислота	
Стильбены	Ресвератрол	
Танины	Дубильная кислота	
Лигнаны	Матаиресинол	

Оценить общую антиоксидантную активность исследуемого объекта возможно с применением интегральных методов. Интегральный показатель (ИП), характеризующий обобщенную антиоксидантную активность, является важным показателем качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов. Содержание некоторых фенолов в пищевых продуктах представлено в таблице 1.5.

Таблица 1.5 Содержание фенолов в пищевых продуктах [60]

Продукт	Содержание (мг/г)	Продукт	Содержание (мг/г)
Экстракт валерианы	1,78 ± 0,12	Дикая шелковица	3,73 ± 0,11
Экстракт розмарина	2,19 ± 0,15	Яблоки, сорт Гала	3,91 ± 0,08
Экстракт кубинского орегано	0,34 ± 0,00	Ананас	0,67 ± 0,01
Экстракт базилика	147 ± 1,60	Ацерола (барбадосская вишня)	8,61 ± 0,62
Экстракт лавра	92,0 ± 2,45	Экстракт семян винограда (dw)	63,5 ± 1,0
Экстракт фенхеля	30,3 ± 0,76	Кожица чёрной сливы	92,5
Экстракт розмарина (dw)	92,5 ± 1,8	Клубни дикого батата	0,58
Экстракт центеллы азиатской (dw)	25,4 м 1,2	Экстракт скорлупы фисташек (dw)	21,7
Экстракт гинкго (dw)	24,8 ± 1,4	Финик	2,47
Экстракт тмина	37,4 ± 0,32	Дикий цикорий	1,03 ± 0,00
Пажитник (dw)	54,3 ± 2,6	Краснокочанная капуста	1,78 ± 0,1
Экстракт имбиря (dw)	39,9 ± 2,6	Пшеница	1,86
Оливковое масло, сорт экстра вирджин	0,27	Шершавый белый латук (<i>Prenanthes aspera</i>)	0,53 ± 0,09
Оливковое масло, сорт вирджин	0,30	Красный салат-латук (<i>Lactuca sativa</i>)	1,70 ± 0,01
Карамбола	1,26 ± 0,10	Зёрна риса	1,85
Высокорослая черника (<i>Vaccinium ashei</i>)	3,40	Рисовые отруби	16,4
Клюква	1,71	Мёд	0,35
Земляника	2,57 ± 0,02	Красное вино (мг/мл)	1,64 ± 0,26
Малина	1,21 ± 0,03	Шерри (мг/мл)	0,29
Голубика щитковая (<i>Vaccinium corymbosum</i>)	3,86 ± 0,14	Белое вино (мг/мл)	0,25 ± 0,05
Голубика узколистная (<i>Vaccinium angustifolium</i>)	4,71 ± 0,19	Экстракт зелёного чая (dw)	59,8 ± 1,8
Листья голубики щитковой	44,8	Экстракт чёрного чая (dw)	59,3 ± 0,3

Примечание, dw – сухой вес.

Методы исследования АОА: титриметрия, электрохимические (амперометрия, кулонометрия, вольтамперометрия, потенциометрия), хроматографические (тонкослойная, ГХ, ВЭЖХ), спектральные методы (спектрофотометрия (СФМ), метод определения радикалудерживающей способности с использованием реактива 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (метод DPPH), метод определения железосвязывающей активности экстрактов (метод FRAP), флуориметрические, хемилюминесцентные, биологические и другие методы [56, 60, 61].

ИП по фенолам может соответствовать суммарному содержанию ФА, значение которого возможно получить СФМ определением фенолов с реактивом Фолина-Чокальтеу [54, 62].

Реактив Фолина-Чокальтеу (ФЧ) применяют в качестве стандартного реагента для спектрофотометрического суммарного определения фенольных соединений, как полифенолов и их производных, так и простых фенолов [63, 64].

Реактив ФЧ широко используется в клинических исследованиях и для контроля питания при определении общего содержания полифенолов в продуктах растительного происхождения и биологических образцах. Первоначально этот способ был разработан для анализа белков, но позже усовершенствован Синглтоном, Ортофером и Ламуэлой-Равентос [65] для анализа фенольных компонентов в вине, и стал обычным тестом для оценки антиоксидантности пищевых продуктов и растительных экстрактов [66].

В настоящее время реактив ФЧ широко используется для количественного определения полифенолов в экстрактах растительного происхождения, а также в пищевых продуктах и напитках [67].

Некоторые способы спектрофотометрического определения фенольных соединений с реагентом ФЧ приведены в таблице 1.6. Проведенный анализ публикаций [68-89] показал, что определение суммарного содержания фенольных соединений с реактивом Фолина-Чокальтеу, проводится при длине волны от 725 до 765 нм, в присутствии Na_2CO_3 (создает щелочную среду) или NaHCO_3 [69, 79]). Объекты исследований: продукты питания, лекарственные

препараты, экстракты лекарственных растений, почвы, а также модельные растворы. Так, в работе [68] определили суммарное содержание фенолов в молоке (козье, коровье, овечье, человеческое). Для получения водного экстракта, к молоку добавляли метанол, ацетонитрил и реагенты Карреза I и Карреза II. Метод обеспечивал приемлемую линейность, повторяемость, воспроизводимость, пределы количественной оценки и обнаружения. Наибольшее количество фенольных соединений было обнаружено в овечьем молоке.

Колориметрический анализ с ФЧ является наиболее широко используемым методом для оценки общего содержания фенолов в различных напитках и фруктах. Так, в ряде работ [69, 71, 74, 82], содержание фенолов определяли во фруктовых соках, яблоках и сидорах. Фенольные соединения восстанавливают реагент ФЧ до оксидов молибдена и вольфрама синего цвета (765 нм [69, 71], 725 нм [74] и 750 нм [82]). Общее содержание фенолов выражали в мг эквивалента галловой кислоты на литр напитка. Содержание фенолов, которое рассматривается как показатель качества продукта, заметно варьировалось в зависимости от технологии переработки сока и марки напитков. Авторы [69, 71] показали, что в протестированных яблочных соках не было заявленного содержания полифенолов, и этикетки фруктовых соков, основанные только на процентном содержании фруктов, иногда могут вводить потребителей в заблуждение.

В работе [70] проведено исследование на содержание фенольных соединений в экстракте кожуры тыквы. Образцы тыквы разрезали, а кожуру отделяли от мякоти. После чего ее сушили в темном помещении при комнатной температуре в течение 10 дней и измельчали до порошкообразного вида. Общее содержание фенолов определяли, добавляя 10%-ный реактив ФЧ и 7,5%-ный NaHCO_3 . Полученной смеси давали постоять 15 минут при 45°C и измеряли оптическую плотность при длине волны 765 нм. Результаты исследования показывают, что экстракт кожуры различных тыкв обладает значительными антиоксидантными свойствами.

Таблица 1.6. Спектрофотометрическое определение суммы фенолов с реактивом Фолина-Чокальтеу

№п /п	Аналит	Объект	λ_{max} , нм	Метрологические характеристики (ДОС, ПрО, Sr)	Примечание	Лит-ра
1	2	3	4	5	6	7
1	Фенолы	Молоко (козье, коровье, овечье, человеческое)	750	ПрО = 6,03 мг GAE/L Sr ≤ 2%	В качестве эталонного стандарта использовалась галловая кислота (чистота 98%)	68
2	Полифенолы и флаваноиды (гидрохинон, хлорогеновая кислота, пирокатехин, пирогаллол, кверцетин, фенол)	Фруктовые соки, сидры, яблоки были выжаты в сок	765	ПрО = 14,2 мг; ДОС = 42,9-500 мг/л	Аскорбиновая кислота, глюкоза и тирозин, компоненты матрицы, присутствующие в различных концентрациях во многих фруктовых соках, препятствуют определению.	69
3	Природные антиоксиданты (фенольные дитерпены, флавоноиды, танины и фенольная кислота)	Экстракт кожуры тыквы	765	ДОС = 100-1000 мкг/мл	Экстракты фильтровали, удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом.	70
4	Флавоноиды	Яблочный сок	765	ДОС = 25-500 мг/л; ПрО = 0,2 мг/л	Все измерения проводились при температуре 25°C. Содержание полифенолов в растительных продуктах зависит от внутренних (род, вид, культивары) и внешних (агрономические, экологические, обработка и хранение) факторов.	71
5	Фенолы	Этанольные экстракты чайного растения, проростков пшеницы, гречихи; растворы галловой кислоты, рутина, эпикатехина.	725	ДОС = 10-100 мкг/мл	Фенолы экстрагировали 96%-ным этанолом из замороженного жидким азотом и измельченного растительного материала в течение 45 мин при температуре 45 °C	72

Продолжение таблицы 1.6

1	2	3	4	5	6	7
6	Кверцетин, рутин, пирокатехин, резорцин, галловая кислота, аскорбиновая кислота	Индивидуальные ФА и их модельные смеси	765	ДОС = $10^{-5} - 10^{-4}$ моль/л; ПрО = 0,1-1 мкМ	Мешающие вещества: углеводы, аминокислоты, белки, карбоновые кислоты	73
7	Фенолы	Виноградный сок, чай	725	Про = 0,25 мг/л	Реакция проходила в течение 60 минут в темноте при комнатной температуре (25°C)	74
8	Полифенолы (катехины, теафталины, теарубигины, галловая кислота)	Чай Пуэр, зеленый чай	765	ДОС = 15-100 мг/л	До проведения анализа все стандартные растворы хранили при температуре 4°C	75
9	Кверцетин, протокатеховая, хлорогеновая, кофейная, феруловая, ванилиновая, мочева, галловая кислоты, катехол, тирозин, фенилаланин	Кофе	750	ДОС = 590-720 мкмоль ГК/дм ³	Расчет величины суммарного содержания фенольных соединений в образцах кофе проводили по предварительно построенному относительно галловой кислоты градуировочному графику в диапазоне 1,0-6,0 мкмоль ГК/дм ³	76
10	Салициловая, ванильная, <i>n</i> -гидроксибензойная кислоты, эвгенол и тимол	Экстракты лекарственных растений	765	ДОС = 5-200 мг/л	Спектры поглощения регистрировали спустя 2 часа выдерживания при комнатной температуре	77
11	Тербуталин сульфат, фенотерол гидробромид, этафедрин гидрохлорид, изоксуприн гидрохлорид	Таблетки и сиропы <i>Bricanyl, Berotec, Effortil, Duvadilan</i>	747-760	ДОС = $3,65 \cdot 10^{-6}$ - $2,19 \cdot 10^{-5}$ моль/л и 2 - 24,0 мкг/мл, Sr < 2 %	-	78
12	Фенолы	Экстракты растений <i>Saurauia vulcani</i>	765	7,155 мг ГК/г, 13,702 мг ГК/г и 16,560 мг ГК/г	Полярность растворителя, используемого при экстракции, может повлиять на общее содержание фенолов в растительных экстрактах	79
13	Полифенолы	Экстракты <i>Salvia sclarea</i>	760	Sr = от 0,6 до 1,24%	-	80

1	2	3	4	5	6	7
14	Органорастворимые лигнины и крафт-лигнин	<i>Miscanthus x giganteus, Paulownia tomentosa и Silphium perfoliatum. Древесина бука и пшеничная солома, черный щелок (смесь ели и сосны)</i>	750	TPC < 1,5 %	Перед измерением спектров поглощения исследуемый раствор инкубировали в течение 30 мин при 40°C	81
15	Полифенолы	Ягоды, фрукты, семена фруктов, овощи, специи, какао и зеленый чай	750/ 760	-	Все образцы измельчали в порошок или однородную массу и хранили при температуре -80°C	82
16	3,4-Дигидроксифенилуксусная кислота, тирозол, катехин, 4-гидроксифенилуксусная, ванилиновая, гомованилиновая, кофеиновая, сиреневая, п-кумаровая, синапиновая кислоты	Почва	725	-	Анализировать возможно только водные экстракты почв	83
17	Фенолы и флавоноиды	Мёд	765	Sr < 3,5%, ДОС = 10,74 - 86,80 мг ГК/100 г меда	Все образцы хранились при температуре ниже 0°C	84
18	Фенол, пирокатехин, резорцин, пирогалловая кислота, галловая кислота, проантоцианидины, эпикатехин, эпигаллокатехин, галлат эпигаллокатехина.	Зеленый и черный чай, улун	758- 762	ДОС = 0-140 мкг/мл	-	85
19	Фенольные соединения	Мёд	760	PrO = 2,55 мкг/мл	Мешающее влияние оказывают сахара (глюкоза, сахароза, фруктоза, ксилоза, манноза, рамноза и арабиноза)	86

1	2	3	4	5	6	7
20	Фенолы, танин	Экстракт семян асаи	765	ДОС = 25-150 мкг/мл, S _r ≤ 2,63%, ПрО = 9,9 мкг/мл	-	87
21	Полифенолы: <i>para</i> - гидроксibenзойная кислота, эпикатехин, мирицетин, кемпферол, феруловая кислота, синаповая кислота, цианидин-3-глюкозида	Модельный раствор	765	ДОС = 1-500 мг/л, ПрО = 0,33-1,31 мг/л	-	88
22	Танины	Кукуруза и соя	725	ПрО = 0,03 мкг/мкл, ДОС = 2-10 мкг/мкл	Для обработки сырья использовались такие методы, как замачивание, удаление кожуры, сушка в духовке, варка и обжаривание	89

Список сокращений, применяемых в таблице: ПрО – предел обнаружения; ДОС – диапазон определяемых содержаний; S_r – относительное стандартное отклонение; ГАЕ/Л – эквивалент галловой кислоты; ГК – галловая кислота; ТРС – общее содержание фенолов.

Определение танинов проводили в экстрактах семян асаи и в продуктах, таких как желтая кукуруза и соя [87, 89]. Экстракт семян асаи богат танинами, которые потенциально могут применяться для различных методов лечения. Определение проводили спектрофотометрическим методом ($\lambda_{\text{max}}=765$ нм), время реакции ФЧ и фенольных веществ составило 30 минут, эталонным веществом использовали пирогаллол. Рассчитанные пределы обнаружения и определения составили 9,9 мкг/мл и 33,1 мкг/мл соответственно.

В работе [89] проведено количественное определение общего содержания танина в желтой кукурузе и сои. Для проведения анализа сырье измельчали, но перед этим продукты замачивали, удаляли кожуру, сушили в духовке, варили и обжаривали. В данном исследовании стандартным раствором явилась дубильная кислота, а пределы обнаружения и определения составили 0,03 и 0,09 мкг/мкл соответственно. Ученые утверждают, что их работа продемонстрировала пригодность метода определения общего содержания танина в пищевых продуктах растительного происхождения с использованием реактива ФЧ – как аналитического реагента.

Спектрофотометрические методы часто применяют для определения общего количества полифенолов и флавоноидов, так как они достаточно просты, чувствительны и точны. В публикациях [73, 88] проводили анализы водных растворов с известным содержанием ФА. В работе [73] в качестве растворов фенольных соединений использовали кверцетин, рутин, пирокатехин, резорцин, галловую кислоту и аскорбиновую кислоту. Полученные растворы имели рН около 10,5. Это дает возможность для высокой скорости взаимодействия реактива ФЧ с полифенолами, а также устойчивости получающихся продуктов реакции. ДОС составил $1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л; ПрО индивидуальных ФА = 0,1 - 1 мкМ. Показано, что суммарное содержание ФА в модельных смесях методом ФЧ определяется с большими систематическими погрешностями, мешающее действие на реакцию оказывают такие вещества, как углеводы, аминокислоты, белки, карбоновые кислоты.

Для определения общего содержания полифенолов и флавоноидов [88] готовили модельные растворы веществ: *para*-гидроксибензойная кислота,

эпикатехин, мирицетин, кемпферол, феруловая кислота, синаповая кислота, цианидин-3-глюкозид в метаноле. Реакцию инкубировали на водяной бане при 40°C и спустя 30 минут измеряли спектры поглощения при 765 нм относительно контрольного раствора. Предел обнаружения полифенолов составил от 0,33 до 1,31 мг/л, а предел определения от 1,01 до 3,96 мг/л. Самая низкая чувствительность была обнаружена для *пара*-гидроксибензойной кислоты (0,0008 л/мг), а самая высокая - для мирицетина (0,0015 л/мг). Результаты по точности для всех стандартов находились в приемлемом диапазоне, за исключением кемпферола.

Достаточно часто объектами исследований фенольных соединений являются различные чаи и кофе, так как в их составе содержится большое количество ФА, которые влияют на вкус, цвет и запах напитков [62, 75, 76, 82, 85].

В работе [75] проанализировано 57 образцов китайского чая. Среди этих образцов 11 были зелеными чаями, 14 – выдержанным чаем Пуэр и 32 – спелым чаем Пуэр. Результаты показали, что содержание основных полифенольных соединений чая, катехинов, в чае Пуэр значительно меньше, чем в неферментированном и полуферментированном чае. Оптимизированный метод определения фенолов с помощью реактива ФЧ характеризовался хорошей линейностью, точностью и стабильностью, демонстрируя его пригодность для определения ТРС чая.

Для определения суммарного содержания фенольных соединений в кофе [76] рассматривались как индивидуальные соединения, входящие в состав кофе, так и сами образцы кофе. Расчет значения суммарного содержания фенолов в кофейных напитках проводили по градуировочному графику относительно галловой кислоты в диапазоне 1,0 - 6,0 мкмоль ГК/дм³. Для образцов растворимого кофе суммарное содержание фенольных веществ находилось в пределах от 590 до 720 мкмоль ГК/дм³.

В исследовании [85] анализировали три вида чайных экстрактов на содержание фенольных соединений (фенол, пирокатехин, резорцин, пирогалловая кислота, галловая кислота, проантоцианидины, эпикатехин, эпигаллокатехин, галлат эпигаллокатехина). Авторы не рекомендуют

выбирать эпикатехин в качестве стандартного вещества при определении общего содержания фенолов в экстрактах чая, так как он занижает получаемые результаты.

Предложенный авторами [80] метод был успешно применен для оценки лекарственных средств (таблетки и сиропы *Bricanyl*, *Berotec*, *Effortil*, *Duvadilan*), и полученная степень извлечения варьировалась от $97\% \pm 1,4$ до $100,2\% \pm 0,9$ и от $97,3\% \pm 0,7$ до $100 \pm 0,8$. В работе [82] объекты исследования - экстракты растений *Saurauia vulcani*. Общее содержание фенолов в экстрактах гексана, этилацетата и метанола составило 7,155 мг ГАЕ/г, 13,702 мг ГАЕ/г и 16,560 мг ГАЕ/г соответственно. Для оценки содержания вторичных метаболитов полифенольной природы в траве шалфея мускатного (*Salvia sclarea L.*), были выбраны оптимальные условия анализа (время реакции 60-80 мин, длина волны 760 нм, галловая кислота и рутин в качестве эталонных веществ).

В работах [84, 86] проводился анализ на присутствие фенолов в меде. Показано [86], что содержащиеся в меде сахара (глюкоза, сахароза, фруктоза, ксилоза, манноза, рамноза и арабиноза) приводят к помехам в измерениях и завышениям значений ТРС. Авторы предлагают использовать водный раствор Na_2CO_3 с концентрацией 0,75% для создания pH~7,9. Такие условия обеспечивают проведение реакции без участия редуцирующих сахаров. Предел обнаружения составил 2,55 мкг/мл, а предел определения 7,74 мкг/мл.

Таким образом, определение фенолов с реактивом ФЧ обладает рядом преимуществ: способ быстр, прост в исполнении и не требует сложных инструментальных устройств [90]. Однако этот вариант подвергался многим неконтролируемым модификациям, часто без какой-либо систематической оптимизации или процедур стандартизации и валидации.

* * *

Обзор данных литературы показал, что для определения фенолов (их суммы) на уровне долей ПДК актуальна разработка различных способов

концентрирования из различных объектов. В ряде случаев, определение фенолов может быть достигнуто на уровне ПДК и ниже без предварительного их концентрирования с применением хроматографических, люминесцентных и электрохимических методов анализа. Однако разработка простых в исполнении, недорогих, чувствительных и селективных способов, в том числе тест-методов, актуальная аналитическая задача, которая требует предварительного концентрирования указанных аналитов. Для этого применяют жидкостно-жидкостную (ЖЖЭ), твердофазную (ТФЭ), сверхкритическую флюидную, парофазную экстракцию (ПФЭ), экстракционное вымораживание, а также сорбционные и мембранные способы концентрирования. Эта стадия пробоподготовки часто приводит к удорожанию анализа и связана, как правило, с применением токсичных и летучих органических растворителей. В последнее время альтернативой органическим растворителям являются разбавленные водные растворы нелетучих, малотоксичных ПАВ, которые применяют как экстрагенты для концентрирования веществ по методологии на основе "точки помутнения", "cloud point" (CP). Эта методология применима для концентрирования аналитов как неорганической, так и органической природы с высокими значениями коэффициентов извлечения, чему и посвящена настоящая работа.

ГЛАВА 2. Экспериментальная часть

2.1. Применяемые в работе посуда, реактивы и оборудование

Посуда

1. Колбы мерные 22-го класса точности, номинальной вместимостью 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 мл, ГОСТ 1770-74.
2. Пробирки стеклянные, ГОСТ 1770-74.
3. Пипетки 1, 2-го класса точности номинальной вместимостью 1, 2, 5, 10, 25 мл, ГОСТ 29227-91.
4. Бюретка по ГОСТ 29251 вместимостью 25 см³, ценой деления 0,1 см³.
5. Стаканы стеклянные мерные 2-го класса точности, номинальной вместимостью 100, 200, 250 мл, ГОСТ 1770-74.
6. Воронки стеклянные, лабораторные тип В стекло ХС, ГОСТ 25336-82.
7. Чашки Петри, ГОСТ 23932-90.
8. Флаконы аптечные с навинчивающимися пробками и полиэтиленовыми вкладышами вместимостью 50 см³, ТУ 64-2-109.
9. Пробирки Эппендорфа (номинальным объёмом 10 мл).

Реактивы

1. Вода дистиллированная, ГОСТ 6709-72.
3. Спирт этиловый ректификационный (C₂H₅OH), ГОСТ 5962-67.
4. Кислота соляная (HCl), х.ч. ГОСТ 3118-77.
3. Натрия карбонат безводный (Na₂CO₃), ГОСТ 5100-85.
4. Поверхностно-активные вещества – оксиэтилированные алкилфенолы, общая формула: C_nH_{n+1}C₆H₄O(C₂H₄O)_mH (табл. 2.1).

Таблица 2.1. Некоторые характеристики применяемых ПАВ

Наименование	* n	** m	T _{пом.} °С	ω, %	ККМ, г/л	Производитель
ОП-10	8-10	10-12	80-90	80	0,15	Россия, ГОСТ 8433-81
Тритон X-100	8	9-10	22-25	100	0,90	Германия, Sigma-Aldrich
Тритон X-114	8	7-8	23-25	100	0,12	Германия, Sigma-Aldrich

*Длина гидрофобного радикала; **Длина оксиэтиленовой цепи.

5. Цетилтриметиламмония хлорид (ЦТМА), C₁₂H₂₇NCl, чда.

6. Калий сернокислый (K_2SO_4), ч., ГОСТ 4145- 65.
7. Фенол кристаллический (C_6H_5OH), ГОСТ 6417.
8. 4-Аминоантипирин, ТУ 6-09-3948.
9. Гексацианоферрат (III) калия, ГОСТ 4206.
10. Реактив Фолина – Чокальтеу, ГОСТ Р 55488-2013.
11. 4-Нитроанилин ($C_6H_5N_2O_2$), ч., ГОСТ 5274-75.
12. Нитрит натрия ($NaNO_2$), х.ч., ГОСТ 4197-74.
13. Хлорид натрия ($NaCl$), ГОСТ 4233-77.
14. Флороглюцин ($C_6H_6O_3$), ч.д.а, (имп)
15. Резорцин ($C_6H_6O_2$), ч.д.а. (имп), Sumitomo chemical, Япония.
16. Тимол ($C_6H_3CH_3(OH)(C_3H_7)$), ч.д.а., ТУ 6-09-3736-79.
17. Нафтол-1 ($C_{10}H_8O$), ч.д.а., ТУ 6-09-5417-88.
18. Нафтол-2 ($C_{10}H_8O$), ч.д.а. ТУ 6-09-5418-89.

Аппаратура

1. Высокоэффективный жидкостной хроматограф «Стайер». (Изготовитель: «Аквилон», Россия).
2. Двухлучевой сканирующий спектрофотометр Shimadzu UV-1800.
3. Шкаф сушильный SNOL 58/350 (Литва).
4. Центрифуга «Eppendorf» (Centrifuge 5430 R, Германия).
5. Весы аналитические общего типа AND HR-250AZG I специального класса точности с наибольшим пределом взвешивания 252 г/ 0,1 мг по ГОСТ 24104-88Е (Япония).
6. Цифровой фотоаппарат «Samsung A8 +».
7. Термометр ГОСТ-215 73.

Вспомогательное оборудование

1. Дозаторы Экрос ОП-100-1000 мкл; 10-100 мкл (Россия).
2. Лента лабораторная «Parafilm M» (США).
3. Бокс, позволяющий стандартизировать условия освещения.

Схема бокса представлена на рисунке 2.1.

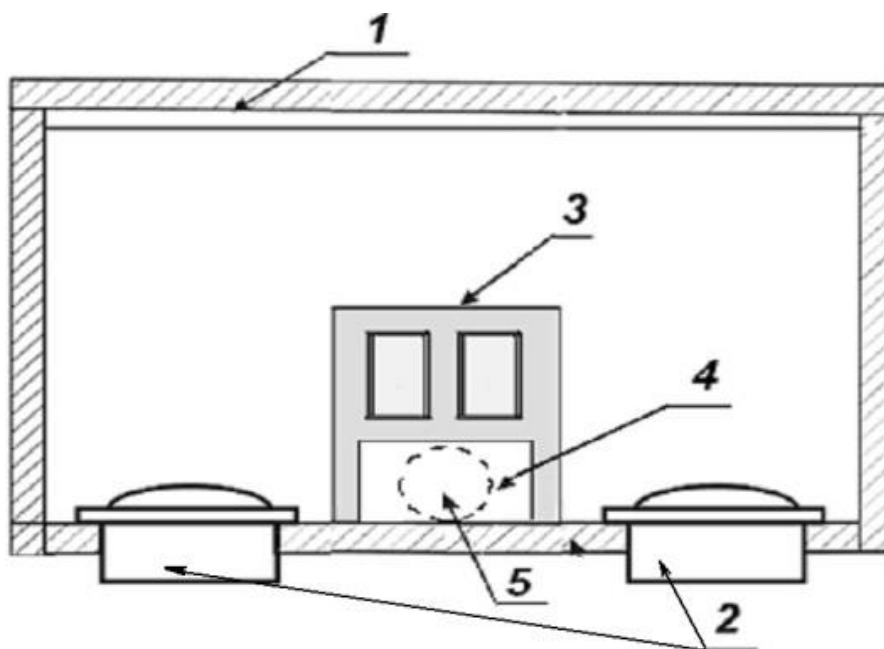


Рисунок 2.1. Схема бокса для цифровой фотокамеры (ЦФК): 1 - белый экран; 2 – галогеновые лампы; 3 – штатив, 4 – оборачивающее зеркало; 5 – отверстие для объектива ЦФК.

2.2. Методики приготовления растворов

Гидроксид натрия (NaOH). Для приготовления 10 М раствора гидроксида натрия навеску щелочи 40 г растворяли в термостойком стакане и небольшими порциями добавляли щелочь в дистиллированную воду до полного растворения. Затем перемещали раствор в колбу объёмом 100 мл и доводили до метки дистиллированной водой. Концентрацию NaOH варьировали разбавлением 10 М раствора. Стандартизацию раствора проводили титриметрически с 0,100 М HCl.

Фенол кристаллический. Для приготовления исходного 0,100 М раствора навеску 0,4706 г реактива растворяли в 50 мл этанола. Рабочие растворы готовили разбавлением исходного 0,100 М непосредственно перед применением. Хранили в стеклянной посуде с пришлифованными пробками в темноте при +4 °С.

4-Аминоантипирин (C₁₁H₁₃N₃O). Для приготовления исходного раствора 4-аминоантипирин концентрацией 0,100 М навеску 1,0163 г реактива растворяли в 50 мл дистиллированной воды, фильтровали и переносили в посуду из тёмного стекла.

Гексацианоферрат (III) калия. Для приготовления исходного 8%-ного раствора навеску 4,0 г реактива растворяли в 46 мл дистиллированной воды, фильтровали и переносили в посуду из тёмного стекла.

Карбонат натрия (Na_2CO_3). Для приготовления 2 М раствора карбоната натрия навеску 5,3 г реагента переносили в мерную колбу 50 см³ и растворяли в дистиллированной воде.

Сульфат натрия (Na_2SO_4). Для приготовления исходного 1,35 М раствора навеску 19,175 г Na_2SO_4 растворяли в 100 см³ дистиллированной воды.

Неионный ПАВ - Тритон X-100 ($\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$, $n = 9-10$). Для приготовления исходного 20%-ного раствора навеску 20,2 г реактива растворяли в 79,8 мл дистиллированной воды. Рабочие концентрации Тритон X-100 варьировали разбавлением исходного 20%-ного раствора.

Неионный ПАВ - ОП-10 ($\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$, $n = 7-8$). Для приготовления исходного 20%-ного раствора навеску 24,4 г реактива растворяли в 75,6 мл дистиллированной воды. Рабочие концентрации ОП - 10 варьировали разбавлением исходного 20%-ного раствора.

Неионный ПАВ - Тритон X-114 ($\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$, $n = 8$). Для приготовления исходного 20%-ного раствора навеску 20,2 г реактива растворяли в 79,8 мл дистиллированной воды. Рабочие концентрации Тритон X-114 варьировали разбавлением исходного 20%-ного раствора.

Катионный ПАВ - Цетилтриметиламмония бромид (ЦТМА). $\text{C}_{12}\text{H}_{47}\text{NBr}$, чда. Исходный раствор ($\omega = 10\%$) готовили растворением навески 1 г препарата в 9 мл дистиллированной воды. Рабочие концентрации готовили разбавлением исходного.

Нафтол-1 и нафтол-2 ($\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}$). Для приготовления 0,100 М исходных растворов навеску 0,7208 г соответствующего препарата растворяли в мерной колбе вместимостью 50 мл в этиловом спирте. Во всех исследованиях применяли очищенные перекристаллизацией нафтолы.

Нитрит натрия (NaNO_2). Для приготовления исходного 0,100 М раствора нитрита натрия навеску 0,3440 г переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили дистиллированной водой до метки.

4-Нитроанилин (C₆H₆N₂O₂). Для приготовления исходного 0,100 М раствора навеску 0,3450 г реактива растворяли в мерной колбе вместимостью 25 мл в этаноле спирте.

Реактив Фолина - Чокальтеу. Для приготовления исходного 2 н. раствора в круглодонной колбе вместимостью 1000 см³ растворяли натрий вольфрамвокислый по ГОСТ 18289 (50,00 ± 0,01) г и натрий молибденовокислый по ГОСТ 10931 (12,25 ± 0,01) г в 350 см³ дистиллированной воды. Добавляли 25 см³ ортофосфорной кислоты по ГОСТ 6552 и 50 см³ концентрированной соляной кислоты по ГОСТ 3118. Кипятили колбу с обратным холодильником по ГОСТ 25336 на водяной бане в течение 10 ч. Затем добавляли (75,00 ± 0,01) г сернокислого лития, 25 см³ дистиллированной воды, перемешивали и добавляли 5 капель жидкого брома по ГОСТ 4109, перемешивали. Для удаления избытка брома кипятили 15 мин без холодильника и снова перемешивали. Охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 500 см³ и доводили до метки дистиллированной водой.

Хлорид натрия (NaCl). Для приготовления исходного 20%-ного раствора навеску 20,0 г реактива растворяли в 80 мл дистиллированной воды.

Тимол (C₆H₃CH₃(OH)(C₃H₇)). Для приготовления 0,100 М исходного раствора навеску 0,3755 г растворяли в мерной колбе вместимостью 25 мл этиловым спиртом.

Резорцин (C₆H₆O₂). Для приготовления 0,100 М исходного раствора навеску 0,0275 г растворяли в мерной колбе вместимостью 25 мл дистиллированной водой. Во всех исследованиях применяли очищенный сублимацией резорцин. Для очистки резорцина от примесей, собирали установку рисунок 2.2. Навеску резорцина помещали в фарфоровую чашку и нагревали на песчаной бане. Сублимированный резорцин оседал на стенках стеклянной воронки.

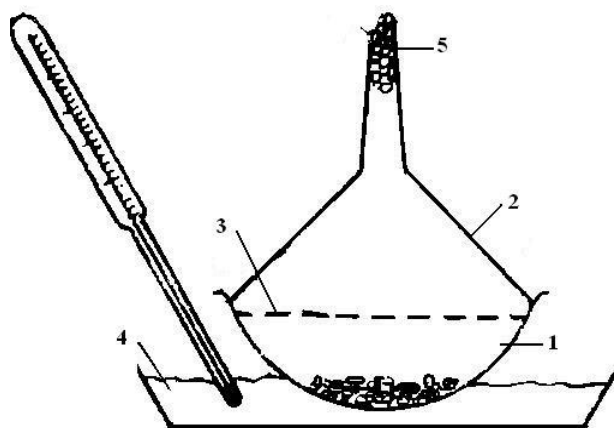


Рисунок 2.2. Установка для сублимации резорцина.

1 – фарфоровая чашка; 2 – стеклянная воронка; 3 – фильтровальная бумага с отверстиями; 4 – песчаная баня; 5 – вата.

Определение точной концентрации HCl. Установление титра концентрированной соляной кислоты проводили титриметрически, по фиксанальному раствору карбоната натрия, по стандартной методике, приведенной в [102]. Для этого навеску карбоната натрия из фиксанала переносили в колбу на 1000 мл и доводили дистиллированной водой до метки. Концентрация раствора Na_2CO_3 составляла 0,100 н. В мерную колбу емкостью 250 мл приливали около половины объема дистиллированной воды, осторожно добавляли 2 мл концентрированной соляной кислоты, доводили водой до метки, тщательно перемешивали и заполняли бюретку (25 мл).

Установку титра раствора HCl осуществляли по приготовленному стандартному раствору карбоната натрия. Для этого в коническую колбу для титрования отмеряли бюреткой 20 мл 0,100 н. раствора карбоната натрия, добавляли одну - две капли метилового оранжевого и титровали раствором хлороводородной кислоты до перехода желтой окраски индикатора в оранжевую. Титрование повторяли не менее 3 раз. Определение молярной концентрации эквивалентов раствора хлороводородной кислоты (н.) проводили по формуле:

$$C_{\text{экв}}(\text{HCl}) = \frac{V(\text{Na}_2\text{CO}_3) \cdot C_{\text{эка}}(\text{Na}_2\text{CO}_3)}{V_{\text{HCl}}}$$

Определение титра раствора нитрита натрия. Определение точной концентрации нитрита натрия проводили перманганатометрически. Титр рабочего раствора перманганата калия устанавливали по фиксанальному раствору щавелевой кислоты:



Фиксальный раствор щавелевой кислоты концентрацией 0,100 н. разбавляли в 10 раз. К 20 мл 0,0100 н. раствора $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ приливали 10 - 15 мл 2 н. H_2SO_4 и нагревали до 70 – 80°C. Титровали перманганатом калия до появления слабозимовой окраски. Концентрация раствора KMnO_4 составила 0,022 н. Исходный раствор нитрита, приготовленный как описано выше, разбавляли в 10 раз. К аликвотной части (20 мл) добавляли 10 - 15 мл 2 н. H_2SO_4 и титровали KMnO_4 до появления слабозимовой окраски. Точная концентрация нитрита натрия составила 1,040 н. В дальнейшем вводили поправку на концентрацию NaNO_2 для приготовления рабочих растворов из исходного.

Определение точной концентрации гидроксида натрия. В коническую колбу на 100 см³ вносили отобранную аликвоту стандартизуемого раствора NaOH , 1-2 капли раствора метилового оранжевого. Титровали полученную смесь раствором соляной кислоты HCl с молярной концентрацией 0,0500 М до перехода оранжево-желтой окраски в оранжевую. По полученным данным определяли концентрацию раствора NaOH :

$$C(\text{NaOH}) = \frac{C(\text{HCl}) \cdot V_{\text{ал}}(\text{р-ра HCl})}{V_i(\text{р-ра NaOH})} = \frac{0,0500 \cdot 10,0}{V_i(\text{р-ра NaOH})} = \frac{0,5000}{V_i(\text{р-ра NaOH})}$$

где $C(\text{NaOH})$ – молярная концентрация эквивалента раствора гидроксида натрия, моль/дм³; $C(\text{HCl})$ – молярная концентрация эквивалента раствора соляной кислоты, моль/дм³; $V_{\text{ал}}(\text{р-ра HCl})$ – аликвотный объем раствора HCl , см³, $V_i(\text{р-ра NaOH})$ – раствор щелочи NaOH , пошедший на титрование аликвотного объема раствора HCl , см³.

2.3. Методы исследования

Спектрофотометрия. Электронные спектры поглощения исследуемых растворов регистрировали на двухлучевом сканирующем спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Япония). Предел допускаемых значений абсолютной погрешности: по шкале $\lambda \pm 0,3$ нм, по коэффициенту пропускания $\pm 1\%$. Метод применяли для контроля и определения количественных характеристик мицеллярной экстракции исследуемых фенолов.

Цветометрически оценивали содержание фенолов в водах после СР-экстракции с применением математической обработки цифровых изображений окрашенных зон тест-средств, снятых камерой Apple Phone 13 Pro Max в специализованном боксе, снабжённом лампами дневного света. Параметры камеры: фотокамера (Мп) – 16, размер матрицы (дюйм) - 1/2,8, диафрагма - f/1,7. Необходимую часть цветного изображения усредняли, применяя графический редактор Adobe PhotoShop CS5, до одного пикселя с помощью фильтра «пикселизация». После усреднения цвета, у полученного изображения определяли яркость цветовых параметров R, G, B. По полученным параметрам строили градуировочные зависимости яркости цветового канала от логарифма концентрации исследуемых фенолов.

Титриметрия применена для стандартизации исходных растворов: гидроксида натрия, нитрата натрия и соляной кислоты.

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Разделение и определение фенолов и их смесей в растворах проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе «Стайер». (Изготовитель: «Аквилон», Россия).

Подвижная фаза: Ацетонитрил (марка «HPLC-grade, 99,99% чистоты) – Вода (бидистиллированная) = 50:50 (по объему). Скорость потока подвижной фазы – 0,8 мл/мин. Марка хроматографической колонки: “Phenomenex” Luna 5u C18(2), 100 А, 150 x 4,60 mm, 5 micron. Дополнительно использовали предколонку Phenomenex KJO-4282, ВЭЖХ security guard картридж C18(2). Температурная программа: термостатирование при н.у.

Спектрофотометрический детектор UVV-104 (длина волны 265 нм, УФ-лампа). Объем вводимой в инжектор пробы 50 мкл (фиксированный объем пипетки 20 мкл).

pH-метрия применена для контроля pH среды в каждой из исследуемых систем. Водородный показатель (показатель pH) измеряли на pH-метре (pH-673 М) со стеклянным индикаторным электродом и хлоридсеребряным электродом сравнения.

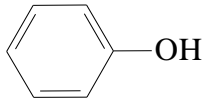
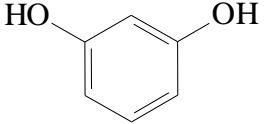
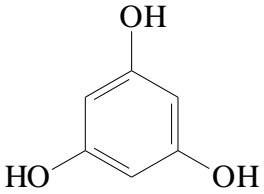
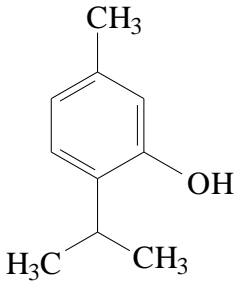
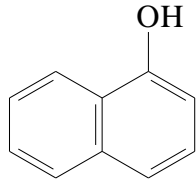
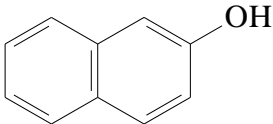
ГЛАВА 3. Спектрофотометрическое изучение реакции фенола и его некоторых замещенных с органическими и неорганическими реагентами в водной среде

В качестве аналитов, с одной стороны, выбраны фенолы – токсиканты и биологически активные вещества, представленные в табл. 3.1. С другой стороны, их выбор обоснован различным числом гидроксильных групп в бензольном кольце (одно-, двух-, трехатомные фенолы) и положением гидроксила в нафтольном кольце. За счет того, что фенолы проявляют слабокислотные свойства они способны диссоциировать с образованием фенолят-ионов. При этом отрыв протона замедляется с увеличением числа гидроксильных групп в бензольном кольце, о чем свидетельствуют значения констант ионизации, и увеличивается за счет присутствия электроноакцепторных заместителей (табл. 3.1).

Как видно из табл. 3.1, чем выше $\lg P$, тем более гидрофобнее соединение, и наоборот, у фенольных соединений, проявляющих гидрофильные свойства, низкий коэффициент липофильности. На коэффициент липофильности влияет как число гидроксогрупп в бензойном кольце, так и наличие различных заместителей. На межфазной границе полярные группы стремятся ориентироваться в направлении к водной фазе, гидрофобный «поплавок» ароматического ядра в силу гидрофобных взаимодействий ориентируется в направлении органической фазы. В этом случае, например, *орто*-заместители могут экранировать гидроксильную группу фенола –ОН и мешать ей ориентироваться перпендикулярно к более гидрофильной фазе.

Для получения аналитических форм фенолов – их окрашенных производных - исследованы 3 типа реакции (системы): диазотирования и азосочетания (*система I*), окислительной конденсации (*система II*) и реакция Фолина-Чокальтеу (*система III*).

Таблица 3.1. Применяемые в работе аналиты

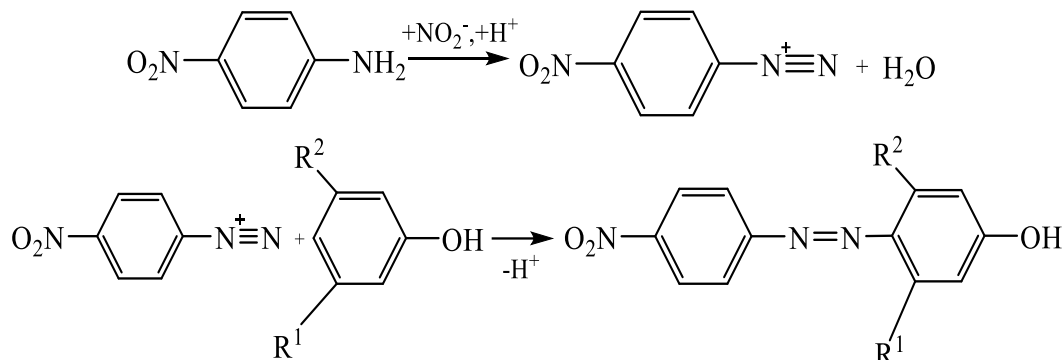
№ п/п	Фенолы	Формула	pK*	lgP**	Растворимость* в воде, 20° С г/100 мл	ПДК, мг/л
1	Фенол		9,98	1,76	8,2	0,001
2	Резорцин		pK_1 9,15 pK_2 11,33	1,48	63,7	0,1
3	Флороглюцин		pK_1 9,13 pK_2 9,8 pK_3 -	1,19	1,12	0,3
4	Тимол		10,62	3,42	0,09	-
5	1-Нафтол		9,85	2,76	0,07	0,1
6	2-Нафтол		9,63	2,76	0,06	0,4

* - Большая химическая энциклопедия: В 5 т.: А-Дарзана / Редкол.: Кнунянц И. Л. и др. - М.: Сов. энцикл., 1988 - 1998.

** - Расчеты по атомно-связево-аддитивным схемам сделаны доктором химических наук, профессором кафедры аналитической химии и химической экологии СГУ имени Н.Г. Чернышевского, профессором – А.Н. Панкратовым

Система I. На первой стадии дериватизацию неокрашенных фенолов осуществляли по реакции диазотирования 4-нитроанилина (наиболее реакционноспособный ариламин, образующий устойчивую соль – хлорид 4-нитрофенилдиазония) и последующего азосочетания (вторая стадия),

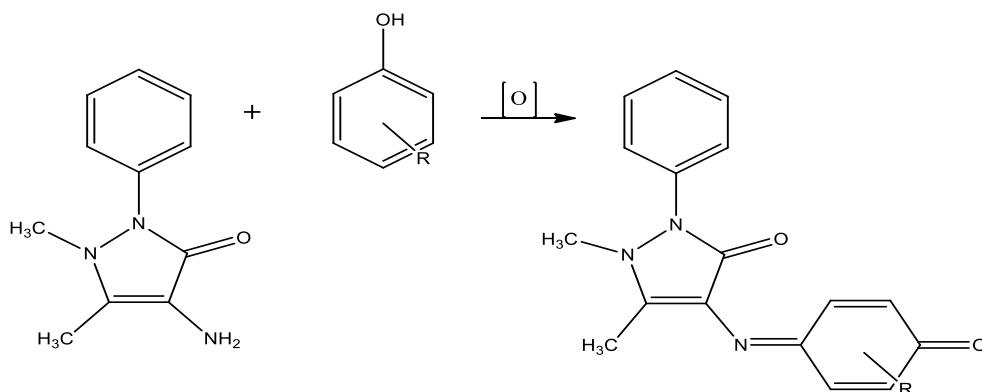
приводящего к получению окрашенных аналитических форм соответствующих азосоединений (схема):



$\text{R}^1=\text{R}^2=\text{H}$ (фенол); $\text{R}^1=\text{OH}$ (резорцин), $\text{R}^2=\text{H}$; флороглюцин: $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{OH}$), $\text{R}^1=\text{CH}_3$;
 $\text{R}^2=\text{C}_3\text{H}_7$ (тимол); $\text{R}^1=\text{H}$; $\text{R}^2=\text{C}_6\text{H}_5$ (нафтол)

Данная система в водной среде не пригодна для спектрофотометрического определения, так как в отсутствие органических растворителей образуются малорастворимые азосоединения и она гетерогенна. Однако в неводных средах такие системы обладают рядом достоинств: они контрастны, чувствительны и применимы для многих фенольных соединений.

Система II. Второй способ дериватизации - реакция окислительной конденсации фенолов с 4-аминоантипирином (4-АА).

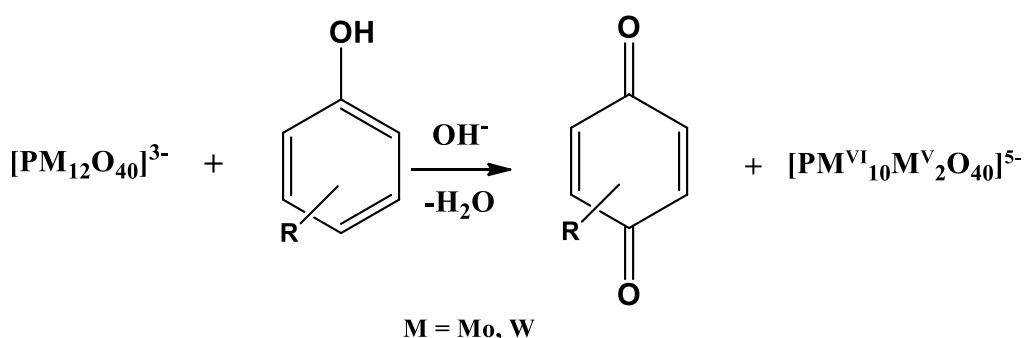


Исследуемые фенолы, а также хлорпроизводные, входят в обобщенный показатель «фенольный индекс», вступают в реакцию взаимодействия с 4-АА в присутствии окислителей, например, гексацианоферрата (III) калия при $\text{pH} > 10,2$ с образованием окрашенных соединений – антипировых красителей, содержащих хроморформную группу - хинодный фрагмент.

Данная система имеет ряд существенных недостатков, одним из которых является узкий ряд определяемых фенолов (не все фенольные соединения способны вступать в такую реакцию), однако она не ограничивает определение фенолов в водной среде. В этой системе требуется строгий контроль pH (фенолы реагируют при pH ~ 10), так как при более высоких или более низких значениях pH, с реагентом вступают в реакцию соединения не относящиеся к фенолам, а в сильно щелочных средах окраска аналитической формы нестабильна.

Система III. Третий вариант дериватизации основан на реакции Фолина – Чокальтеу. Реактив Фолина-Чокальтеу представляет собой смесь растворов вольфрамвокислого и молибденовокислого натрия, к которой добавляют последовательно фосфорную, соляную кислоты и, после кипячения, сульфат лития, а также несколько капель бромной воды [91 - 94].

Реагент ФЧ применяют для колориметрического определения фенольных соединений, основанного на том, что фосфовольфрамовые и фосфомолибденовые кислоты при восстановлении фенольными соединениями в щелочной среде (pH~10, создают водным раствором Na₂CO₃) образуют комплекс синего цвета («молибдено-вольфрамовая синь»), интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации фенолов.



Данная система высококонтрастна и позволяет определять как индивидуальное, так и суммарное содержание фенолов по стандартному веществу, чаще всего это галловая кислота. Так например, ГОСТ Р 55488-2013 [91] устанавливает метод определения суммарного содержания фенольных соединений в водно-спиртовом экстракте прополиса по реакции Фолина-Чокальтеу в пересчете на галловую кислоту. Данный метод обладает такими

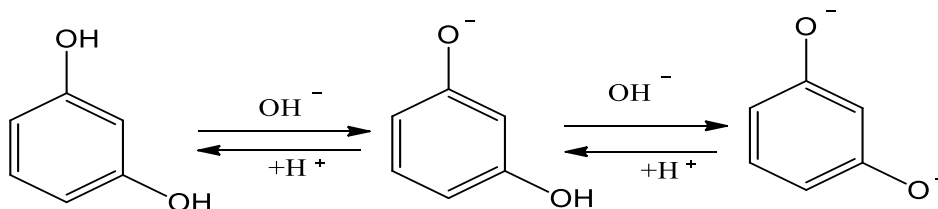
преимуществами как простота и доступность оборудования, экспрессность и довольно высокая чувствительность, что делает его применение перспективным для определения суммы фенолов.

3.1. Состояние исходных реактантов при различных pH

Поскольку для получения аналитических форм исследуемых фенолов в системах *I* - *III* необходима щелочная среда, целесообразно изучить состояние исходных аналитов при $pH > 7$.

3.1.1. Исследованные фенолы

Фенолы проявляют слабые кислотные свойства и диссоциируют на фенолят-ионы и протоны. Наиболее реакционноспособной формой фенолов являются их соли, т.е. феноляты. Фенолят-анион стабилизирован в водных средах по средствам делокализации отрицательного заряда. Это представлено ниже (на примере резорцина) соответствующими резонансными структурами:



Электронные спектры поглощения резорцина (модельный фенол) приведены на рис. 3.1 в водной среде (рис. 3.1а), в соляной кислоте ($c_{HCl} = 0,1$ М) (рис. 3.1 б) – оптимальные условия для стадии диазотирования 4-нитроанилина (4-НА)) и в щелочной среде ($c_{NaOH} = 0,01 - 2$ М - рис. 3.1в-е). Как видно из рис. 3.1, спектр резорцина в водной среде характеризуется максимумом средней интенсивности при 285 нм. В кислой среде отмечается гипо- и гипсохромный эффекты, что связано с частичным протонированием одной из $-OH$ групп и выводом пары электронов кислорода из цепи сопряжения.

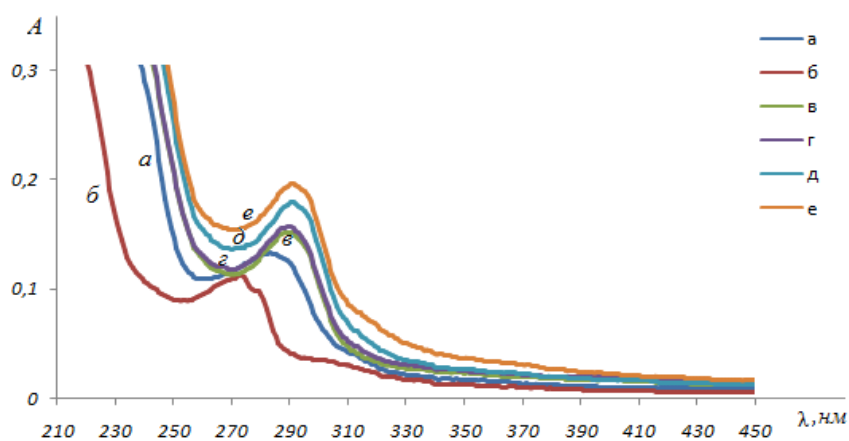


Рисунок 3.1. Спектры поглощения резорцина в различных средах.

$c_{P_{II}} = 5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$; $a - \text{H}_2\text{O}$; $б - 3 \cdot 10^{-3} \text{ M HCl}$; $в - 0,01 \text{ M NaOH}$; $г - 0,1 \text{ M NaOH}$; $д - 1 \text{ M NaOH}$, $е - 2 \text{ M NaOH}$, раствор сравнения – дистиллированная вода. $l=1 \text{ см}$.

В щелочной среде в 0,01 М растворе NaOH спектр резорцина также трансформируется. Констатируются бато- и гиперхромный эффекты ($\lambda_{\text{max}} = 290 \text{ нм}$), что не противоречит данным литературы и может быть объяснено образованием резорцинатов.

Таким образом, феноляты наиболее реакционноспособная форма фенолов, которые обладают хорошей устойчивостью в щелочной среде. Фенол и 1-, 2- нафтолы обладают схожими константами ионизации. При наличии других заместителей в бензольном кольце значение константа ионизации может как увеличиваться, так и уменьшаться. Заместитель, находящийся в *para*-положении, проявляет как эффект сопряжения, так и индукционный. Так, в тимоле, заместители, находящиеся в *n*-положении, оказывают на кислотность большее влияние. Таким образом, чем выше рК фенолов, тем легче происходит отрыв протона, фенолы обладают большей кислотностью и способны образовывать устойчивые соли [95 – 97].

В реакцию азосочетания фенолы вступают в форме фенолят-анионов, обладающих +M и +I эффектами аниона R - O⁻. Поэтому азосочетание осуществляют в щелочной среде.

3.1.2. 4-Нитроанилин, 4-Аминоантипирин, реактив Фолина–Чокальтеу

Рассмотрим протолитические свойства реагентов, применяемых в системах I – III.

4-Нитроанилин. Поскольку стадия диазотирования 4-нитроанилина осуществляется в кислой среде (в отличие от стадии азосочетания), целесообразно было зарегистрировать его электронные спектры поглощения при различных концентрациях HCl. На рис. 3.2 представлены электронные спектры поглощения 4-нитроанилина в водной среде и в HCl ($c_{\text{HCl}} = 0,001 - 6 \text{ M}$).

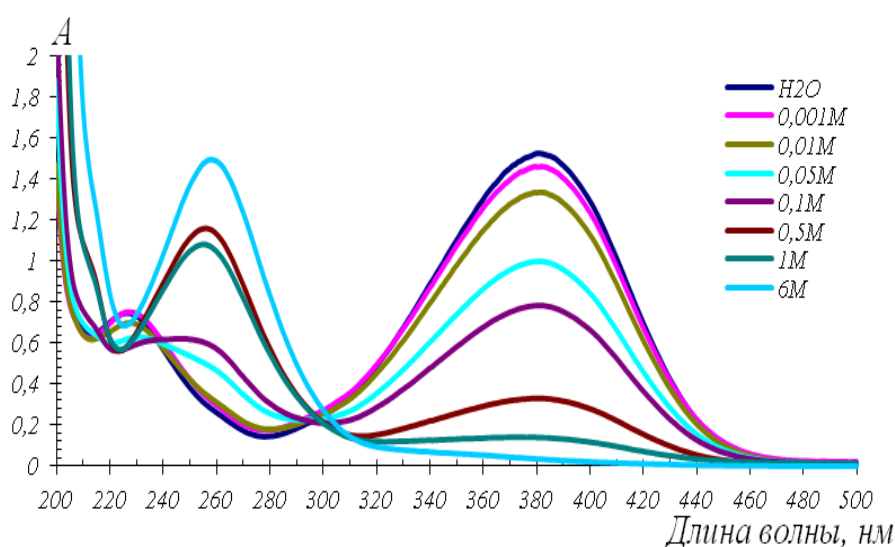


Рисунок 3.2. Спектры поглощения 4-нитроанилина в зависимости от концентрации HCl.

$c_{4\text{-НА}} = 5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$; раствор сравнения – дистиллированная вода. $l = 1 \text{ см}$.

Как видно из рис. 3.2, в водной среде регистрируются: высокоинтенсивный максимум поглощения при 380 нм, для которого при увеличении кислотности среды отмечается гипсохромный эффект, что связано с протонированием аминогруппы и сопровождается появлением в спектре поглощения полосы с $\lambda_{\text{max}}=260 \text{ нм}$. При этом скорость протонирования фенолов в водных растворах варьирует в широких пределах ~ от 1 до 1010 $\text{дм}^3/(\text{моль} \cdot \text{с})$ вследствие необходимости перестройки электронной или геометрической структуры протофильной частицы при переносе протона.

Диазотирование – экзотермическая реакция, сопровождающаяся выделением большого количества тепла, а соли диазония термически неустойчивы (разлагаются с выделением азота), поэтому реакцию проводят, как правило, при охлаждении (снег, лед) и поддержании температуры 0-5°C. Однако, нами для данной реакции выбран наиболее реакционноспособный 4-нитроанилин (ариламин, основность которого ниже основности анилина за счет присутствия в бензольном кольце электроноакцепторного заместителя), поэтому реакция протекает при комнатной температуре в сильноокислой среде с образованием устойчивой соли – хлорида 4-нитрофенилдиазония.

4-Аминоантипирин, реактив Фолина-Чокальтеу. В отличие от образования солей диазония, которые образуются в кислой среде, изучение 4-аминоантипирина и реактива Фолина-Чокальтеу целесообразно в щелочной. На рис. 3.3 представлены электронные спектры поглощения 4-аминоантипирина и реактива Фолина-Чокальтеу в водной среде и в растворе NaOH ($C_{\text{NaOH}} = 0,1 - 2 \text{ M}$).

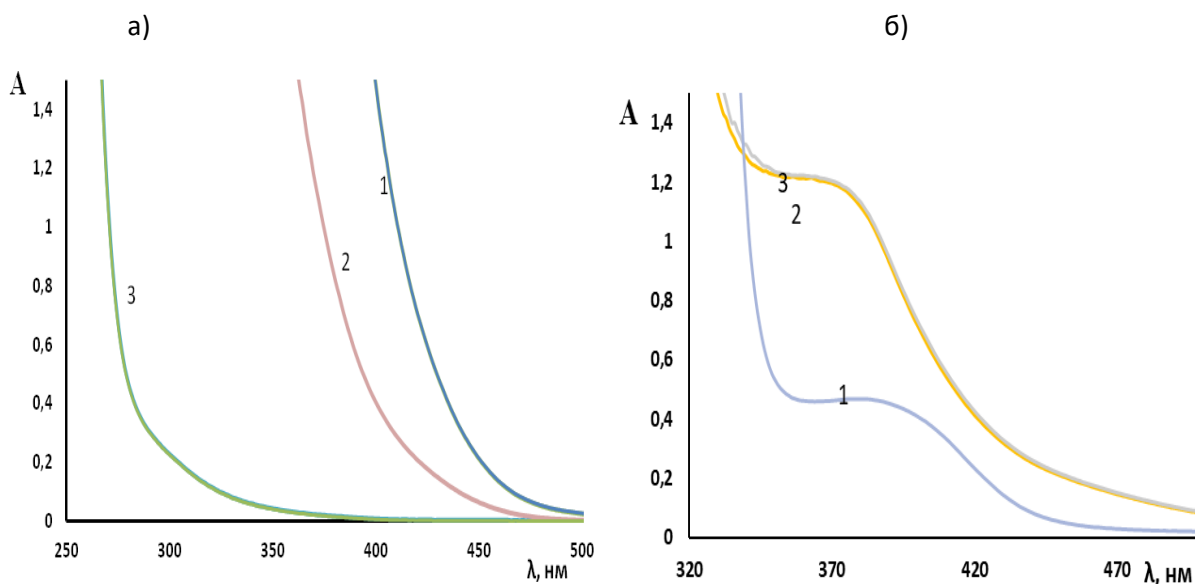


Рисунок 3.3. Спектры поглощения а) реактива Фолина-Чокальтеу, б) 4-аминоантипирина в зависимости от концентрации NaOH. $c_{4-АА, \text{ ф.ч.}} = 5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$; раствор сравнения – дистиллированная вода. $l = 1 \text{ см}$. 1 - H_2O , 2 - 0,1 M NaOH, 3 – 2 M NaOH.

Как видно из рис. 3.3, в электронных спектрах поглощения реактива Фолина-Чокальтеу при его концентрации $5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, в видимой части спектра фиксируется плечо, обуславливающее малоинтенсивную желтую окраску

раствора. Полифенолы в щелочной среде окисляются реактивом ФЧ до бесцветных полихинонов. Глубокая деструкция полихинонов с разрывом бензольного кольца и образованием смеси бесцветных продуктов начинается лишь через 1-2 часа после смешивания реагентов. Входящие в состав реактива ФЧ и введенные в избытке гетерополикомплекс молибдена (VI) и вольфрама (VI) в ходе экспозиции восстанавливаются, превращаясь в «синь» - смесь окрашенных гетерополикомплексов, содержащих Mo(V) и W(V). Светопоглощение «сини» зависит от pH раствора, относительного избытка ФЧ и времени экспозиции [90]; точный состав «сини» неизвестен. Так, при фиксированном времени экспозиции спектры поглощения продуктов восстановления реактива ФЧ фенолами и их смесями совпадают по положению максимума (765 нм) и по форме пиков. Это указывает на независимость состава окрашенных продуктов от природы восстановителя.

Максимум поглощения 4-аминоантипирина в водной среде наблюдается при 384 нм, а в щелочной среде фиксируется гиперхромный эффект с гипсохромным сдвигом, что связано с протонированием аминогруппы и сопровождается появлением в спектре поглощения полосы с $\lambda_{\max} = 366$ нм.

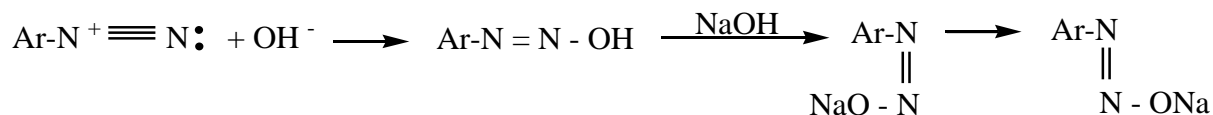
3.2. Реакции образования азосоединений с 4-нитрофенилдиазонием

На первой стадии дериватизацию неокрашенных фенолов осуществляли по реакции diazотирования 4-нитроанилина (наиболее реакционноспособный ариламин, образующий устойчивую соль – хлорид 4-нитрофенилдиазония) и последующего азосочетания (вторая стадия), приводящего к получению окрашенных аналитических форм соответствующих азосоединений

3.2.1. Diazотирование 4-нитроанилина и влияние NaOH на устойчивость 4-нитрофенилдиазония

Реакция 4-нитроанилина с нитритом натрия протекает в кислой среде (рис. 3.4).

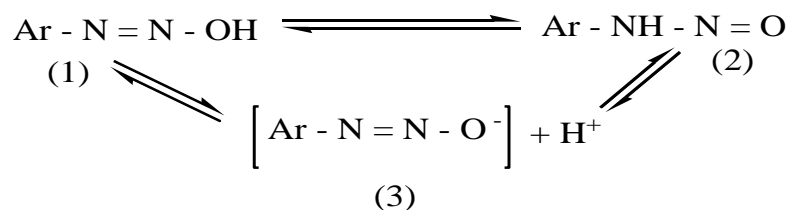
Известно, что при взаимодействии солей диазония со щелочами образуются диазогидраты, являющиеся диазокислотами, способными замещать атом водорода гидроксильной группы на металл, а также соли диазогидратов - диазотаты. Последние также могут существовать в виде стереоизомеров. *Син*-диазотат легко переходит в более устойчивый *анти*-диазотат:



Транс-форма диазотата достаточно устойчива. Так, натриевая соль *транс*-*n*-нитрофенилдиазокислоты используется в промышленном масштабе, а также для получения соли *n*-нитрофенилдиазония, в которую он превращается при действии кислоты:



Диазогидраты легко подвергаются прототропным превращениям:



где: 1 – арилдиазогидрат; 2 – арилнитрозоамин; 3 – арилдиазоанион.

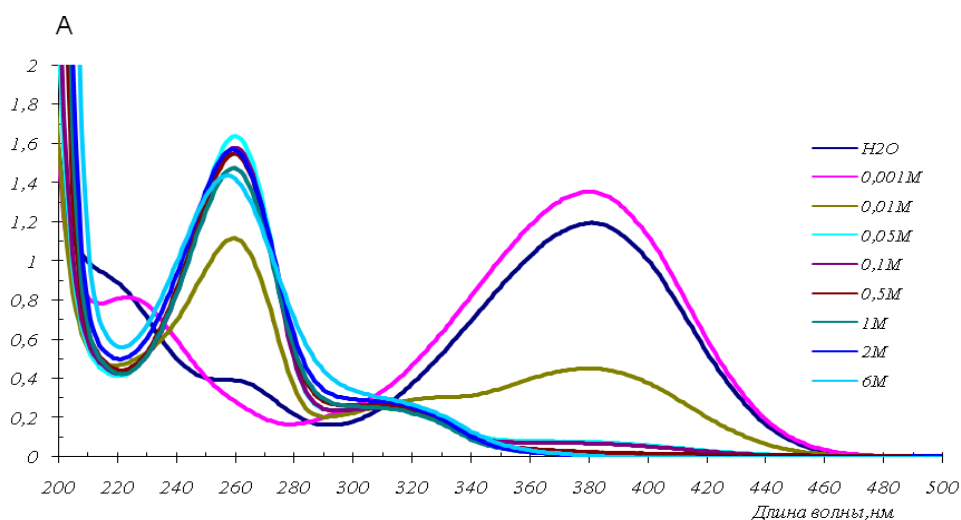


Рисунок 3.4. Спектры поглощения системы 4-НА – NO₂⁻ при различной концентрации HCl.

$c_{4\text{-НА}} = c(\text{NO}_2^-) = 5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$; раствор сравнения – дистиллированная вода. $l = 1 \text{ см}$.

Как видно из рис. 3.4, соль диазония (4-нитрофенилдиазоний) в водной среде и при концентрации HCl менее $1 \cdot 10^{-3}$ М не образуется, т.к. электронный спектр поглощения 4-НА в этих условиях идентичен спектру, представленному на рис. 3.4., в аналогичных средах. Увеличение кислотности среды ($c_{\text{HCl}} > 1 \cdot 10^{-3}$ М) приводит к образованию 4-нитрофенилдиазония, что сопровождается гипохромным эффектом полосы при $\lambda_{\text{max}} = 380$ нм и появлением низкоинтенсивной полосы соли диазония при $\lambda_{\text{max}} = 310$ нм. Дальнейшее увеличение концентрации HCl в интервале 0,1 – 6 М не приводит к росту концентрации соли диазония.

На рис. 3.5. представлены спектры поглощения 4-нитрофенилдиазония в щелочной среде в интервале концентраций NaOH (0,01 – 5) М.

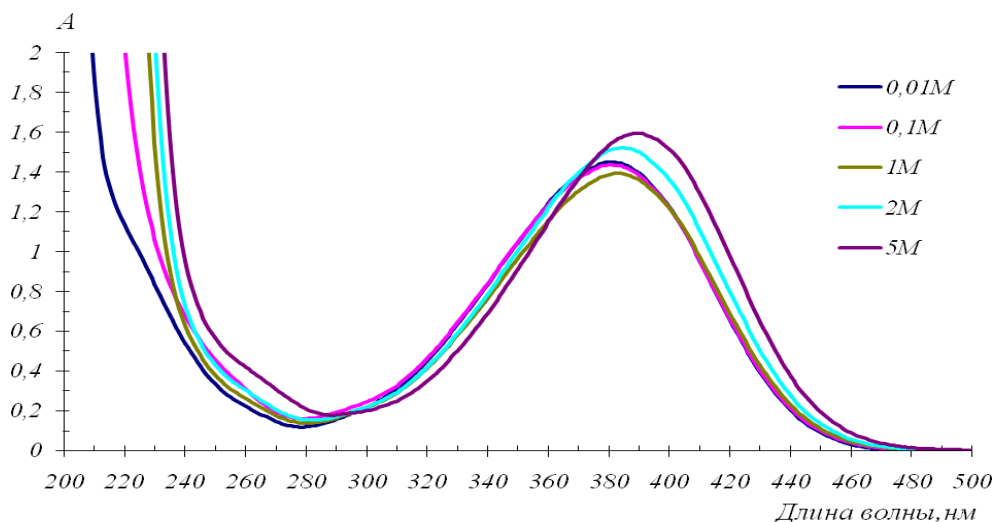


Рисунок 3.5. Спектры поглощения системы 4-НА – NO₂⁻ при различной концентрации NaOH. $c_{4\text{-НА}} = c(\text{NO}_2^-) = 5 \cdot 10^{-5}$ М; раствор сравнения – дистиллированная вода. $l = 1$ см.

Как видно из рис. 3.5, даже при минимальной концентрации NaOH (0.01 М) соль диазония разрушается и в спектрах фиксируется полоса при $\lambda_{\text{max}} = 380$ нм, характерная для 4-НА. Поэтому для дальнейших исследований стадию азосочетания осуществляли в щелочной среде.

При смешивании компонентов системы 4-НА – нитрит-ион – резорцин – NaOH отмечалось появление мелкодисперсного осадка. Такое поведение системы может быть объяснено образованием малорастворимого в воде азосоединения. Ранее на кафедре аналитической химии и химической

экологии варьировали природу азо- и диазосоставляющих в системах аналогичных системе 1.

Как видно из кинетических кривых стадии азосочетания солей диазония с дифениламином (ДФА) в воде (рис.3.6), в системах 1, 2 (1 - NO_2^- -4-нитроанилин - дифениламин; 2 - NO_2^- -4-аминобензойная кислота – дифениламин), в отличие от системы 3 (NO_2^- - 4-сульфаниловая кислота – дифениламин), при $\text{pH}=1$ образующиеся азосоединения через 15-20 минут выпадают в осадок. Малая растворимость этих азосоединений не позволяет применять такие реакции в фотометрическом определении нитрит-иона в водной среде.

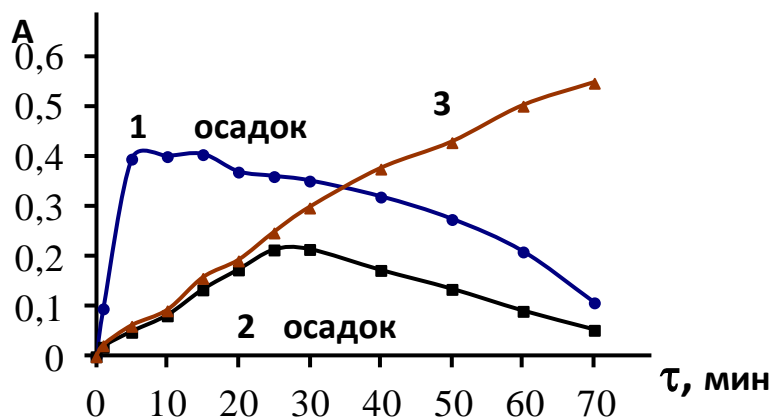


Рисунок 3.6. Зависимость оптической плотности от времени в системах 1, 2, 3.

$c(\text{ПАА}) = c(\text{ДФА}) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$, $c(\text{NaNO}_2) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, $\text{pH}=1$, $\lambda_{\text{max}} = 530 \text{ нм}$.

Таким образом, модельные системы 1, 2, 3 в водной среде образуют неустойчивые коллоидные растворы, что снижает их аналитическую ценность в фотометрическом анализе. Для исследования коллоидных растворов и оценки радиуса частиц применяли метод спектра мутности.

Спектры мутности регистрировали через 5 часов после сливания исходных растворов в интервале длин волн 700 – 940 нм, в котором отсутствует поглощение, а имеет место рассеяние света. По значениям оптических плотностей при варьировании pH , концентраций реагентов определяли мутность системы τ :

$$\tau_i = \frac{2,3 A_i}{l}, \quad (1)$$

где l – толщина поглощающего слоя. Строили зависимость $\lg \tau - \lg \lambda$. Затем по tg угла наклона прямых рассчитывали показатель длины волны n из

уравнения Ангстрема:

$$\tau = A \lambda^{-n}, \text{ где } A - \text{ коэффициент пропорциональности.}$$

При $2 < n < 4$ по формуле Хеллера (2) рассчитывали относительный размер частиц α . При $n < 2$ имеет место приближение ван де Хюлста (3), значение фазового сдвига находили по таблицам характеристических функций светорассеяния ($n(\rho)$).

$$n = 4 - 0,68 \alpha^{2,2} \quad (2) \quad k(\rho) = 2 - 4 \frac{\sin \rho}{\rho} + 4 \frac{1 - \cos \rho}{\rho^2} \quad (3)$$

В зависимости от значений n , радиус частиц может быть рассчитан по формуле (4) или (5):

$$\gamma = \frac{\alpha \lambda_{\text{cp}}}{2 \pi \mu_1} \quad (4) \quad \gamma = \frac{\rho \lambda_{\text{cp}}}{4 \mu_1 (m - 1)} \quad (5),$$

где μ_1 – показатель преломления дисперсионной среды, m – относительный показатель преломления.

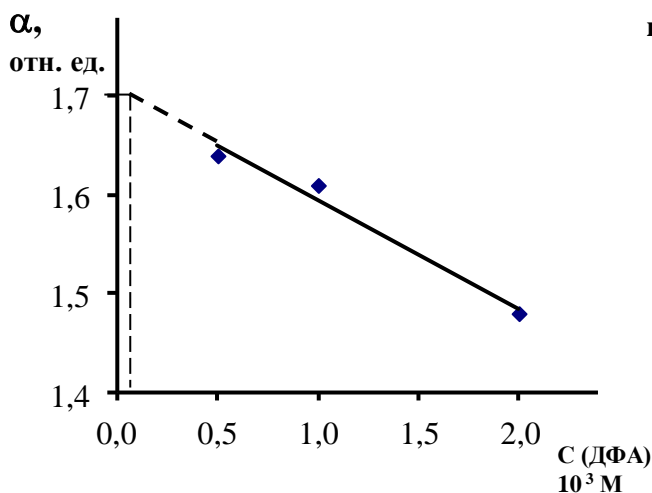
$$\lambda_{\text{cp}} = \sqrt{\lambda_{\text{max}} \lambda_{\text{min}}}$$

Для определения показателя преломления частиц дисперсной фазы, прямую зависимость относительного размера частиц от концентрации ДФА экстраполировали до $c(\text{ДФА}) = 1 \cdot 10^{-4}$ М, полученное значение α составило 1,7 (рис.3.7 а) и ему отвечает ρ , равное 1,2. Зная величины α и ρ , соответствующие одному и тому же значению $c(\text{ДФА})$, по уравнению (6) определяли показатель преломления частиц дисперсной фазы:

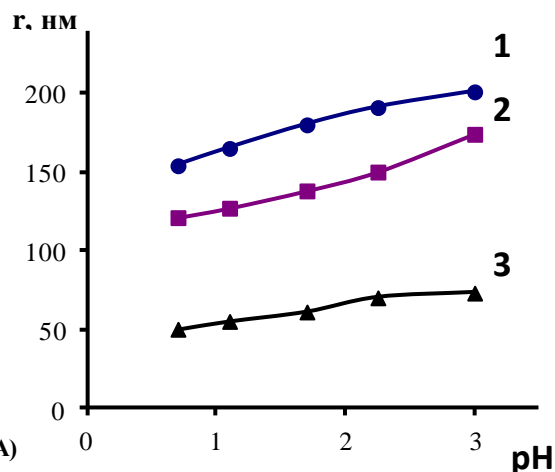
$$\rho = 2 \alpha (m - 1) = \frac{4 \pi \gamma \mu_1}{\lambda} (m - 1) \quad (6)$$

Спектры мутности систем 1–3 в зависимости от концентраций ПАА, ДФА и рН представлены на рис. 3.7. Как видно из рис. 3.7, для всех трех модельных систем характер зависимостей является аналогичным. При увеличении рН в системах 1, 2, 3 наблюдается незначительное увеличение радиуса частиц (рис. 3.7 б), что связано с уменьшением растворимости образующегося азокрасителя с уменьшением кислотности среды. При увеличении концентрации ПАА радиус частиц возрастает, что связано с укрупнением уже образовавшихся частиц без образования новых центров

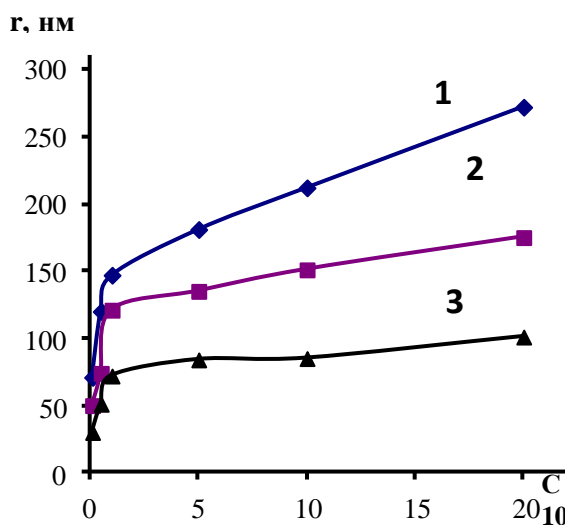
кристаллизации. С увеличением концентрации ДФА размер частиц уменьшается (рис. 3.7 г), что объясняется увеличением центров кристаллизации вследствие малой растворимости ДФА. Образуется большее число частиц меньшего размера.



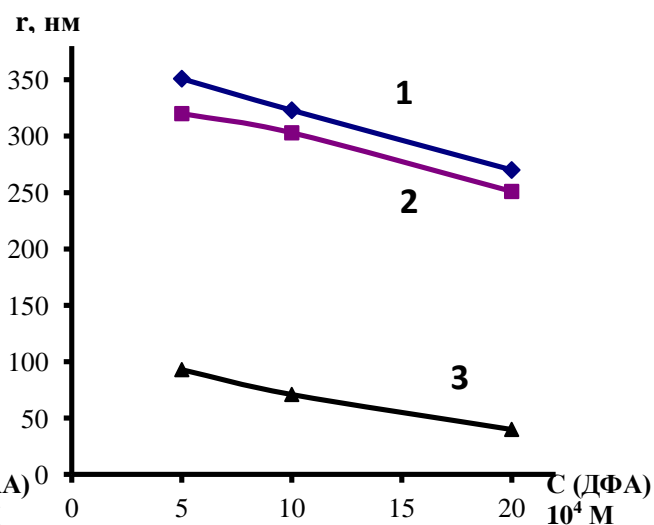
а)



б)



в)



г)

Рисунок 3.7. Зависимости а) относительного размера частиц α от $c(\text{ДФА})$; б) радиуса частиц от pH; в) радиуса частиц от $c(\text{ПАА})$; г) радиуса частиц от $c(\text{ДФА})$.

Системы 1-3, см. стр. 59.

Таким образом, показано, что в системе 1 при $\text{pH} < 1$ реакция азосочетания не протекает, а при $\text{pH} = 1$ образующиеся соединения через 15-20 минут выпадают в осадок вследствие малой растворимости, что не позволяет в водной среде применять такие реакции в фотометрическом анализе.

3.3. Реакции окислительной конденсации с 4-аминоантипирином

Спектрофотометрически изучена реакция окислительной конденсации (см. стр.50) фенолов (на примере фенола, тимола и 1-, 2-нафтолов, см. табл. 3.2) с 4-аминоантипирином. Поскольку образование хинониминных красителей в данной системе возможно в политермическом режиме, нами предварительно изучено влияние температуры на эту систему. Для этого реакционную смесь из фенола, раствора 4-АА, $K_3[Fe(CN)_6]$ и Na_2CO_3 нагревали на водяной бане при разных температурах в интервале от 30 до 80 °С. При необходимых температурах полученные растворы фотографировали цифровым фотоаппаратом Iphone 11 (рис.3.8).



Рисунок 3.8. Влияние температуры на характер фазового разделения системы в водной среде: фенол – 4-аминоантипирин - $K_3[Fe(CN)_6]$ - Na_2CO_3 . $c_{\text{фенола}} : 2 \cdot 10^{-5} \text{M}$.
Температура: 1- 30 °С; 2- 50 °С; 3- 70 °С; 4- 80 °С.

Определяли яркость цветовых каналов R, G, B. По полученным значениям строили градуировочные зависимости яркости цветового канала от температуры (30-80 °С). Зависимость яркости цветового канала B представлена на рисунке 3.9.

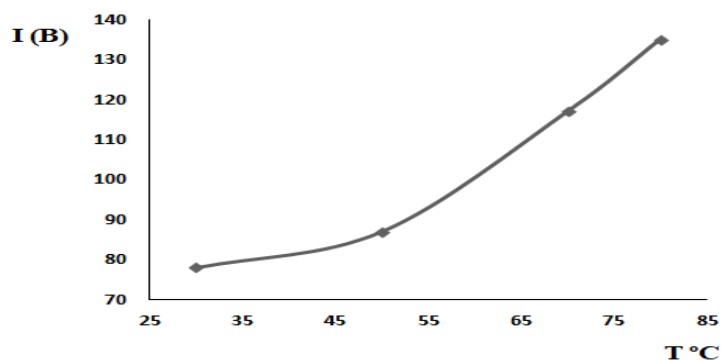


Рисунок 3.9. Зависимость яркости канала B от температуры (30-80 °С).

$c(\text{фенола}) = 2 \cdot 10^{-5} \text{M}$; $c(4\text{-AA}) = 1 \cdot 10^{-3} \text{M}$; $c(K_3[Fe(CN)_6]) = 0,08\%$; $c(Na_2CO_3) = 0,25 \text{M}$.

Из рисунка 3.9 видно, что с увеличением температуры интенсивность канала B увеличивается. Чем ниже температура, тем ниже интенсивность канала B и раствор имеет более насыщенный коричневый цвет.

Полученные спектры поглощения, представленные на рисунке 3.10, контролировали с помощью двулучевого сканирующего спектрофотометра Shimadzu UV-1800 в спектральном диапазоне 200 – 800 нм, $l = 1$ см, при комнатной температуре.

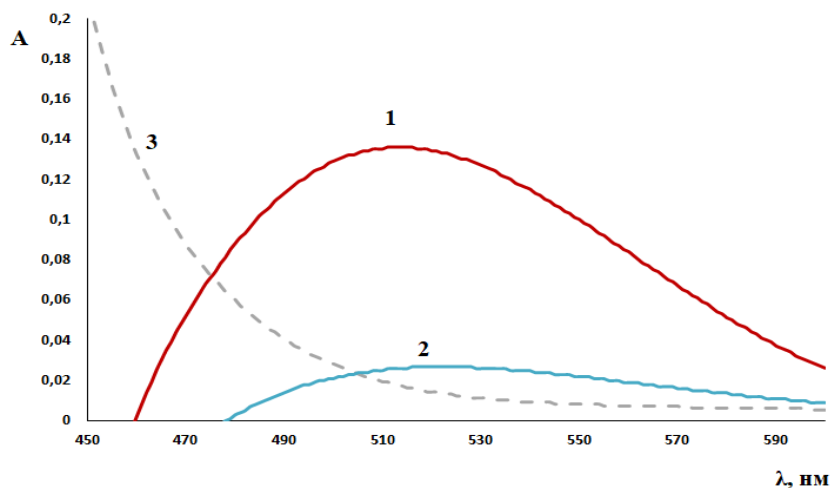


Рисунок 3.10. Спектр поглощения системы фенол – 4-аминоантипирин – $K_3[Fe(CN)_6]$ – Na_2CO_3 относительно контрольного раствора (все компоненты системы, кроме аналита).

1 – без нагревания, 2 – с нагреванием до 80 °С.

3 – Спектр поглощения контрольного раствора относительно воды.

$c(\text{фенола}) = 2 \cdot 10^{-5}$ М; $c(4\text{-АА}) = 1 \cdot 10^{-3}$ М; $\omega(K_3[Fe(CN)_6]) = 0,08\%$; $c(Na_2CO_3) = 0,25$ М.

Из рисунка 3.10 можно наблюдать, что в отсутствие нПАВ и при нагревании полученного раствора происходит разрушение фенольного аналита.

Получены спектры поглощения системы исследуемый фенол – 4-АА – $K_3[Fe(CN)_6]$ – Na_2CO_3 в спектральном диапазоне 400 – 650 нм, $l = 1$ см (рис. 3.11). Установлено, что электронные спектры водных растворов этой системы при концентрации фенола от $1 \cdot 10^{-4}$ М имеют один максимум поглощения при $\lambda_{\text{max}} = 510$ нм, тимол $\lambda_{\text{max}} = 493$ нм, 1-нафтол $\lambda_{\text{max}} = 485$ нм, 2-нафтол $\lambda_{\text{max}} = 430$ нм.

Как видно из рис. 3.11, все вышепредставленные фенолы вступают в реакцию «фенольного индекса» с разной чувствительностью, что может быть связано с различием спектров поглощения их дериватов, разной скоростью дериватизации, а также различной молярной массой определяемых соединений. В частности, оптическая плотность раствора простого фенола намного ниже, чем у его замещенных, что может быть связано с наличием и положением заместителей в бензольном кольце.

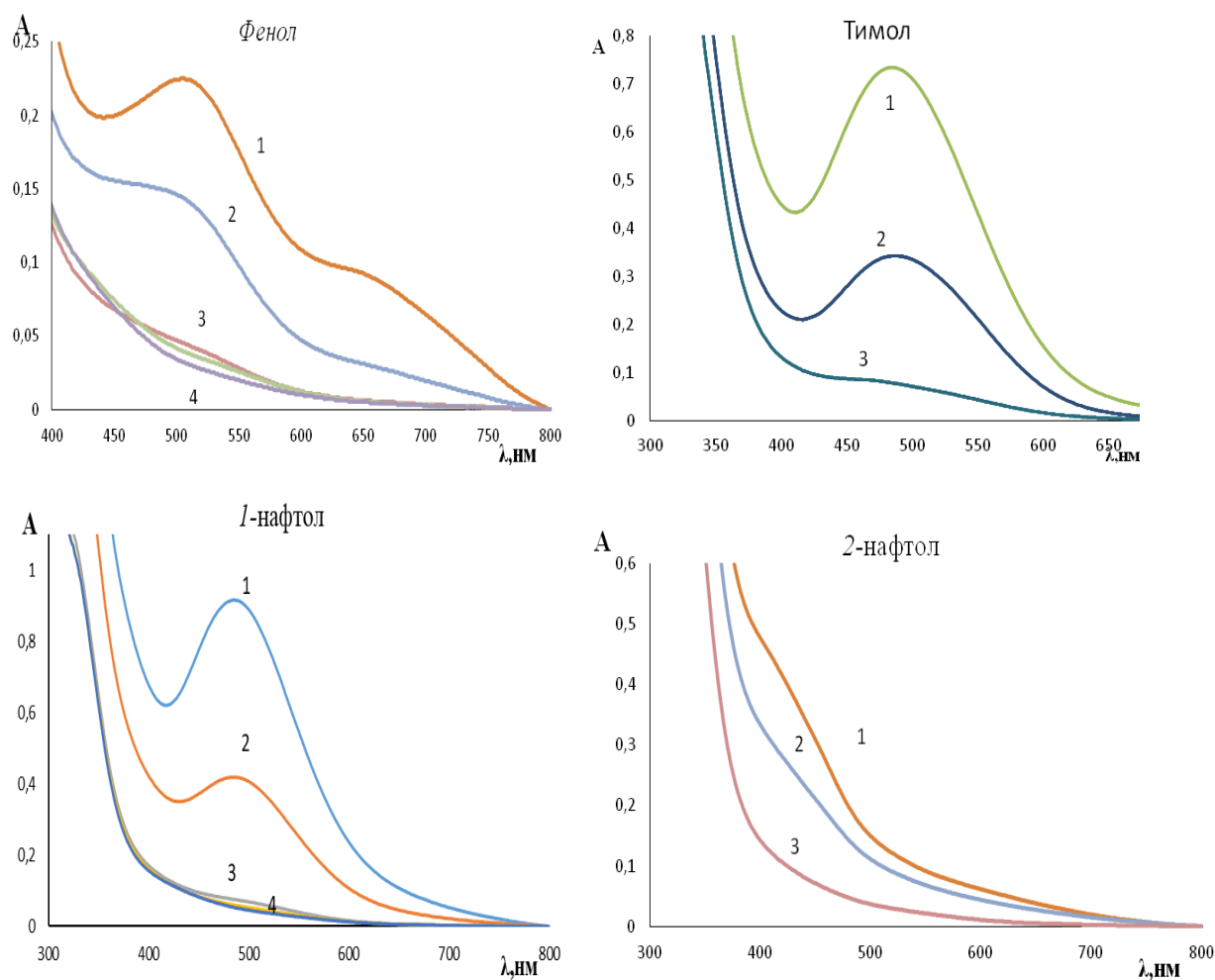


Рисунок 3.11. Спектры поглощения системы фенол – 4-АА – $K_3[Fe(CN)_6]$ – Na_2CO_3 – относительно контрольного раствора. $c(4-АА) = 1 \cdot 10^{-3}$ М; $\omega(K_3[Fe(CN)_6]) = 0,08\%$; $c(Na_2CO_3) = 0,25$ М; $c(\text{фенолов}), \text{М}$: 1 – $1 \cdot 10^{-4}$, 2 – $5 \cdot 10^{-5}$, 3 – $1 \cdot 10^{-6}$, 4 – $5 \cdot 10^{-6}$.

Сопоставление спектров поглощения продуктов взаимодействия исследуемых фенолов показывает, что максимумы поглощения хинониминных красителей на основе замещенных фенолов батохромно смещены относительно красителя, полученного из незамещенного фенола. Также, изменение положения гидроксигруппы в нафтольном кольце приводит к снижению чувствительности [73].

Спектрофотометрическое исследование этой системы в водной среде показало, что она менее чувствительна, имеет ряд существенных неточностей и недостатков, такие как: пассивность некоторых фенолов, невозможность определения токсичных фенолов на уровне долей ПДК. Однако, позволяет проводить суммарную оценку фенольных соединений, в частности, такого интегрального показателя как «фенольный индекс».

3.4. Особенности реакции с реактивом Фолина–Чокальтеу

Прежде чем колориметрически изучать мицеллярную экстракцию фенола, предварительно исследована кинетика реакции образования комплекса «молибдено-вольфрамовой сини» в водной среде. Реактив Фолина-Чокальтеу со всеми фенолами образует комплекс синего цвета. Поэтому изучение данной системы проводили на простейшем из фенолов.

Получены спектры поглощения системы фенол – реактив Фолина-Чокальтеу – Na_2CO_3 при комнатной температуре в интервале времени 0 - 80 минут (рис. 3.12).

Установлено, что электронные спектры поглощения водных растворов этой системы при концентрации фенола $2 \cdot 10^{-5}$ М имеют один максимум поглощения при $\lambda_{\text{max}} = 760$ нм. Для установления времени равновесия в системе III строили зависимость оптической плотности при 760 нм от времени (рис.3.13).

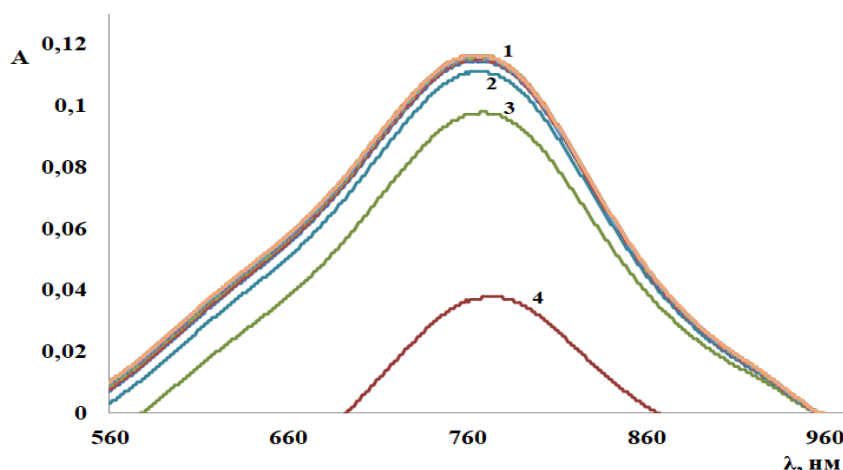


Рисунок 3.12. Спектры поглощения системы фенол – реактив ФЧ – Na_2CO_3 относительно контрольного раствора во времени (0-80 минут). 1 – 25-80 минут; 2 – 15 минут; 3 – 5 минут; 4 – 0 минут. $c(\text{фенола}) = 2 \cdot 10^{-5}$ М, $c(\text{ФЧ}) = 0,2$ н., $\omega(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 6\%$.

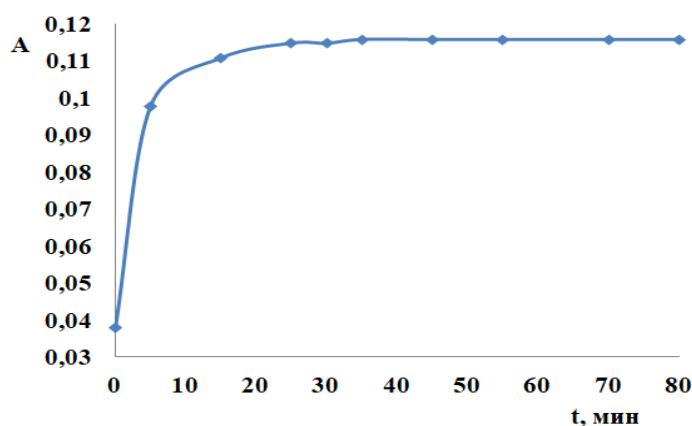


Рисунок 3.13. Зависимость оптической плотности системы (рис. 3.12) от времени.

Как видно из рис. 3.13, с увеличением времени оптическая плотность раствора повышается, а равновесие в системе достигается через 25 минут, о чем свидетельствует плато на кинетической кривой.

На рисунке 3.14 приведены фотографии растворов системы в интервале 0 – 60 минут. Растворы окрашены в синий цвет, интенсивность окраски которых визуальнo возрастает.

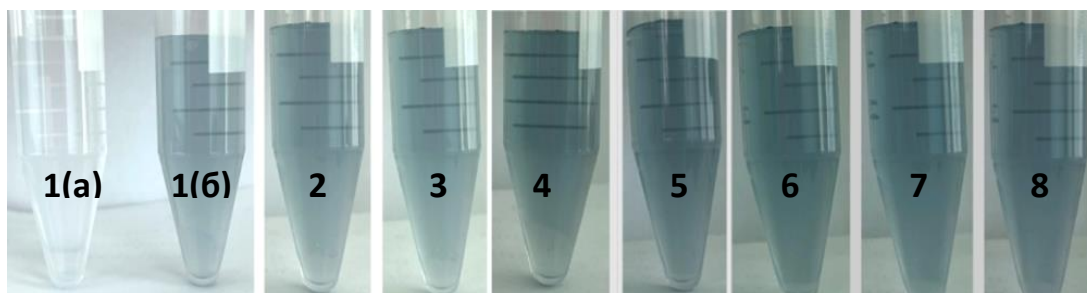


Рисунок 3.14. Влияние времени на систему: фенол – ФЧ – Na_2CO_3 .
 1(a) – контрольный раствор, 1(б)-8 – $c(\text{Фенола}) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, 1(б) – 0 минут, 2 – 10 минут, 3 – 20 минут, 4 – 25 минут, 5 – 30 минут, 6 – 40 минут, 7 – 50 минут, 8 – 60 минут.

Для обработки полученных данных использовали графический редактор Adobe PhotoShop СС 2019. Для этого необходимую окрашенную часть раствора выделяли и с помощью функции усреднения определяли яркость цветных каналов R, G, B. По полученным значениям строили градуировочные зависимости яркости цветного канала от времени (рис. 3.15 а-в).

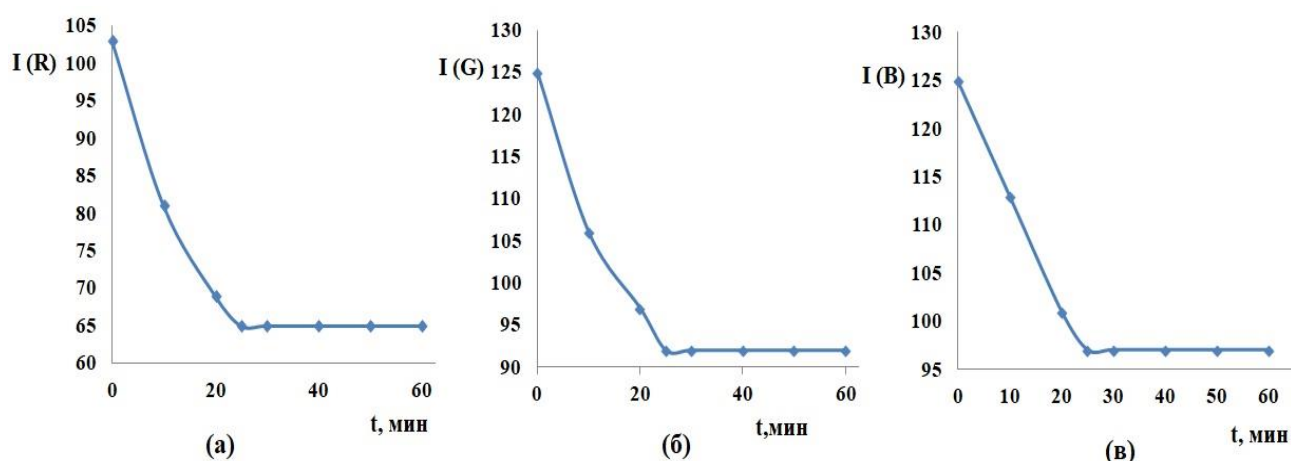


Рисунок 3.15. Зависимость яркости каналов R (а), G (б), B (в) от времени
 в системе: фенол – ФЧ – Na_2CO_3 . $c(\text{Фенола}) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ М}$.

Из рисунка 3.15 видно, что с увеличением времени в интервале 0 - 60 минут интенсивность яркости каналов R, G и B первоначально уменьшается,

окраска раствора становится насыщеннее, а спустя 25 минут стабилизируется и не изменяется. Система достигает равновесия, о чем свидетельствует плато на кинетической кривой, что не противоречит данным спектрофотометрического исследования.

Таким образом, из полученных нами результатов колориметрических исследований реакции взаимодействия фенола с реактивом ФЧ в щелочной среде (рис. 3.12 - 3.15), можно сделать вывод о том, что равновесие в системе наступает в течение 25 минут.

3.5. Сравнительная оценка некоторых метрологических характеристик исследуемых систем

В таблицу 3.2 сведены количественные характеристики исследуемых систем I – III в водных средах для каждого из определяемых фенолов.

Представленные в табл. 3.2 результаты исследования систем I – III в водной среде показали, что система I не пригодна для фотометрического определения фенолов. В отсутствие органических растворителей – она гетерогенна (азосоединения малорастворимы в воде).

Таблица 3.2. Аналитические длины волн и метрологические характеристики СФМ определения исследуемых систем I – III

№ п/п	Фенолы	λ_{\max}			ДОС	ПрО
		Ацетон*	Этанол*	Вода**		
4-Нитрофенилдиазоний - фенол (система I)						
1	Фенол	568	505	475	-	-
2	Резорцин	625	580	550	-	-
3	Флороглюцин	-	-	453	-	-
4	Тимол	610	560	515	-	-
5	1-Нафтол	630	590	570	-	-
6	2-Нафтол	578	550	осадок	-	-
4-Аминоантипирин – $K_3Fe(CN)_6$ – фенол (система II) **						
1	Фенол	510			$8.8 \cdot 10^{-6} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$3.0 \cdot 10^{-6}$
2	Тимол	493			$2.4 \cdot 10^{-6} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$8.2 \cdot 10^{-7}$
3	1-Нафтол	485			$1.9 \cdot 10^{-6} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$6.6 \cdot 10^{-7}$
4	2-Нафтол	430			$6.8 \cdot 10^{-6} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$2.3 \cdot 10^{-6}$

№	Фенолы	λ_{\max}	ДОС	ПрО
Реактив Фолина–Чокальтеу – фенол (система III)**				
1	Фенол	760	$2.4 \cdot 10^{-5} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$8.2 \cdot 10^{-6}$
2	Резорцин	760	$2.4 \cdot 10^{-5} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$8.2 \cdot 10^{-6}$
3	Флороглюцин	760	$2.4 \cdot 10^{-5} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$8.2 \cdot 10^{-6}$

*Данные литературы; ** Водный раствор

Система II не ограничивает определение фенолов в водной среде, однако она менее чувствительна и контрастна ($\Delta\lambda = 130$ нм), чем *система III* ($\Delta\lambda = 360$ нм). Позволяет определять интегральный показатель - «фенольный индекс». При этом не все фенольные соединения способны вступать в данную реакцию, что значительно сокращает число определяемых фенолов. Система III - высококонтрастна и позволяет определять как индивидуальное, так и суммарное содержание фенолов в водных средах. Так, например, пределы обнаружения фенола в исследуемых *системах II* и *III* составили соответственно $3.0 \cdot 10^{-6}$ М и $8.2 \cdot 10^{-6}$ М.

* * *

В настоящем разделе спектрофото- и цветометрически изучены реакции фенола (резорцина, флороглюцина, тимола, 1-, 2-нафтолов) с органическими и неорганическими реагентами в водной среде. Исследованы реакции: азосочетания и диазотирования, окислительной конденсации, а также реакция с *реактивом Фолина – Чокальтеу*. Дана сравнительная оценка некоторых метрологических характеристик исследуемых систем. Показано, что система I не пригодна для фотометрического определения фенолов. В отсутствие органических растворителей – она гетерогенна (азосоединения малорастворимы в воде). Ни одна из предложенных систем не позволяет определять фенолы на уровне *долей ПДК* без предварительного концентрирования.

В связи с этим предложен подход, основанный на предварительном концентрировании аналитических форм фенолов водно-мицелярными фазами ПАВ (альтернатива классическим органическим экстрагентам). Этот способ имеет ряд существенных преимуществ в анализе: невысокая токсичность ПАВ (принцип «зеленой химии»); нелетучесть; высокая экстрагирующая способность; применение разбавленных водных растворов (не высокая концентрация ПАВ ~ 2 – 7 %). Данные обстоятельства позволяют создавать системы на основе ПАВ с применением СР-методологии и АТРС-способов для эффективного концентрирования токсикантов из водных сред или их дериватизатов, которые, при наличии окраски, могут быть предложены для качественной или полуколичественной визуальной оценки, а также для количественного определения фенолов с применением современных цифровых технологий.

ГЛАВА 4. Мицеллярно-экстракционное концентрирование окрашенных производных исследуемых фенолов

Методология СР-концентрирования аналитов основана на разделении гомогенных растворов ПАВ (их смесей) при нагревании, изменении рН, добавлении различных высаливателей на две изотропные фазы: обогащенную ПАВ (Surfactant-rich phase; micellar-rich phase), концентрирует вещества, до фазового разделения распределенные по всему объему раствора; обедненную ПАВ или водную фазу (micellar-dilute phase, micelle-poor, surfactant depleted, aqueous phase), содержит ПАВ с концентрацией до ККМ и остаточные количества экстрагируемых веществ. Обогащенная ПАВ фаза – экстрагент, повышающий растворимость аналитических форм фенолов, в частности азосоединений (*система I*), делая ее пригодной для СФМ.

4.1. Особенности формирования фаз неионных ПАВ в политермическом и изотермическом режимах

Методология СР-экстракции реализована для всех трех исследуемых систем, при варьировании таких факторов как: природа (табл. 4.1) и концентрация ПАВ, высаливателя, рН в политермическом и изотермическом режимах.

Таблица 4.1. Применяемые в работе ПАВ

Тип ПАВ	Название	Формула
КПАВ	Цетилтриметиламмония хлорид (ЦТМА)	$C_{12}H_{47}NCl$
НПАВ	1) Полиэтилированный диалкилфенола (ОП-10) эфир	$R_2C_6H_3O(CH_2-CH_2O)_nH$ $R=C_8-C_{12}, n=10-12$
	2) Этоксированный октилфенол (Тритон X-100)	$C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n,$ $n = 9-10$
	3) Этоксированный октилфенол (Тритон X-114)	$C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n,$ $n = 7-8$
	4) Полиоксиэтилен(23) лауриловый эфир (Бридж-35)	$C_{12}H_{25}(CH_2-CH_2O)_{23}OH$

Влияние температуры на характер фазового разделения системы нПАВ – H₂O (политермический режим). Важнейшим фактором, влияющим на точку помутнения (T_n) растворов ПАВ является температура. Известно

[98], что фазообразование достигается нагреванием их водных растворов. Однако, регистрация аналитических окрашенных форм при повышенной температуре затруднительна и практически не допускается в тест-методах анализа. Поэтому нами исследована зависимость $T_{п}$ - ω (ПАВ) визуально-политермическим методом на примере системы ОП-10 – H_2O . Для этого пикнометры объемом 10 мл с приготовленными растворами поочередно помещали в термостойкий стакан с водой, снабженный термометром, и нагревали газовой горелкой (скорость нагрева $1^{\circ}C$ в минуту). При непрерывном встряхивании пикнометров наблюдали изменение фазовых состояний системы. Для удобства наблюдения использовали лампу-осветитель. Для каждого пикнометра при нагревании отмечали температуру, при которой прозрачный раствор мутнел (наблюдался переход системы в гетерогенное состояние). Затем, охлаждая раствор, отмечали температуру, при которой раствор становился гомогенным. Опыт повторяли несколько раз, пока расхождения в значениях температур не превышали $0,5^{\circ}C$. График зависимости точки помутнения системы ОП-10 – H_2O от температуры строили по усредненным значениям, фиксированных температур (рис. 4.1).

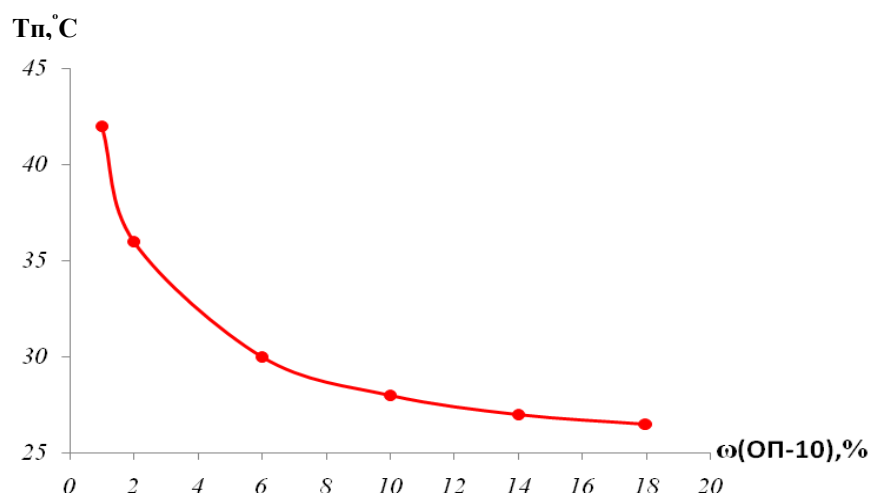


Рисунок 4.1. Зависимость точки помутнения системы ОП-10 – H_2O от температуры.

Как видно из рис. 4.1, температура точки помутнения водных растворов ОП-10 уменьшается с ростом концентрации ПАВ, что не противоречит известным данным литературы для других представителей нПАВ [98].

Формирование мицеллярных фаз нПАВ в изотермическом режиме.

Известно, что в случае применения методологии *CP*-экстракции при повышенных температурах (дополнительная стадия соответствующих методик) возникает риск разложения термически нестабильных аналитов (их производных). На характер фазового разделения систем нПАВ - H₂O сильно влияет длина полиоксиэтиленовой цепи. Так, из всех типов ПАВ достижение T_{II} при температуре 20-25°C возможно только для Тритона X-114. Для других представителей нПАВ фазовое разделение в изотермическом режиме возможно только при введении в систему высаливателей. В связи с этим, актуален поиск факторов, снижающих температуру помутнения и фазового разделения водных растворов нПАВ до температур 20-25°C.

Для получения мицеллярных фаз нПАВ в изотермическом режиме предварительно исследовали их водные растворы при варьировании природы и концентрации ПАВ, pH, природы и концентрации высаливателя, а также добавок органических растворителей. Для всех нПАВ установлена универсальная линейная зависимость объема мицеллярной фазы от концентрации ПАВ, независимо от вышеуказанных факторов, которая может быть применена для расчета требуемых объемов мицеллярных фаз нПАВ, учитывая поставленную аналитическую задачу (рис. 4.2).

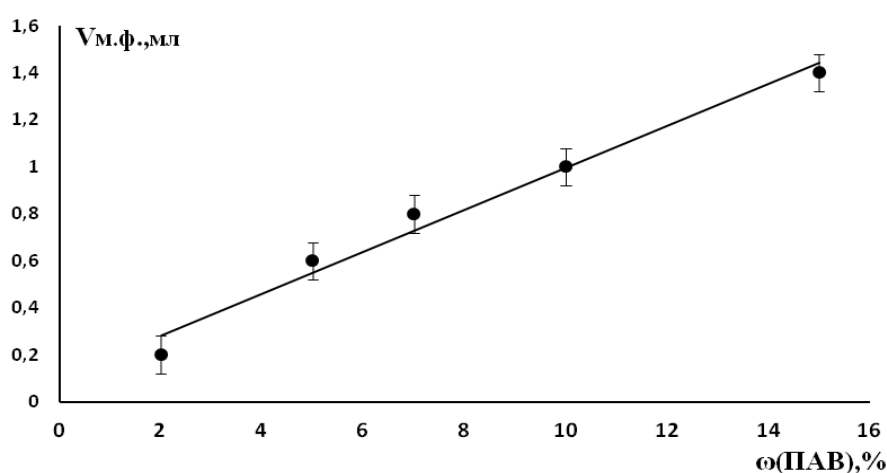


Рисунок 4.2. Зависимость $V_{\text{м.ф.}}$ от $\omega(\text{ПАВ})$, где ПАВ – ОП-10; Тритон X-100, Тритон X-114, ОП-10 + ЦТМАХ.

Аналогичные зависимости получены и для смесей неионных ПАВ с катионными, которые в виде соответствующих уравнений приведены в табл.4.2.

Таблица 4.2. Зависимости объемов мицеллярных фаз систем нПАВ ($V_{м.ф.}$) – NaOH от ω (нПАВ)

ПАВ	Зависимости $V_{м.ф.}$ - ω (нПАВ)
Тритон X-100	$y = 0,089x + 0,11; R^2=0,98$
Тритон X-114	$y = 0,090x + 0,09; R^2=0,95$
ОП-10	$y = 0,089x + 0,11; R^2=0,98$
ОП-10 + ЦТМАХ	$y = 0,11x - 0,02; R^2=0,99$

Образование мицеллярных фаз в рН-индуцированном режиме. В исследуемых *системах I - III* роль рН многофункциональна. С одной стороны, рН – фактор, индуцирующий образование фаз. Ранее такой подход был реализован для растворов аПАВ в кислых средах [99]. В настоящей работе получены рН-индуцированные фазы нПАВ в щелочной среде. При этом рН можно создавать как растворами щелочей (NaOH), так и растворами гидролизующихся солей (Na_2CO_3).

Наибольшее влияние на процесс фазового разделения растворов нПАВ при температуре $(20 \pm 5)^\circ C$ оказывает концентрация щелочи (NaOH). Полученные зависимости точки помутнения щелочных растворов ОП-10 от ω (NaOH) приведены на рис. 4.3.

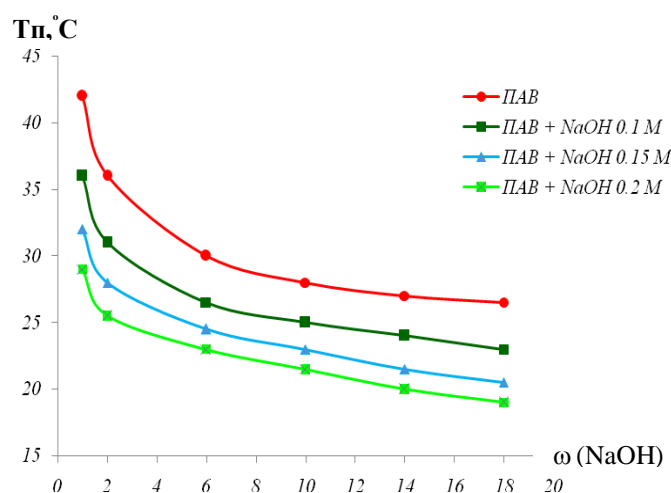


Рисунок 4.3. Зависимость температуры помутнения растворов ОП-10 от ω (NaOH).

Как видно рис. 4.3, при увеличении концентрации NaOH температура точки помутнения раствора ОП-10 может быть значительно снижена.

Варьируя соотношение концентраций нПАВ и NaOH можно достигать высаливания ПАВ уже при комнатной температуре. Так, установлена закономерность влияния концентрации NaOH (рН-фактор) на объем мицеллярной фазы нПАВ. На примере системы ОП-10 – NaOH (рис. 4.4)

установлено фазовое разделение при концентрации NaOH в интервале (2,2 - 3) М. Линейная зависимость имеет вид: $V_{м.ф.} = 0,08x + 0,06$; $R^2 = 0,97$.



Рисунок 4.4. Влияние концентрации ПАВ на характер фазового разделения системы ОП-10 – NaOH.

Проведенные исследования по влиянию концентраций nПАВ и NaOH на характер фазового разделения систем nПАВ – NaOH показали, что для всех представителей nПАВ могут быть найдены оптимальные соотношения $c_{nПАВ}/c_{NaOH}$, при которых возможно разделение фаз без дополнительного нагревания. Поэтому любая из исследуемых систем nПАВ – NaOH может являться прототипом экстракционной системы *вода – органический растворитель* для концентрирования органических аналитических форм.

В присутствии Na_2CO_3 фазовое разделение водных растворов оксиэтилированных алкилфенолов (2 - 12%) возможно в политермическом режиме при нагревании систем до (70 - 90) °С (табл. 4.3).

Таблица 4.3. Некоторые характеристики исследуемых растворов nПАВ

ПАВ	$\omega(\text{ПАВ}), \%$	Na_2CO_3		NaOH	
		Тп, °С	Локализация мицеллярной фазы	Тп, °С	Локализация мицеллярной фазы
ОП-10	2 - 12	80-90	внизу	20-25	вверху
Тритон X-114	2 - 6	70-80	внизу	20-25	вверху
Бридж-35	2 - 10	>100	внизу	20-25	вверху

Формирование мицеллярных фаз nПАВ в присутствии солей.

Концентрация высаливателя (солей, сильных электролитов) – важнейший фактор, оказывающий влияние на скорость фазового разделения растворов nПАВ и объем мицеллярной фазы в изотермическом режиме.

Так, сочетанием Na_2CO_3 с другими неорганическими солями (NaCl, Na_2SO_4) или его заменой на NaOH возможно получение 2-х фазных систем в

изотермическом режиме. При этом мицеллярно-насыщенные фазы образуются при температуре (20 - 25) °С без или с центрифугированием.

На рис. 4.5 представлена зависимость температуры точки помутнения нПАВ от концентрации различных солей. Как видно из данной диаграммы, при увеличении концентрации соли уменьшается температура помутнения, при этом наилучший высаливающий эффект достигается добавлением Na_2CO_3 . Соли приводят не только к уменьшению температуры помутнения и объема мицеллярной фазы, но и к увеличению вязкости растворов.

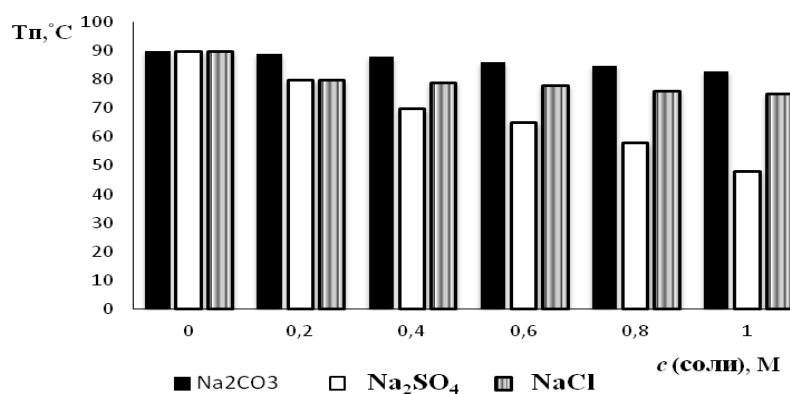


Рисунок 4.5. Зависимость температуры помутнения ОП-10 от концентрации солей.

Полученные данные не противоречат данным литературы. Так, в работе [100] получены зависимости температуры помутнения нПАВ от концентрации солей щелочных металлов (рис. 4.6).

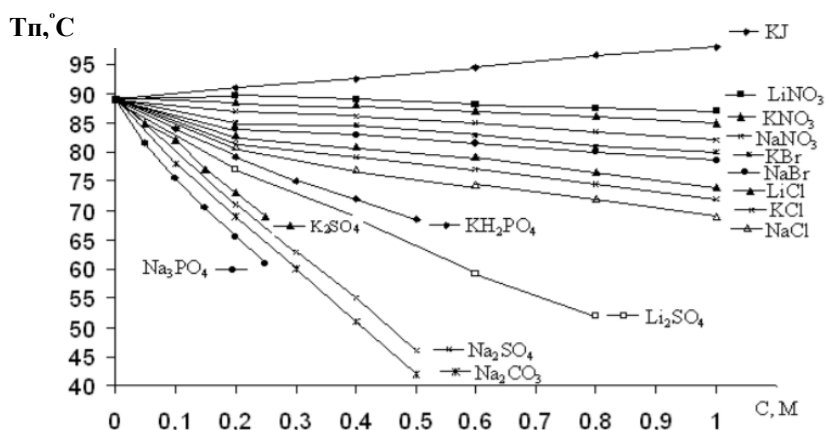


Рисунок 4.6. Пример зависимостей температуры помутнения водных растворов ОП-10 от концентрации солей щелочных металлов. ($c_{\text{ОП-10}} = 10\%$) [100].

Из представленных зависимостей видно, что температура помутнения снижается с увеличением концентрации соответствующей соли. Снижение температуры помутнения объясняется несколькими факторами:

взаимодействием катионов металла с полиоксиэтиленовой цепью; влиянием ионной силы вводимых электролитов; адсорбцией анионов на гидрофильной полиоксиэтиленовой цепи неионного ПАВ. Высаливающий эффект солей уменьшается в ряду: $\text{Na}_3\text{PO}_4 > \text{Na}_2\text{HPO}_4 > \text{Na}_2\text{CO}_3 > \text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{NaH}_2\text{PO}_4 > \text{NaHSO}_4$.

Особенности формирования фаз нПАВ в присутствии этанола.

Известно, что добавление в водный раствор нПАВ спиртов с короткой углеродной цепью, таких как метанол, этанол и пропанол увеличивают температуру точки помутнения. В связи с тем, что в работе применяли этанольные растворы как реагентов, так и аналитов исследовано влияние этанола на температуру точки помутнения на примере водного раствора ОП-10. Объёмную долю спирта варьировали в интервале от 0.5% до 2%. Полученные зависимости $T_{\text{п}}$ растворов ОП-10 от $\varphi(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})$ приведены на рис. 4.7.

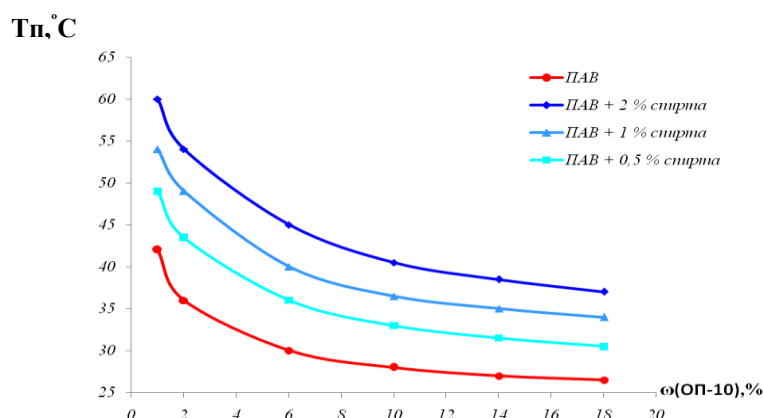


Рисунок 4.7. Зависимость температуры помутнения растворов ОП-10 от объемной доли этанола и ω (ОП-10).

На рис. 4.7 представлены три серии растворов при фиксированных концентрациях $\varphi(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})$ 0,5; 1 и 2 об. % соответственно. Установлено, что при увеличении объемной доли этанола в растворе ОП-10 температура точки помутнения его значительно увеличивается.

Во всех трех исследуемых системах, варьировали такие факторы как: природа и концентрация ПАВ, высаливателя, рН в политермическом и изотермическом режимах. Были получены следующие закономерности:

- обратно пропорциональные зависимости точки помутнения систем нПАВ – H_2O от температуры, концентрации солей и NaOH;

- линейная зависимость $V_{м.ф.}$ от $\omega(\text{нПАВ})$;
- линейная зависимость $V_{м.ф.}$ от $\omega(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})$.

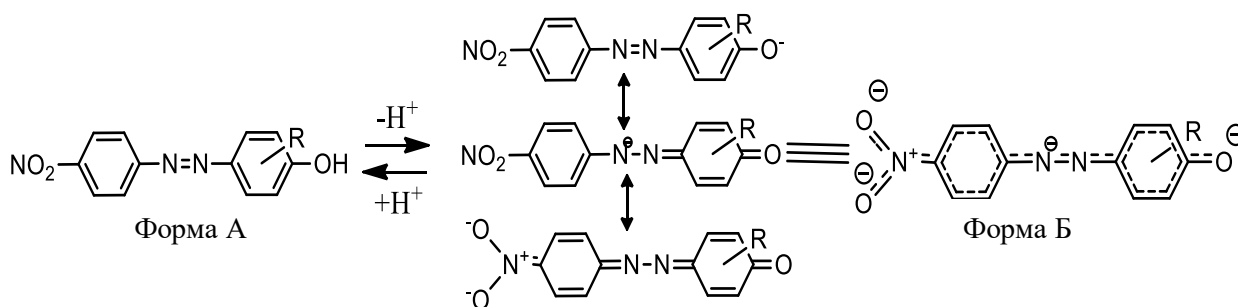
Установленные закономерности, положены в основу выбора условий для фазового разделения *систем I – III* в присутствии нПАВ.

4.2. Факторы, влияющие на фазовое разделение *системы I*: фенолы – 4-нитрофенилдиазоний

Предварительно установлено, что в *системах I - III* в присутствии всех нПАВ фазовое разделение достигается как в политермическом, так и в изотермическом режимах, в зависимости от природы высаливателя.

Варьирование концентрации ПАВ. Полученные ранее закономерности для систем нПАВ – H_2O (высаливатель) были изучены и в *системе I*: фенолы - 4-нитрофенилдиазоний. Установлено, что на характер закономерностей не оказывают влияния рабочие концентрации реагентов.

Так, влияние природы нПАВ на степень извлечения аналитов в *системе I* исследовано для четырех представителей нПАВ, а также их смесей с кПАВ (табл. 4.4). Например, степень извлечения азосоединений изучена в нейтральной, слабокислой (форма А) и щелочной (форма Б) средах:



Как видно из табл. 4.4, степень извлечения формы Б выше, чем А. Следует отметить, что на степень извлечения соответствующих форм азосоединений оказывает влияние преимущественно два фактора: гидрофильность формы и ее заряд. Так для резорцина преобладает второй фактор, который приводит к электростатическому отталкиванию одноименно заряженных формы А и смешанной мицеллы. Тогда как для флороглюцина преобладает первый фактор и форма Б является максимально гидрофильной, поэтому степень извлечения ее снижается по сравнению с формой А.

**Таблица 4.4. Степени извлечения некоторых фенолов (%) в системе
диазотированный 4-НА – фенольный аналит - ПАВ**

ПАВ	Фенол		Резорцин		Флороглюцин	
	pH <7 (А)	pH >7 (Б)	А	Б	А	Б
ОП-10	-	90,1	88,6	89,7	82,7	74,8
ОП-10 + ЦТМАХ	-	84,7	73,7	83,9	74,9	67,9
Тритон X-114	-	92,5	89,8	90,0	83,9	76,1
Тритон X-114 + ЦТМАХ	-	89,1	74,1	84,3	79,1	69,3
Бридж-35	-	91,2	88,9	89,9	84,0	75,9
Бридж-35 + ЦТМАХ	-	87,6	75,2	84,5	78,6	69,8

С другой стороны, кислотность среды оказывает влияние не только на возможность проведения СР-экстракции, но и на получение соответствующей окрашенной аналитической формы. Так, например, изучено состояние продукта азосочетания диазотированного 4-НА с резорцином (Магнезон I, форма А) в водно-мицеллярных средах при различных рН. Как видно из рис. 4.8, в зависимости от кислотности среды резорцин может находиться в разных формах: в кислой – протонированная форма AH^+ ($\lambda_{max} = 405$ нм), в нейтральной и слабокислой - форма А ($\lambda_{max} = 450$ нм), в щелочной - форма Б ($\lambda_{max} = 555$ нм). При увеличении концентрации щелочи форма Б преобладает в растворе [101].

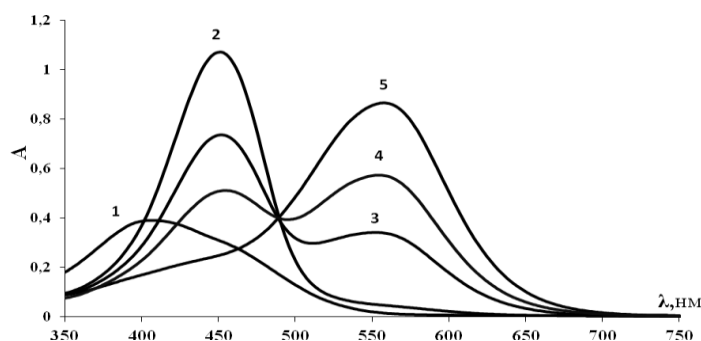


Рисунок 4.8. Спектры поглощения Магнезона I при различных рН:

$C_{\text{Магнезона I}} = 2 \cdot 10^{-5}$ М; 1 – 0,1М HCl; 2 – 0,01М HCl; 3 – 0,1 М NaOH; 4 – 1 М NaOH; 5 – 2,8М NaOH.

Для продукта азосочетания и 4-нитрофенилдиазония с фенолом и флороглюцином аналогичных эффектов в спектрах поглощения не наблюдалось. Это, вероятно, связано с тем, что в соединениях с *орто*- или *пара*-хинолидной системой связей наблюдается специфический случай кето-енольной таутомерии. Молекула фенола, имеющая гидроксильную группу при ароматическом кольце (по электронному строению близкую к двойной), должна превращаться в алициклическое карбонильное соединение. Однако в

действительности в случае простейших фенолов этого не происходит, так как равновесие полностью сдвинуто в сторону фенольной (енольной) формы [102]. Таким образом, простейший фенол существует только в единственной форме и возможность таутомерии для него отсутствует. Накопление гидроксильных групп в ароматическом ядре, в силу уменьшения разницы в энергиях стабилизации кетонных и енольных форм, должно благоприятно влиять на возможность появления таутомерии, а, следовательно, и отражаться на свойствах и реакционной способности полиатомных фенолов. Однако непосредственно у флороглюцина таутомерии не обнаружено. Наиболее стабильным в кетонной форме должен быть дианон флороглюцина.

Как видно (табл. 4.4), наибольшая степень извлечения каждого из исследуемых фенолов отмечалась при экстракции в мицеллярные фазы Тритона X-114, однако Тритона X-110 прост в применении.

Получены зависимости: объема мицеллярной фазы и степени извлечения от концентрации Тритона X-100 (рис. 4,9; 4,10; 4.11),



Рисунок 4.9. Влияние концентрации Тритона X-100 на систему 2-нафтол – 4-НА – NO₂⁻ – Тритон X-100 – NaOH – этанол.

$\omega(\text{Тритона X-100}), \%$: 1 - 0,4; 2- 3 ; 3 - 4; 4 – 5 ; 5 - 6; 6 – 7 ; 7 – 8.

Рассчитаны коэффициенты распределения и степени извлечения азосоединений в зависимости от концентрации Тритона X-100 (таблица 4.5).

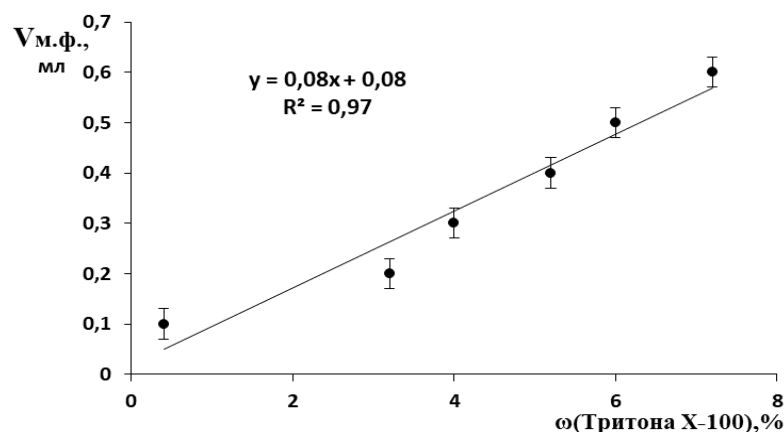


Рисунок 4.10. Зависимость объема мицеллярной фазы от концентрации Тритона X-100 в системе: 2-нафтол – 4-НА – NO₂⁻ – Тритон X-100 – NaOH – этанол.

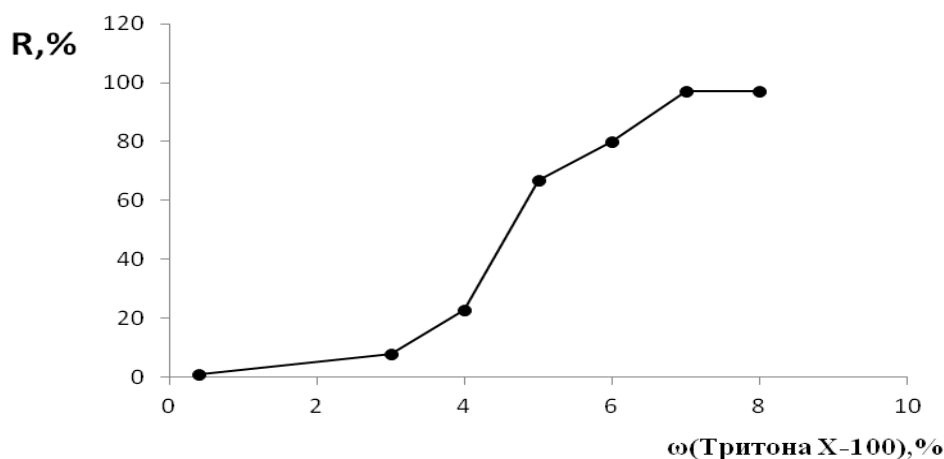


Рисунок 4.11. Зависимость степени извлечения 2-нафтола от концентрации Тритона X-100 в системе 2-нафтол – 4-НА – NO₂⁻ – Тритон X-100 – NaOH – этанол.

Таблица 4.5. Значения D, R при разной концентрации Тритона X-100

ω(Тритона X-100), %	D	R, %
0,40	0,60	1,00
3,00	0,70	3,00
4,00	2,00	10,0
5,00	2,00	13,0
6,00	4,00	30,0
7,00	199	97,0
8,00	199	97,0

Из рисунков 4.10, 4.11 и таблицы 4.5 видно, что при низких концентрациях нПАВ мицеллярная фаза не образуется, при увеличении концентрации Тритона X-100 объем мицеллярной фазы увеличивается, степень извлечения нафтола так же возрастает и достигает 97 % при концентрации Тритона X-100 = 7%.

Присутствие в системе ЦТМА (кПАВ), с одной стороны, снижало степень извлечения аналитов, с другой, позволило стабилизировать систему во времени (рис. 4.12), при этом улучшая сходимость результатов определения фенолов.

Увеличение числа –ОН групп в исследуемом фенольном анализе приводило к снижению его степени извлечения в мицеллярную фазу нПАВ, это может быть связано с таутомерными превращениями в полифенолах, а также с уменьшением lgP при увеличении числа –ОН групп в бензольном кольце.

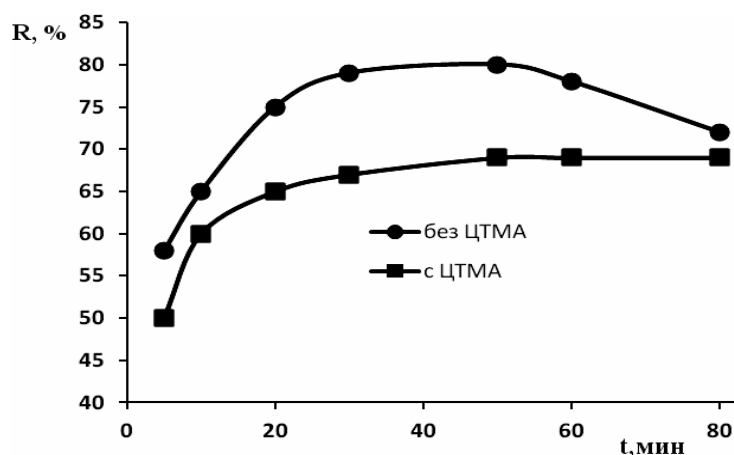


Рисунок 4.12. Зависимость степени извлечения резорцина от времени без и с ЦТМА.

Влияние природы и концентрации нПАВ на изменение оптической плотности аналитической формы резорцина представлено на рис. 4.13. Наилучшие результаты (максимальный выход аналитической формы азосоединений) достигается для раствора Тритон X-100 с концентрацией $\geq 4\%$, или ОП-10 с концентрацией $\geq 7\%$.

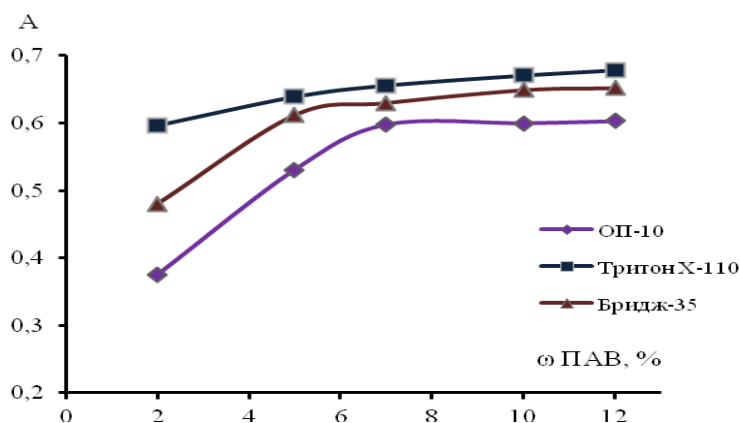


Рисунок 4.13. Изменение оптической плотности аналитической формы резорцина от концентрации нПАВ. $c(\text{резорцина}) = 5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$.

Показано, что применением комбинированных систем на основе смешанных ПАВ (катионных и неионных) можно улучшить метрологические характеристики определения фенольных соединений по сравнению с системами на основе только нПАВ.

Как видно из рисунка 4.14, присутствие ЦТМА усиливает аналитический сигнал, повышая оптическую плотность растворов магнезона I.

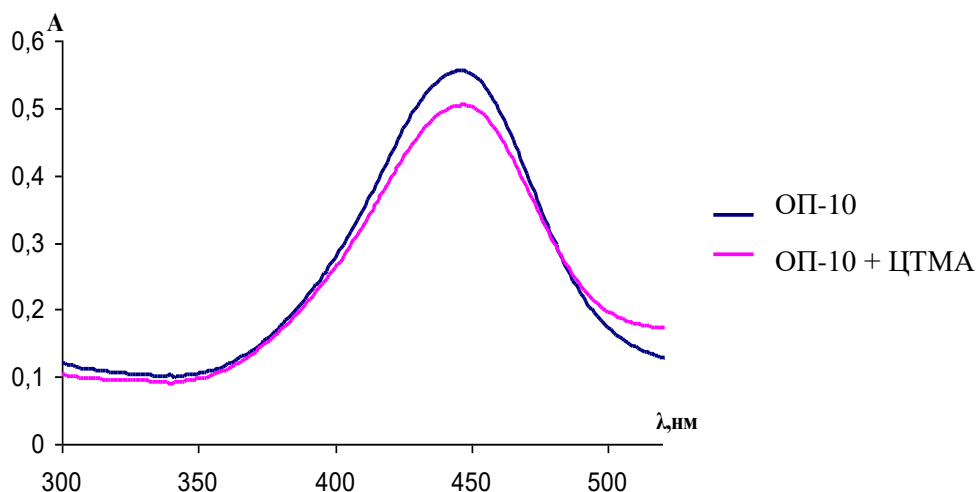


Рисунок 4.14. Спектры поглощения Магнезона I в присутствии ОП-10 и ОП-10 + ЦТМА
 $c_{\text{магнезона I}} = 1.6 \cdot 10^{-5} \text{ M}$; $c(\text{ЦТМА}) = 7 \cdot 10^{-4} \text{ M}$; $c(\text{ОП-10}) = 7\%$.

Таким образом, в результате проведенного эксперимента установлено, что при температуре (20 - 25) °С наибольший эффект достигается добавлением ЦТМА в интервале концентраций $4 \cdot 10^{-4}$ - $1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$.

Характер фазового разделения системы I во времени. Изучено влияние времени на характер фазового разделения системы: флороглюцин – 4-НА – NO_2^- – Тритон X-100 – H_2O – NaOH. Для этого полученные растворы в пробирках фотографировали цифровым фотоаппаратом Huawei Y8p (рис. 4.15) в пределах часа.

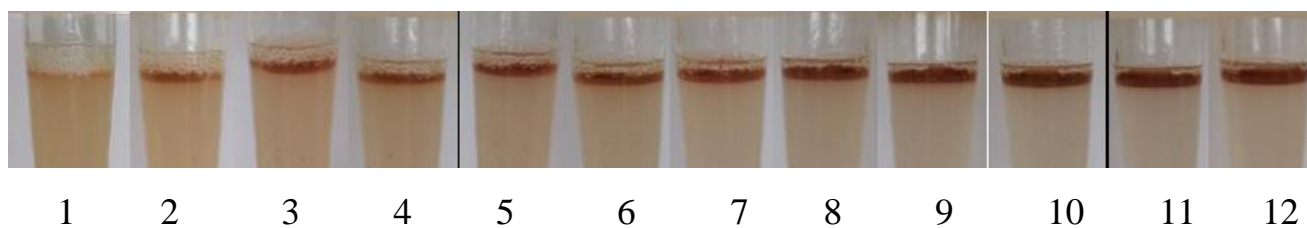


Рисунок 4.15. Влияние времени на характер фазового разделения системы флороглюцин – 4-НА – NO_2^- – Тритон X-100 – H_2O – NaOH.
 Время, мин: 1 – 0; 2 – 2; 3 – 4; 4 – 6; 5 – 8; 6 – 10; 7 – 15; 8 – 20; 9 – 30; 10 – 40; 11 – 50; 12 – 60.
 $c(\text{флороглюцина}) = 4 \cdot 10^{-6} \text{ M}$.

На рисунке 4.16 представлена зависимость яркости канала R от времени, в течение которого формируется мицеллярная фаза nПАВ и окрашивается в соответствующий цвет азосоединения.

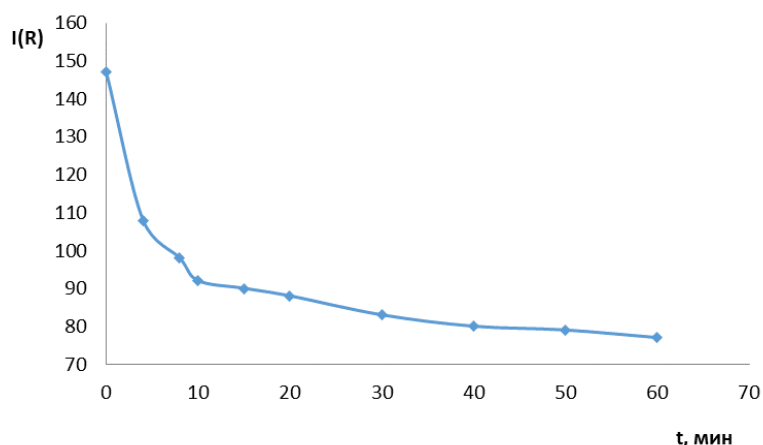


Рисунок 4.16. Зависимость яркости канала R мицеллярной фазы от времени в системе флороглуцин – 4-НА – NO₂⁻ - Тритон X-100 – H₂O – NaOH. $c(\text{флороглуцина}) = 4 \cdot 10^{-6} \text{ М}$.

Из рисунка 4.16 видно, что в пределах 30 минут, после введения всех реагентов в систему, фаза активно собирается, в связи с чем ее окраска усиливается. Азокраситель полностью переходит из водной в мицеллярную фазу.

Влияние органического растворителя (этанола). Изучено влияние концентрации этанола на систему I: 2-нафтол – 4-НА – NO₂⁻ – Тритон X-100 – NaOH – этанол (рис. 4.17). При увеличении концентрации спирта приводит к изотропности фазы и ее росту.

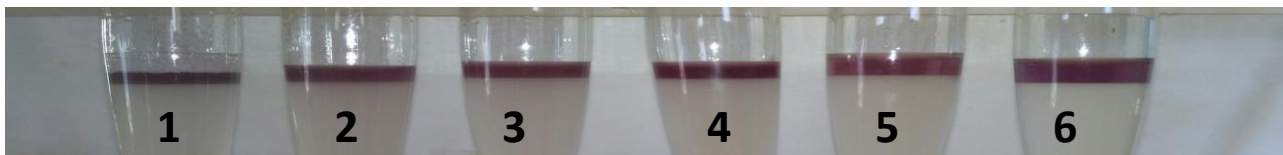


Рисунок 4.17. Влияние концентрации этанола на систему нафтол-2 – 4-НА – NO₂⁻ – Тритон X-100 – NaOH – этанол.

$\varphi_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}, \% = 1 - 5,8; 2 - 9,6; 3 - 15,4; 4 - 19,2; 5 - 28,8; 6 - 38,4.$

Установлена зависимость степени извлечения 2-нафтола от концентрации этанола (рис. 4.18), рассчитаны соответствующие коэффициенты распределения и степени извлечения (таблица 4.6).

Таблица 4.6. Значения D, R при разной концентрации этанола для системы I

$\varphi_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}, \%$	D	R, %
5,8	18	71
9,6	199	97
15,4	199	97
19,2	199	97
28,8	199	97
38,4	199	97

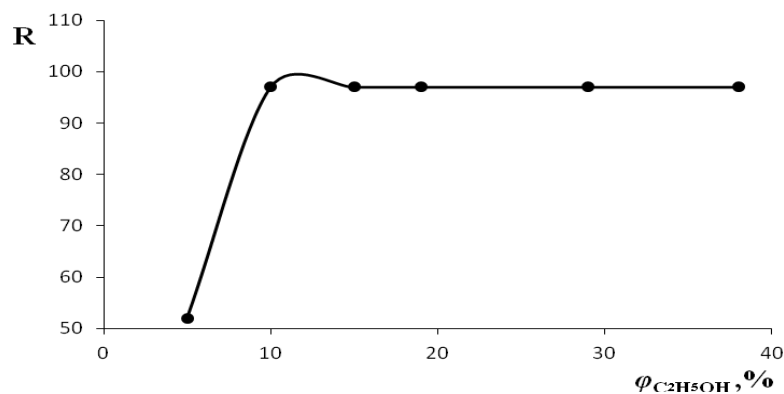


Рисунок 4.18. Зависимость степени извлечения 2-нафтола от концентрации C_2H_5OH в системе 2-нафтол – 4-НА – NO_2^- – Тритон X-100 – NaOH.

Из таблиц 4.6 и рисунка 4.18 видно, что степень извлечения 2-нафтола достигает 97% при концентрации этанола 10%, что далее было применено при исследовании системы 2-нафтол – 4-НА – NO_2^- – Тритон X-100 – NaOH – этанол для определения нафтолов. Добавка этанола в эту систему приводит к ее изотропности, при этом объем мицеллярной фазы возрастал незначительно, а скорость фазового разделения увеличивалась ~ в 5 раз, что способствовало сокращению времени, необходимого для достижения равновесных состояний в исследуемых системах.

4.3. Особенности фазового разделения в системе II: фенолы - 4-аминоантипирин – $K_3[Fe(CN)_6]$ – неионный ПАВ

Изучены особенности фазового разделения системы II на примере реакции фенола с 4-аминоантипиринном и гексацианоферратом (III) калия в растворах неионных ПАВ [103].

4.3.1. Влияния температуры на характер фазового разделения

Исследовано фазовое разделение системы фенол – 4-аминоантипирин – $K_3[Fe(CN)_6]$ – Тритон X-100 – Na_2CO_3 в политермическом режиме в интервале 30 - 80 °С. При достижении необходимых температур, полученные растворы фотографировали цифровым фотоаппаратом Iphone 11. После усреднения цвета, полученного изображения, определяли яркость цветовых каналов R, G, B. По полученным значениям строили зависимости яркости цветового канала от температуры. Пример зависимости яркости цветового канала (Iв) от T представлен на рисунке 4.19.

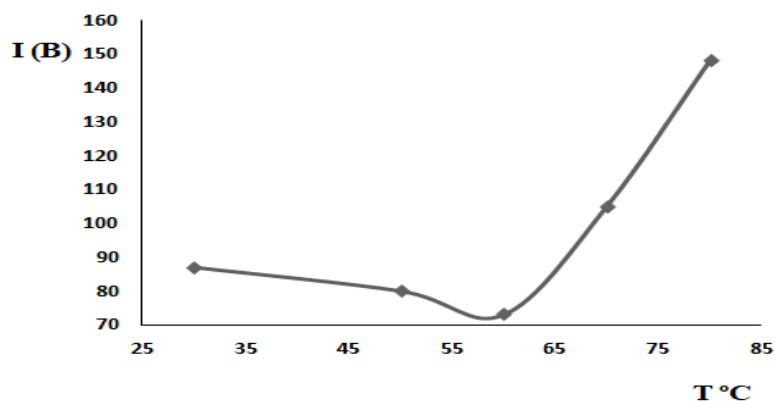


Рисунок 4.19. Зависимость яркости канала В от температуры (30 - 80 °С) для системы фенол – 4-АА – $K_3[Fe(CN)_6]$ – Na_2CO_3 – Тритон X-100. $c(\text{фенола}) = 2 \cdot 10^{-5}$ М; $c(4\text{-АА}) = 1 \cdot 10^{-3}$ М; $c(K_3[Fe(CN)_6]) = 0,08\%$; $c(Na_2CO_3) = 0,25$ М; $c(\text{Тритон X-100}) = 3\%$.

Из рисунка 4.19 видно, что с увеличением температуры до 60°C интенсивность канала В снижается, при этом интенсивность окраски раствора возрастает. Дальнейшее увеличение температуры приводило к разрушению аналитической формы, что сопровождалось возрастанием яркости канала В.

Характер фазового разделения системы II оценивали и спектрофотометрически (рис. 4.20).

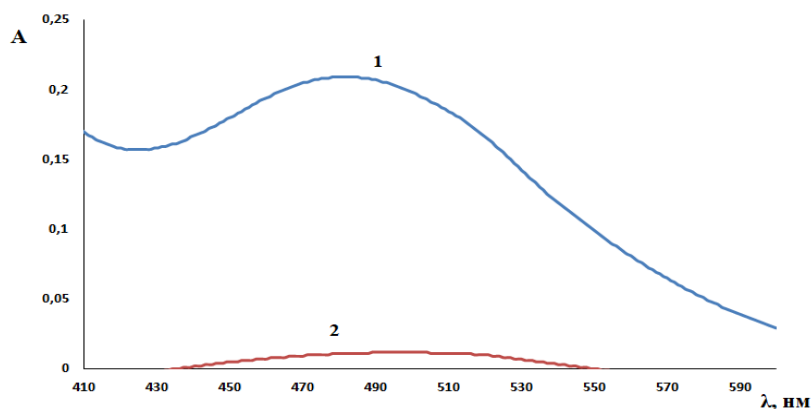


Рисунок 4.20. Спектры поглощения системы: фенол – 4-аминоантипирин – $K_3[Fe(CN)_6]$ – Тритон X-100 – Na_2CO_3 . 1 – без нагревания, 2 – при нагревании до 80 °С. $c(\text{фенола}) = 2 \cdot 10^{-5}$ М; $c(4\text{-АА}) = 1 \cdot 10^{-3}$ М; $c(K_3[Fe(CN)_6]) = 0,08\%$; $c(Na_2CO_3) = 0,25$ М; $c(\text{Тритона X-100}) = 3\%$.

Рисунок 4.20 также демонстрирует разрушение фенольного красителя. Поэтому для дальнейшего аналитического применения системы II фазовое разделение осуществляли в присутствии высаливателей, при комнатной температуре в изотермическом режиме.

4.3.2. Варьирование концентрации Тритона X-100

Изучено влияние концентрации Тритона X-100 на объем мицеллярной фазы в системе: фенол – 4-аминоантипирин – $K_3Fe(CN)_6$ – Тритон X-100 в

присутствии 0,25 М Na_2CO_3 . Полученные растворы в пробирках фотографировали цифровым фотоаппаратом (рис. 4.21).



Рисунок 4.21. Фазовое разделение системы: фенол – 4-аминоантипирин – $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ – Тритон X-100 – Na_2CO_3 .

Отделяли мицеллярные фазы, насыщенные ПАВ и измеряли их объем. Затем строили на основании полученных данных зависимость, представленную на рис. 4.22.

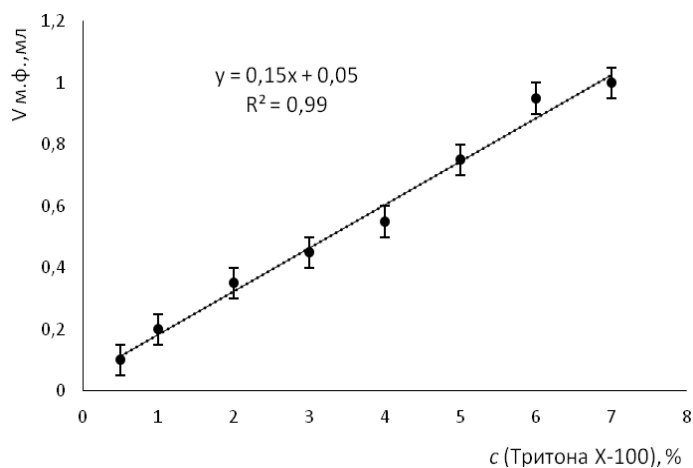


Рисунок 4.22. Зависимость объема мицеллярной фазы от концентрации Тритона X-100.

Из рисунка 4.22 видно, что объем мицеллярной фазы линейно зависит от концентрации Тритона X-100. По полученным данным строили графики зависимости яркостей цветовых каналов от концентрации Тритона X-100 (рис. 4.23).

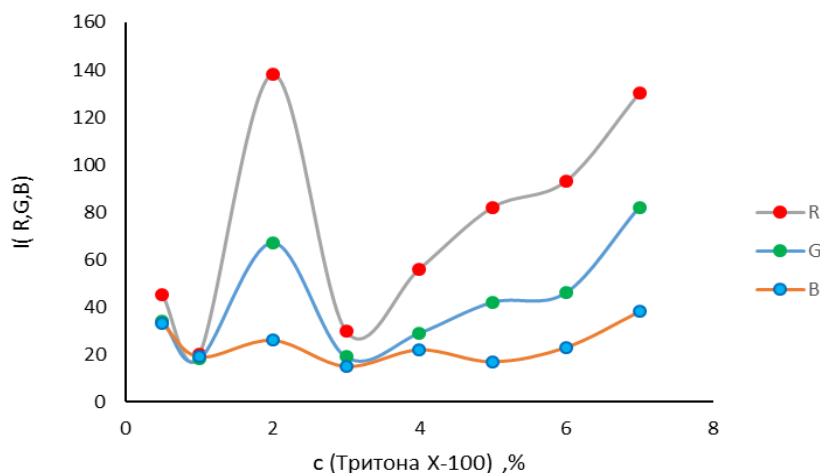


Рисунок 4.23. Зависимости яркостей каналов RGB от концентрации Тритона X-100.

Как видно из рисунка 4.23, при концентрациях Тритона X-100 $< 2\%$ полного концентрирования аналитической формы не достигается, при увеличении концентрации нПАВ $> 4\%$ происходит разбавление этой формы в мицеллярной фазе большего объема. Наилучшие аналитические эффекты достигались в интервале концентраций Тритона X-100 (3-4)%.

4.3.3 Изучение влияния концентрации Na_2SO_4 на систему: **фенол - 4-аминоантипирин - $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ - Na_2CO_3 - Тритон X-100**

Изучено влияние концентрации Na_2SO_4 на систему: фенол – 4-АА – $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ – Na_2CO_3 – Тритон X-100 при концентрации аналита $2 \cdot 10^{-5}$ М. Для этого строили зависимости I (R, G, B) от $c(\text{Na}_2\text{SO}_4)$, при $c(\text{Na}_2\text{CO}_3) = \text{const}$ (создание рН) после разделения фаз, ускоренного центрифугированием.

Из рисунков 4.24 видно, что интенсивность каналов R и G снижается при увеличении концентрации Na_2SO_4 и при ее оптимальной концентрации (0,5 М) в системе достигается равновесие и максимальная интенсивность окраски аналитической формы.

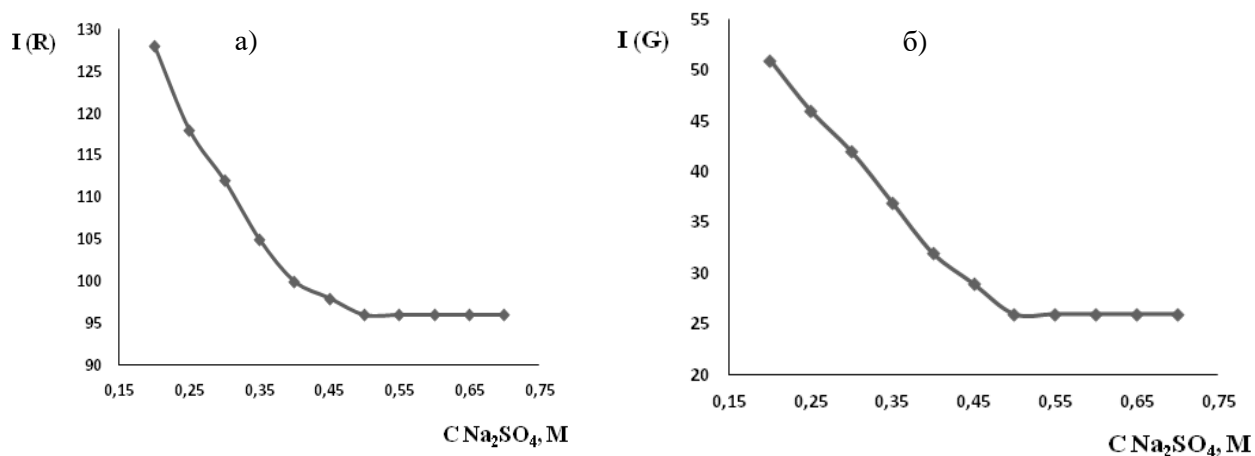


Рисунок 4.24. Зависимости яркости каналов R, G от $c(\text{Na}_2\text{SO}_4)$ в интервале: 0,2-0,7 М; $c(\text{фенола})$: $2 \cdot 10^{-5}$ М.

Аналогично изучено влияние концентрации Na_2SO_4 на $V_{\text{м.ф.}}$ в системе: фенол – 4-АА – $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ – Na_2CO_3 – Тритон X-100 – Na_2SO_4 . После разделения фаз отделяли мицеллярную от водной и измеряли их объемы. Строили зависимость $V_{\text{м.ф.}}$ исследуемой системы от концентрации Na_2SO_4 (рис. 4.25).

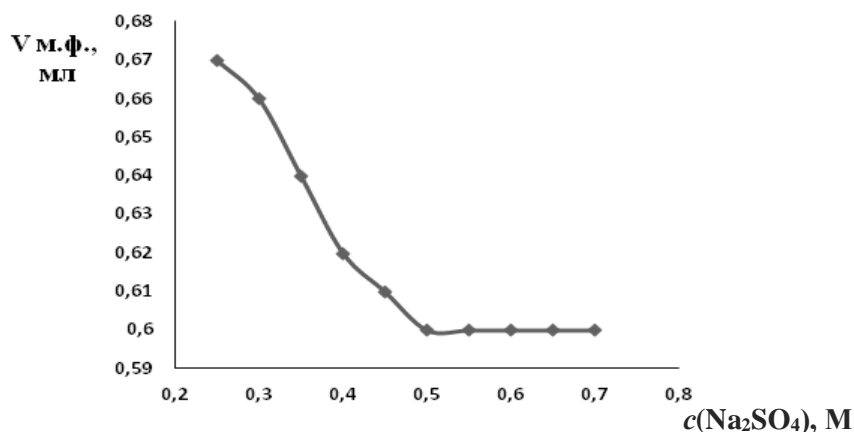


Рисунок 4.25. Зависимость объема мицеллярной фазы от концентрации Na_2SO_4
 $c(\text{фенола}) = 8 \cdot 10^{-6} \text{ М}$; $c(4\text{-АА}) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$; $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,08\%$;
 $c(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 0,25 \text{ М}$; $c(\text{Тритона X-100}) = 3\%$, $c(\text{Na}_2\text{SO}_4) = 0,25\text{-}0,7 \text{ М}$.

Из рис. 4.25 видно, что система достигает равновесного состояния при оптимальной концентрации $\text{Na}_2\text{SO}_4 - 0,5 \text{ М}$, при которой интенсивность окраски фазы, насыщенной нПАВ, также максимальна.

Рассчитаны количественные характеристики (коэффициент распределения, D и степень извлечения, R) [97] экстракции фенола в исследуемой системе в интервале концентраций фенола от $2 \cdot 10^{-6}$ до $5 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ по формулам:

$$D = \frac{C_o}{C_B}, \quad (1),$$

где c_o – концентрация компонента в органической (мицеллярной) фазе;
 c_B – концентрация компонента в водной фазе.

$$R = \frac{D \cdot 100}{D + \frac{V_B}{V_o}}, \quad (2),$$

где V_B – объем водной фазы; V_o – объем органической (мицеллярной) фазы).

Рассчитанные характеристики на примере фенола и тимолола сведены в таблицу 4.7, зависимость степени извлечения от концентрации фенола и тимолола представлена на рис. 4.26.

Таблица 4.7. Значения D , R фенолов в системе II

С _{фенолов} , МОЛЬ/Л	D		R, %	
	фенол	тимол	фенол	тимол
$2 \cdot 10^{-6}$	68	66	67	63
$4 \cdot 10^{-6}$	71	69	70	66
$1 \cdot 10^{-5}$	75	71	76	73
$3 \cdot 10^{-5}$	83	80	85	75
$5 \cdot 10^{-5}$	86	87	87	79

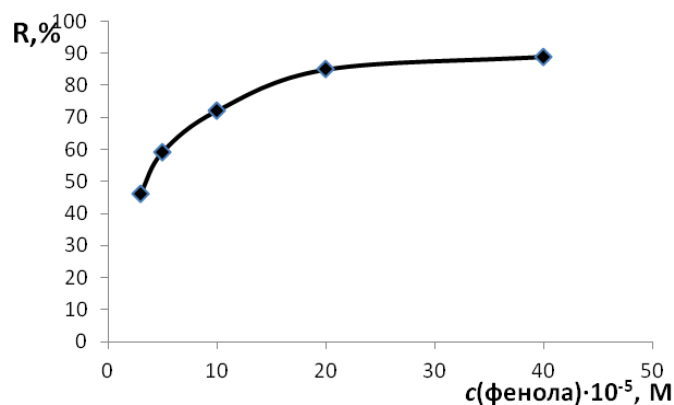


Рисунок 4.26. Зависимость степени извлечения фенола от его концентрации.

Из таблицы 4.7 и рисунка 4.26 видно, что с увеличением концентрации фенолов значения D и R также возрастают, фенол, по сравнению с тимолом лучше экстрагируется в мицеллярную фазу ПАВ.

4.4. Фазовое разделение в системе III: фенолы - реактив Фолина–Чокальтеу - неионный ПАВ

4.4.1. Исследование характера фазового разделения от температуры

Изучена стабильность указанной системы во времени. Для этого к водному раствору фенола добавляли реактив ФЧ, затем раствор Na_2CO_3 , дистиллированную воду, тщательно все перемешивали и оставляли на 30 минут. После вводили в систему Тритон X-100 и регистрировали фотографии фаз системы III в интервале времени 5 – 420 минут (рис. 4.27).

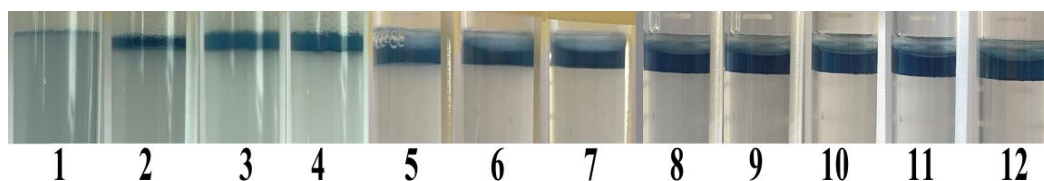


Рисунок 4.27. Характер фазообразования в системе III во времени в мин.

1 – 5, 2 – 15, 3 – 25, 4 – 35, 5 – 45, 6 – 60, 7 – 120, 8 – 180, 9 – 240, 10 – 300, 11–360, 12 – 420.

Мицеллярная фаза нПАВ, окрашенная в синий цвет собиралась в верхней части пробирки. Контроль интенсивности окраски мицеллярных фаз осуществляли цветометрически по соответствующим значениям цветовых каналов R, G, B (рис. 4.28).

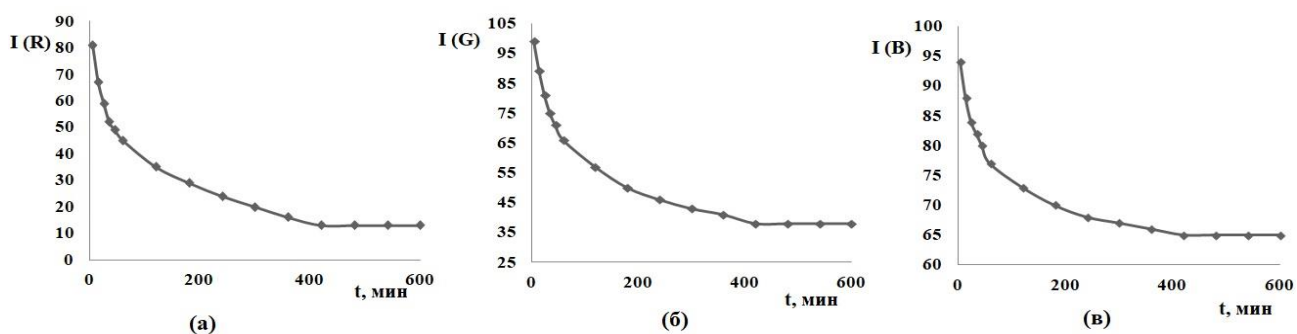


Рисунок 4.28. Зависимости интенсивностей каналов R (а), G (б) и B (в) от времени (5 - 420 минут).

Как видно из рисунка 4.28, с увеличением времени в интервале 5 – 420 минут интенсивность каналов R, G и B первоначально снижается, а равновесие в системе достигается через (400 – 420) минут, о чем свидетельствует плато на кинетической кривой.

Без дополнительных факторов, приводящих к фазовому разделению растворов системы фенол – реактив ФЧ – Na_2CO_3 – Тритон X-100 (органические и неорганические высаливатели, температура, pH, центрифугирование, микроволновое излучение и др.), разделение фаз и распределение в них веществ осуществляется в длительном промежутке времени (рис. 4.28), что не удовлетворяет требованиям тест-методов [104]. Поэтому для ускорения фазового разделения в *систему III* вводили добавки различных неорганических высаливателей.

4.4.2. Влияние природы неорганических высаливателей на фазообразование

Известно, что на процесс фазового разделения водных растворов нПАВ, в том числе и *системы III*: фенол – реактив ФЧ – Na_2CO_3 – Тритон X-100 оказывает влияние концентрация солей. В этой системе присутствует Na_2CO_3 , однако его концентрации и ионной силы, которую создает эта соль, недостаточно для выделения фазы нПАВ. Поэтому применяли центрифугирование и введение дополнительного высаливателя NaCl , Na_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и смесь солей ($\text{Na}_2\text{SO}_4 + (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$). Перейдем к обсуждению полученных результатов.

NaCl. Изучено влияние добавки NaCl на скорость формирования мицеллярной фазы nПАВ в системе III: фенол – реактив ФЧ – Na₂CO₃ – Тритон X-100. Характер поведения системы изучали во времени (0 - 90 минут), рис. 4.29.

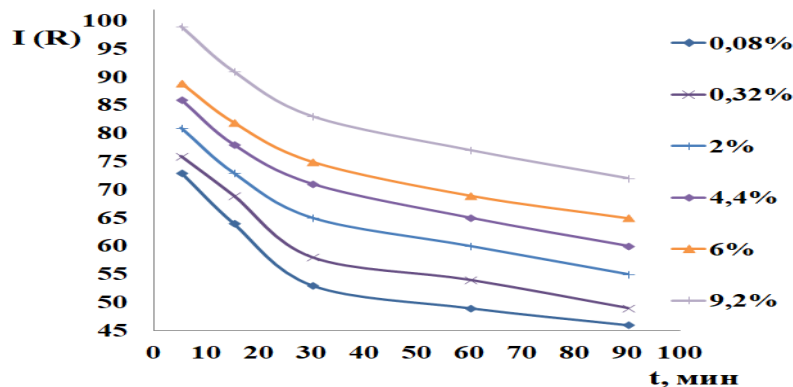


Рисунок 4.29. Зависимость яркости канала R от времени (0 - 90 минут), при варьировании концентрации NaCl от 0,08 до 9,2%.

Из полученных результатов (рис. 4.29) видно, что интенсивность канала R снижается при уменьшении концентрации соли (0,08 – 9,2%) и с увеличением времени контакта реагентов, что связано с формированием больших по объему мицеллярных фаз nПАВ.

Для ускорения фазообразования полученные растворы центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин. После центрифугирования отделяли мицеллярные фазы и строили зависимости объемов фаз nПАВ от концентрации NaCl (рис. 4.30).

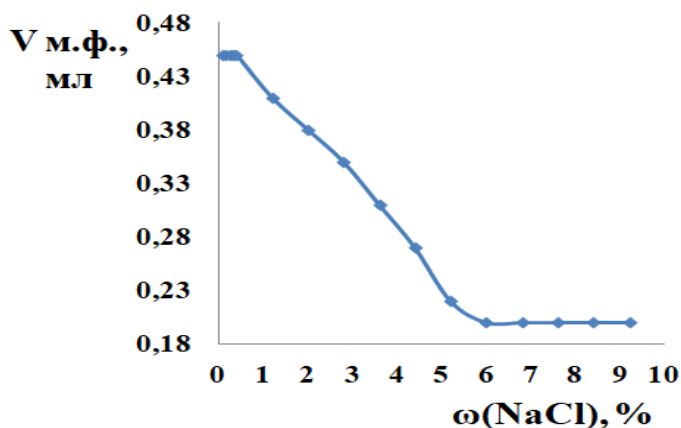


Рисунок 4.30. Зависимость объема мицеллярной фазы от концентрации NaCl в системе III: фенол – реактив ФЧ – Na₂CO₃ – Тритон X-100 – NaCl; ω(NaCl) = 0,08 – 9,2%.

Цветометрически исследовали яркость цветовых каналов мицеллярных фаз nПАВ от концентрации NaCl (рис. 4.31).

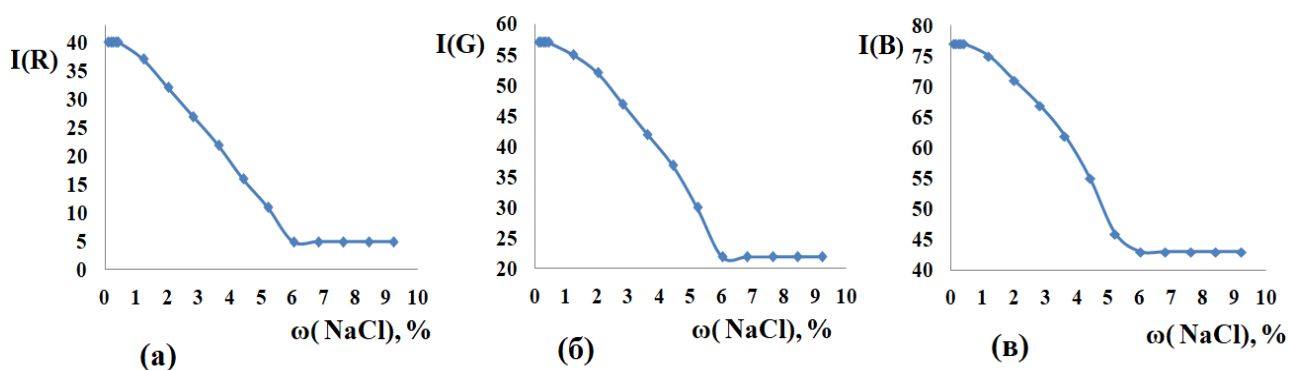


Рисунок 4.31. Зависимости яркостей каналов R (а), G (б), В (в) от концентрации NaCl в системе III: фенол - реактив ФЧ - Na₂CO₃ - Тритон X-100 – NaCl; ω(NaCl) = 0,08 - 9,2%.

Из рисунков 4.30 – 4.31 можно наблюдать, что фазовое равновесие системы достигается при концентрациях NaCl 6% и более, что обусловлено постоянным объемом мицеллярной фазы и интенсивностей каналов R, G и В при дальнейшем росте концентрации этой соли.

Na₂SO₄. Изучено влияние добавки Na₂SO₄ на скорость формирования мицеллярной фазы нПАВ в системе III: фенол - реактив ФЧ - Na₂CO₃ – Тритон X-100. Характер поведения системы изучали также во времени (0 - 90 минут). На рис. 4.32 представлена кинетическая зависимость яркости цветового канала I_(R) при разных концентрациях Na₂SO₄.

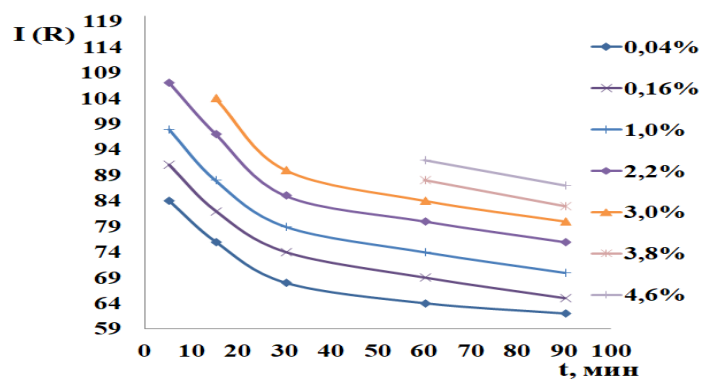


Рисунок 4.32. Зависимость яркости канала R от времени (0-90 минут), при варьировании концентрации Na₂SO₄ от 0,04 до 4,6%.

Из полученных результатов (рис. 4.32) видно, что интенсивность канала R, аналогично системе с NaCl, снижается при уменьшении концентрации соли (0,04 – 4,6%) и с увеличением времени контакта реагентов, что также связано с укрупнением мицеллярных фаз нПАВ и ростом их объемов.

Зависимости объемов мицеллярных фаз и яркостей цветовых каналов R, G, В от концентрации Na₂SO₄, приведены на рис. 4.33 и рис. 4.34 соответственно.

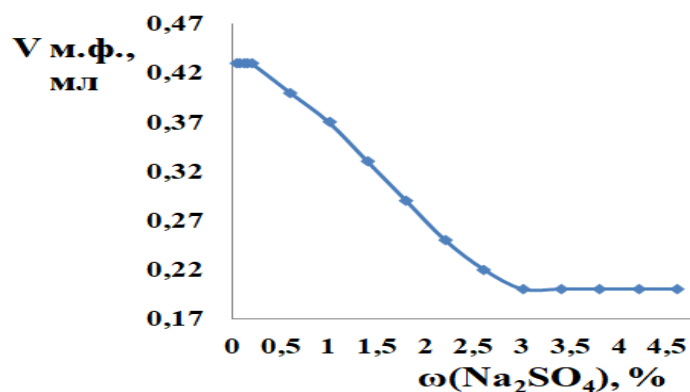


Рисунок 4.33. Зависимость объема мицеллярных фаз от концентрации Na_2SO_4 в *системе III*: фенол – реактив ФЧ – Na_2CO_3 – Тритон X-100 – Na_2SO_4 ; $\omega(\text{Na}_2\text{SO}_4) = 0,04 - 4,6\%$.

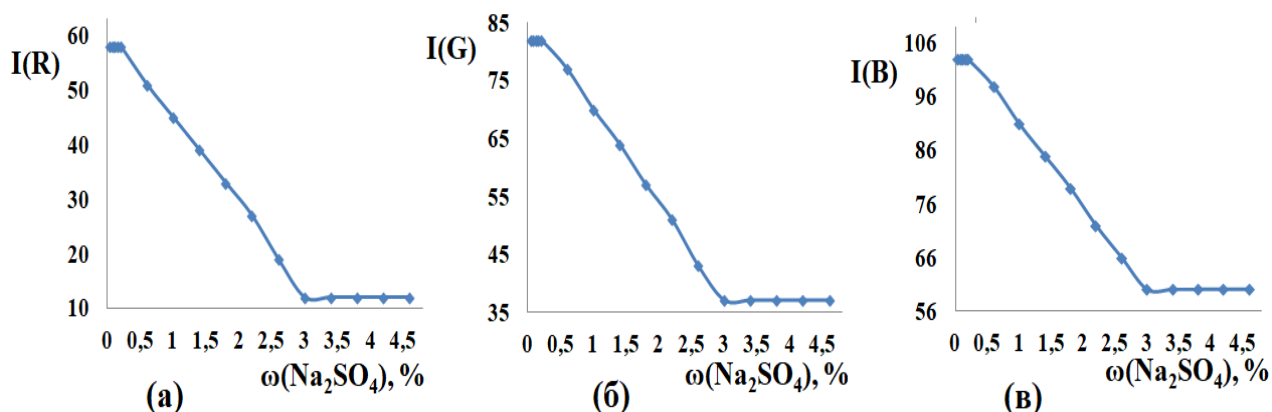


Рисунок 4.34. Зависимости яркостей каналов R (а), G (б) и B (в) от концентрации Na_2SO_4 в *системе III*: фенол - реактив ФЧ – Na_2CO_3 – Тритон X-100 – Na_2SO_4 . $\omega(\text{Na}_2\text{SO}_4) = 0,04 - 4,6\%$.

Как видно из рисунков 4.33 – 4.34, фазовое равновесие в системе достигается при концентрациях Na_2SO_4 3% и выше, что обусловлено постоянством объема мицеллярной фазы и интенсивностей каналов R, G и B при дальнейшем росте концентрации этой соли.

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Аналогично NaCl и Na_2SO_4 , изучено влияние добавки $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ на скорость формирования мицеллярной фазы ПАВ в *системе III*: фенол – реактив ФЧ – Na_2CO_3 – Тритон X-100. Характер поведения системы изучали в интервале времени (0 - 90 минут).

Получены зависимости $I_{(R,G,B)} - \omega((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$ во времени (рис. 4.35).

Из рис. 4.35 видно, что интенсивность канала R снижается (как и в случае NaCl , Na_2SO_4) при уменьшении концентрации соли (0,16 – 7,2%) и с увеличением времени контакта реагентов, что также связано с укрупнением мицеллярных фаз нПАВ и ростом их объемов.

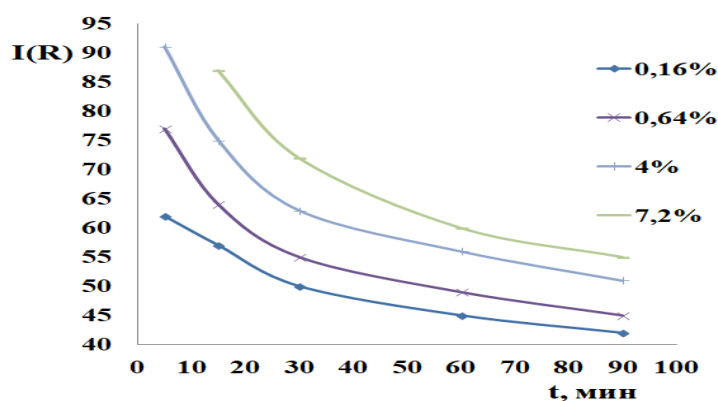


Рисунок 4.35. Зависимость яркости канала R от времени (0-90 минут).
 $\omega((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4) = 0,16 - 7,2 \%$.

Для ускорения фазообразования, полученные растворы центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин. (рис. 4.36).

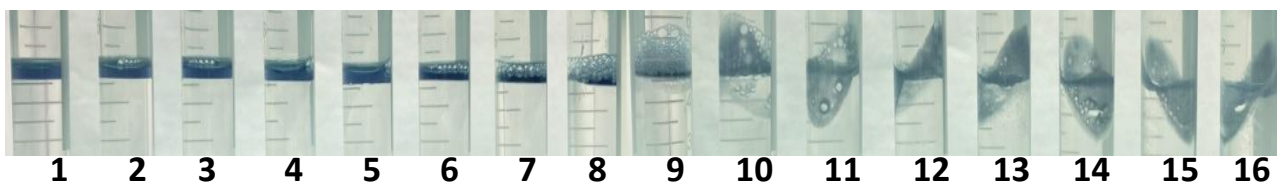


Рисунок 4.36. Система (III) с $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ после центрифугирования. $\omega((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$, %:
 1 – 0,16; 2 – 0,32; 3 – 0,48; 4 – 0,64; 5 – 0,8; 6 – 2,4; 7 – 4,0; 8 – 5,6; 9 – 7,2; 10 – 8,8; 11 – 10,4;
 12 – 12,0; 13 – 13,6; 14 – 15,2; 15 – 16,8; 16 – 18,4.

Из рисунка 4.36 видно, что мицеллярные фазы синего цвета локализованы в верхней части пробирки, а объем мицеллярных фаз с увеличением концентрации $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ визуальнo уменьшается (0,16 – 7,2%), в диапазоне концентраций соли от 8,8 до 18,4% образования фаз не наблюдалось. Зависимости объемов мицеллярных фаз и яркостей цветовых каналов R, G, B от концентрации $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, приведены на рис. 4.37 и рис. 4.38 соответственно.

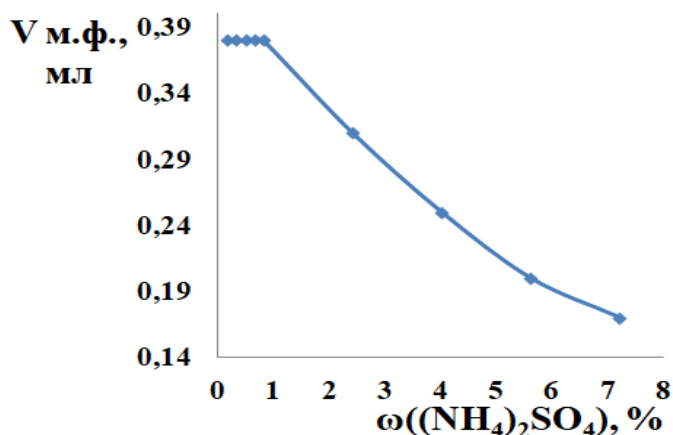


Рисунок 4.37. Зависимость объема мицеллярной фазы Тритона X-100 от концентрации $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; $\omega((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4) = 0,16 - 7,2 \%$.

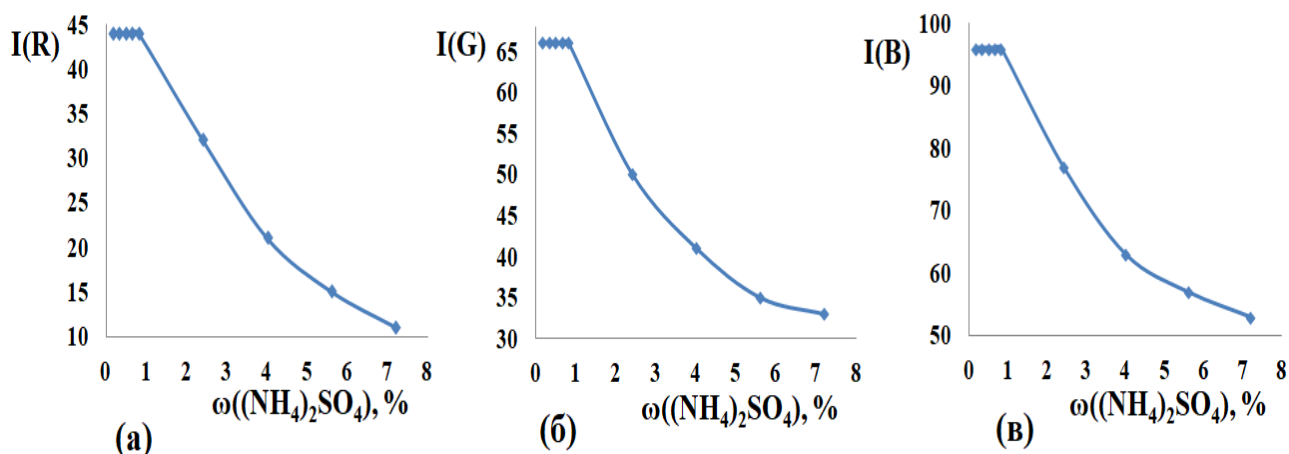


Рисунок 4.38. Зависимости яркостей каналов R (а), G (б) и B (в) от концентрации $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ от 0,16 до 7,2%.

Из рисунков 4.37 – 4.38 следует что, добавление $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ не позволяет в системе достичь фазового равновесия без центрифугирования. Поэтому $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ не может быть рекомендован в качестве высаливателя для дальнейших исследований.

Влияние смеси двух солей: Na_2SO_4 и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Изучено влияние смеси солей Na_2SO_4 и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ на скорость формирования мицеллярной фазы нПАВ в системе III: фенол – реактив ФЧ – Na_2CO_3 – Тритон X-100. На рисунке 4.39 представлена зависимость яркости цветового канала $I_{(R)}$ при варьировании общей концентрации SO_4^{2-} во времени.

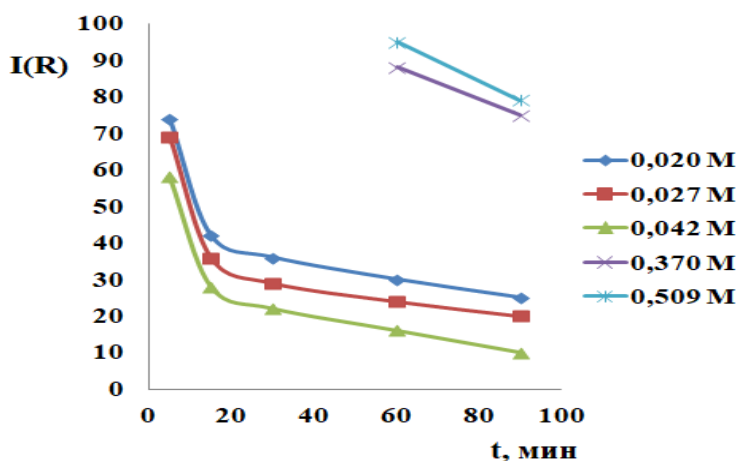


Рисунок 4.39. Зависимости яркости канала R от времени (0-90 минут) при варьировании $c(\text{SO}_4^{2-})$ от 0,020 до 0,509 М.

Из полученных результатов (рис. 4.39) видно, что интенсивность яркости канала R уменьшается с увеличением общей концентрации SO_4^{2-} . Для смесей солей Na_2SO_4 и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ образование фаз нПАВ затруднено и отмечалось при концентрациях 0,014 – 0,30 М после центрифугирования (рис. 4.40).



Рисунок 4.40. Система III в присутствии Na_2SO_4 и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.
 $c(\text{SO}_4^{2-})$, М: 1 – 0,020; 2 – 0,027; 3 – 0,042; 4 – 0,370; 5 – 0,509; 6 – 0,788.

Зависимости яркостей цветовых каналов R, G, B от общей концентрации SO_4^{2-} (рис. 4.41) показали, что добавление солей Na_2SO_4 и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ не позволяет в системе III достигать фазового равновесия.

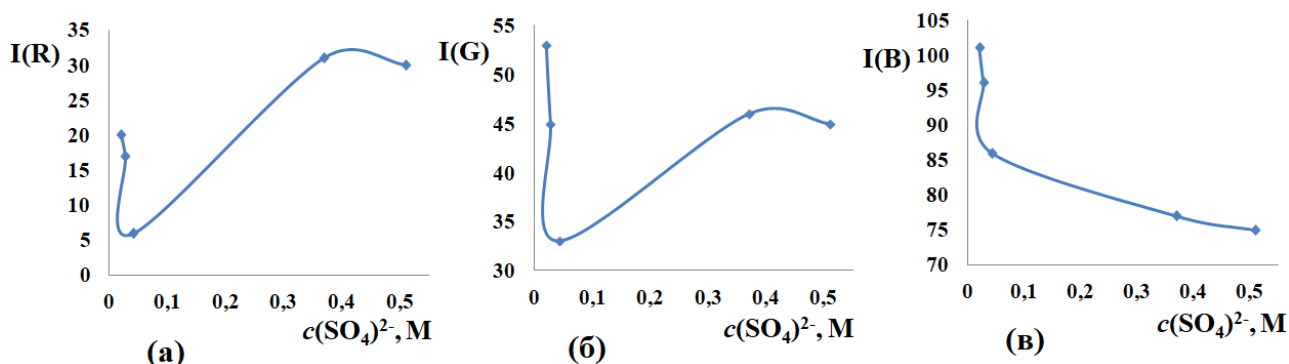


Рисунок 4.41. Зависимость яркости каналов R (а), G (б) и B (в) от концентрации SO_4^{2-} .
 $c(\text{SO}_4^{2-}) = 0,020 - 0,509$ М.

Поскольку добавка высаливателей в системе III не увеличивала скорость фазообразования, для дальнейших исследований выбран высаливатель – Na_2SO_4 (требуется его минимальные количества) с оптимальной концентрацией 3,2%.

4.4.3. Варьирование концентрации неионного ПАВ

Влияние концентрации ПАВ на степень извлечения аналитов рассмотрено на примере трех видов нПАВ: Тритона X-114, Тритона X-110 и их промышленного аналога ОП-10 в диапазоне концентраций 2 - 12%.

ОП-10. Изучено влияние концентрации ОП-10 на систему: фенол ($1 \cdot 10^{-5}$ М) – реактив ФЧ – Na_2CO_3 – ОП-10. Фотографировали растворы указанной системы после центрифугирования 10 минут при 3000 об/мин (рис. 4.42).

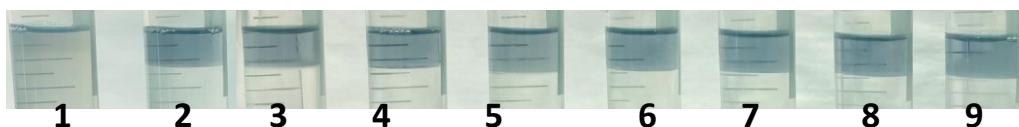


Рисунок 4.42. Влияние концентрации ОП-10 на систему III. $\omega(\text{ОП-10})$, %:
 1 – 4,2; 2 – 4,5; 3 – 4,8; 4 – 5,0; 5 – 5,2; 6 – 5,4; 7 – 5,6; 8 – 5,8; 9 – 6,0. $c(\text{фенола}) = 1 \cdot 10^{-5}$ М.

Из рисунка 4.42 видно, что в полученной системе при концентрации ОП-10 $\leq 4,2\%$ образование фаз не наблюдалось. После достижения фазового равновесия мицеллярные фазы отделяли и измеряли их объем. Строили зависимость $V_{м.ф.}$ – концентрация ОП-10 (рис. 4.43).

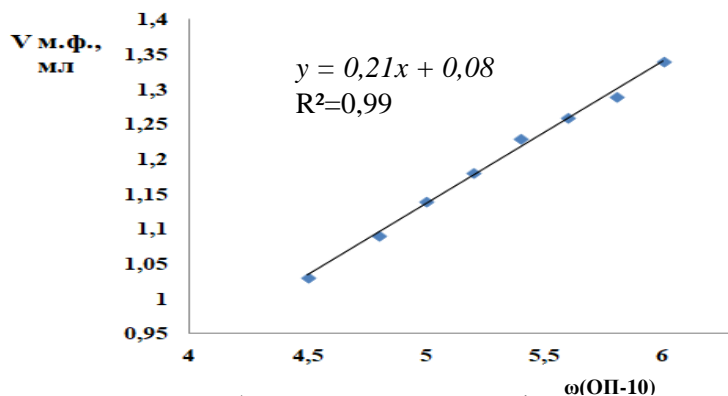


Рисунок 4.43. Зависимость объема мицеллярных фаз от концентрации ОП-10.
 $\omega(\text{ОП-10}) = 4,5 - 6,0\%$.

Из рис. 4.43 видно, что объем мицеллярной фазы линейно зависит от концентрации ОП-10. Уравнение регрессии имеет вид $y = 0,21x + 0,08$, коэффициент корреляции R^2 графической зависимости составил 0,99.

С увеличением концентрации ОП-10 интенсивности каналов R (а), G (б) и В (в) первоначально уменьшаются, а при концентрации 5,2% достигается фазовое равновесие (рис. 4.44).

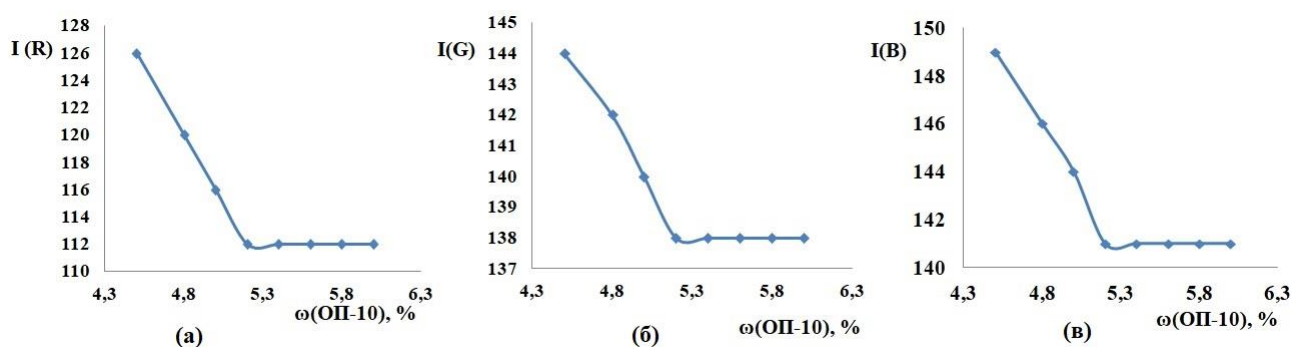


Рисунок 4.44. Зависимость яркости канала R (а), G (б) и В (в) от концентрации ОП-10.
 $\omega(\text{ОП-10}): 4,5 - 6,0 \%$.

Применение коммерческого аналога Тритона X-100 ОП-10 исходная концентрация, которого составила 20% - 30% не целесообразно, так как его мицеллярно-насыщенные фазы собираются достаточно больших объемов при высоких рабочих концентрациях ОП-10, по сравнению с Тритоном X-100, оптимальная концентрация которого составила 2%, а объем рабочего раствора – 0,5 мл, как показано ниже.

Тритон X-100. Изучено влияние концентраций Тритона X-100 на систему: фенол – реактив ФЧ – Na_2CO_3 в интервале концентраций от 0,8 до 2,8%. Полученные растворы центрифугировали для ускорения формирования мицеллярных фаз в течение 10 минут при 3000 об/мин.

Для построения зависимостей объемов мицеллярных фаз от концентрации Тритона X-100, их отделяли от водной части и измеряли объемы нПАВ-фазы (рис. 4.45).

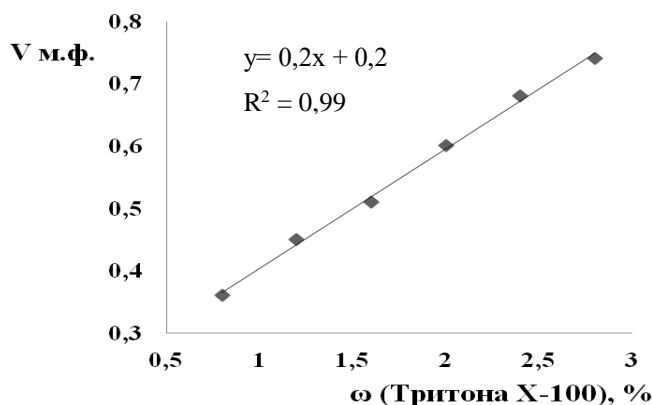


Рисунок 4.45. Зависимость объема мицеллярной фазы от концентрации Тритона X-100 в интервале от 0,8 до 2,8%.

Из рисунка 4.45 видно, что объем мицеллярной фазы в диапазоне от 0,36 до 0,74 мл линейно зависит от концентрации Тритона X-100. Уравнение регрессии имеет вид $y = 0,2x + 0,2$, коэффициент корреляции R^2 графической зависимости – 0,99. По полученным значениям яркости цветовых каналов R, G, B строили зависимости I (канала) от концентрации Тритона X-100 (рис. 4.46).

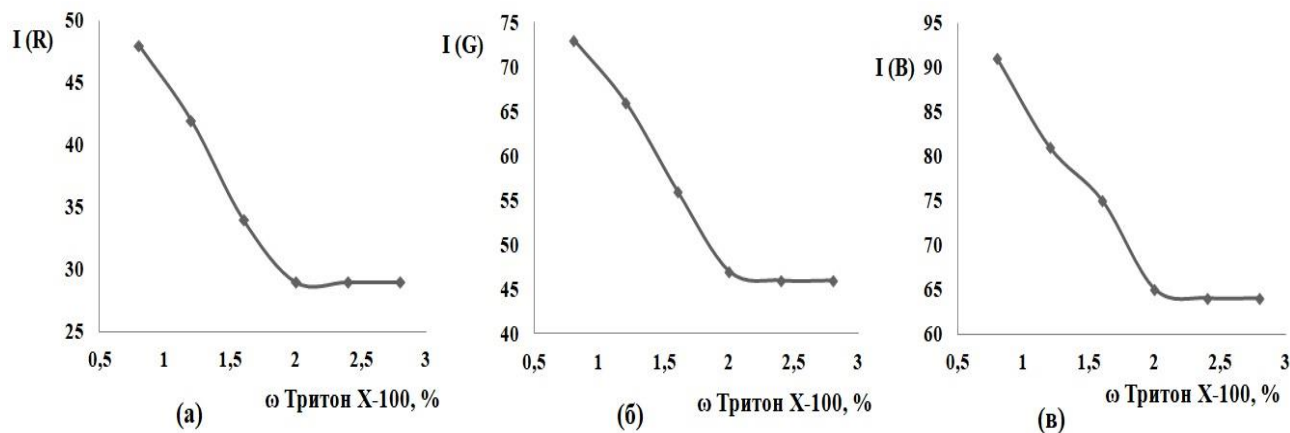


Рисунок 4.46. Зависимости яркостей каналов R (а), G (б) и B (в) от концентрации Тритона X-100. ω(Тритона X-100): 0,8-2,8 %; c(фенола) $1 \cdot 10^{-5}$ М.

Из рисунка 4.46 видно, что с увеличением концентрации Тритона X-100 интенсивности каналов R, G и B первоначально уменьшаются, а при концентрации нПАВ 2% и выше аналитическая форма («молибдено-вольфрамовая синь») полностью переходит в мицеллярную фазу, поскольку яркость каналов достигает максимального значения при оптимальной концентрации Тритона X-100 ~ 2%.

Тритон X-114. Аналогичные исследования по влиянию концентрации нПАВ на *систему III* проведены на примере Тритона X-114 (рис. 4.47).

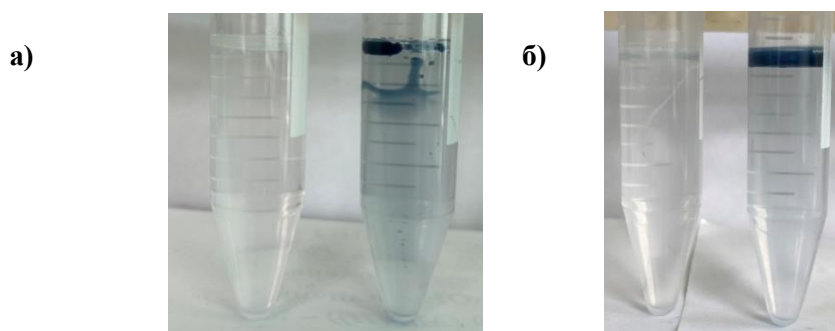


Рисунок 4.47. Контрольный раствор и раствор с *системой III*: $c(\text{фенола}) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, $c(\text{ФЧ}) = 0,2 \text{ н.}$, $\omega(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 6\%$, $\omega(\text{Тритон X-114}), \%$: 0,6 (а); 1,8 (б).

Как видно из рис. 4.47, мицеллярная фаза нПАВ при $\omega(\text{Тритона X-114}) = 0,6\%$ практически не формируется, отсутствует четкая граница фаз. Увеличение концентрации Тритона X-114 от 2 до 6% позволяет получить мицеллярную фазу с выраженной границей раздела, в которой полностью концентрируется продукт реакции - «молибдено-вольфрамовая синь».

Замена Тритона X-100 Тритоном X-114 осуществлялась с целью уменьшения концентрации нПАВ в исследуемой системе. Однако в этом случае для создания мицеллярно-насыщенных фаз необходимо вводить в *систему III* Тритона X-114 больше (его растворимость в воде меньше), по сравнению с Тритоном X-100. Поэтому, для дальнейших исследований выбран Тритон X-100, оптимальная концентрация которого составила 2%, и объем рабочего раствора, вводимого в *систему III*, не превышал 0,5 мл.

Рассчитанные количественные характеристики экстракции фенолов в *системе III* сведены в таблицу 4.8. Величины степеней извлечения фенола, резорцина, флороглюцина достигают 99%, что свидетельствует об

эффективности концентрирования «молибдено-вольфрамовой сини» и практически количественному ее извлечению в установленных условиях.

Таблица 4.8. Значения D, R фенолов в системе III

с(фенолов), моль/л	D			R, %		
	фенол	резорцин	флороглюцин	фенол	резорцин	флороглюцин
$7 \cdot 10^{-7}$	87	83	77	67	64	57
$8 \cdot 10^{-7}$	87	83	77	67	65	58
$9 \cdot 10^{-7}$	87	83	79	67	66	61
$1 \cdot 10^{-6}$	89	85	83	68	71	64
$2 \cdot 10^{-6}$	92	89	85	71	74	65
$3 \cdot 10^{-6}$	94	91	89	73	75	66
$4 \cdot 10^{-6}$	99	95	91	77	76	68
$6 \cdot 10^{-6}$	110	99	93	79	80	71
$8 \cdot 10^{-6}$	112	107	98	81	82	77
$1 \cdot 10^{-5}$	115	112	101	84	84	81
$2 \cdot 10^{-5}$	127	119	107	86	85	84
$4 \cdot 10^{-5}$	135	125	116	96	96	90
$6 \cdot 10^{-5}$	144	136	128	99	99	99

Получены зависимости степеней извлечения от концентрации фенолов (рис. 4.48).

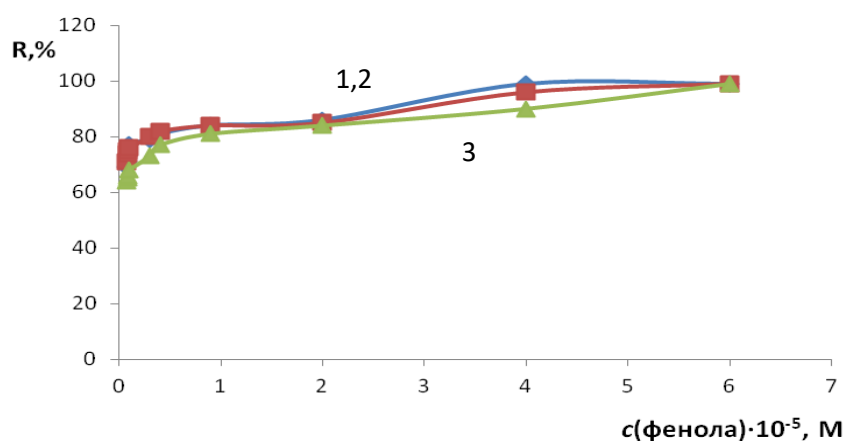


Рисунок 4.48. Зависимости степеней извлечения фенолов от их концентрации.

1 – фенол; 2 – резорцин; 3 – флороглюцин.

Таким образом, из полученных результатов (табл. 4.8 и рис. 4.48), можно сделать вывод о том, что независимо от природы фенолов, в результате их реакции с ФЧ экстрагируется аналитическая форма – «молибдено-вольфрамовая синь», спектры поглощения которой имеют один максимум поглощения при длине волны 760 нм. Реакция протекает

практически одинаково, и степени извлечения этой формы для систем с фенолом, резорцином и флороглюцином сопоставимы и достигают 99%.

В таблице 4.9 приведена сравнительная характеристика исследуемых систем в водной и мицеллярной средах спектрофотометрическим и цветометрическим методами исследования [101, 103, 105, 106].

Таблица 4.9. Сравнительная характеристика ДОС и ПрО для систем I - III в водной и мицеллярной средах

№ п/п	Фенолы	ДОС		ПрО		
		СФМ (АТРС)	ЦМ*	СФМ	СФМ (АТРС)	ЦМ*
4-Нитрофенилдиазоний - фенол (система I)						
1	Фенол	$1,8 \cdot 10^{-7} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$3,3 \cdot 10^{-8} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	-	$6 \cdot 10^{-7}$	$1,1 \cdot 10^{-8}$
2	Резорцин	$5,0 \cdot 10^{-6} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$3,3 \cdot 10^{-8} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	-	$1,6 \cdot 10^{-7}$	$1,1 \cdot 10^{-8}$
3	Флороглюцин	$4,5 \cdot 10^{-6} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$4,8 \cdot 10^{-7} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	-	$1,5 \cdot 10^{-6}$	$1,6 \cdot 10^{-7}$
4	Тимол	$7,0 \cdot 10^{-7} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$3,3 \cdot 10^{-8} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	-	$2,3 \cdot 10^{-7}$	$1,1 \cdot 10^{-8}$
5	1-Нафтол	$1,3 \cdot 10^{-6} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$3,6 \cdot 10^{-8} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	-	$4,2 \cdot 10^{-7}$	$1,2 \cdot 10^{-8}$
6	2-Нафтол	$3,0 \cdot 10^{-6} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$4,8 \cdot 10^{-7} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	-	$1,0 \cdot 10^{-6}$	$1,6 \cdot 10^{-7}$
4-Аминоантипирин – $K_3Fe(CN)_6$ – фенол (система II)						
1	Фенол	$2,7 \cdot 10^{-6} - 5,0 \cdot 10^{-5}$	$2,6 \cdot 10^{-7} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$3,0 \cdot 10^{-6}$	$9,0 \cdot 10^{-7}$	$8,8 \cdot 10^{-8}$
2	Тимол	$5,1 \cdot 10^{-6} - 5,0 \cdot 10^{-5}$	$4,8 \cdot 10^{-8} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$8,2 \cdot 10^{-7}$	$1,7 \cdot 10^{-7}$	$1,6 \cdot 10^{-8}$
Реактив Фолина–Чокальтеу – фенол (система III)						
1	Фенол	$2,7 \cdot 10^{-6} - 6,0 \cdot 10^{-5}$	$2,3 \cdot 10^{-8} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$8,0 \cdot 10^{-6}$	$9,0 \cdot 10^{-7}$	$1,0 \cdot 10^{-8}$
2	Резорцин	$1,8 \cdot 10^{-6} - 6,0 \cdot 10^{-5}$	$2,4 \cdot 10^{-8} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$8,0 \cdot 10^{-6}$	$6,1 \cdot 10^{-7}$	$1,0 \cdot 10^{-8}$
3	Флороглюцин	$2,0 \cdot 10^{-6} - 6,0 \cdot 10^{-5}$	$2,6 \cdot 10^{-8} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$8,0 \cdot 10^{-6}$	$6,8 \cdot 10^{-7}$	$1,0 \cdot 10^{-8}$

* - Цветометрия

Как видно из данных табл. 4.9, концентрирование фенолов в мицеллярные фазы нПАВ понижает их ПрО по сравнению с системами без СР-концентрирования аналитических форм в 3,3 и 9 раз для системы II и системы III соответственно. Кроме того, реализация такого подхода дает возможность применения системы I для спектрофотометрического и цветометрического определения фенолов. Так, пределы спектрофотометрического определения фенола с предварительным его СР-концентрированием в исследуемых системах I, II и III составили соответственно $6,0 \cdot 10^{-7}$ М, $9,0 \cdot 10^{-7}$ М и $9,0 \cdot 10^{-7}$ М.

Наименьшие значения PrO спектрофотометрического определения фенолов установлены для тимола и 1-нафтола, что обусловлено их наибольшей гидрофобностью (lgP (timoла) = 3,42, lgP (1-нафтола) = 2,76) и, как следствие, максимальными значениями степеней извлечения в мицеллярно-насыщенные фазы нПАВ (их смеси с кПАВ).

Цветометрическое определение исследуемых аналитов позволило на два порядка снизить их PrO , по сравнению с результатами их спектрофотометрического определения после СР-концентрирования, что обусловлено отсутствием необходимости разбавления мицеллярных фаз нПАВ для регистрации аналитического сигнала. Коэффициенты концентрирования фенолов имели порядок $\times 10^2$, что позволило \sim в 100 раз снизить PrO для их цветометрического определения.

* * *

Изучено концентрирование окрашенных производных исследуемых фенолов в мицеллярно-насыщенные фазы нПАВ и их комбинации с кПАВ в политермическом и изотермическом режимах.

Оптимизированы условия получения мицеллярно-насыщенных фаз неионных ПАВ (их смесей с катионными ПАВ) в присутствии реагентов и аналитов, высаливателей (Na_2SO_4 , $NaCl$ и др.). Установлены закономерности: увеличение объема мицеллярной фазы ($V_{м.ф.}$) от $c(ПАВ)$, уменьшение температуры помутнения и $V_{м.ф.}$ от $c(высаливателя)$.

Предложены мицеллярно-насыщенные фазы неионных (Тритон X-110, ОП-10, Тритон X-114, Бридж-35) и катионных (цетилтриметиламмония хлорид) ПАВ для мицеллярной экстракции аналитических форм исследованных фенолов, образованных реакциями с 4-аминоантипирином, 4-нитрофенилдиазонием, реактивом ФЧ в присутствии неорганических высаливателей. Полученные количественные характеристики для мицеллярной экстракции фенолов, позволили разработать методики их цветометрического и спектрофотометрического определения на уровне десятых и сотых долей ПДК (глава 5).

ГЛАВА 5. Практическое применение результатов исследований

Полученные ранее некоторые закономерности: увеличения объема мицеллярной фазы от концентрации нПАВ (смеси нПАВ и кПАВ); увеличение объема мицеллярной фазы от концентрации высаливателя и этанола; уменьшение объема мицеллярной фазы от времени и температуры; зависимости уменьшения яркости какалов от концентраций ПАВ, высаливателя, этанола, температуры и времени положены в основу разработки способов цветометрического, спектрофотометрического и ВЭЖХ определения исследуемых фенолов в модельных растворах и реальных объектах (рис 5.1).



Рисунок 5.1. Схема получения мицеллярных фаз и способы определения исследуемых фенолов.

Мицеллярные фазы (рис. 5.1), для каждой из исследуемых систем I - III получали как описано ниже.

Система I: Для получения мицеллярных фаз на основе неионного ПАВ (Тритон X-100) в пробирки общим объемом 10 мл, вносили 0,15 мл $1 \cdot 10^{-2}$ М спиртового раствора 4-НА, 0,15 мл $1 \cdot 10^{-2}$ М NaNO_2 и 0,5 мл 0,1 М HCl , тщательно перемешивали. Через 5 мин в эти же пробирки с приготовленным диазотированным 4-НА вносили соответствующий фенол, например, тимол в интервале концентраций от $2 \cdot 10^{-6}$ до $4 \cdot 10^{-5}$ М; 1,25 мл 20%-ного Тритона X-100; 0,35 мл этанола; 1,4 мл 10 М NaOH , содержимое пробирок перемешивали.

Система II: Для получения мицеллярных фаз на основе неионного ПАВ (Тритон X-100) в пробирки общим объемом 10 мл, вносили фенол, концентрацией от $2 \cdot 10^{-4}$ до $2 \cdot 10^{-5}$ М, 0,05 мл $1 \cdot 10^{-1}$ М спиртового раствора 4-АА, 0,05 мл 8%-ного $K_3Fe(CN)_6$ и 1 мл 1,25 М Na_2CO_3 , 0,75 мл 20%-ного Тритона X-100, содержимое тщательно перемешивали. Для образования фазы вносили дополнительный высаливатель 10%-ный Na_2SO_4 .

Система III: Способ 1: в пробирку вносили водный раствор фенола 0,05 мл $1 \cdot 10^{-3}$ М, реактив Фолина-Чокальтеу 0,5 мл 2 н.; тщательно перемешивали и оставляли пробирки на 5-8 минут; после добавляли 1,5 мл 20%-ного Na_2CO_3 , разбавляли дистиллированной водой, тщательно все перемешивали и оставляли на 20-30 минут. Вводили 0,5 мл 20%-ного Тритона X-100 и от 0,02 до 2,3 мл 20%-ного $NaCl$, вновь перемешивали. Наблюдали за полученными растворами в течение 90 минут. Центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин.

Способ 2 и способ 3 отличались от *способа 1* заменой $NaCl$ на 10%-ный Na_2SO_4 и 40%-ный $(NH_4)_2SO_4$.

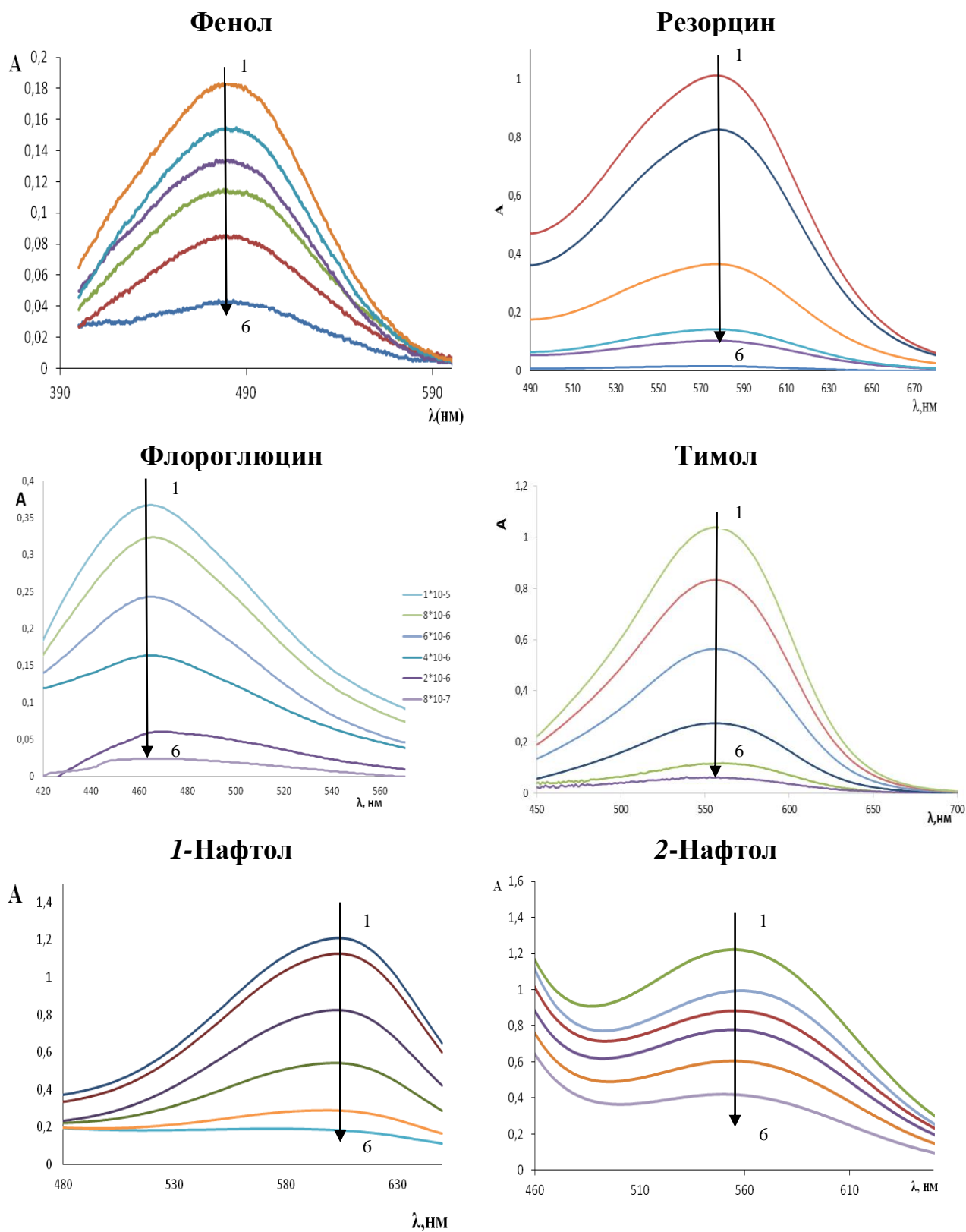
Поскольку экстракционно-фотометрический вариант определения фенола требует стадии разбавления фазы, насыщенной ПАВ, нами предложен цветометрический способ регистрации аналитического сигнала в исследуемой системе (интенсивность параметров цветности), при котором не надо разбавлять мицеллярную фазу. При этом эффект концентрирования аналитической формы исследуемых фенолов сохраняется и появляется возможность снижения предела обнаружения фенола (и его производных) до уровня ПДК и ниже.

5.1. Спектрофотометрическое определение фенолов с предварительной мицеллярной экстракцией

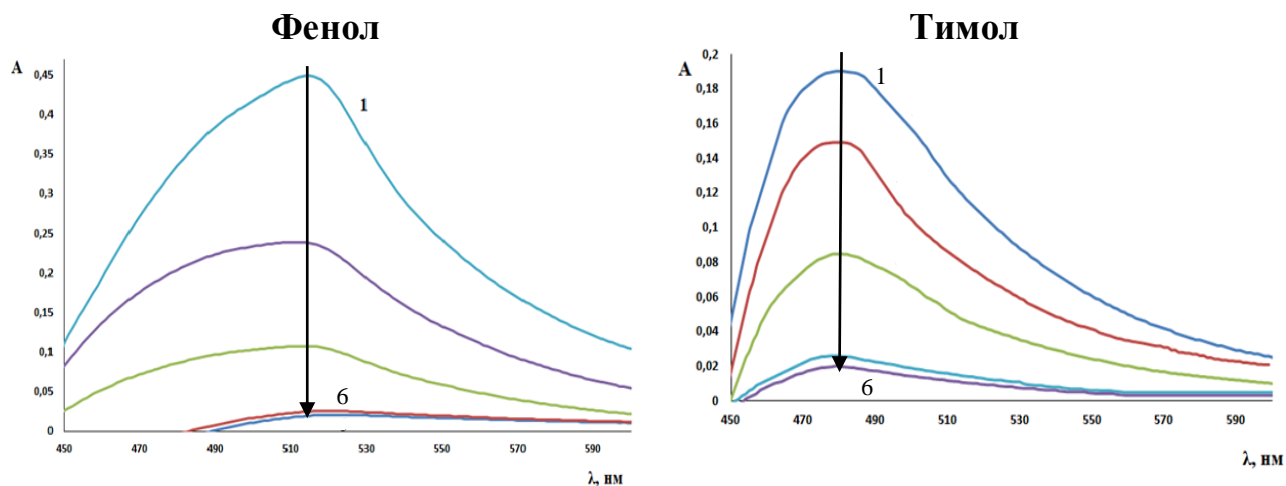
Для разработки спектрофотометрического способа определения фенола фазу, обогащённую ПАВ (рис. 5.1), в которой концентрируется аналит, необходимо отбирать и разбавлять приблизительно в 10 раз для последующей регистрации электронных спектров поглощения. При этом

эффект концентрирования анализта снижается. Распределение реактантов в водно-мицеллярной системе контролировали спектрофотометрически в диапазоне 200 – 800 нм, $l = 1$ см. Полученные спектры поглощения представлены на рис. 5.2.

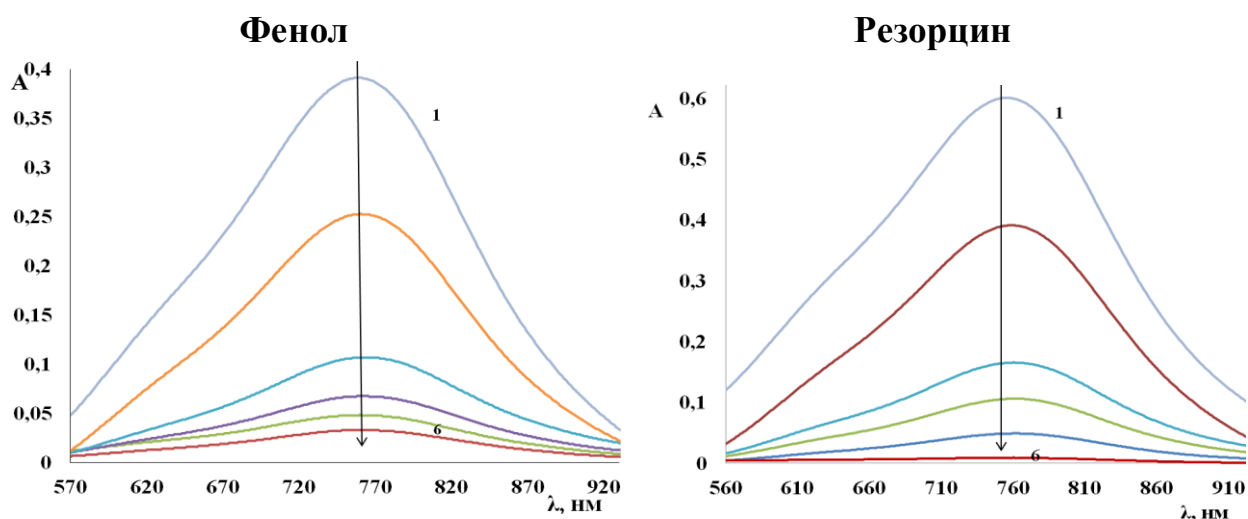
Система I



Система II



Система III



Флороглюцин

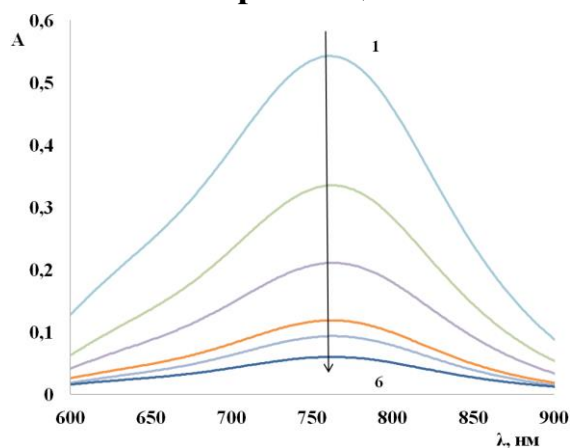


Рисунок 5.2. Спектры поглощения исследуемых систем:

система I: исследуемый фенол – 4-НА – NO₂⁻ – Тритон X-100 – NaOH – этанол.

$c(4\text{-НА}) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$; $c(\text{NaOH}) = 2,8 \text{ M}$; $\omega(\text{Тритон X-100}) = 5\%$; $\varphi(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 10\%$;

система II: исследуемый фенол - 4-АА- K₃Fe(CN)₆ – Тритон X-100 – Na₂CO₃.

$c_{4\text{-AA}} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$; $c(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 0,25 \text{ M}$; $\omega(\text{Тритон X-100}) = 3\%$; $\omega(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,8\%$;

система III: фенол – реактив Фолина-Чокальтеу – Na₂CO₃ – Тритон X-100 – Na₂SO₄.

$c(\text{ФЧ}) = 0,2 \text{ н.}$; $c(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 6\%$; $c(\text{Тритон X-100}) = 2\%$; $c(\text{Na}_2\text{SO}_4) = 3,2\%$.

$c(\text{фенолов}), \text{ M: } 1 - 6: 1 \cdot 10^{-5} - 2 \cdot 10^{-6}$

Спектры поглощения в трех исследуемых системах имеют один максимум поглощения в видимой области индивидуальный для каждого из исследуемых фенолов, оптическая плотность которого возрастает с увеличением концентрации фенолов. Полученные зависимости оптической плотности от концентрации исследуемых фенолов приведены в таблице 5.1.

Таблица 5.1. Градуировочные зависимости оптической плотности от концентрации исследованных фенолов

Аналит	Корреляционные уравнения	λ_{\max}
Система I		
Фенол	$Y = 0,096x + 0,04$ $R^2 = 0,99$	480
Резорцин	$Y = 0,036x - 0,08$ $R^2 = 0,98$	580
Флороглюцин	$Y = 0,040x - 0,010$ $R^2 = 0,99$	465
1-Нафтол	$Y = 0,06x - 0,20$ $R^2 = 0,98$	610
2-Нафтол	$Y = 0,14x - 0,20$ $R^2 = 0,98$	556
Тимол	$Y = 0,26x + 0,017$ $R^2 = 0,99$	552
Система II		
Фенол	$Y = 0,0088x - 0,0009$ $R^2 = 0,99$	516
Тимол	$Y = 0,0035x - 0,0238$ $R^2 = 0,98$	480
Система III		
Фенол	$Y = 0,066x - 0,008$ $R^2 = 0,99$	760
Резорцин	$Y = 0,098x - 0,004$ $R^2 = 0,99$	760
Флороглюцин	$Y = 0,088x - 0,010$ $R^2 = 0,99$	760

Оценку правильности результатов спектрофотометрического определения некоторых из исследуемых фенолов для систем I - III с предварительным СР-концентрированием осуществляли способом «введено-найдено» (табл. 5.2).

Таблица 5.2. Результаты спектрофотометрического определения некоторых фенолов в модельных растворах ($n = 3, P = 0,95$)

<i>Система I (Тимол)</i>		
Введено, М	Найдено ($X \pm \Delta X$), М	S_r
$2,50 \cdot 10^{-6}$	$(2,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-6}$	0,05
$2,00 \cdot 10^{-5}$	$(2,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	0,04
$2,50 \cdot 10^{-5}$	$(2,5 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	0,03
<i>Система II (Фенол)</i>		
$2,00 \cdot 10^{-5}$	$(2,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	0,04
$8,00 \cdot 10^{-5}$	$(8,1 \pm 0,4) \cdot 10^{-5}$	0,02
$2,00 \cdot 10^{-4}$	$(2,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$	0,03
<i>Система III (Фенол)</i>		
$8,00 \cdot 10^{-7}$	$(8 \pm 2) \cdot 10^{-7}$	0,08
$3,00 \cdot 10^{-6}$	$(2,9 \pm 0,5) \cdot 10^{-6}$	0,07
$8,00 \cdot 10^{-6}$	$(7,8 \pm 0,9) \cdot 10^{-6}$	0,05

Спектрофотометрические способы позволяют определять исследуемые фенолы в диапазоне концентраций: от $1,3 \cdot 10^{-6}$ до $1 \cdot 10^{-4}$ М (*система I*); от $2,7 \cdot 10^{-6}$ до $5 \cdot 10^{-5}$ М (*система II*); от $1,8 \cdot 10^{-6}$ до $6 \cdot 10^{-5}$ М (*система III*) при этом погрешность спектрофотометрического определения не превышала 5 – 6 %. Исходя из данных приведенных в (табл. 5.1), большей чувствительностью обладает *система III*, несмотря на то, что получение мицеллярной фазы в ней усложняется этапом центрифугирования. Спектрофотометрическое определение фенолов с применением *системы I*, уступает по

чувствительности, однако отличается хорошей воспроизводимостью результатов и контрастностью аналитических форм. Менее чувствительна и контрастна *система II*.

Как указано выше, при СФМ определении исследуемых фенолов с предварительным мицеллярно-экстракционным концентрированием, требуется стадия разбавления фазы, насыщенной ПАВ, что приводит к снижению эффективности СР-концентрирования. Поэтому нами предложен цветометрический способ регистрации аналитического сигнала в исследуемых системах (интенсивность параметров цветности), при котором не требуется разбавление мицеллярной фазы, и как следствие, появляется возможность снижения предела их обнаружения.

5.2. Цветометрическое определение фенолов с применением математической обработки окрашенных зон цветowych изображений

Для цветометрического определения фенолов необходимую часть цветного изображения окрашенных фаз ПАВ, полученных как указано выше (рис. 5.1), усредняли, применяя графический редактор Adobe Photoshop CS6, до одного пикселя с помощью фильтра «пикселизация». После усреднения цвета, определяли яркость цветовых параметров R, G, B. По полученным данным строили градуировочные зависимости в координатах интенсивности яркости цветового канала – pc (фенола) (табл.5.3).

Для количественного цветометрического определения фенольных соединений цифровые изображения представляли в виде лепестковых диаграмм (ЛД) (рис.5.3). Последние состояли из шести осей, каждая из которых соответствовала значениям интенсивностей (F_i) цветовых координат в модели RGB и CMYK [107]. ЛД строили в оболочке электронных таблиц Microsoft Excel.

Таблица 5.3. Цветовые шкалы для полуколичественного визуально-колориметрического определения фенольных соединений в водных средах

Аналит	с(аналита), М								
	0	$1 \cdot 10^{-8}$	$5 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-7}$	$5 \cdot 10^{-7}$	$1 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$
Система I									
Фенол									
Резорцин									
Флороглюцин									
Тимол									
1-Нафтол									
2-Нафтол									
Система II									
Фенол									
Тимол									
Система III									
Фенол, Резорцин, Флороглюцин									

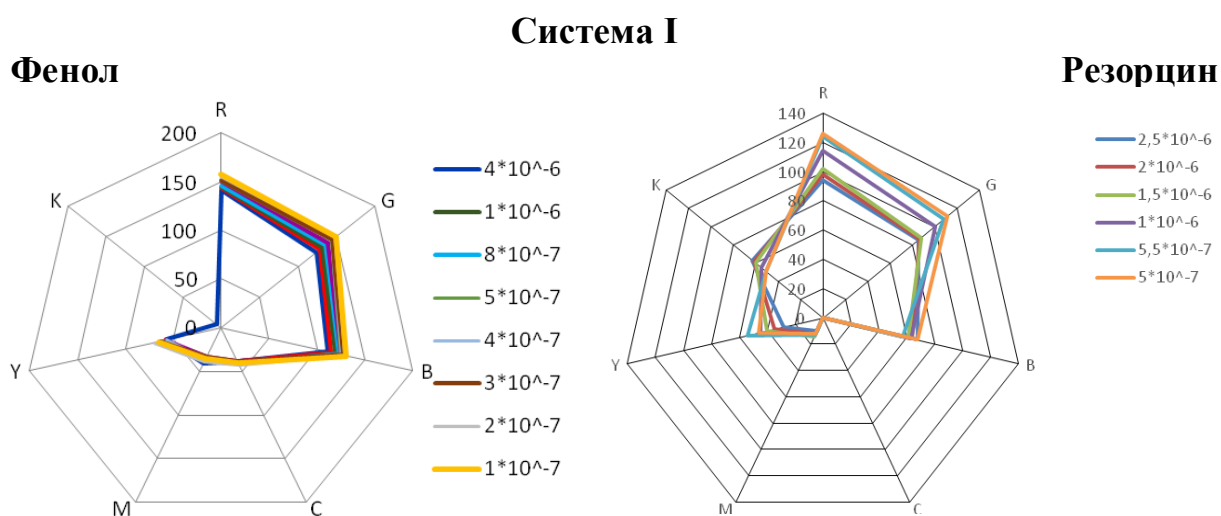
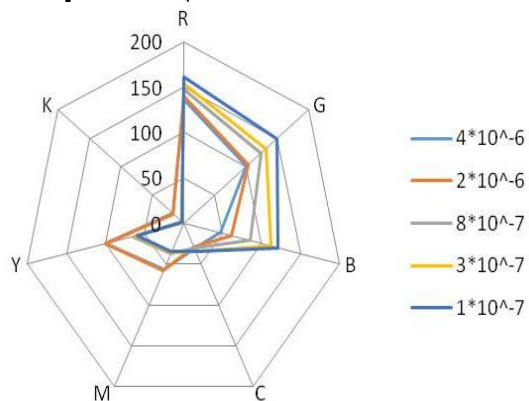
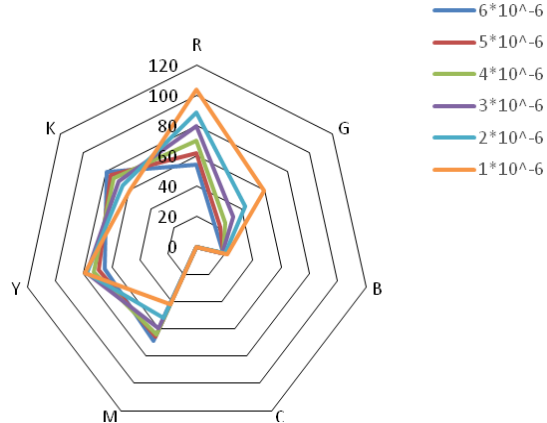


Рисунок 5.3. Профили лепестковых диаграмм исследуемых фенолов для систем I, II, III от с(фенолов), М.

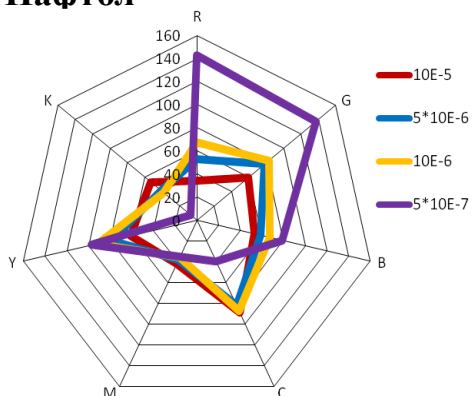
Флороглюцин



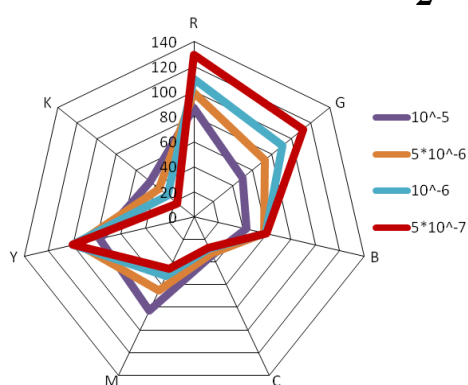
Тимол



1-Нафтол

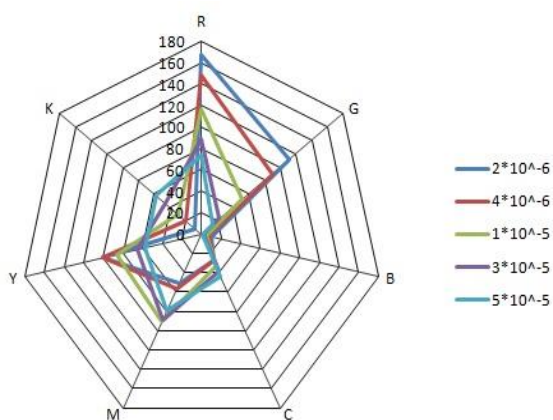


2 - Нафтол

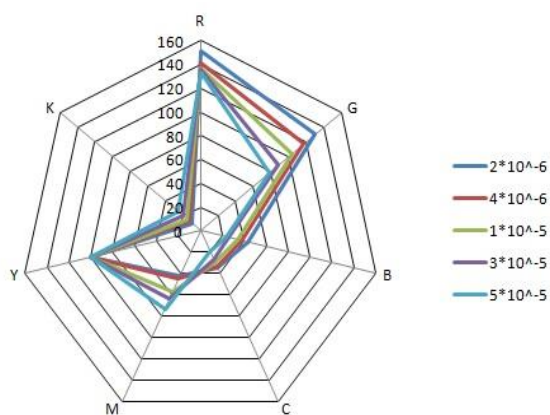


Система II

Фенол

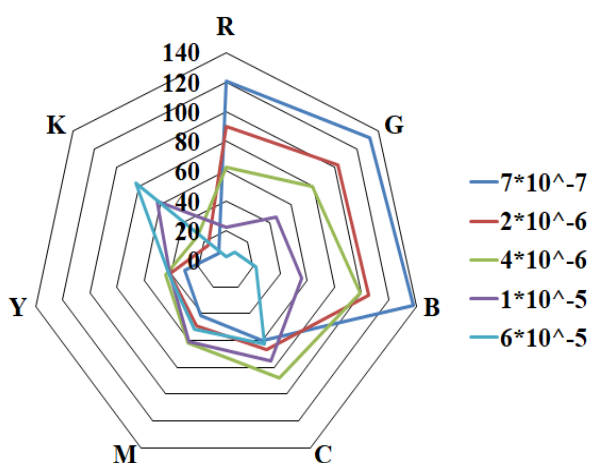


Тимол

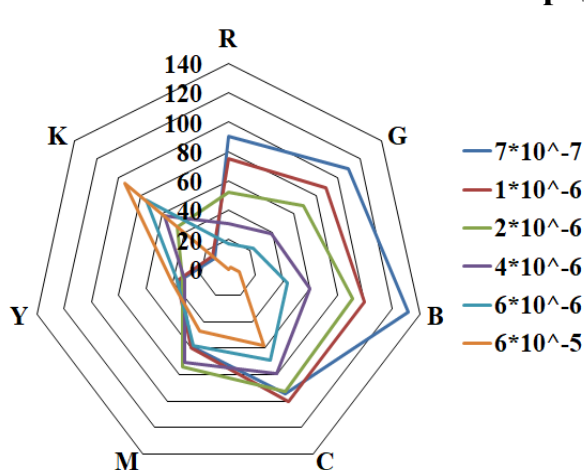


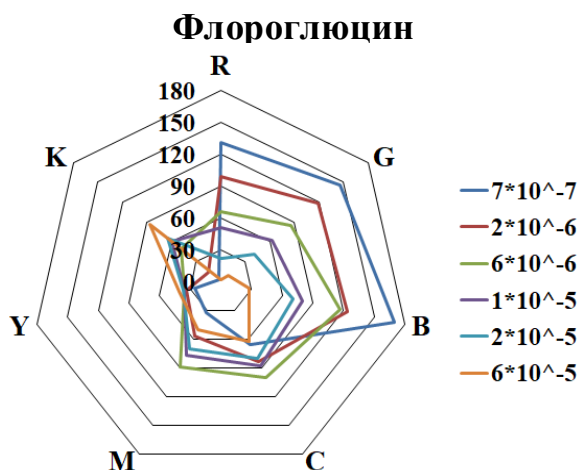
Система III

Фенол



Резорцин





Для оценки содержания фенола рассчитывали геометрические параметры площади (S) и периметра (P) лепестковых диаграмм (табл. 5.4), по формулам:

$$P = \sum \sqrt{a^2 + b^2 - 2ab \cdot \cos(ab)}, \quad (1),$$

$$S = \sum (\frac{1}{2} a \cdot b \cdot \sin(ab)), \quad (2),$$

где a , b – стороны треугольника; $\cos(ab)$ – \cos угла между сторонами a , b ; $\sin(ab)$ – \sin угла между сторонами a , b .

Для количественной оценки содержания фенолов применяли как цветометрические R , G , B , так и геометрические параметры полученных ЛД: площадь (S) и периметр (P). Градуировочные зависимости линейны, корреляционные уравнения и величины достоверности аппроксимации представлены в табл. 5.4.

Как видно из рис. 5.3, каждый фенол имеет свой индивидуальный профиль, который характеризуется соответствующей формой ЛД. Следует отметить, что при низких концентрациях такие профили для фенольных соединений становятся малоразличимыми, что не позволяет осуществлять достоверную их идентификацию. Решением этой проблемы может быть применение цветометрических параметров не одной, а двух реакций дериватизации, осуществляемых параллельно для одного и того же анализата.

Таблица 5.4. Градуировочные зависимости площадей S и периметров P ЛД от рс исследованных фенолов

Аналит	Корреляционные уравнения		
	Канал R, G, B	S	P
Система I			
Фенол	$Y_G = 52,6x - 216$ $R^2 = 0,98$	$S = 8,18 \cdot 10^3 x - 34,0 \cdot 10^3$ $R^2 = 0,98$	$P = 171x - 527$ $R^2 = 0,98$
Резорцин	$Y_G = 54,3x - 235$ $R^2 = 0,99$	$S = 9,38 \cdot 10^3 x - 43,4 \cdot 10^3$ $R^2 = 0,99$	$P = 182x - 625$ $R^2 = 0,96$
Флороглюцин	$Y_G = 38,4x - 141$ $R^2 = 0,97$	$S = 6,13 \cdot 10^3 x - 24,7 \cdot 10^3$ $R^2 = 0,97$	$P = 140x - 392$ $R^2 = 0,99$
1-Нафтол	$Y_B = 37,3x - 143$ $R^2 = 0,99$	$S = 20,2 \cdot 10^3 x - 87,7 \cdot 10^3$ $R^2 = 0,99$	$P = 278x - 960$ $R^2 = 0,97$
2-Нафтол	$Y_R = 49,6x - 185$ $R^2 = 0,98$	$S = 9,45 \cdot 10^3 x - 26,7 \cdot 10^3$ $R^2 = 0,99$	$P = 135x - 193$ $R^2 = 0,96$
Тимол	$Y_G = 54,2x - 267$ $R^2 = 0,99$	$S = 9,45 \cdot 10^3 x - 26,7 \cdot 10^3$ $R^2 = 0,99$	$P = 135x - 325$ $R^2 = 0,99$
Система II			
Фенол	$Y_R = 67,6x - 218$ $R^2 = 0,99$	$S = 7,92 \cdot 10^3 x - 18,6 \cdot 10^3$ $R^2 = 0,99$	$P = 201x - 449$ $R^2 = 0,999$
Тимол	$Y_G = 36,0x - 75,7$ $R^2 = 0,997$	$S = 4,07 \cdot 10^3 x + 7,24 \cdot 10^3$ $R^2 = 0,99$	$P = 64,7x + 333$ $R^2 = 0,98$
Система III			
Фенол	$Y_B = 77,0x - 331$ $R^2 = 0,99$	$S = 17,7 \cdot 10^3 x - 66,9 \cdot 10^3$ $R^2 = 0,99$	$P = 150x - 284$ $R^2 = 0,99$
Резорцин	$Y_B = 75,0x - 373$ $R^2 = 0,99$	$S = 17,2 \cdot 10^3 x - 64,5 \cdot 10^3$ $R^2 = 0,99$	$P = 168x - 413$ $R^2 = 0,97$
Флороглюцин	$Y_B = 68,0x - 292$ $R^2 = 0,99$	$S = 20,6 \cdot 10^3 x - 76,7 \cdot 10^3$ $R^2 = 0,99$	$P = 177x - 377$ $R^2 = 0,99$

Оценку правильности результатов определения фенолов с предварительным СР-концентрированием осуществляли методом «введено-найдено» по оптимальному параметру (табл. 5.5). Разработанный цветометрический способ определения исследуемых фенолов, апробирован для определения резорцина в лекарственном препарате "Резорцинол". Препарат предварительно разбавляли этиловым спиртом. Полученный результат хорошо согласуется с содержанием, указанным производителем.

Таким образом, примененная в настоящей работе методология СР-концентрирования дериватизатов фенола и его аналогов с использованием простых и комбинированных систем на основе неионных и катионных ПАВ, показала, что цветометрически возможно раздельное их

определение с пониженными пределами обнаружения на уровне концентраций 10^{-8} - 10^{-5} М, с погрешностью не превышающей (10 – 12)%.

Таблица 5.5. Результаты цветометрического определения фенолов в модельных растворах (№№1 – 3, 5) и в препарате «Резорцинол» (№4) ($n = 3, P = 0,95$)

№	Аналит	Введено, М	Найдено, М ($X \pm \Delta X$)	S_r
<i>Система I</i>				
1	Фенол	$6,0 \cdot 10^{-7}$	$(6,0 \pm 1,0) \cdot 10^{-7}$	0,07
		$1,5 \cdot 10^{-6}$	$(1,3 \pm 0,3) \cdot 10^{-6}$	0,08
		$1,5 \cdot 10^{-5}$	$(1,5 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	0,06
2	Резорцин	$6,0 \cdot 10^{-7}$	$(5,7 \pm 0,7) \cdot 10^{-7}$	0,05
		$1,5 \cdot 10^{-6}$	$(1,4 \pm 0,4) \cdot 10^{-6}$	0,12
		$1,5 \cdot 10^{-5}$	$(1,5 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	0,06
3	Флороглюцин	$6,0 \cdot 10^{-7}$	$(5,9 \pm 0,7) \cdot 10^{-7}$	0,05
		$1,5 \cdot 10^{-6}$	$(1,3 \pm 0,3) \cdot 10^{-6}$	0,08
		$1,5 \cdot 10^{-5}$	$(1,3 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	0,07
4	Резорцин*	-	$(1,50 \pm 0,07) \cdot 10^{-2}$	0,02
		-	$(1,5 \pm 0,2) \cdot 10^{-2}$	0,06
		-	$(1,40 \pm 0,17) \cdot 10^{-2}$	0,05
5	Тимол	$5,0 \cdot 10^{-6}$	$(4,7 \pm 0,7) \cdot 10^{-6}$	0,06
		$3,0 \cdot 10^{-6}$	$(3,1 \pm 0,3) \cdot 10^{-6}$	0,04
		$2,0 \cdot 10^{-6}$	$(2,0 \pm 0,3) \cdot 10^{-6}$	0,07
<i>Система II</i>				
6	Фенол	$6,5 \cdot 10^{-5}$	$(6,7 \pm 0,9) \cdot 10^{-6}$	0,06
7	Тимол	$3,0 \cdot 10^{-5}$	$(3,2 \pm 0,7) \cdot 10^{-6}$	0,09
<i>Система III</i>				
8	Фенол	$8,0 \cdot 10^{-7}$	$(8,2 \pm 1,2) \cdot 10^{-7}$	0,06
		$3,0 \cdot 10^{-6}$	$(2,9 \pm 0,5) \cdot 10^{-6}$	0,07
		$8,0 \cdot 10^{-6}$	$(7,8 \pm 0,9) \cdot 10^{-6}$	0,05
9	Резорцин	$8,0 \cdot 10^{-7}$	$(7,9 \pm 0,6) \cdot 10^{-7}$	0,03
		$3,0 \cdot 10^{-6}$	$(3,1 \pm 0,5) \cdot 10^{-6}$	0,07
		$8,0 \cdot 10^{-6}$	$(7,9 \pm 0,6) \cdot 10^{-6}$	0,03
10	Флороглюцин	$8,0 \cdot 10^{-7}$	$(8,1 \pm 0,8) \cdot 10^{-7}$	0,04
		$3,0 \cdot 10^{-6}$	$(2,9 \pm 0,4) \cdot 10^{-6}$	0,05
		$8,0 \cdot 10^{-6}$	$(8,1 \pm 0,6) \cdot 10^{-6}$	0,03

*Препарат «Резорцинол»

5.3. Цветометрическое и ВЭЖХ определение 1- и 2-нафтолов в их смесях

Для оценки хромофорного эффекта 2-х параллельных хромофорных реакций, (см. реакцию 1 и реакцию 2 в экспериментальной части) получены интегральные цветиметрические данные в виде ЛД с 6 осями (рис. 5.4, 5.5) по методике [107].

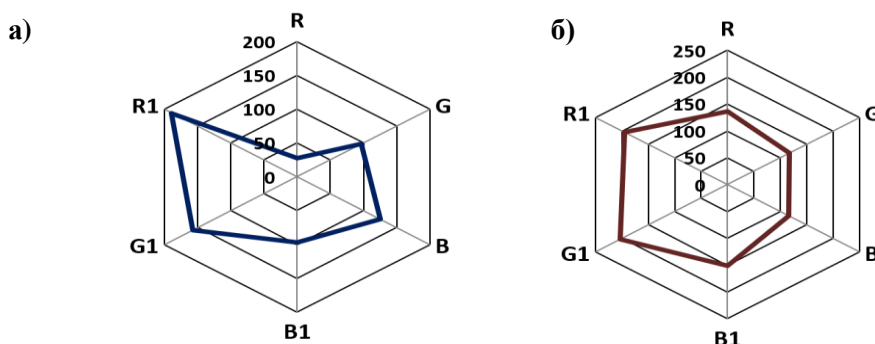


Рисунок 5.4. Профили лепестковых диаграмм при определении нафтолов: а) 1-нафтол; б) 2-нафтол.

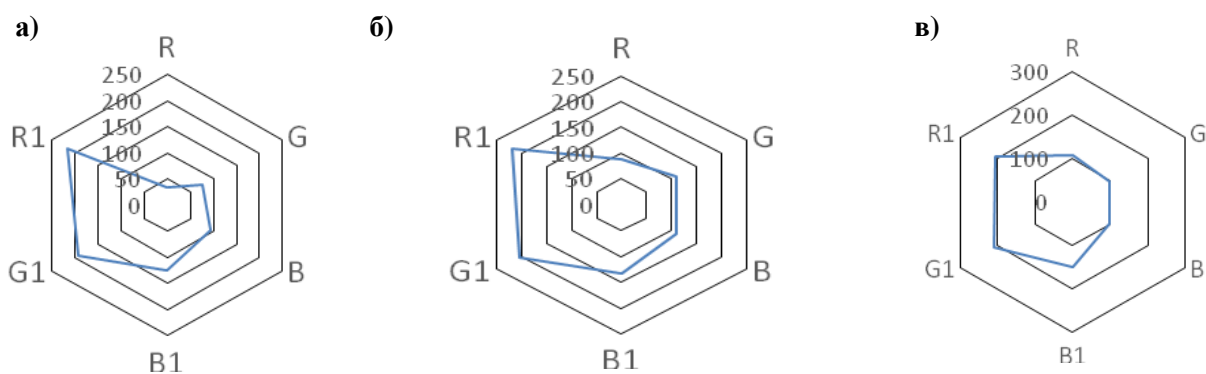


Рисунок 5.5. Профили лепестковых диаграмм смесей 1-нафтол : 2-нафтол.

а) 9 : 1; б) 1 : 1; в) 1 : 9.

Как видно из рис. 5.4, изомерные нафтолы имеют индивидуальные профили полученных ЛД. Таким образом, применение цветиметрических параметров не одной, а двух хромофорных реакций дериватизации, осуществляемых параллельно для одного и того же анализата, позволяет уверенно различить 1-нафтол и 2-нафтол. Ранее такой подход эффективно был применен для определения некоторых фенолов [108]. Чтобы определить возможность применения цветиметрических ЛД для контроля смесей изомерных нафтолов, получили ЛД таких смесей, в которых соотношение 1- и 2-нафтолов составило 9 : 1, 1 : 1 и 1 : 9. Геометрия ЛД этих смесей представлена на рис. 5.5.

В работе [109] предложен способ сравнения ЛД, полученных по результатам цветометрических измерений. Если массив данных представлен шестью различными параметрами, сведенными в ЛД, то общий метод распознавания заключается в следующем: все данные кодируются одним шестимерным действительным вектором $a = (a_1, a_2, a_3, a_4, a_5, a_6)$. Сравнение с другим массивом данных, представленным вектором $b = (b_1, b_2, b_3, b_4, b_5, b_6)$, осуществляется на основе скалярного произведения. Если векторы a и b идентичны, то $(a-b, a-b) = 0$, а мерой отличия выступает относительная величина, названная коэффициентом близости векторных массивов:

$$\varepsilon = \sqrt{\frac{(a-b, a-b)}{(a, a)}}, \quad (3)$$

Таким образом, задача сравнения профилей ЛД сводится к расчету величины ε , чем она меньше, тем больше соответствует ЛД эталонного образца, для последнего она принимает нулевое значение. Например, выберем 1-нафтол эталоном, для него $\varepsilon=0$. Расчет показал, что для ЛД 2-нафтола $\varepsilon=0,424$. Для смесей величина ε имеет промежуточные значения (рис 5.6). Номограмма на рис. 5.6 позволяет прогнозировать произвольное содержание изомеров в смеси.

Геометрические параметры ЛД индивидуальных изомеров нафтолов в полулогарифмических координатах (рис. 5.7, 5.8) удовлетворительно описываются линейными уравнениями и могут быть использованы для определения их концентрации в пределах $3,9 \cdot 10^{-8} - 3,9 \cdot 10^{-5}$ М, причем линейные корреляции $S = blgc - a$ являются более тесными, чем $P = blgc - a$.

В качестве арбитражного способа для суммарного и отдельного определения 1- и 2-нафтолов использовали метод ВЭЖХ. Время удерживания в подобранных условиях хроматографирования составило для 1- и 2-нафтолов 7.9 и 6.9 мин соответственно. Диапазон определяемых методом ВЭЖХ концентраций для исследуемых аналитов составил $3,9 \cdot 10^{-7} - 3,9 \cdot 10^{-5}$ М.

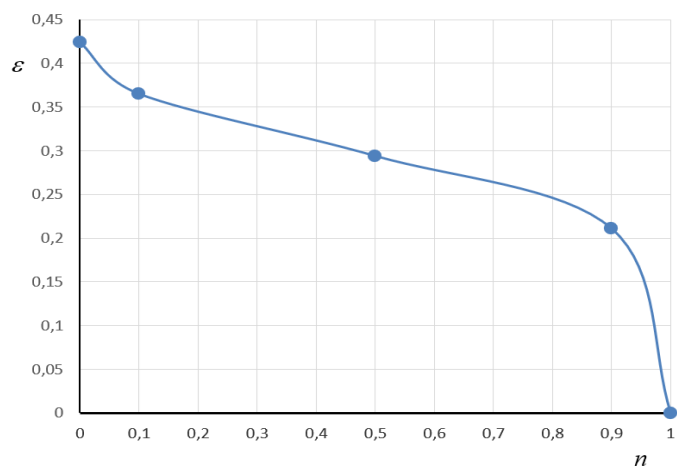


Рисунок 5.6. Зависимость коэффициента близости векторных массивов ε от соотношения изомеров нафтаола, n – массовая доля 1-нафтаола.

При этих параметрах достигается удовлетворительное разделение хроматографических пиков данных изомеров. Примеры полученных хроматограмм представлены на рис. 5.9.

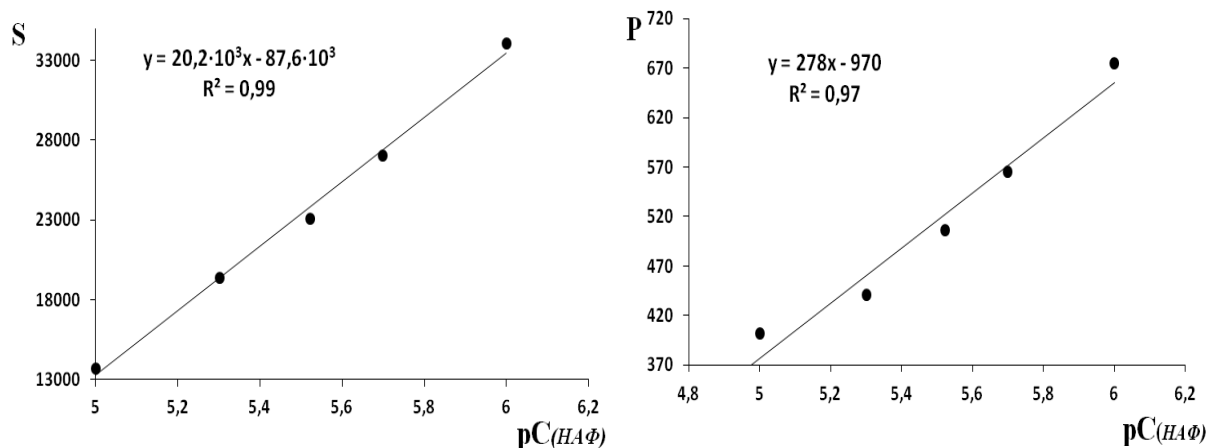


Рисунок 5.7. Зависимость площади (S) и периметра (P) ЛД от $\lg c$ 1-нафтаола.

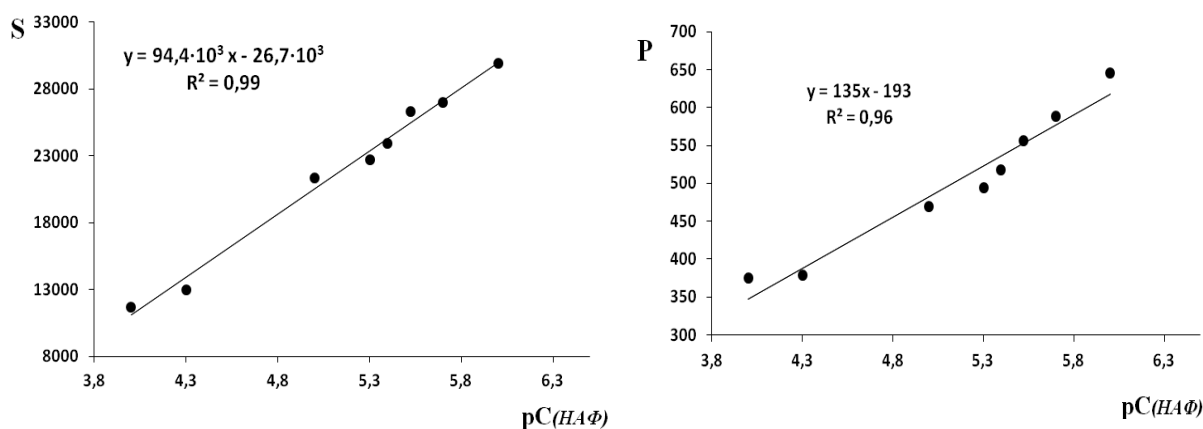


Рисунок 5.8. Зависимость площади (S) и периметра (P) ЛД от $\lg c$ 2-нафтаола.

Как видно из рис. 5.9, чувствительность детектора при 265 нм для 2-нафтола выше, чем для 1-нафтола, вместе с тем выбранная аналитическая длина волны пригодна для определения смеси нафтолов (рис. 5.10, табл. 5.6). Оценку правильности результатов определения 1- и 2-нафтолов методом ВЭЖХ осуществили способом «введено-найдено» по параметру площади (S) пиков (табл. 5.6). Предложенный способ позволил определять содержание 1- и 2-нафтолов в диапазоне от $3,9 \cdot 10^{-8}$ до $3,9 \cdot 10^{-5}$ М, при этом относительная погрешность хроматографического определения не превышала 10% [108].

Новизной настоящего исследования явилось применение на стадии пробоподготовки методологии СР-концентрирования [98, 101]. Для эффективного концентрирования азосоединений – продуктов взаимодействия 4-аминоантипирина с 1- и 2-нафтолами в системе нафтол – 4-аминоантипирин – $K_3Fe(CN)_6$ – Тритон X-100 – Na_2CO_3 , установлены оптимальные условия: $1 \cdot 10^{-3}$ М 4-АА – 8%-ный $K_3Fe(CN)_6$ – 3%-ный Тритон X-100 – 0.25 М Na_2CO_3 .

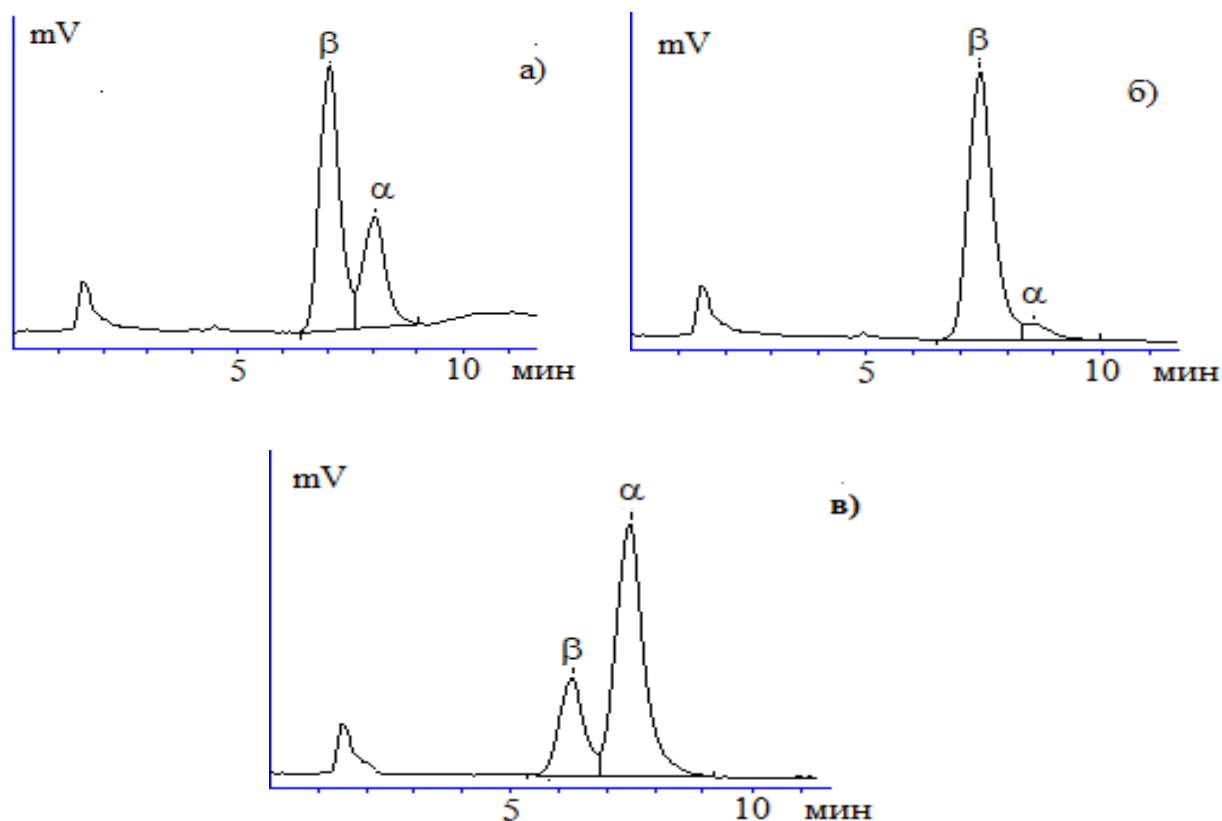


Рисунок 5.9. Хроматограммы этанольного раствора, содержащего 1- и 2-нафтолы в массовом соотношении: а) 5 : 5; б) 1 : 9; в) 9 : 1.

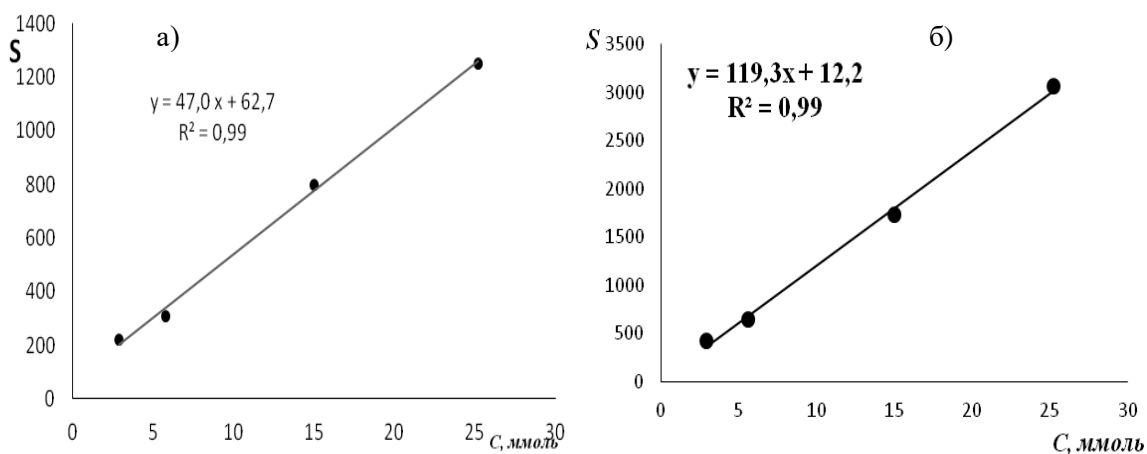


Рисунок 5.10. Зависимости площадей пиков S от концентрации нафтолов:
а) 1-нафтол; б) 2-нафтол.

Таблица 5.6. Результаты ВЭЖХ определения 1- и 2-нафтолов
($t_{\text{табл}} = 2,78$, $n = 5$, $P = 0,95$)

Аналит	Введено, мкг/мл	Найдено ($X \pm \Delta X$), мкг/мл	S_r	$t_{\text{эксп}}$
1-Нафтол	5,76	$5,6 \pm 0,2$	0,03	2,13
	2,88	$2,9 \pm 0,18$	0,05	0,31
	15,0	$15,2 \pm 0,4$	0,02	1,47
	25,2	$25,0 \pm 0,6$	0,02	0,89
2-Нафтол	2,88	$3,0 \pm 0,3$	0,07	1,28
	5,60	$5,5 \pm 0,3$	0,04	1,02
	15,0	$14,8 \pm 0,4$	0,02	1,51
	25,2	$25,4 \pm 0,6$	0,02	0,88

Цветометрическая методика определения 1- и 2-нафтолов с предварительным мицеллярно-экстракционным их концентрированием системами на основе неионных ПАВ позволяет контролировать содержание нафтолов на уровне долей ПДК с погрешностью, не превышающей 10%. Для этой цели применены обобщенные цветометрические параметры в цветовой системе RGB – площадь (S) и периметр (P) лепестковых диаграмм,

полученных по результатам оценки интенсивности цветовых компонент R, G и B двух хромофорных реакций образования азосоединений с 4-нитрофенилдиазонием и хинониминов с 4-аминоантипирином. Для оценки правильности цветометрического определения 1- и 2-нафтолов предложена методика с применением изократической обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФ-детектированием при 265 нм. Показано, что концентрирование дериватов 1- и 2-нафтолов простыми и комбинированными системами на основе неионных ПАВ, позволяет отдельно определять их в диапазоне концентраций $3,6 \cdot 10^{-8}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ М. Разработанный способ является экспрессным, экономически и экологически выгодным, по сравнению с методом ВЭЖХ, так как не требует применения летучих и токсичных растворителей и дорогостоящего оборудования.

5.4. Примеры определения фенолов в модельных растворах и реальных объектах. Оценка правильности результатов

В клинической практике препарат резорцина используют в качестве антисептического лекарственного средства для лечения кожных заболеваний (себорея, зуд, экзема, грибковые заболевания), а также заболеваний аноректальной области.

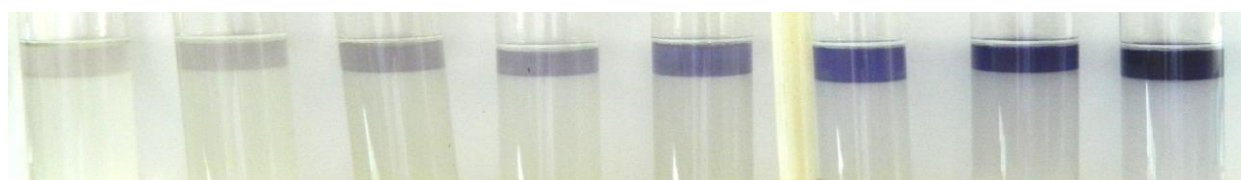
Методика определения резорцина в модельных растворах и технологических водах. В пробирку, помещают по 0,1 мл спиртового $1 \cdot 10^{-3}$ М раствора 4-НА; $1 \cdot 10^{-3}$ М NaNO_2 и 0,5 мл 1М HCl , перемешивают и оставляют на 5 минут. Добавляют аликвотную часть анализируемого раствора, содержащего $3 \cdot 10^{-6}$ – $2,5 \cdot 10^{-5}$ М резорцина. Прибавляют по 0,7 мл этанола, 1,75 мл 20% ОП-10, 0,35 мл $1 \cdot 10^{-2}$ М ЦТМА, 1,4 мл NaOH и общий объем до 5 мл разбавляют дистиллированной водой. Через 20 - 45 мин в чистую пробирку отбирают 0,5 мл мицеллярной фазы доводят 1 М раствором NaOH до 5 мл и фотометрируют в кюветах с $l = 1$ см при 555 нм относительно контрольного раствора (ОП – ЦТМА – NaOH). Результаты определения резорцина в модельных растворах представлены в таблице 5.7. Оценку правильности результатов осуществляли способом «введено-найдено».

Методика цветометрического определения резорцина основана на регистрации аналитического сигнала и компьютерной обработке данных после фазового разделения системы резорцин – 4-нитроанилин – NO_2^- – ПАВ (ОП-10; ОП-10 : ЦТМА = 5 : 1) с применением фотокамеры телефона (например, «Apple 13 pro MAX», 14,1 MegaPixels), расстояние до 30 см, 4-х кратное увеличение). Оценивали усредненное значение яркости G-канала в графическом редакторе AdobePhotoshop CS6 для построения градуировочной зависимости интенсивность G-канала - ρ c(аналита).

Таблица 5.7. Результаты фотометрического определения резорцина в модельных растворах ($n=3, P = 0,95$)

Введено, М	Найдено, М $\bar{X} \pm \Delta X$	S_r
$5,0 \cdot 10^{-6}$	$(5,2 \pm 0,9) \cdot 10^{-6}$	0,07
$1,2 \cdot 10^{-5}$	$(1,3 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	0,09
$1,8 \cdot 10^{-5}$	$(1,9 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$	0,07

При построении градуировочной характеристики для цветометрического определения резорцина в среде ОП-10 в 8 пробирок вводят по 0,1 мл спиртового $1 \cdot 10^{-3}$ М раствора 4-НА; по 0,1 мл $1 \cdot 10^{-3}$ М NaNO_2 и 0,5 мл 1М HCl , перемешивают и оставляют на 5 минут. Добавляют 0,05 мл $1 \cdot 10^{-5}$ М резорцина; 0,02; 0,04; 0,15; 0,3 мл $1 \cdot 10^{-4}$ М резорцина; 0,05; 0,1; $1 \cdot 10^{-3}$ М резорцина. Прибавляют по 0,7 мл этанола, 1,75 мл 20% ОП-10, 1,4 мл NaOH и общий объем до 5 мл разбавляют дистиллированной водой. Через 10 минут регистрируют и обрабатывают цифровые изображения (рис. 5.11) как описано выше. Градуировочный график приведен на рис. 5.12.



а б в г д е ж з

Рисунок 5.11. Цифровая фотография градуировочной зависимости системы резорцин – 4-НА – NO_2^- – ОП-10: $c(4\text{-НА}) = c(\text{NO}_2^-) = 2 \cdot 10^{-5}$ М, $c(\text{HCl}) = 0,1$ М, $\omega(\text{ОП-10}) = 7\%$, $c(\text{NaOH}) = 2,8$ М, $t = 10$ мин, c (резорцина), М: а – $1 \cdot 10^{-7}$, б – $4 \cdot 10^{-7}$, в – $8 \cdot 10^{-7}$, г – $1 \cdot 10^{-6}$, д – $3 \cdot 10^{-6}$, е – $6 \cdot 10^{-6}$, ж – $1 \cdot 10^{-5}$, з – $2 \cdot 10^{-5}$.

При построении градуировочной характеристики для цветиметрического определения резорцина в среде нПАВ и кПАВ в 8 пробирок вводят по 0,1 мл спиртового $1 \cdot 10^{-3}$ М раствора 4-НА; по 0,1 мл $1 \cdot 10^{-3}$ М NaNO_2 и 0,5 мл 1М HCl , перемешивают и оставляют на 5 минут. Добавляют 0,05 мл $1 \cdot 10^{-5}$ М резорцина; 0,02; 0,04; 0,15; 0,3 мл $1 \cdot 10^{-4}$ М резорцина; 0,05; 0,1; $1 \cdot 10^{-3}$ М резорцина. Прибавляют по 0,7 мл этанола, 1,75 мл 20% ОП-10, 0,35 мл $1 \cdot 10^{-2}$ ЦТМА, 1,4 мл NaOH и общий объем до 5 мл разбавляют дистиллированной водой. Через 15 минут регистрируют и обрабатывают цифровые изображения как описано выше. Градуировочный график приведен на рисунке 5.12.

Методика определения резорцина в лекарственном препарате «резорцинол». В пробирку помещают по 0,1 мл спиртового $1 \cdot 10^{-3}$ М раствора 4-НА; по 0,1 мл $1 \cdot 10^{-3}$ М NaNO_2 и 0,5 мл 1М HCl , перемешивают и оставляют на 5 минут. Добавляют аликвотную часть от 0,02 до 0,5 мл раствора препарата «Резорцинол». Прибавляют по 0,7 мл этанола, 1,75 мл 20% ОП-10, 0,35 мл $1 \cdot 10^{-2}$ ЦТМА, 1,4 мл NaOH и общий объем до 5 мл разбавляют дистиллированной водой. Через 15 мин регистрируют и обрабатывают цифровые изображения как описано выше. Концентрацию резорцина определяют по уравнению градуировочного графика, имеющего вид $I_G = 59,5c - 253$.

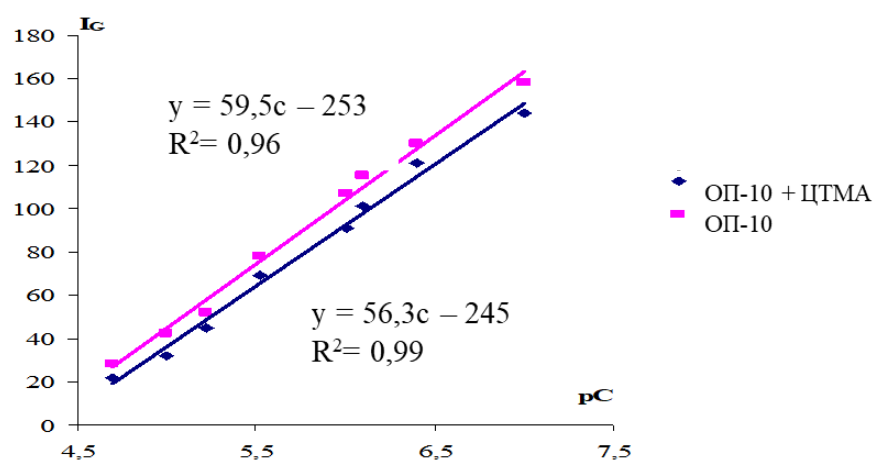


Рисунок 5.12. Градуировочные зависимости интенсивности (I) параметра цветности

G от c (резорцина): $c(4\text{-НА}) = c(\text{NO}_2^-) = 2 \cdot 10^{-5}$ М, $c(\text{HCl}) = 0,1$ М, $\omega(\text{ОП-10}) = 7\%$,

$c(\text{ЦТМА}) = 7 \cdot 10^{-4}$ М, $c(\text{NaOH}) = 2,8$ М, $t = 15$ мин.

Таблица 5.8. Результаты цветометрического определения резорцина в лекарственном препарате «Резорцинол» ($n=3, P = 0,95$)

Введено, М	Найдено, М $X \pm \Delta X$	S_r
$6,0 \cdot 10^{-7}$	$(5,8 \pm 0,3) \cdot 10^{-7}$	0,05
$1,5 \cdot 10^{-6}$	$(1,7 \pm 0,2) \cdot 10^{-6}$	0,03
$1,5 \cdot 10^{-5}$	$(1,7 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$	0,03

Преимуществом цветометрической методики определения резорцина с применением цифрового фотоаппарата, компьютерной обработки данных и методологии экстракции на основе точки помутнения являются: более низкие пределы обнаружения, экспрессность, экономичность и высокая производительность.

Пример компаратора для индивидуального определения резорцина. Для каждой из исследованных систем может быть предложен компаратор, как для индивидуального, так и суммарного определения фенолов (рис.5.13).



Рисунок 5.13. Пример компаратора для индивидуального определения фенолов на примере системы I.

Для определения резорцина (система I) в состав компаратора входят 2 раствора: раствор 1 – соль диазония в кислой среде в присутствии нПАВ; раствор 2 – смесь натриевых солей ($\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{Na}_2\text{SO}_4$). На рисунке 5.14 приведен пример цветовой шкалы.

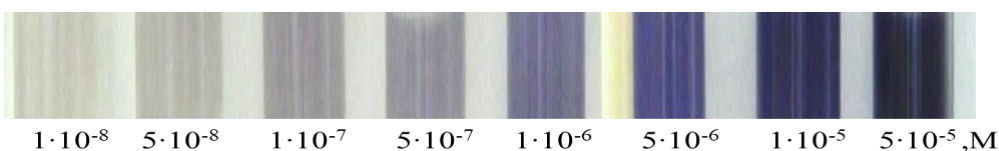


Рисунок 5.14. Пример цветовой шкалы для определения резорцина (система I).

Полуколичественное определение резорцина возможно в интервале от $1 \cdot 10^{-5}$ до $1 \cdot 10^{-8}$ М. Применение III системы и компаратора на ее основе позволяет проводить интегральное определение фенолов.

* * *

Проведенные исследования показали перспективность применения в анализе водных сред разбавленных растворов нелетучих, малотоксичных нПАВ (их смесей с кПАВ) для концентрирования фенолов по методологии СР-экстракции или в присутствии высаливателей (вариант АТРС-экстракции). Такие способы применимы для экстракционно-спектрофотометрического, цветометрического и *тест*-определения как индивидуальных фенолов, так и их суммарного содержания («фенольный индекс»).

Выводы

1. Показана возможность предварительного концентрирования и последующего *тест*-определения фенола и некоторых его производных (резорцина, флороглюцина, тимола, 1-, 2-нафтолов) на уровне долей ПДК мицеллярно-насыщенными фазами неионных (их смесей с катионными) ПАВ в варианте гомогенной жидкостной микроэкстракции аналитических форм, образованных реакциями аналитов с 4-нитрофенилдиазонием, 4-аминоантипирином и реактивом Фолина-Чокальтеу при температуре (20 - 25)°С в присутствии различных высаливателей.

2. Спектрофотометрическим и цветометрическим методами изучены реакции азосочетания исследованных фенолов с 4-нитрофенилдиазонием, *редокс* процессы с 4-аминоантипирином и реактивом Фолина-Чокальтеу в водной среде и в присутствии дифильных соединений на основе неионных (Тритон Х-110, ОП-10, Тритон Х-114, Бридж-35) и катионных (цетилтриметиламмония хлорид) ПАВ. Дана сравнительная оценка некоторых метрологических характеристик исследуемых систем, обоснована эффективность реализации методологии «cloud point» концентрирования (СР-экстракция), способствующая понижению пределов обнаружения фенолов.

3. Оптимизированы условия получения мицеллярно-насыщенных фаз неионных ПАВ (их смесей с катионными ПАВ) в отсутствие и в присутствии реагентов и аналитов, высаливателей (Na_2SO_4 , NaCl и др.), органических растворителей (этанол), компонентов рН-индуцирования фаз (NaOH , Na_2CO_3) в политермическом и изотермическом режимах. Установлены универсальные закономерности: увеличение объема мицеллярной фазы ($V_{\text{м.ф.}}$) с ростом $c(\text{ПАВ})$ и $c(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})$, уменьшение температуры помутнения и $V_{\text{м.ф.}}$ от $c(\text{высаливателя})$, уменьшение радиуса частиц и увеличение агрегативной устойчивости систем ($r_{\text{частиц}} - c_{\text{ПАВ}}$). Установленные закономерности позволяют эффективно управлять аналитическими эффектами в исследованных системах.

4. Для цветометрической идентификации и определения близких по свойствам фенолов (1- и 2-нафтолов) предложено применение двух хромофорных реакций их дериватизации и построение геометрических профилей лепестковых диаграмм в координатах цвета $R_1G_1B_1R_2G_2B_2$. По величине коэффициента близости векторных массивов ε и независимым методом (ВЭЖХ) показана принципиальная возможность разделения близких фенольных гомологов в их смесях.

5. Мицеллярно-насыщенные фазы неионных ПАВ (их смеси с катионными ПАВ) предложены в качестве *тест*-средств, позволяющих эффективно концентрировать аналитические формы фенолов ($R = 85 - 97\%$) и определять их (индивидуально и суммарно) на уровне десятых и сотых долей ПДК в водных средах и лекарственных формах при концентрациях порядка $n \times 10^{-8}$ М методами колориметрии с применением цифровых технологий.

Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю, доктору химических наук, профессору кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии СГУ – Доронину Сергею Юрьевичу за помощь в постановке задач и обсуждение полученных результатов, ценные советы и вдохновение; кандидату химических наук, доценту кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии СГУ – Косыревой Ирине Владимировне за поддержку и рекомендации при выполнении диссертационного исследования.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Li X. Cui, Y.-Y., Yang C.-X., Yan X.-P. Synthesis of carboxyl functionalized microporous organic network for solid phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography for the determination of phenols in water samples // *Talanta*. 2019. Vol. 2019. P. 6-15.
2. Shahbakhsh M., Saravani H., Narouie S., & Hashemzaei Z. Poly (hydroquinone-oxovanadium (IV)) porous hollow microspheres for voltammetric detection of phenol // *Microchemical Journal*. 2021. Vol. 164. P. 3-20.
3. Hashim H.S., Fen Y. W., Omar N.A.S., Fauzi N.I.M., Daniyal W.M. E.M.M.Recent advances of priority phenolic compounds detection using phenol oxidases-based electrochemical and optical sensors // *Measurement*. 2021. Vol. 184. P. 10-23.
4. Gopal K. Al deeb Ibrahim, Raaov M., Suah F. B. M., Samad N. A., Yahaya N., Zain N. N. M. Supramolecular solvent combined with dispersive solid phase extraction based magnetic silicone surfactant activated charcoal adsorbent for extraction of phenolic compounds from industrial wastewater // *Microchemical Journal*. 2021. Vol. 157. P. 13-16.
5. Gamonchuang J., Burakham R. Amino-based magneto-polymeric-modified mixed iron hydroxides for magnetic solid phase extraction of phenol residues in environmental samples // *Journal of Chromatography A*. 2021. Vol. 1643. P. 10-21.
6. Asman S., Abas N.A. Triton X-100 / β -Cyclodextrin Cloud Point Extraction for Removal of Phenol Using Different of Sodium Salts as Inducing Phase Separation Agent // *Азиатский химический журнал*. 2018. Vol. 30. P. 9-13.
7. Caetano F.R., Carneiro E.A., Agustini D., Figueiredo-Filho L. C. S., Banks C. E., Bergamini M. F., & Marcolino-Junior L. H. Combination of electrochemical biosensor and textile threads: A microfluidic device for phenol determination in tap water // *Biosensors and Bioelectronics*. 2018. Vol. 99. P. 14-18.

8. Lupa L., Coheci L., Pode R., & Hulka I. Phenol adsorption using Aliquat 336 functionalized Zn-Al layered double hydroxide // *Separation and Purification Technology*. 2018. Vol. 196. P. 12-28.
9. Domínguez I., González B., Domínguez Á. Liquid-liquid extraction of phenolic compounds from water using ionic liquids: Literature review and new experimental data using [C2mim]FSI // *Journal of Environmental Management*. – 2018. Vol. 228. P. 4-15.
10. Li N., Wu D., Liu J., Hu N., Shi X., Dai C., Wu Y. Magnetic covalent organic frameworks based on magnetic solid phase extraction for determination of six steroidal and phenolic endocrine disrupting chemicals in food samples // *Microchemical Journal*. 2018. Vol. 143. P. 7-18.
11. Lang H., Yang R., Dou X., Wang D., Zhang L., Li J., Li P. Simultaneous determination of 19 phenolic compounds in oilseeds using magnetic solid phase extraction and LC-MS/MS // *LWT*. 2019. Vol. 107. P. 11-14.
12. Ma J.-Q., Ren J.-Y., Wang L.-L., Wang X., Lin J.-M., Zhao R.-S. Covalent triazine-based frameworks/iron oxide for highly sensitive magnetic solid-phase extraction of phenolic pollutants in water samples // *Journal of Separation Science*. 2018. Vol. 41. P. 3724-3732.
13. Galanakis C. M. Phenols recovered from olive mill wastewater as additives in meat products // *Trends in Food Science & Technology*. 2018. Vol. 79. P. 7-16.
14. Otero P., López-Martínez M. I., García-Risco M. R. Application of Pressurized Liquid Extraction (PLE) to obtain bioactive fatty acids and phenols from *Laminaria ochroleuca* collected in Galicia (NW Spain) // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2018. Vol. 164. P.86-92.
15. Cesari L., Canabady-Rochelle L., Mutelet F. Separation of phenols from lignin pyrolysis oil using ionic liquid // *Separation and Purification Technology*. 2019. Vol. 79. P. 10-13.
16. Ji Y., Hou Y., Ren S., Yao C., Wu W. Highly efficient extraction of phenolic compounds from oil mixtures by trimethylamine-based dicationic ionic

liquids via forming deep eutectic solvents // *Fuel Processing Technology*. 2018. Vol. 171. P. 12-16.

17. Ferrentino G., Morozova K., Mosibo O. K., Ramezani M., Scampicchio M. Biorecovery of antioxidants from apple pomace by supercritical fluid extraction // *Journal of Cleaner Production*. 2018. Vol. 186. P. 10-20.

18. Pereira D. T. V., Tarone A. G., Cazarin C.B.B., Barbero G.F., Martínez J. Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from grape marc // *Journal of Food Engineering*. 2019. Vol. 240. P. 15-20.

19. Lama-Muñoz A., Contreras M. del M., Espínola F., Moya M., Romero I., & Castro E. Content of phenolic compounds and mannitol in olive leaves extracts from six Spanish cultivars: Extraction with the Soxhlet method and pressurized liquids // *Food Chemistry*. 2020. Vol. 320. P. 6-18.

20. González E.J., Díaz I., Gonzalez-Miquel M., Rodríguez M., Sueiras A. On the behavior of imidazolium versus pyrrolidinium ionic liquids as extractants of phenolic compounds from water: Experimental and computational analysis // *Separation and Purification Technology*. 2018. Vol. 201. P. 13-19.

21. Barrales F.M., Silveira P., Barbosa P. de P. M., Ruviaro A.R., Paulino B.N., Pastore G.M., Martinez J. Recovery of phenolic compounds from citrus by-products using pressurized liquids - an application to orange peel // *Food Chemistry*. 2018. Vol. 112. P. 9-21.

22. Generalić Mekinić I., Skroza D., Šimat V., Hamed I., Čagalj M., Popović Perković Z. Phenolic Content of Brown Algae (Pheophyceae) Species: Extraction, Identification, and Quantification // *Biomolecules*. 2019. Vol. 6 P. 15-23.

23. Panzella L., Moccia F., Nasti R., Marzorati S., Verotta L., Napolitano A. Bioactive Phenolic Compounds From Agri-Food Wastes: An Update on Green and Sustainable Extraction Methodologies // *Frontiers in Nutrition*. 2020. Vol. 7. P. 8-13.

24. Caldas T.W., Mazza K.E.L., Teles A.S.C., Mattos G.N., Brígida A.I. S., Conte-Junior C. A., Tonon R. V. Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods // *Industrial Crops and Products*. 2018. Vol. 111. P. 10-14.

25. Tyśkiewicz K., Konkol M., Rój E. The Application of Supercritical Fluid Extraction in Phenolic Compounds Isolation from Natural Plant Materials // *Molecules*. 2018. Vol. 23. P. 18-22.
26. Ciulu M., Cádiz-Gurrea M., Segura-Carretero A. Extraction and Analysis of Phenolic Compounds in Rice: A Review // *Molecules*. 2018. Vol. 23. P. 11-24.
27. Vieira V., Prieto M. A., Barros L., Coutinho J. A. P., Ferreira I. C. F. R., Ferreira O. Enhanced extraction of phenolic compounds using choline chloride based deep eutectic solvents from *Juglans regia* L // *Industrial Crops and Products*. 2018. Vol. 115. P. 7-15.
28. Ji Y., Hou Y., Ren S., Yao C., Wu W. Separation of phenolic compounds from oil mixtures using environmentally benign biological reagents based on Brønsted acid-Lewis base interaction // *Fuel*. 2019. Vol. 239. P. 10-14.
29. Yang D., Li X., Meng D., Yang Y. Carbon quantum dots-modified ferrofluid for dispersive solid-phase extraction of phenolic compounds in water and milk samples // *Journal of Molecular Liquids*. 2018. Vol. 261. P. 15-26.
30. Mortada W.I. Recent developments and applications of cloud point extraction: A critical review // *Microchemical Journal*. 2020. Vol. 157. P. 2-10.
31. Moslemzadeh M., Larki A., Ghanemi K. Combination of dispersive liquid-liquid microextraction and smartphone-based colorimetric system for the phenol measurement // *Microchemical Journal*. 2020. Vol.159. № 7. P. 10-12.
32. Luo X., Zheng H., Zhang Z., Wang M., Yang B., Huang L., & Wang M. Cloud point extraction for simultaneous determination of 12 phenolic compounds by high performance liquid chromatography with fluorescence detection // *Microchemical Journal*. 2017. Vol.137. P. 15-20.
33. Kiai H., Raiti J., El-Abbassi A., Hafidi A. Recovery of phenolic compounds from table olive processing wastewaters using cloud point extraction method // *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2018. Vol. 6. P. 10-20.
34. Hong J., Hao X., Liu T., Liu W., Xie M., Wang M., Yang B. Rapid Synergistic Cloud Point Extraction (RS-CPE) with Partial Least Squares (PLS) for the Simultaneous Determination of Chlorophenols (CPs) in Environmental Water Samples Using a Microplate Assay (MPA) // *Analytical Letters*. 2020 Vol. 53. P. 11-22.

35. Xie M., Hao X., Xu Q., Jiang X., Liu T., & Wang M. Rapid synergistic cloud point extraction for simultaneous determination of five polar phenols in environmental water samples via high performance liquid chromatography with fluorescence detection // *Microchemical Journal*. 2021. Vol. 166. P. 5-18.
36. Luo X., Hong J., Zheng H., Qin J., Wang M., & Yang B. A rapid synergistic cloud point extraction for nine alkylphenols in water using high performance liquid chromatography and fluorescence detection // *Journal of Chromatography A*. 2019. Vol. 1611. P. 8-18.
37. Tabaraki R., Heidarizadi E. Spectrophotometric determination of phenol and chlorophenols by salting out assisted liquid-liquid extraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction // *Spectrochimica Acta Part*. 2019. Vol.215. P. 405-409.
38. More P.R., Arya S.S. A novel, green cloud point extraction and separation of phenols and flavonoids from pomegranate peel: an optimization study using RCCD // *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2019. Vol. 7. P. 8-13.
39. Marothu V.K. Cloud point extraction as a sample enrichment technique for capillary electrophoresis—An overview // *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2020. Vol. 43. P. 693-699.
40. Потенко Е.И., Жукова Н.И., Арефьева О.Д. Фенольные соединения в поверхностных и питьевых водах Приморского края // *Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук*. 2018. Т. 201. № 5. С. 120-123.
41. Семенова Т.С., Соловей В.Н. Определение фенолов в воде и методы их удаления // *Традиции и Инновации : Материалы научной конференции*. – СПб.: Из-во с.-петерб. техн. ун-та. 2017. С. 234.
42. Бельтюкова С.В., Бычкова А.А. Биологически активные полифенолы и методы их определения // *Пищевая наука и технология*. 2013. № 3. С. 18-25.

43. Архипов В.П., Архипов Р.В., Идиятуллин З.С. Эффективность и кинетика извлечения фенола из водных растворов неионными ПАВ // Российский физико-химический журнал А. 2018. Т.92. № 8. Р. 5-8.
44. Chen X., Guo Z., Wang Y., Liu Y., Xu Y., Liu J. Zhao J. Temperature sensitive polymer-dispersive liquid-liquid microextraction with gas chromatography-mass spectrometry for the determination of phenols // Journal of Chromatography A. 2019. Vol. 1592. P. 183-187.
45. Shahvar A., Saraji M., Shamsaei D. Smartphone-based on-cell detection in combination with emulsification microextraction for the trace level determination of phenol index // Microchemical Journal. 2020. Vol. 154. P. 104611.
46. Javadi T., Farajmand B., Yaftian M.R., Zamani A. Homogenizer assisted dispersive liquid-phase microextraction for the extraction-enrichment of phenols from aqueous samples and determination by gas chromatography // Journal of Chromatography A. 2019. Vol. 1614. P. 10-21.
47. Alibade A., Batra G., Bozinou E., Salakidou C., Lalas S. Optimization of the extraction of antioxidants from winery wastes using cloud point extraction and a surfactant of natural origin (lecithin) // Chemical Papers. 2020. Vol. 74. P. 10-23.
48. Магасумова А.Т., Сафаров А.М., Хатмуллина Р.М., Фатьянова Е.В. Идентификация фенолов в сточных водах нефтехимических предприятий Республики Башкортостан // Георесурсы. 2012. Т. 50. № 8. С. 61-64.
49. Габидулина М.К., Доронин С.Ю., Косырева И.В. Тест-средства для отдельного и суммарного определения тяжелых металлов в водных средах // Бутлеровские сообщения. 2019. Т. 57. № 1. С. 101-114.
50. Бахарева М.В., Бриленок Н.С. Источники систематических погрешностей при оценке суммарного содержания фенолов по реакции Грисса-Илосвая // Молодёжь третьего тысячелетия : Сборник научных статей. Омск: Изд-во Ом. ун-та. 2017. С. 1572-1576.
51. ГН 2.1.5.1315-03. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и

культурно-бытового водопользования: Гигиенические нормативы. М. 2003. С. 154.

52. Хорохордина Е.А., Чан Х.Д. Методы экстракции фенольных экотоксикантов и их определения в материалах и объектах окружающей среды // Научный вестник Воронежского государственного архитектурно-строительного университета. 2014. Т. 8. № 1. С. 93-105.

53. Вершинин В.И., Исаченко Н.А., Бриленок Н.С. Методология анализа неразделенных смесей. Интервальные оценки суммарного содержания однотипных аналитов // Журнал аналитической химии. 2016. Т. 71. № 4. С. 369-376.

54. Бриленок Н.С. Определение суммарного содержания фенольных соединений с учетом внутригрупповой селективности сигналов : дис. ... канд. хим. наук / Н. С. Бриленок. Омск, 2018. 137 с.

55. Вершинин В.И. Формирование групп и выбор стандартных веществ при определении суммарных содержаний однотипных соединений в виде интегральных показателей // Журнал аналитической химии. 2017. Т. 72. № 9. С. 816-826.

56. Тринеева О.В. Методы определения антиоксидантной активности объектов растительного и синтетического происхождения в фармации (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. Т. 21. № 4. С. 180-197.

57. Шарафутдинова Е.Н., Иванова А.В., Матерн А.И., Брайнина Х.З. Качество пищевых продуктов и антиоксидантная активность // Аналитика и контроль. 2011. Т. 15, № 3. С. 281-286.

58. Теплова В.В., Исакова Е.П., Кляйн О.И. Природные полифенолы: биологическая активность, фармакологический потенциал, пути метаболической инженерии (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2018. Т. 54, № 3. С. 215-235.

59. Зиятдинова Г.К., Будников Г.К. Природные фенольные антиоксиданты в биоаналитической химии: состояние проблемы и перспективы развития // Успехи химии. 2015. Т. 84. № 2. С. 194-224.

60. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Кандалинцева Н.В. Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине // Saarbrücken: LAP LAMBERT Acad. Publishing, 2012. С. 496.

61. Бриленок Н.С., Вершинин В.И., Бахарева М.В. Оценка антиоксидантной активности полифенолов по методу FRAP в присутствии комплексантов // Аналитика и контроль. 2016. Т. 20. № 3. С. 209-217.

62. Цюпко Т.Г., Бриленок Н.С., Гушаева К.С., Вершинин В.И. Определение суммарного содержания фенольных антиоксидантов в чае с применением разных вариантов метода FRAP // Аналитика и контроль. 2019. Т. 23, № 1. С. 143-151.

63. Аджихметова С.Л., Червонная Н.М., Поздняков Д.И., Оганесян Э. Т. Содержание фенолов (в том числе флавоноидов) и антиоксидантов в листьях *Viscum album L.* и *Pyrus communis L.* // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021. Т. 24, № 2. С. 15-22.

64. Коваленко С.А., Файзиев А.В., Сыроева М.А. Практическое применение экстракта *Empetrum nigrum* в пивоварении // Индустрия питания. 2022. Т. 7, № 3. С. 59-64.

65. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent // Methods Enzymol. 1999. Vol. 299. P.152-178.

66. Munteanu I. G., Apetrei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review // Int. J. Mol. Sci. 2021. Vol. 22, №7. P.3380.

67. Apak R., Capanoglu E., Shahidi F. Measurement of Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications // John Wiley & Sons Ltd.: Hoboken, NJ, USA. 2018. P. 337.

68. Vázquez C.V., Rojas M.G., Ramírez C.A. Total phenolic compounds in milk from different species. Design of an extraction technique for quantification using the Folin-Ciocalteu method // Food Chemistry. 2015. Vol. 176. P. 480-486.

69. Ma S., Kim C., Neilson A.P. Comparison of Common Analytical Methods for the Quantification of Total Polyphenols and Flavanols in Fruit Juices and Ciders // J. Food Sci. 2019. Vol. 84. Iss. 8. P. 2147-2158.

70. Khatana S., Jain C., Vijayvergia R. Estimation of total phenolic and flavonoid content of some cucurbit fruit peels and in-vitro evaluation of their methanolic extracts for antioxidant potential // 2021. Vol. 12. Is. 1. P. 491-495.
71. Lepasava P., Snežana U.M., Milena J.S., Daniela D. Predrag Determination of flavonoids and total polyphenol contents in commercial apple juices // Czech Journal of Food Sciences. 2018. Vol. 36. No. 3. P. 233-238.
72. Николаева Т.Н., Лапшин П.В., Загоскина Н.В. Метод определения суммарного содержания фенольных соединений в растительных экстрактах с реактивом Фолина-Дениса и реактивом Фолина-Чокальтеу: модификация и сравнение // Химия растительного сырья. 2021. № 2. С. 291-299.
73. Вершинин В.И., Белова Е.В. Определение суммарного содержания фенольных антиоксидантов в модельных смесях по методу Фолина-Чокальтеу и по методу FRAP // Аналитика и контроль. 2019. Т. 23, № 3. С. 314-322.
74. Margraf T., Karnopp A.R., Rosso N.D., Granato D. Comparison between Folin-Ciocalteu and Prussian Blue Assays to Estimate The Total Phenolic Content of Juices and Teas Using 96-Well Microplates // J. Food Sci. 2015. Vol. 80. P. C2397-C2403.
75. Musci M., Yao S. Optimization and validation of Folin-Ciocalteu method for the determination of total polyphenol content of Pu-erh tea // Int. J. Food Sci. Nutr. 2017. Vol. 68, №8. P. 913-918.
76. Цюпко Т.Г., Тищенко Е.А., Воронова О.Б. Спектрофотометрическая оценка железовосстанавливающей способности растворимого кофе // Аналитика и контроль. 2016. Т. 20, № 4. С. 320-329.
77. Bensemmane N., Bouzidi N., Daghbouche Y., Garrigues S. Quantification of phenolic acids by partial least squares Fourier-transform infrared (PLS-FTIR) in extracts of medicinal plants // Phytochem. Anal. 2021. Vol. 32. P. 206-221.
78. Omar M.A., Badr El-Din K. Salem M., Abdelmageed H. O.H. Novel kinetic spectrophotometric method for estimation of certain biologically active phenolic sympathomimetic drugs in their bulk powders and different

pharmaceutical formulations // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2018. Vol. 193. P. 310-317.

79. Pasaribu G., Budianto E., Cahyana A.H. Toxicity and Total Phenolic Content of *Saurauia vulcani* Extracts from Cultivation // *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2021. Vol. 1011. P. 1-7.

80. Hudz N., Yezerska O., Shanajda M., Horčinová Sedláčková V., Wieczorek P.P. Application of the Folin-Ciocalteu method to the evaluation of *Salvia sclarea* extracts // *Pharmacia*. 2019. Vol. 66. P. 209-215.

81. Rumpf J., Burger R., Schulze M. Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins // *Int. J. Biol. Macromol.* 2023. Vol. 233. P. 1-9.

82. George J., Edwards D., Pun S., Williams D. Evaluation of Antioxidant Capacity (ABTS and CUPRAC) and Total Phenolic Content (Folin-Ciocalteu) Assays of Selected Fruit, Vegetables, and Spices // *International Journal of Food Science*. 2022. Vol. 2022. P. 1-18.

83. Samara M., Nasser A., Mingelgrin U. Examination of the Suitability of the Folin-Ciocalteu Reagent Assay for Quantitative Analysis of Polyphenols - The Case of Olive-Mill Wastewater // *American Journal of Analytical Chemistry*. 2022. Vol. 13, № 11. P. 476-493.

84. Wabaidur S.M., Obbed M.S., Alothman Z.A., Alfaris N.A. Total phenolic acids and flavonoid contents determination in Yemeni honey of various floral sources: Folin-Ciocalteu and spectrophotometric approach // *Food Science and Technology*. 2020. Vol. 40. P. 647-652.

85. Gao M.R., Xu Q.D., He Q. A theoretical and experimental study: the influence of different standards on the determination of total phenol content in the Folin-Ciocalteu assay // *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2019. Vol. 13. Iss. 2. P. 1349-1356.

86. Lawag I.L., Nolden E.S., Schaper A.A.M., Lim L.Y., Locher C.A. A Modified Folin-Ciocalteu Assay for the Determination of Total Phenolics Content in Honey // *Applied Sciences*. 2023. Vol. 13. № 4. P. 2135.

87. Martins G.R., Monteiro A.F., Amaral F.R.L. A validated Folin-Ciocalteu method for total phenolics quantification of condensed tannin-rich açai (*Euterpe oleracea* Mart.) seeds extract // *Journal of Food Science and Technology*. 2021. Vol. 58. P. 4693–4702.

88. Matic P., Jakobek L. Spectrophotometric Folin-Ciocalteu and Aluminium Chloride Method Validation for the Determination of Phenolic Acid, Flavan-3-ol, Flavonol, and Anthocyanin Content // *Croatian journal of food science and technology*. 2021. Vol. 13, №2. P. 176-183.

89. Adegbusi H.S., Ismail A., Mohd Esa N., Azuan Z. Mat Daud Application of Folin-Ciocalteu colorimetric method in the determination of total tannin in maize and soybean food products // *International Food Research Journal*. 2022. Vol. 29. Iss. 5. P. 1110-1119.

90. Денисенко Т.А., Вишник А.Б., Цыганок Л.П. Особенности взаимодействия 18-молибдодифосфата и реактива Фолина-Чокальтеу с фенольными соединениями // *Аналитика и контроль*. 2015. Т. 19, № 3. С. 242-251.

91. ГОСТ Р 55488-2013. Прополис. Метод определения полифенолов. М. : Стандартинформ. 2014. С.9.

92. Sánchez-Rangel J.C., Benavides J., Heredia J.B., Cisneros-Zevallos L., Jacobo-Velázquez D.A. The Folin-Ciocalteu assay revisited: Improvement of its specificity for total phenolic content determination // *Analytical Methods*. 2013. Vol. 5. P. 5990-5999.

93. Мирзаева Х.А., Ахмедова М.С., Ахмедов С.А. Исследование ионных ассоциатов молибдена (VI), вольфрама (VI) бромпирогаллоловым красным в присутствии димедрола и папаверина // *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки*. 2010. Т. 158. № 4. С. 71-76.

94. Eddy D.R., Nursyamsiah D., Permana M.D. Green Production of Zero-Valent Iron (ZVI) Using Tea-Leaf Extracts for Fenton Degradation of Mixed Rhodamine B and Methyl Orange Dyes // *Materials*. 2022. Vol. 15. P. 332.

95. Основы аналитической химии: учебник для студентов высших учебных заведений, обучающихся по химическим направлениям. В 2 т. Т. 1 /

[Т. А. Большова и др.]; под ред. Ю.А. Золотова. – 5-е изд., стер. – М.: Издательский центр «Академия». 2012. С. 384. – ISBN 978-5-7695-9123-5.

96. Рабинович В.А. Краткий химический справочник : справ. изд. / В. А. Рабинович, З. Я. Хавин. - Л.: Химия. 1977. С. 376.

97. Чернова Р.К., Кулапина Е.Г., Белолипецкая Г.М. Практикум по аналитической химии, Часть 1, Саратов, изд-во Сарат. ун-та. 1997. С.180.

98. Чернова Р.К., Доронин С.Ю. Определение органических аналитов в растворах ПАВ: ионные и мицеллярные эффекты // Саратов : Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского. 2017. С. 200.

99. Доронин С.Ю., Соколова Т.А., Косырева И.В. Способ определения нитрит-ионов. Патент RU 2727879 С1. МПК 51 G01N 21/78 (2020.02).

100. Шестопалова Н.Б. Системы нПАВ - H₂O - электролиты в мицеллярной экстракции и фотометрическом определении синтетических пищевых красителей : диссертация ... кандидата химических наук : 02.00.02 / Шестопалова Н. Б.; Саратов. 2014. С. 203.

101. Доронин С.Ю., Жестовская Е.С., Цыгулёва Э.И. Мицеллярно-экстракционное концентрирование и цветометрическое определение некоторых фенолов // Журнал аналитической химии. 2020. Т.75. № 6. С.502-509.

102. Ершов В.В., Никифоров Г.А. Таутомерные превращения фенолов // Успехи химии. 1966. Т 35. № 11. С. 1954-1960.

103. Цыгулёва Э.И., Доронин С.Ю. Определение тимола с предварительным мицеллярно-экстракционным концентрированием // Известия Саратовского университета. Новая серия. Химия. Биология. Экология. 2021. Т.21. № 3. С.267-273.

104. Коренман Я.И., Мокшина Н.Я., Зыков А.В. Закономерности экстракции витаминов группы В синтетическими водорастворимыми полимерами // Журнал физической химии. 2011. Т. 85. № 11. С. 2142-2146.

105. Цыгулёва Э.И., Доронин С.Ю. Спектрофотометрическое и цветометрическое определение фенола с 4-аминоантипирином // Известия

высших учебных заведений. Химия и химическая технология. 2021. Т.64. № 8. С.25-41.

106. Чеботарева Е.А., Цыгулёва Э.И., Доронин С.Ю. Микроэкстракционное концентрирование неионными ПАВ и цветометрическое определение фенола // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23. вып. 3. С. 289-298.

107. Чан Х.Д. Определение свободных фенольных экотоксикантов в строительных и бытовых материалах с применением ТСХ и цифровой цветометрии : дис. ... канд. хим. наук. / Х. Д. Чан. – Воронеж. 2016. С. 145.

108. Рудаков О.Б., Рудакова Л.В., Кудухова И.Г. [и др.] // Аналитика и контроль. 2012. Т. 16. № 4. С. 368-377.

109. Цыгулёва Э.И., Доронин С.Ю., Рудаков О.Б. Определение α - и β -нафтолов в их смесях с предварительным мицеллярно-экстракционным концентрированием // Сорбционные и хроматографические процессы. 2022. Т.22. № 1. С.79-88.