

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени Н.Г.Чернышевского»

*На правах рукописи*

**СОКОЛОВА ТАТЬЯНА АЛЕКСЕЕВНА**

**МИЦЕЛЛЯРНО-ЭКСТРАКЦИОННОЕ КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ  
И ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ  
п-АМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ**

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

<b>СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ.....</b>	<b>6</b>
<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>8</b>
<b>ГЛАВА 1. Мицеллярная экстракция органических соединений системами на основе ПАВ (обзор литературы).....</b>	<b>14</b>
1.1. Концентрирование аналитов без реакций дериватизации.....	14
1.2. Получение, извлечение и определение окрашенных аналитических форм.....	33
<b>ГЛАВА 2. Методы исследования, аппаратура, реактивы.....</b>	<b>53</b>
2.1. Обоснование и выбор модельных систем.....	53
2.2. Применяемые в работе посуда, реактивы и аппаратура.....	57
2.2.1. Посуда.....	57
2.2.2. Реактивы и материалы.....	57
2.2.2.1. Аналиты и реагенты.....	57
2.2.2.2. Поверхностно-активные вещества.....	58
2.2.2.3. Компоненты буферных систем и другие реактивы.....	59
2.2.3. Аппаратура.....	59
2.2.4. Методики приготовления растворов.....	60
2.3. Методы исследования.....	63
<b>ГЛАВА 3. Спектрофотометрическое исследование реакций взаимодействия <i>n</i>-диметиламинобензальдегида с некоторыми производными <i>n</i>-аминобензойной кислоты в водных средах.....</b>	<b>65</b>
3.1. Состояние исходных реактантов при различных рН.....	65
3.1.1. Реагенты.....	66
3.1.2. Аналиты.....	69
3.2. Особенности образования оснований Шиффа.....	72
3.2.1. Изучение скорости реакций ДМАБА с ариламинами.....	72
3.2.2. Стабильность исследуемых систем.....	73

3.3. Метрологические характеристики спектрофотометрического определения исследуемых аналитов.....	75
<b>ГЛАВА 4. Мицеллярно-экстракционное концентрирование оснований Шиффа исследуемых аналитов с ДМАБА.....</b>	<b>77</b>
4.1. Особенности фазообразования в растворах ПАВ при варьировании природы и концентрации высаливателя.....	78
4.1.1. Система <i>Тритон X-114</i> – <i>NaCl</i> ( <i>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></i> , <i>Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub></i> ).....	79
4.1.2. Влияние концентрации ДДС на примере системы <i>Тритон X-114</i> – <i>NaCl</i> .....	87
4.1.3. Система <i>Тритон X-114</i> – ДДС – <i>NaCl</i> в присутствии цитратного буферного раствора и реактантов.....	88
4.2. Мицеллярно-каталитическое действие анионных ПАВ в исследуемых системах.....	90
4.2.1. Влияние анионных и неионных ПАВ на протолитические свойства реактантов.....	90
4.2.1.1. Аналиты.....	91
4.2.1.2. ДМАБА.....	97
4.2.1.3. Основания Шиффа.....	98
4.2.2. Изучение скорости реакций в смешанных мицеллах Тритона X-114 и ДДС.....	101
4.3. Концентрирование оснований Шиффа мицеллами анионных и неионных ПАВ.....	112
4.3.1. Варьирование концентрации Тритона X-114.....	113
4.3.2. Расчет количественных характеристик мицеллярной экстракции.....	117
<b>ГЛАВА 5. Практическое применение результатов исследований.....</b>	<b>120</b>
5.1. Спектрофотометрическое определение исследуемых аналитов с предварительным АТРС – концентрированием.....	121
5.2. Цветометрическое определение лекарственных производных <i>n</i> АБК ...	124

5.3. Визуально-колориметрическое определение исследуемых аналитов.....	127
5.4. Примеры определения лекарственных производных <i>n</i> АБК в реальных объектах и модели плазмы крови. Оценка правильности результатов.....	128
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	132
<b>ВЫВОДЫ</b> .....	133
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b> .....	136

## СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ

- ААС – атомно-абсорбционная спектрометрия;
- ВА – вольтамперометрия;
- ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;
- ВЭЖХ-МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием;
- ВЭЖХ-МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией;
- ВЭЖХ-УФ – высокоэффективная жидкостная хроматография с фотометрическим детектированием в ультрафиолетовой области;
- ВЭЖХ-ФЛ – высокоэффективная жидкостная хроматография с флуоресцентным детектированием;
- ВЭТСХ – высокоэффективная тонкослойная хроматография;
- Генапол Х-080 – моноалкиловый эфир полиэтиленгликоля;
- ГКР – гигантское комбинационное рассеивание;
- ДДС – додецилсульфат натрия;
- ДМАБА – *n*-диметиламинобензальдегид;
- ДМАКА – *n*-диметиламинокоричный альдегид;
- ДОС – диапазон определяемых содержаний;
- ЖХ-МС – жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием;
- Инк. – инкубация;
- иПАВ – ионные ПАВ;
- ИПХ – ион-парная хроматография;
- ККМ – критическая концентрация мицеллообразования;
- нПАВ – неионные ПАВ;
- НЧ – наночастицы;
- ООС – объекты окружающей среды;
- ОП-10 – полиэтилированный эфир диалкилфенола;
- ОШ – основания Шиффа;

*n*АБК – *para*-аминобензойная кислота;

ПАВ – поверхностно-активные вещества;

ПрО – предел обнаружения;

ПЭГ 6000, ПЭГ 400, ПЭГ 600 – полиэтиленгликоли различной молекулярной массы;

СФЛ – спектрофлуориметрический метод;

СФМ – спектрофотометрический метод;

ТБАБ – тетрабутиламмоний бромид;

УВЭЖХ – ультравысокоэффективная жидкостная хроматография;

УЗ – ультразвук;

УНТ – углеродные нанотрубки;

ЦВ – цветометрический метод;

ЦТАБ – цетилтриметиламмоний бромид;

ЦФ – центрифугирование;

ЯМР – ядерный магнитный резонанс;

ATPS, aqueous biphasic systems, two-phase systems – водная двухфазная система;

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

D – константа распределения;

OFX 0309 – неионный ПАВ, сополимер кремнийорганического полиэфира;

R, % – степень извлечения;

RGO – восстановленный оксид графена;

Sr – относительное стандартное отклонение;

Sylgard 309 – низкомолекулярное неионогенное кремнийорганическое полиэфирное ПАВ;

Tergitol 15-S-7, Tergitol NP-7 – триметилнониловый эфир полиэтиленгликоля.

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность.** Оценка качества лекарственных веществ (подлинность, содержание основного вещества) важна для предотвращения распространения фальсифицированных препаратов. Витаминоподобный антиоксидант – *n*-аминобензойная кислота (*n*АБК, витамин В10, Н1) и её лекарственные производные (сложные эфиры и амиды) широко применяют в медицинской практике как местноанестезирующие (новокаин), антиаритмические (новокаинамид) и противорвотные (церукал) средства.

Необходимость экспрессного и надежного контроля содержания вышеуказанных веществ в биологических средах на уровне нанограммовых количеств обусловлена возникновением побочных эффектов (индивидуальная непереносимость), а также особенностями биотрансформации таких аналитов.

Экспресс-диагностика, а также количественное спектрофотометрическое и/или цветометрическое (современный быстроразвивающийся и простой способ регистрации интенсивности параметров цвета) определение *n*АБК и её лекарственных производных базируется на реакциях конденсации с ароматическими альдегидами (*n*-диметиламинобензальдегидом, ДМАБА или *n*-диметиламинокоричным альдегидом, ДМАКА) с образованием окрашенных аналитических форм – оснований Шиффа (ОШ). Реакции имеют неколичественный выход ОШ (низкая скорость протекания, осложнены побочными процессами и сильно зависят от условий, в том числе рН). Поэтому невозможно определять нанограммовые количества указанных аналитов без предварительного их концентрирования, что вызывает необходимость разработки подходов для улучшения метрологических характеристик методик их фотометрического и цветометрического определения.

Известно, что на скорость и направление реакций оказывают влияние мицеллярные псевдофазы на основе ионных ПАВ, являющихся «нанореакторами». Последние повышают чувствительность аналитических реакций и снижают предел колориметрического определения органических

аналитов. Альтернативой органическим растворителям являются организованные среды на основе неионных ПАВ, которые удовлетворяют принципам зелёной химии: нелетучи, малотоксичны, способны солубилизировать как гидрофобные, так и гидрофильные органические аналиты. Неионные ПАВ способны образовывать мицеллярно-насыщенные фазы с применением CP-методологии, cloud point extraction (под действием температурного фактора) или под действием высаливателей при температуре 20–25 °С (ATPS, aqueous biphasic systems, two-phase systems). Понизить предел обнаружения органических аналитов возможно сочетанием каталитического действия анионных ПАВ (эффект «мицеллярного катализа») с методологией ATPS (эффект «мицеллярной микроэкстракции»), что позволяет получать эффективные экстрагенты – комбинированные мицеллярно-насыщенные фазы неионных и анионных ПАВ.

Настоящая работа и посвящена сочетанию двух вышеуказанных эффектов анионных и неионных ПАВ для определения лекарственных производных *n*АБК в виде их дериватизатов (оснований Шиффа) с пониженным пределом обнаружения.

**Цель исследования** – разработка способов колориметрического определения наногаммовых количеств некоторых лекарственных производных *n*-аминобензойной кислоты с предварительным мицеллярно-экстракционным концентрированием комбинированными системами на основе анионных и неионных ПАВ.

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

1. Спектрофотометрически изучить реакции конденсации *n*АБК (новокаина, новокаинамида, церукала) с *n*-диметиламинобензальдегидом (ДМАБА) в водной среде.

2. Установить закономерности образования мицеллярных фаз неионных ПАВ (Тритон X-114) в изотермическом режиме в присутствии анионных ПАВ (додецилсульфат натрия, ДДС) при варьировании рН, природы высаливателей, ионной силы растворов.

3. Оценить влияние ДДС и его смесей с Тритоном X-114 на скорость взаимодействия исследуемых аналитов с ДМАБА.

4. Оценить возможность применения установленных закономерностей фазообразования в водных растворах неионных и анионных ПАВ в присутствии компонентов исследуемых систем, способность смешанных мицеллярных фаз ПАВ экстрагировать аналитические формы ОШ.

5. Разработать способы колориметрического определения нанограммовых количеств *n*АБК, новокаина, новокаинамида, церукала в лекарственных формах, моделях плазмы крови и водных объектах.

#### **Научная новизна.**

Для колориметрического определения нанограммовых количеств некоторых лекарственных производных *n*АБК *впервые* предложено сочетание двух эффектов: «мицеллярного катализа» анионными ПАВ (ДДС) и «мицеллярной микроэкстракции» неионными ПАВ (Тритон X-114).

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

Разработаны оригинальные способы мицеллярно-экстракционного концентрирования смешанными фазами неионных и анионных ПАВ и спектрофотометрического определения *n*АБК, новокаина, новокаинамида и церукала с пониженным пределом обнаружения. Предложены тест-средства (мицеллярные фазы неионных и анионных ПАВ) для экспресс-определения лекарственных производных *n*АБК с применением цветометрии.

**Практическая значимость.** Мицеллярно-насыщенные фазы систем на основе неионных и анионных ПАВ могут быть применены в качестве эффективных экстрагентов некоторых лекарственных производных *n*АБК как альтернатива токсичным растворителям.

Предложенные экстракционные системы для предварительного концентрирования окрашенных аналитических форм ариламинов с

последующим тест-определением позволили осуществлять их экспресс-оценку на нанограммовом уровне в различных формах лекарственных средств, моделях плазмы крови, водных растворах.

Для каждого из исследуемых аналитов предложен компаратор на основе раствора № 1, включающего ДМАБА, диспергированный в растворах ДДС и Тритона X-114, и раствора № 2, представляющего собой смесь NaCl и компонентов цитратной буферной системы. Этот компаратор позволяет определять лекарственные производные *n*АБК вне лаборатории на уровне нанограммовых содержаний.

#### **Автор выносит на защиту.**

1. Особенности реакций лекарственных производных *n*АБК с ДМАБА в водной среде и в присутствии неионных и анионных ПАВ, их смесях;

2. Результаты исследования фазового поведения систем «аналит – реагент – ПАВ» в изотермическом режиме; закономерности фазообразования в таких системах при варьировании рН, природы высаливателей, концентрации ПАВ и реактантов, ионной силы растворов.

3. Результаты исследования мицеллярно-каталитического действия ДДС на реакцию взаимодействия новокаина с ДМАБА в отсутствие и присутствии Тритона X-114.

4. Результаты мицеллярно-экстракционного концентрирования аналитических форм ОШ, образованных ДМАБА и *n*АБК (новокаином, новокаинамидом, церукалом) фазами неионных и анионных ПАВ для тест-определения аналитов, основанного на обработке цифровых изображений окрашенных зон.

5. Способы колориметрического определения *n*АБК, новокаина, новокаинамида и церукала с предварительным мицеллярно-экстракционным концентрированием анионными и неионными ПАВ в фармацевтических объектах и моделях биологических сред.

**Личный вклад автора** состоит в обсуждении цели и задач исследования, проведении основных экспериментальных и теоретических работ по ключевым

направлениям исследования, анализе и интерпретации полученных результатов, установлении закономерностей, формулировке выводов, написании статей и тезисов докладов, выступлении на научных конференциях. В диссертации обобщены результаты, полученные лично автором и 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 воспроизводимостью результатов при анализе искусственных смесей, биологических сред, реальных объектов.

Основные результаты диссертационной работы представлены на V и VI Всероссийских симпозиумах с международным участием «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар, 2018, 2021), III и IV Всероссийских конференциях по аналитической спектроскопии с международным участием (Краснодар, 2019, 2023), IV съезде аналитиков России (Москва, 2022).

Работа осуществлялась при частичной **финансовой поддержке** Российского научного фонда (РНФ № 22-23-00420).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 18 работ: 6 статей в изданиях, входящих в перечень ВАК, один патент РФ, 5 статей в научных сборниках, 6 тезисов докладов международных и Всероссийских конференций.

**Структура и объём работы.** Диссертация состоит из введения, пяти глав, выводов, библиографического списка, состоящего из 152 наименований. Работа изложена на 155 листах, включает 29 таблиц и 55 рисунков.

**Во введении** обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и задачи исследования, изложены новизна и практическая значимость полученных результатов. **В первой главе** приведен обзор данных литературы по извлечению, концентрированию организованными средами на основе ПАВ и последующему определению органических аналитов с применением и без предварительной стадии их дериватизации в различных объектах. Приведена

схема, демонстрирующая реализацию СР-методологии в этих двух вариантах. Обобщены и представлены в виде диаграмм сведения по органическим анализам, методам их определения и типам применяемых при этом ПАВ. Рассмотрены ферментативная и псевдофазная концепции «мицеллярного катализа», используемые для количественного описания каталитического действия мицелл анионных ПАВ. **Во второй главе** приведено обоснование и выбор модельных систем, а также представлены применяемые в работе аппаратура, посуда, реактивы и методики проводимых исследований. **В третьей главе** приведены результаты спектрофотометрического исследования особенностей взаимодействия *n*-диметиламинобензальдегида с некоторыми производными *n*-аминобензойной кислоты в водной среде. Дана сравнительная оценка метрологических характеристик таких систем, показаны недостатки и установлены причины нецелесообразности их применения в отсутствие органических растворителей или организованных сред ПАВ. **В четвёртой главе** представлены данные по особенностям фазообразования в растворах ПАВ при варьировании природы и концентрации высаливателя, мицеллярно-каталитическому действию анионных ПАВ в исследуемых системах. Приведены количественные характеристики мицеллярно-экстракционного концентрирования аналитических форм оснований Шиффа. **Пятая глава** посвящена практическому применению установленных закономерностей мицеллярно-экстракционного концентрирования аналитических форм оснований Шиффа комбинированными системами на основе неионных и анионных ПАВ для разработки методик спектрофотометрического, визуально-колориметрического и цветометрического их определения в модели плазмы крови и реальных объектах. **В заключении** обсуждается соответствие полученных результатов ранее поставленным задачам и намечены перспективы дальнейших исследований.

# ГЛАВА 1. Мицеллярная экстракция органических соединений системами на основе ПАВ (обзор литературы)

## 1.1. Концентрирование аналитов без реакций дериватизации

Фотометрический анализ органических соединений осложнен неколичественным выходом аналитических форм, что обусловлено низкой скоростью протекания и сложностью механизмов применяемых аналитических реакций. Они, преимущественно, имеют неспецифический характер, осложнены побочными процессами, а также сильно зависят от условий их проведения: рН, температуры, природы растворителя, способа приготовления растворов, концентрации реактантов и т.п. [1].

Для снижения пределов обнаружения органических аналитов, повышения чувствительности и селективности соответствующих реакций применяют различные варианты экстракции для предварительного концентрирования и/или разделения. Одним из эффективных способов модификации реакций органических соединений является проведение их в водно-мицеллярных организованных средах – растворах поверхностно-активных веществ (ПАВ). Их широко применяют для выделения органических и неорганических аналитов при реализации современного альтернативного варианта жидкостной экстракции – экстракции в точке помутнения («cloud point extraction», CP-концентрирование). Данный способ обладает рядом преимуществ по сравнению с традиционной жидкостно-жидкостной экстракцией. Основными его достоинствами являются простота исполнения, дешевизна, а также применение нелетучих, малотоксичных и негорючих ПАВ, вместо классических токсичных растворителей, что соответствует принципам «зелёной химии».

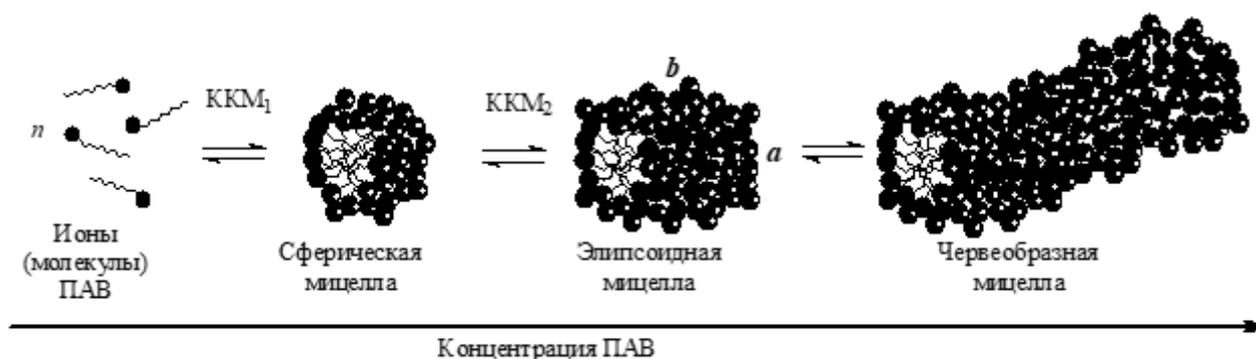
Амфифильные молекулы ПАВ состоят из гидрофобного углеводородного хвоста и гидрофильной полярной головной группы, что позволяет им проявлять поверхностно-активные свойства. Гидрофобный хвост содержит углеводородную цепь (8-20 атомов углерода), и может быть длинным или коротким, линейным или разветвленным, алифатическим, алкильным или

арильным. Углеводородные радикалы имеют низкую полярность и придают молекулам гидрофобные свойства.

Полярная гидрофильная головная группа может быть как ионной, так и неионной, содержать атомы кислорода или азота, сульфатные, карбоксильные и другие функциональные группы, тем самым обеспечивая молекуле ПАВ гидрофильные свойства.

Классификация ПАВ основана на наличии или отсутствии заряда на гидрофильном хвосте: катионные имеют положительно заряженный гидрофильный хвост, анионные – отрицательный, а в неионных гидрофильная группа не имеет заряда, но ее растворимость в воде определяется полярными группами и амфотерными или цвиттерионными молекулами [2, 3].

Рассмотрим кратко СР-методологию. Важнейшей характерной особенностью растворов ПАВ является мицеллообразование. При малой концентрации (домицеллярная область) ПАВ в водных растворах диспергируются в мономерном или димерном состоянии, т.е. существуют в виде отдельных молекул (ионов), которые могут проникать в поверхностный слой воды и понижать ее поверхностное натяжение (рис. 1.1).

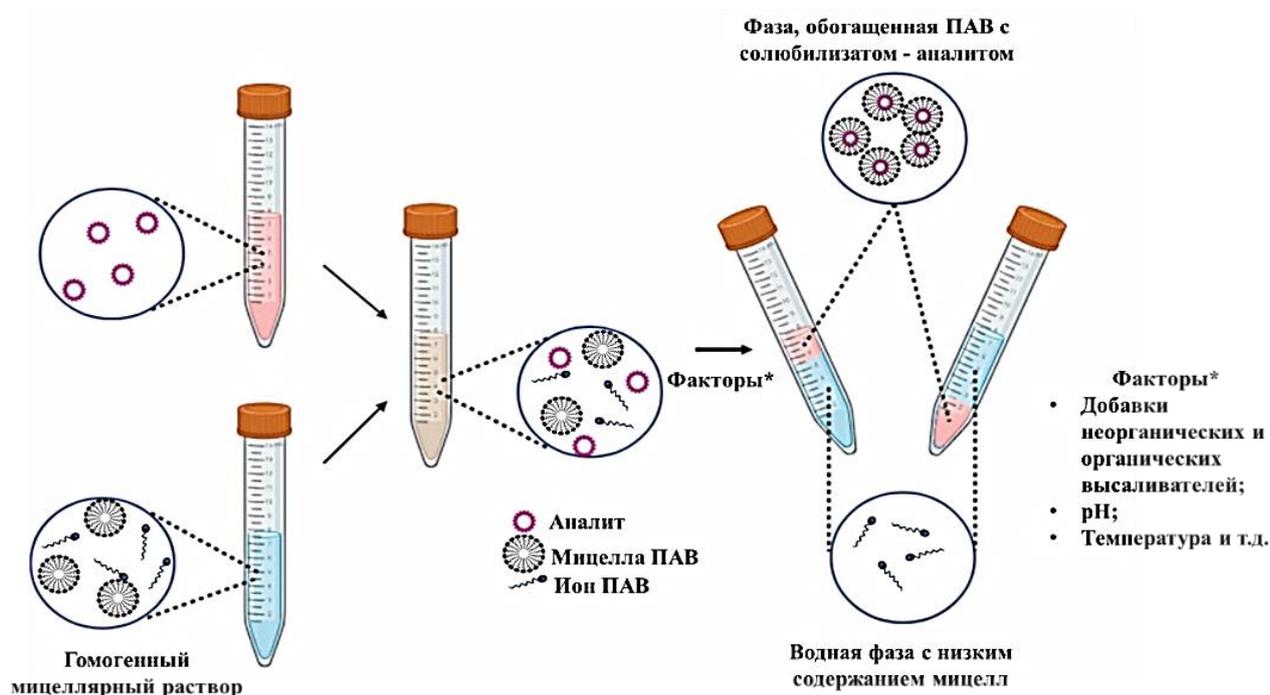


**Рисунок 1.1** – Образование и трансформация мицелл в водном растворе ионного ПАВ [4].

При достижении некоторой пороговой концентрации ПАВ, называемой критической концентрацией мицеллообразования (ККМ) в растворе спонтанно возникают агрегаты, называемые мицеллами, которые состоят из десятков, сотен или даже тысяч мономерных молекул (ионов) [2 – 4]. Эти мицеллы обычно сферической формы образуют монодисперсную фазу – псевдофазу системы

( $C_{ПАВ} \geq ККМ$ ). Гидрофильная поверхность и гидрофобная сердцевина мицелл означает, что они могут химически или физически взаимодействовать как с гидрофильными, так и с липофильными анализируемыми веществами для повышения их растворимости. Солюбилизация в мицеллярных псевдофазах ПАВ обеспечивает изменение микроокружения аналита в мицелле по сравнению с водной средой и, следовательно, химико-аналитических свойств реактантов (кислотно-основных, комплексообразующих, таутомерных, окислительно-восстановительных). Поэтому мицеллы являются нанореакторами, которые способны увеличивать скорость реакций подобно «ферментативному» катализу [5].

Влияние различных факторов (температуры, добавок органических и неорганических высаливателей, рН, микроволнового излучения или ультразвука (УЗ) и т.д.) приводит к увеличению дегидратации мицелл ( $C_{ПАВ} \gg ККМ$ ), что увеличивает гидрофобные взаимодействия между ними и, следовательно, способствует агрегации мицелл. Это приводит к помутнению и разделению гомогенного раствора (рис. 1.2) на две изотропные фазы, процесс которого может быть ускорен центрифугированием или добавкой высаливателей [6].



**Рисунок 1.2** – Схема формирования мицеллярной фазы, насыщенной ПАВ и концентрирования в ней аналита в водных растворах.

Первая фаза – обогащенная ПАВ фаза – содержит бóльшую часть молекул ПАВ и солублизует гидрофобные молекулы, распределенные до фазового разделения по всему объему раствора. Обогащенная ПАВ (водная фаза) содержит остаточные количества экстрагируемых веществ, а также ПАВ с концентрацией до ККМ (рис. 1.2).

Свойство неионных ПАВ (нПАВ) образовывать мицеллы в водной среде при нагревании выше определенной температуры, называемой точкой помутнения (температурой помутнения), или добавлением высаливателей, например, солей при комнатной температуре (явление высаливания) и лежит в основе классической процедуры СР-концентрирования.

Известные способы концентрирования органических аналитов системами на основе ПАВ реализованы в двух вариантах (рис. 1.3). Первый подход основан на СР-концентрировании системами на основе нПАВ окрашенных и неокрашенных немодифицированных форм органических аналитов, т. е. без применения реакций дериватизации. Последние позволяют переводить неокрашенные формы органических аналитов реакциями с различными реагентами в окрашенные. В этом случае возможно применение, наряду с нПАВ, ионных ПАВ (иПАВ). Смешанные мицеллярные системы на основе ионных и неионных ПАВ могут оказывать синергетический эффект на процесс извлечения и концентрирования органических аналитов, который достигается не только за счет СР-концентрирования, но и благодаря «мицеллярному катализу» иПАВ. В данном разделе рассматривается разделение, концентрирование и определение органических аналитов в их немодифицированной форме, без применения реакций дериватизации.

Результаты анализа данных литературы глубиной в 5 лет (табл. 1.1) показывают, что СР-концентрирование может эффективно применяться для разделения и определения различных органических аналитов (фенольных соединений, стойких органических загрязнителей, красителей и т.д.) без стадии их предварительной дериватизации (рис. 1.4) методами хроматографии, спектрофотометрии, спектрофлуориметрии и др. (рис. 1.5).



Рисунок 1.3 – Варианты концентрирования и определения органических аналитов системами на основе ПАВ.

**Таблица 1.1 – СР-концентрирование системами на основе ПАВ для определения органических аналитов без реакций дериватизации**

№ п/п	Аналит / объект (метод)	ПАВ, условия СР	Характеристики		Лит- ра
			ДОС (ПрО), нг/мл	R (D), %	
<b>МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ</b>					
1	Антидепрессанты / плазма крови (ЖХ-МС)	Тритон X-114 (6 масс. %), CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> (10 масс. %), рН = 10.2	10-750	80-95.4	[7]
2	Велпатасвир / плазма крови, моча (СФЛ)	ПЭГ 6000 (5%), НЧ оксида графена (0.0035 г), Со(ОН) <sub>2</sub> (0.0075 г), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.05 М), рН = 7; УЗ 25 мин при 75°C, ЦФ 10 мин. при 5000 об/мин	0.50-45 (0.04)	98-103	[8]
3	Верапамил / моча (ВЭЖХ-МС/МС)	Тритон X-100 (2 масс. %), рН = 9; инк. 30 мин. при 70°C; ЦФ 15 мин. при 4000 об/мин	0.20-50 (0.06)	93.4-99.8 (0.1-4.2)	[9]
4	Изоквертецин / кровь (ВЭЖХ)	Tergitol TMN-6 (0.1 %), <i>n</i> -октанол, NaCl (0.6 масс. %), рН = 4, ЦФ 3 мин при 2800 об/мин	5-500 (1.6)	–	[10]
5	Мефенамовая кислота, напроксен, индометацин / моча (ВЭЖХ)	Тритон X-100 (0.015 М), салициловая (0.015 М) и бензойная кислота (0.03 М)	115-14300 (1610-1790)	–	[11]
6	Нимесулид / моча (ВЭЖХ-МС)	Тритон X-114 или Тритон X-100 (5 мг/мл), рН = 2; инк. 20 мин при 40/70°C, ЦФ 15 мин. при 4000 об/мин	67/83-5000 (20/25)	95-117	[12]
7	Тиаметоксам, клотианидин, имидаклоприд, тиаклоприд / моча (ВЭЖХ-УФ)	Тритон X-114 (1 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , УЗ 3 мин при 25°C, ЦФ 5 мин при 3000 об/мин, хлорид холина (1 М) и фенол (1 М), УЗ 10 мин при 50°C, ЦФ 1 мин при 3000 об/мин	1-1000 (0.3-1)	80-115	[13]
8	Эсзопиклон / кровь (СФМ)	Тритон X-114 (4 масс. %), NaCl (4 масс. %) при рН = 4; инк. 20 мин при 45°C, ЦФ 10 мин при 5000 об/мин	10000-50000 (472.7)	89.8-99.2	[14]
	То же (ВЭЖХ)		500-3000 (83.2)	84.0-99.2	
<b>ОБЪЕКТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ</b>					
9	Азокармин G / вода водопроводная, морская (СФМ)	Тритон X-114 (1.2 масс. %) и натриевая соль докюзата (0.6 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (2.4 масс. %), рН = 4.6; инк. 20 мин при 70°C	0-23180 (4.1)	89.9-106.9	[15]

№ п/п	Аналит / объект (метод)	ПАВ, условия СР	Характеристики		Лит-ра
			ДОС (ПрО), нг/мл	R (D), %	
10	Алкилфенолы; нонилфенол / вода речная, промышленная сточная, водопроводная (ВЭЖХ-ФЛ)	ПЭГ 6000 (4 масс. %), ацетонитрил и Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.6 М), ЦФ 3 мин при 3500 об/мин	0.6-600 (0.17-0.39)	95.2-106	[16]
11	Арсенazo III / радиоактивные сточные воды (СФМ)	Тритон X-100 (0.2 М), NaCl (0.04 М), pH = (1-2); инк. 20 мин при 80°C	–	96-99	[17]
12	Арсенazo (III) / вода прибрежная, водопроводная (СФМ)	Тритон X-114 (2 масс. %), ЦТАБ (0.4 масс. %), NaCl (3.6 масс. %), pH = 7; инк. 20 мин при 70°C	0-31050 (6.4)	90.02-101.03	[18]
	Магдаловый красный / вода водопроводная, озерная (СФМ)	Тритон X-114 (2.2 масс. %), ЦТАБ (0.2 масс. %), NaCl (0.6 масс. %), pH = 7; инк. 20 мин при 70°C	0-16600 (4.96)	86.07-99.46	
13	Ауринтрикарбоновая кислота / вода водопроводная, морская (СФМ)	Тритон X-114 (2.2 масс. %) и ТБАБ (0.4 масс. %), NaCl (1.8 масс. %), pH = 4.4; инк. 20 мин при 70°C, ЦФ 5 мин при 3000 об/мин	8440-84470 (8.14)	83.6-91.8	[19]
14	Бриллиантовый зеленый, фуксин основной / вода минеральная, речная и грунтовая (ЦВ)	Тритон X-114 (0.27 масс. %), pH = 4; инк. 10 мин. при 35°C; ЦФ 10 мин. при 3000 об/мин.	25-2500 (8; 19)	92-96	[20]
15	Галловая кислота, бергенин, квертецин, эмбелин / кустарник ардизия японская (ВЭЖХ)	Genapol X-080 (4 %), NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (35 масс. %), pH = 5; инк. 10 мин при 60°C	400-500000 (10-16)	96.3-100	[21]
16	Гидрохинон, резорцин, катехол, фенол, α-, β-нафтол, бисфенол А, 4-трет-бутилфенол, 4-трет-октилфенол, нонилфенол, октилфенол, 4-п-нонилфенол / вода речная, водопроводная (ВЭЖХ)	Tergitol 15-S-7 (2 %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.55 М), pH = 6; инк. 10 мин при 50°C, ЦФ 10 мин при 3500 об/мин	0.1-1855 (0.03-85)	88.7-106	[22]
17	Дезоксиноиримицин, хлорогеновая кислота, рутин, изокверцитрин, астрагалин / листья шелковицы (ВЭЖХ)	Тритон X-114 (3 %), HCl (0.05 М), УЗ 45 мин. при 360 Вт, ЦФ 20 мин при 5000 об/мин	(0.88-8.12 мг/г)	86-89	[23]
18	Диэтилгексилфталат, дибутилфталат / вода речная (СФМ)	ПЭГ (0.1 %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1.5 М), инк. 20 мин при 50°C, ЦФ 20 мин при 4000 об/мин	1-500	82-98	[24]
19	Лютеин, зеаксантин, ликопин, α-, β-каротин, криптоксантин / сточные воды (СФМ)	Лецитин (2 %), NaCl (36.5 масс. %), pH = 3.5; инк. 20 мин при 45°C, ЦФ 5 мин при 4500 об/мин	–	98.5	[25]

№ п/п	Аналит / объект (метод)	ПАВ, условия СР	Характеристики		Лит-ра
			ДОС (ПрО), нг/мл	R (D), %	
20	Кислотный синий / вода водопроводная, минеральная, колодезная (СФМ)	Тритон X-114 (0.5 %), pH = 5; перемеш. 1 мин при 25°C; ЦФ 10 мин. при 3500 об/мин	400-10000 (350)	–	[26]
21	Клотианидин, имидаклоприд, ацетамиприд, тиаметоксам, тиаклоприд / вода поверхностная (ВЭЖХ-УФ)	Тритон X-114 (1.25 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (5 масс. %), УЗ инк. 3 мин при 30°C, ЦФ 10 мин при 4000 об/мин	5-700 (0.3-2)	60.1-117.6	[27]
22	Малахитовый зеленый / вода водопроводная, озерная (ГКР)	НЧ Ag (0.03 мг/л), Тритон X-114 (0.15 масс. %), NaCl (0.02 М), pH = 4.5; инк. 30 мин при 40°C, ЦФ 10 мин при 1500 об/мин	0.0365-1.82 (0.011)	–	[28]
23	Мелдола синий / вода водопроводная, морская (СФМ)	Тритон X-114 (2 масс. %), докузат натрия (0.4 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (2.4 масс. %), pH = 4.5; инк. 25 мин. при 70°C	0-11170 (3.11)	85.8-93.1	[29]
24	Метилфенол / вода речная, морская, водопроводная, озерная (ВЭЖХ)	Sylgard 309 (0.2 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.03 М), 1-бутил-3-метилимидазолийбромид и тетранатрий N, N-бис (карбоксиметил)глутаминовая кислота (0.2 %)	50	80-99	[30]
25	Оксипаэонифлорин, альбифлорин, пеонин, пасонифлорин / цветки пеонии суффрутикозы (УВЭЖХ)	Genapol X-080 (0.4 масс. %), бромированная соль 1-октил-3-метилимидазола и NaPF <sub>6</sub> (0.5 масс. %), pH = 6; ЦФ 3 мин при 10000 об/мин	0.1-100 (0.1)	91.4-98.3	[31]
26	Полифенолы / плоды растения каму-каму (ВЭЖХ)	Тритон X-114 (7 масс. %), pH = 3.25; T = 30°C	–	95.7	[32]
27	Direct Green / вода водопроводная, колодезная и речная (СФМ)	Тритон X-100 (20 %), pH = 3; УНТ (0.7 мг), инк. 40 мин. при 80°C	–	94-96	[33]
28	Пуэрарин, дайдзин, генистеин, дайдзеин, генистин, формонетин / растение пуэрария дольчатая (ВЭЖХ)	Тритон X-100 (0.06 г/мл), NaCl (1 М), инк. 40 мин при 70°C, ЦФ 5 мин при 3500 об/мин	(15.2-30.7)	–	[34]
29	Рифампицин / вода сточная (СФМ)	Тритон X-100 (2.5 %), NaCl (0.4 М), pH = 9; инк. 5 мин при 65°C, ЦФ 5 мин при 3500 об/мин	3540-81410 (1261)	99.2	[35]
30	Родамин В / вода (СФМ)	Tergitol NP-7 (0.5 % масс.), pH = 2.5; 30 мин. при 25°C; ЦФ 4 мин при 4000 об/мин	50-5000 (0.7)	–	[36]
31	Сафранин Г / вода водопроводная, речная, сточная (СФМ)	Тритон X-114 (0.05 %), ДДС (0.03 мМ), NaCl (0.6 масс. %), pH = 8; инк. 10 мин. при 50°C; ЦФ 5 мин. при 4000 об/мин	4-200 (1.14)	98.7-103.5	[37]

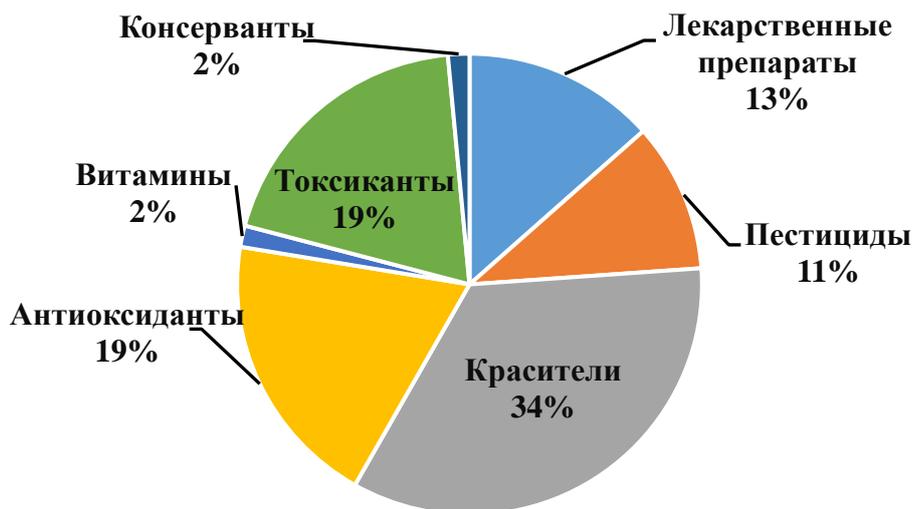
№ п/п	Аналит / объект (метод)	ПАВ, условия СР	Характеристики		Лит-ра
			ДОС (ПрО), нг/мл	R (D), %	
32	Спиротетрамат / поверхностные воды (ВЭЖХ-УФ)	Тритон X-114 (1.68 %), pH = 8.5; инк. 20 мин при 35°C, ЦФ 10 мин. при 4000 об/мин	500-40000 (80)	96-98	[38]
33	Тетрабромбисфенол А, гексабромциклододекан, 1,2-бис(2,4,6-трибромфенокси)этан, декабромдифенилэтан, полибромированные дифениловые эфиры / вода природная и сточная (ВЭЖХ-МС/МС)	Тритон X-114 (1 г/л), NH <sub>4</sub> OAc (0.5 M), инк. 10 мин. при 40°C	0.5-200 (0.0003-0.003)	92.9-113.6	[39]
34	Тиаметоксам, клотианидин, имидаклоприд, тиаклоприд / вода, почва (ВЭЖХ-УФ)	Тритон X-114 (1 масс.%), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , УЗ 3 мин при 25°C, ЦФ 5 мин при 3000 об/мин, хлорид холина (1 M) и фенол (1 M), УЗ 10 мин при 50°C, ЦФ 1 мин при 3000 об/мин	1-1000 (0.3-1)	80-115	[13]
35	Фенантрен / почва (ВЭЖХ)	Бридж 30 (15 г/л), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.6 M)	–	58-88	[40]
36	Фенол / вода водопродовная, морская, озерная (СФМ)	Triton X-100 / β-циклодекстрин (7 масс. % / 20 мг/л), NaOH (1 масс. %), pH = 7; инк. 15 мин при 50°C, ЦФ 20 мин. при 4000 об/мин	1000-3000	91.9-116.1	[41]
37	Фенол, <i>o</i> -, <i>m</i> -, <i>p</i> -крезол, 2,4-диметилфенол / вода водопродовная, речная (ВЭЖХ-УФ)	Tergitol 15-S-7 (2 %), <i>n</i> -пентанол и Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.2 M), pH = 4; ЦФ 5 мин при 3000 об/мин	0.25-480 (0.061-0.166)	85.6-108	[42]
38	Фенол, 2-хлорфенол, 2,4-дихлорфенол, 2,4,6-трихлорфенол / вода (СФМ)	Tergitol 15-S-7 (2 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.1 M) и <i>n</i> -пентанола, pH = 4; ЦФ 10 мин при 3500 об/мин	500-20000 (275-419)	90-109	[43]
39	Фенолы / вода сточная (ВЭЖХ)	Genapol X-080, Тритон X-100 и Твин-80 (10 масс. %), инк. 30 мин при 70°C, pH = 2	–	63-68	[44]
40	Феносафранин / вода водопродовная, морская (СФМ)	Тритон X-114 (2 масс. %) и ДДС (0.12 масс. %), NaCl (1.8 масс. %), pH = 4; инк. 20 мин при 70°C, ЦФ 10 мин. при 3500 об/мин	0-9684 (2.272)	99.9	[45]
41	Феруловая кислота, хлорогеновая кислота, кофейная кислота / цветки одуванчика (ВЭЖХ)	Тритон X-114 (5 масс. %), NaCl (10 масс. %), pH = 3.5; УЗ 5 мин., инк. 30 мин при 60°C, ЦФ 5 мин при 4000 об/мин	150-26200 (5-8)	81-96	[46]

№ п/п	Аналит / объект (метод)	ПАВ, условия СР	Характеристики		Лит-ра
			ДОС (ПрО), мг/мл	R (D), %	
42	Катехин, дигидромирицетин, флавоноиды / кустарник бересклет крылатый (ВЭЖХ-УФ)	ПЭГ-400 (16 масс. %), (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , pH = 3.5; УЗ инк. 10 мин при 75°C, ЦФ 5 мин при 4000 об/мин	0.377-3.146 мг/г	100.6	[47]
43	Цианазин, метрибузин, десметрин, атразин, тербуметон, тербутилазин / почва (ВЭЖХ)	Тритон X-114 (3 %), NaCl (25 масс. %), инк. 20 мин при 60°C, ЦФ 3 мин. при 4000 об/мин	1-250 мкг/кг (0.26-1.71 мкг/кг)	80.3-98.3	[48]
44	Эзопиклон / водопроводная вода (СФМ)	Тритон X-114 (4 масс. %), NaCl (4 масс. %) при pH = 4; инк. 20 мин при 45°C, ЦФ 10 мин при 5000 об/мин	10000-50000 (472.7)	89.8-99.2	[14]
	То же (ВЭЖХ)		500-3000 (83.2)	84.0-99.2	
<b>ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ</b>					
45	Атразин, пропазин / молоко (СФМ)	OFX 0309 (0.4 %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (2 М), pH = 5; УЗ 6 мин, инк. 15 мин при 50°C, ЦФ 10 мин при 3500 об/мин	5-2000 (1.06; 1.22)	81-108	[49]
46	Бетаин / свекловичная патока меласса (ВЭЖХ-УФ)	Тритон X-114 (0.5 % масс.), NaCl (1 % масс.); pH = 6; перемеш. 150 об/мин 30 мин, инк. 20 мин при 40°C	–	80	[50]
47	β-Каротин / апельсиновый и яблочный соки (СФМ)	Тритон X-110 (2 %), pH = 8; инк. 3 мин. при 70°C	40-10000 (10)	100.2	[51]
48	Гидрохинон, резорцин, катехол, фенол, α-, β-нафтол, бисфенол А, 4-трет-бутилфенол, 4-трет-октилфенол, нонилфенол, октилфенол, 4-п-нонилфенол / вода бутилированная питьевая (ВЭЖХ-УФ)	Tergitol 15-S-7 (2 %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.55 М), pH = 6; инк. 10 мин при 50°C, ЦФ 10 мин при 3500 об/мин	0.1-1855 (0.03-85)	88.7-106	[22]
49	Желтый «солнечный закат» Е 110 / порошкообразные напитки (СФМ)	Бридж 58 (2 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (20 масс. %), pH = (6-8); инк. 15 мин. при 70°C; ЦФ 5 мин. при 4000 об/мин	10-4000 (7.8)	99.6	[52]
50	Желтый «солнечный закат» Е 110 / безалкогольные напитки, желе (СФЛ)	Тритон X-35 (10 масс. %), RGO-Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	30-5000 (9)	89-102	[53]
51	Квертецин / лук, томаты, яблочный, апельсиновый сок (СФМ)	Тритон X-114 (5 %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (5 %), pH = 6.5; инк. 10 мин. при 40°C, ЦФ 6 мин. при 5000 об/мин.	10-100 (2.2)	87-94	[54]

№ п/п	Аналит / объект (метод)	ПАВ, условия СР	Характеристики		Лит-ра
			ДОС (ПрО), нг/мл	R (D), %	
52	Кофеин, теofilлин, теобромин / листья зеленого чая (ВЭТСХ)	Genapol X-080 (20 %); УЗ 60 мин. при 42°C, ЦФ 10 мин при 3000 об/мин, инк. 30 мин при 60°C	200000-800000 (55000-63000)	80-120	[55]
53	Красный очаровательный АС Е 129 / энергетические напитки, конфеты, сироп, желе, порошкообразные напитки (СФМ)	Tergitol NP-7 (1 масс. %), H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.2 М), NaCl (0.06 М), инк. 20 мин. при 30°C, ЦФ 5 мин. при 3500 об/мин	0-6000 (3)	–	[56]
54	Красный очаровательный АС Е 129, кармуазин Е 122 / желе, конфеты, безалкогольные напитки, пастила (СФМ)	Тритон Х-100 (5 масс. %), рН = 5; NaCl (15 масс. %), инк. 20 мин. при 60°C; ЦФ 5 мин. при 4000 об/мин	50-2000 (15; 16)	92-105	[57]
55	Меламин / молоко, йогурт, сухое молоко (ИПХ)	Тритон Х-114 (5 %), NaCl (1 %), муравьиная к-та рН = 2.16; инк. 6 мин. при 40 °С, ЦФ 5 мин при 10000 об/мин	2-8000 (0.57)	92.6-95.8	[58]
56	Метилпарабен, этилпарабен, пропилпарабен, бензилпарабен / вода, сок, сироп (ВЭЖХ-УФ)	Sylgard 309 (0.4 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.075 М), рН = 7, УЗ 5 мин	200-1000 (10-20)	68.5-119.3	[59]
57	Метилпартатион / мёд (ВА)	Тритон Х-100 (0.75 %), NaCl (1 %), инк. 30 мин при 70°C, ЦФ 10 мин при 8000 об/мин	33-530 (1.6)	94-106	[60]
58	Полифенолы - эквивалент галловой кислоты, флавоноиды – эквивалент квертецина / кожура граната (СФМ)	Тритон Х-100 (8 %), рН = 4.5; NaCl (14 масс. %), УЗ 40кГц при 60°C; инк. 30 мин. при 55°C; ЦФ 10 мин. при 12000 об/мин	(96.28 и 12.27 мг/г)	–	[61]
59	Понсо 4R Е 124 / напитки (СФМ)	Тритон Х-114 / Бридж-56 (0.1 М), ЦПХ (0.2 мМ), NaCl (0.15/0.2 М), рН = 3; инк. 20/30-мин. при 50/70°C	50-1700 (25/60)	–	[62]
60	Тартразин Е 102 / конфеты и безалкогольные напитки (СФМ)	Твин 20 (4 %), Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1.5 М), рН = 10; инк. 20 мин при 30°C	1000-12000 (880)	–	[63]
61	Тартразин Е 102, индигокармин Е 132 / фруктовые конфеты, фруктовое желе, порошкообразный напиток (СФМ)	Бридж 58 (0.75 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (20 масс. %), рН = 5.5; инк. 2 мин при 25°C, ЦФ 5 мин. при 4000 об/мин	40-2500 (4.6; 21.3)	98.2-104.9	[64]
62	Тетрациклин / куриное мясо, печень, молоко (ВЭЖХ)	ПЭГ-600 (0.8 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (4.5 масс. %), рН = 5; инк. 50 мин. при 50°C, ЦФ 5 мин. при 4000 об/мин.	30-500 (9.56)	–	[65]

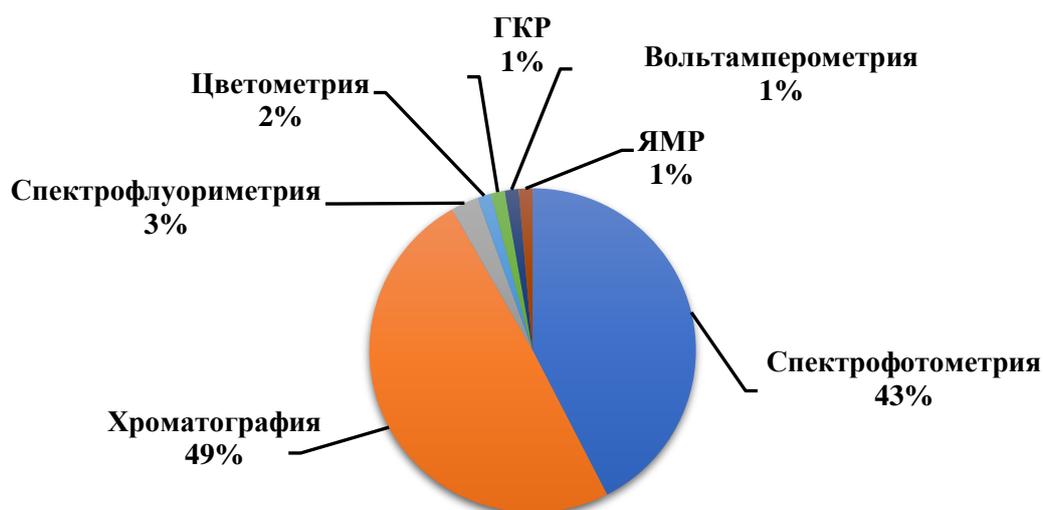
№ п/п	Аналит / объект (метод)	ПАВ, условия СР	Характеристики		Лит-ра
			ДОС (ПрО), нг/мл	R (D), %	
63	Тиабендазол / томаты (ВЭЖХ)	Tergitol (19 %), NaCl (0.83 г), УЗ 15 мин при 36°C, ЦФ 10 мин при 5000 об/мин	(5.4)	80.7-115.1	[66]
64	Филлохинон, менахинон-4, менадион / салат айсберг, эскароль, ромен, кресс-салат, пастернак, репа, морковь, шпинат, капуста (ЖХ-МС)	Тритон X-45, инк. 20 сек. при 50°C	1-500 (0.8-16 нг/г)	90-114	[67]
65	Хинолиновый желтый Е 104 / порошкообразные напитки, фруктовые конфеты и мармеладное желе (СФМ)	Бридж-58 (1 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , (20 масс. %), pH = 7; инк.10 мин. при 60°C, ЦФ 5 мин. при 4000 об/мин	30-5560 (1.9)	97.1-102.3	[68]
66	Эсзопиклон / молоко (СФМ)	Тритон X-114 (4 масс. %), NaCl (4 масс. %) при pH = 4; инк. 20 мин при 45°C, ЦФ 10 мин при 5000 об/мин	10000-50000 (472.7)	89.8-99.2	[14]
	То же (ВЭЖХ)		500-3000 (83.2)	84.0-99.2	
<b>ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ОБЪКТЫ</b>					
67	Велпатасвир (СФЛ)	ПЭГ 6000 (5 %), НЧ оксида графена (0.0035 г), Со(ОН) <sub>2</sub> (0.0075 г), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.05 М), pH = 7; УЗ 25 мин при 75°C, ЦФ 10 мин. при 5000 об/мин	0.5-45 (0.04)	98-103	[8]
68	Желтый «солнечный закат» Е 110 (СФМ)	Бридж 58 (2 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (20 масс. %), pH = (6-8); инк. 15 мин. при 70°C; ЦФ 5 мин. при 4000 об/мин	10-4000 (7.8)	99.6	[52]
69	Желтый «солнечный закат» Е 110 / витамин С (СФЛ)	Тритон X-35 (10 масс. %), RGO-Со <sub>3</sub> О <sub>4</sub>	30-5000 (9)	89-102	[53]
70	Метилпарабен, этилпарабен, пропилпарабен, бензилпарабен (ВЭЖХ-УФ)	Sylgard 309 (0.4 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.075 М), pH = 7, УЗ 5 мин	200-1000 (10-20)	68.5-119.3	[59]
71	Рутин / экстракт лекарственных растений (ВЭЖХ)	1-бутил-3-метилимидазолия гексафторфосфат/Тритон X-114 = 2:23 (0.16 %), NaCl (0.0003 г/мл), pH = 3; инк. 10 мин при комн. темп., ЦФ 10 мин при 4000 об/мин	5-800 (0.26)	92.1-98.9	[69]
	Нарциссозид / экстракт лекарственных растений (ВЭЖХ)		4-4000 (0.3)		
72	Хинолиновый желтый Е 104 (СФМ)	Бридж-58 (1 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , (20 масс. %), pH = 7; инк.10 мин. при 60°C, ЦФ 5 мин. при 4000 об/мин	30-5560 (1.9)	97.1-102.3	[68]

№ п/п	Аналит / объект (метод)	ПАВ, условия СР	Характеристики		Лит-ра
			ДОС (ПрО), нг/мл	R (D), %	
73	Эритрозин Е 127, хинолиновый желтый Е 104, индигокармин Е 132 (СФМ)	Тритон Х-100 (0.2 М), ЦТАБ (0.001 М), NaCl (0.48 М), рН = 4; инк. 30 мин. при 70°C	300-6000 (31000-57000)	90.4-105.5	[70]
<b>ДРУГИЕ ОБЪЕКТЫ</b>					
74	Абсорбент УФ-излучения - UV-531, UV-326, UV-328 / упаковка пищевых продуктов (ВЭЖХ-УФ)	Ментол: жирная кислота (C <sub>9</sub> ) = 3:1 с доб. NaOH (0.05 М), HCl (0.05 М)	1000-100000 (50-160)	82.2-103.4	[71]
75	Бемацид красный / водный раствор (СФМ)	Тритон Х-100 (10 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (10 масс. %) и тиоцианата-триоктилметиламмония и гидрогенофосфата- триоктилметиламмония (0.01%), рН = 8	–	100	[72]
76	Метилпарабен, этилпарабен, пропилпарабен, бензилпарабен / средства личной гигиены (ВЭЖХ-УФ)	Sylgard 309 (0.4 масс. %), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.075 М), рН = 7, УЗ 5 мин	200-1000 (10-20)	68.5-119.3	[60]
77	Реактивный черный / водный раствор (СФМ)	Тритон Х-114 (0.1 М), инк. 30 мин при 60°C	–	98	[73]
78	Родамин В / губная помада, антифриз (СФМ)	Тергитол NP-7 (0.5 % масс.), рН = 2.5; 30 мин. при 25°C; ЦФ 4 мин при 4000 об/мин	50-5000 (0.7)		[36]
79	Фенол / водный раствор (ЯМР)	Плюроники PE6200 и PE6400	–	80	[74]
80	Ципрофлоксацин / водный раствор (ВЭЖХ)	Тритон Х-114 (5 %), рН = 2; Т = 45°C	500-10000	60-84	[75]
	Левифлоксацин / водный раствор (ВЭЖХ)	Тритон Х-114 (9 %), NaCl (4 %), рН = 2; Т = 60°C	200-10000		
	Моксифлоксацин / водный раствор (ВЭЖХ)	Тритон Х-114 (9 %), NaCl (6.5 %), рН = 2; Т = 49°C	200-10000		



**Рисунок 1.4** – Распределение числа публикаций по определяемым органическим анализам в различных объектах.

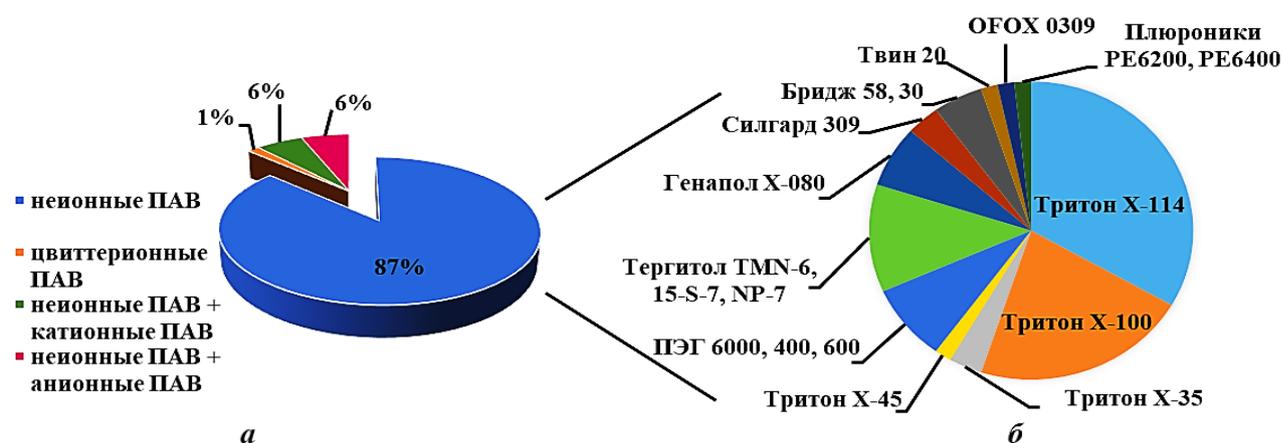
Хроматографические способы определения органических аналитов представлены преимущественно высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ) (№№ 3 – 8, 10, 15 – 17, 21, 24, 25 – 26, 28, 32 – 35, 37, 39, 41 – 44, 46, 48, 56, 62, 63, 66, 70, 71, 74, 76, 80, табл. 1.1). Единичные работы посвящены их определению методами жидкостной хроматографии с масс-детектированием (ЖХ-МС) (№ 1, 64, табл. 1.1), ион-парной хроматографии (ИПХ) (№ 55, табл. 1.1) и высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) (№ 52, табл. 1.1).



**Рисунок 1.5** – Диаграмма распределения числа публикаций по методам определения органических аналитов системами на основе ПАВ без применения реакций дериватизации.

Спектрофотометрическое определение окрашенных органических аналитов реализовано для триарилметановых, ксантановых, хинолиновых, индигоидных, флуороновых, диазиновых и азокрасителей или на примере природных органических пигментов.

Для формирования мицеллярных фаз при СР-концентрировании органических соединений без стадии их предварительной дериватизации преимущественно применяют неионные ПАВ (рис. 1.6, *a*).



**Рисунок 1.6** – Диаграмма распределения по типам применяемых ПАВ для СР-концентрирования органических аналитов системами на основе ПАВ без применения реакций дериватизации (*a*) и представителям нПАВ (*б*).

Из них наиболее часто применяют оксиэтилированные алкилфенолы с общей формулой  $RO(CH_2CH_2O)_nH$  (рис. 1.6, *б*), такие как Тритон X-114 – полиоксиэтилен-7,5-октилфеноксифир (№№ 1, 6 – 8, 14, 17, 20 – 22, 26, 32 – 34, 41, 43 – 44, 46, 51, 55, 66, 71, 77, 80, табл. 1.1) и Тритон X-100 – полиоксиэтилен-9,5-октилфеноксифир (№№ 3, 5 – 6, 11, 27 – 29, 36, 47, 54, 57 – 58, 75, табл. 1.1).

Вышеуказанные нПАВ имеют низкую температуру помутнения, высокую плотность обогащенной ПАВ фазы, а также низкую коммерческую стоимость и токсичность, вследствие чего широко используются как в промышленности, так и в фундаментальных исследованиях для солубилизации мембраносвязанных ферментов, в качестве бытовых моющих средств и эмульгаторов. Реже применяют полиэтиленгликоли (ПЭГ) различной молекулярной массы (№№ 2, 10, 18, 42, 62, 67, табл. 1.1), полиоксиэтиленовые эфиры вторичных спиртов:

триметилнониловый – Тергитол (№№ 4, 16, 30, 37 – 38, 48, 53, 63, 78, табл. 1.1) и моноалкиловый – Генапол X-080 (№№ 15, 25, 39, 52, табл. 1.1) эфиры полиэтиленгликоля.

Небольшое число публикаций представлено авторами с применением смешанных мицелл ПАВ (рис.1.6, *a*). Они образуются при сочетании различных видов ПАВ, таких как неионогенные и аПАВ (№№ 9, 23, 31, 40, табл. 1.1), или неионогенные и кПАВ (№№ 12, 13, 59, 73, табл. 1.1), и обладают уникальными свойствами, повышающими степень извлечения и концентрирования аналитов.

Среди медико-биологических объектов с помощью СР-концентрирования системами на основе ПАВ наилучшие метрологические характеристики достигаются при определении велпатасвира и верапамила в плазме крови и моче. Так, авторами (№ 2, табл. 1.1) предложен спектрофлуориметрический метод определения препарата для лечения хронического вирусного гепатита С – велпатасвира. Метод основан на дисперсионной твердофазной экстракции с использованием восстановленного оксида графена, наночастиц (НЧ) гидроксида кобальта и СР-экстракции с использованием ПЭГ 6000 в качестве нПАВ. Восстановленный оксид графена и НЧ  $\text{Co}(\text{OH})_2$  использовались в качестве адсорбентов для предварительного концентрирования и отделения велпатасвира от различных матриц. Они обладают важными свойствами, влияющими на эффективность адсорбции, а именно имеют относительно большую площадь поверхности и большое количество активных центров, что приводит к высокой адсорбционной емкости и эффективности, а также легко отделяются от раствора даже при использовании очень малого их количества. Флуориметрическое определение проводили при длине волны возбуждения 350 нм и длине волны излучения 415 нм. В оптимальных условиях получена линейная калибровочная кривая в диапазоне 0.50 – 45 нг/мл. Пределы обнаружения и количественной оценки составили 0.040 и 0.112 нг/мл соответственно. Этот метод успешно применен для определения указанного лекарственного средства в таблетках и биологических жидкостях в присутствии

других распространенных совместно назначаемых препаратов, таких как софосбувир, рибавирин и ингибиторов протонной помпы.

Низкие концентрации верапамила в биологических жидкостях затрудняют его определение прямыми хроматографическими методами без предварительного концентрирования. С учетом вышесказанного авторами (№ 3, табл. 1.1) предложен способ определения верапамила в моче методом ВЭЖХ с тандемно масс-спектрометрическим детектированием. Результаты показали, что чувствительность, метрологические характеристики ( $PrO = 0.06$  нг/мл), экологическая безопасность, простота и удобство предложенной методики превосходят ее аналоги, основанные на экстракции органическими растворителями.

Объекты окружающей среды (ООС) занимают лидирующие позиции по количеству определяемых в них органических аналитов с предварительным СР-концентрированием. Так, алкилфенолы привлекают все большее внимание исследователей из-за их широкого применения в обрабатывающей промышленности, сельском хозяйстве и быту, а также их высокой токсичности. Они разрушают эндокринную систему, а нонилфенол и октилфенол включены агентством по охране окружающей среды США в список приоритетных загрязнителей. Для экстракции девяти алкилфенолов из проб воды использовали сочетание СР-концентрирования и ВЭЖХ с флуоресцентным детектором (№ 10, табл. 1.1). Однако, в данной работе реализован усовершенствованный метод – быстрая синергетическая СР-экстракция с применением ацетонитрила, который, с одной стороны, в комбинации с  $Na_2SO_4$  снижает температуру точки помутнения, а с другой стороны, решает проблему высокой вязкости образующейся обогащенной ПАВ фазы. Предлагаемый способ прост, чувствителен ( $PrO$  от 0.17 до 0.39 нг/мл), экономичен и безвреден для ООС.

Применение НЧ серебра (№ 22, табл. 1.1) позволило одновременно осуществить предварительное концентрирование малахитового зеленого и создать субстрат для спектроскопии комбинационного рассеяния с усиленной поверхностью для быстрого выделения и обнаружения данного красителя в

образцах ООС. Данный способ характеризуется широким ДОС (0.0365 – 1.82 нг/мл) и низким ПрО (0.011 нг/мл).

Авторами (№ 33, табл. 1.1) разработана новая и эффективная методология для определения бромированных антипиренов в пробах воды с использованием СР-концентрирования в сочетании с обратной экстракцией при помощи ультразвука перед определением методом ВЭЖХ с масс-спектрометрией химической ионизации при атмосферном давлении. Использование метода обратной экстракции привело к эффективному устранению матричного влияния. Разработанный метод относится к наиболее чувствительным, представленным в литературе (ПрО = 0.0003 – 0.003 нг/мл).

Для экстракции и определения фенольных соединений таких как фенол, *o*-, *m*- и *p*-крезол, а также 2,4-диметилфенол, разработан метод быстрой синергетической мицеллярной экстракции в сочетании с ВЭЖХ-УФ детектированием (№ 37, табл. 1.1). Эти высокополярные фенольные соединения были выбраны в качестве целевых веществ, поскольку они высокотоксичны и широко распространены в ООС, однако их обнаружение ограничено низкой эффективностью способов предварительной экстракции, в том числе и СР-концентрирования. В представленном варианте точка помутнения достигается при комнатной температуре с добавлением ревульсанта и синергетического реагента, в качестве которого использован *n*-пентанол. Предложенный подход характеризуется высокими значениями коэффициентов извлечения (85.6 – 108 %) и низким ПрО (0.061 – 0.166 нг/мл).

Как правило, образцы почв не могут быть непосредственно проанализированы без некоторой предварительной подготовки, поскольку загрязняющие вещества могут сильно адсорбироваться почвой. Обычно для извлечения органических загрязнителей из образцов почв применяют органические растворители. Экстракция с помощью микроволн является более эффективным методом извлечения органических соединений из различных твердых матриц. Хотя время экстракции и расход растворителя сокращаются, в

большинстве методов в качестве экстрагента по-прежнему используют органические растворители.

Предложена экстракция на основе мицеллярных сред в сочетании с микроволновым воздействием. Авторами (№ 43, табл. 1.1) разработана комбинация динамической микроволновой СР-экстракции на основе мицелл нПАВ для определения триазиновых гербицидов в почве сельскохозяйственного назначения. При этом экстракционный растворитель – водный раствор нПАВ (Тритон X-114) – непрерывно прокачивался через экстракционный сосуд для предотвращения разложения и загрязнения анализируемых веществ. Это позволило достичь высоких значений коэффициентов извлечения (80.3 – 90.3 %) и определять гербициды триазинового ряда в почве на уровне 0.26 – 1.71 мкг/кг.

Использование ПАВ, не содержащих бензольных колец, позволяет избежать ультравысокочастотных/флуоресцентных помех при ВЭЖХ анализе. Так, разработан метод СР-концентрирования в сочетании с ВЭЖХ и флуоресцентной детекцией для одновременного концентрирования, разделения и определения 12 флуоресцентных фенольных соединений в пробах воды (№ 48, табл. 1.1), значения ПрО которых находятся в интервале 0.03 – 85 нг/мл. В качестве нПАВ применяли вторичный этоксилированный спирт без ароматического кольца Тергитол 15-S-7, который можно использовать непосредственно для ВЭЖХ, не мешая обнаружению.

Авторами (№ 71, табл. 1.1) предложена новая технология контроля качества и обнаружения активных компонентов (рутина и нарциссозида) из водного экстракта лекарственных растений, который применяют для лечения острого и хронического гепатита. Для этого реализована СР-экстракция с добавлением ионной жидкости (1-бутил-3-метилимидазолия гексафторфосфата) для улучшения экстрагирующей способности ПАВ и устранения матричного эффекта в сочетании с экономичным, простым, точным и стабильным ВЭЖХ определением флавоноидов. Пределы обнаружения рутина и нарциссозида данным способом составили 0.26 и 0.30 нг/мл соответственно, коэффициенты извлечения находятся в интервале 92.1 – 98.9 %.

Разработан способ спектрофотометрического определения в образцах антифриза, губной помады и воды родамина В (№ 78, табл. 1.1) – амфотерного, хорошо растворимого в воде, нелетучего флуоресцентного красителя ряда ксантенов. Он широко используется для придания флуоресцентного фиолетового цвета безалкогольным напиткам, бумаге, коже, чернилам, пищевым продуктам, шелку, хлопку, акриловому волокну, шерсти, промышленным и косметическим изделиям. Предложенный вариант характеризуется низким пределом обнаружения (0.7 нг/мл) и позволяет количественно извлекать краситель из водных сред.

## **1.2. Получение, извлечение и определение окрашенных аналитических форм**

Ранее на рис. 1.3 (стр. 18) представлена схема, демонстрирующая реализацию СР-методологии в двух вариантах. Первый подход основан на распределении в водно-мицеллярных системах окрашенных и неокрашенных немодифицированных форм органических аналитов, т. е. без применения реакций дериватизации. Последние преобразуют аналиты в соответствующие производные с новыми специфическими химическими свойствами, которые могут быть использованы для разделения, концентрирования и количественного определения компонентов в различных матрицах. Так, например, реакциями дериватизации можно перевести неокрашенные формы органических аналитов в окрашенные, что важно для тест- и фотометрического их определения. В этом случае возможно применение, наряду с нПАВ, ионных ПАВ. Смешанные мицеллярные системы на основе ионных и неионных ПАВ могут оказывать синергетический эффект на процесс извлечения и концентрирования органических аналитов, который достигается не только за счет СР-концентрирования, но и благодаря «мицеллярному катализу», вызываемому ионными ПАВ. Для эффективной солубилизации аналитов, последние должны обладать достаточной гидрофобностью или подвергаться различным способам дериватизации для получения аналитических форм с повышенными

гидрофобными свойствами [76]. Поэтому, гидрофобность таких аналитических форм – одно из необходимых условий для их концентрирования в организованных системах на основе ПАВ для достижения высоких коэффициентов распределения.

В последние годы повышенное внимание уделяется исследованиям кинетики и механизма органических аналитических реакций, протекающих в мицеллярных средах ПАВ, способных влиять на константы скоростей таких реакций. К настоящему времени накоплен материал о явлениях «мицеллярного катализа» применительно к реакциям гидратации, сольволиза, нуклеофильного замещения, радикально-цепных и окислительно-восстановительных реакций, а также для фото- и радиационно-химических процессов [5]. В целом, ответственными за увеличение или снижение скорости реакций органических аналитов в мицеллах ПАВ выступают взаимодействия между субстратом и специфически ориентированными гидрофобными и гидрофильными частями мицелл. Иначе, ускорение или ингибирование реакций органических реактантов в мицеллярных растворах ПАВ возникают из-за разных скоростей реакции субстрата в мицеллярной фазе и в объеме раствора, а также характера распределения субстрата между этими двумя фазами.

Известны две концепции «мицеллярного катализа» – ферментативная и псевдофазная, используемые для количественного описания каталитического действия мицелл.

Согласно первой, солюбилизат распределяется в соответствии с законом распределения между мицеллярной и водной фазами:

$$P_A = \frac{[A]_M}{[A]_B} \quad (1)$$

Здесь  $P_A$  – константа распределения,  $[A]$  – равновесная концентрация солюбилизата А, индексы «м» и «в» - принадлежность величины к мицеллярной и водной фазам соответственно.

С учетом общей, усредненной по всему объему системы, концентрации вещества А:

$$[A]_0 = [A]_M CV + [A]_B (1 - CV) \quad (2)$$

где  $C$  – концентрация ПАВ, уменьшенная на ККМ (моль/л),  $V$  – мольный объем ПАВ, множители  $CV$  и  $(1 - CV)$  – объемные доли мицеллярной и водной фаз соответственно, тогда выражения (1) и (2) можно записать в виде (3):

$$\frac{[A]_0}{[A]_B} = 1 + (P_A - 1)CV \quad (3)$$

Растворимость вещества А в мицеллярной фазе ( $S_{A,M}$ ), при условии насыщения фаз, связана с растворимостью его в чистой воде ( $S_B$ ) аналогичным уравнением, которое можно представить в виде (4):

$$\frac{[S]_{A,M}}{[S]_B} = 1 + K_A C \quad (4)$$

$$K_A = (P_A - 1)V, \quad (5)$$

здесь  $K_A$  (л·моль<sup>-1</sup>) и  $P_A$  (моль<sup>-1</sup>) – константа связывания и коэффициент распределения солюбилизата соответственно.

Эффективным критерием оценки константы распределения малорастворимых солюбилизатов является зависимость растворимости вещества А от концентрации находящегося в мицеллярном состоянии ПАВ. Эффект концентрирования какого-либо компонента реакционной системы в мицеллярной псевдофазе является причиной «мицеллярного катализа» и может прогнозироваться по величинам соответствующих констант распределения.

Основой второй концепции «мицеллярного катализа» является конкурирующее протекание одной и той же реакции реагентов А и В с различными скоростями в водной и мицеллярной фазах. Обе модели используют единый подход к определению  $P_A$ ,  $K_A$ , согласно (1), (2), (5).

Скорость реакции  $\nu$ , усредненную по объему всей системы, можно выразить через скорости реакции в мицеллярной ( $\nu_M$ ) и водной ( $\nu_B$ ) фазах:

$$v = v_M CV + v_B (1 - CV) = k_{\text{эксн.}} [A]_0 [B]_0 \quad (6)$$

В каждой из фаз для скорости реакции справедливы выражения:

$$v_M = k_M [A]_M [B]_M \quad (7)$$

$$v_B = k_B [A]_B [B]_B$$

Связь между общими концентрациями реагентов,  $[A]_0$  и  $[B]_0$ , их истинными концентрациями в соответствующих фазах устанавливается при помощи уравнений (1) и (2) для каждого реагента. При условии быстрого обмена молекул между фазами из уравнений (1), (2), (6), (7) следует, что:

$$k_{\text{эксн.}} = \frac{k_M P_A P_B CV + k_B (1 - CV)}{(1 + K_A C)(1 + K_B C)} \quad (8)$$

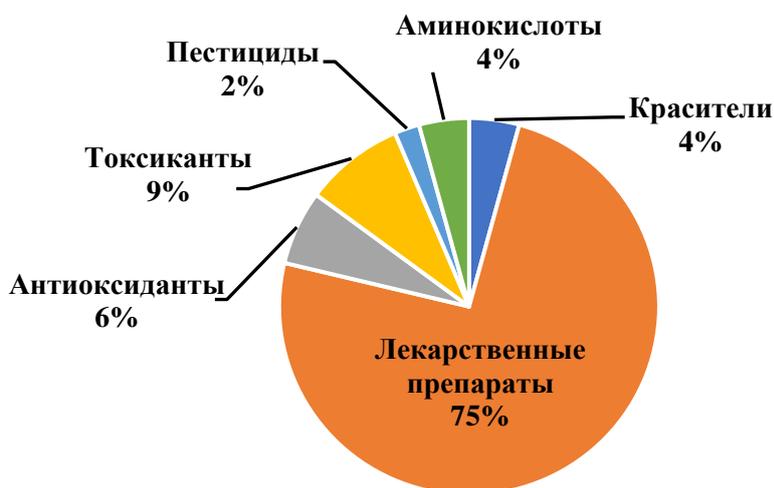
здесь  $K_A$  и  $P_A$  определяются соотношением (5). При условии, что  $P_A \gg 1$  и  $P_B \gg 1$  (оба реагента сильно связываются с мицеллами) и небольшой объемной доли мицеллярной фазы (разбавленные растворы ПАВ), уравнение (8) можно преобразовать в уравнение (9):

$$k_{\text{эксн.}} = \frac{\bar{k}_M K_A K_B C + k_B}{(1 + K_A C)(1 + K_B C)} \quad (9)$$

В данном случае, предоставляется возможность рассчитать константы распределения реактантов в обеих фазах, а также оценить их вклад в каталитический эффект реакции.

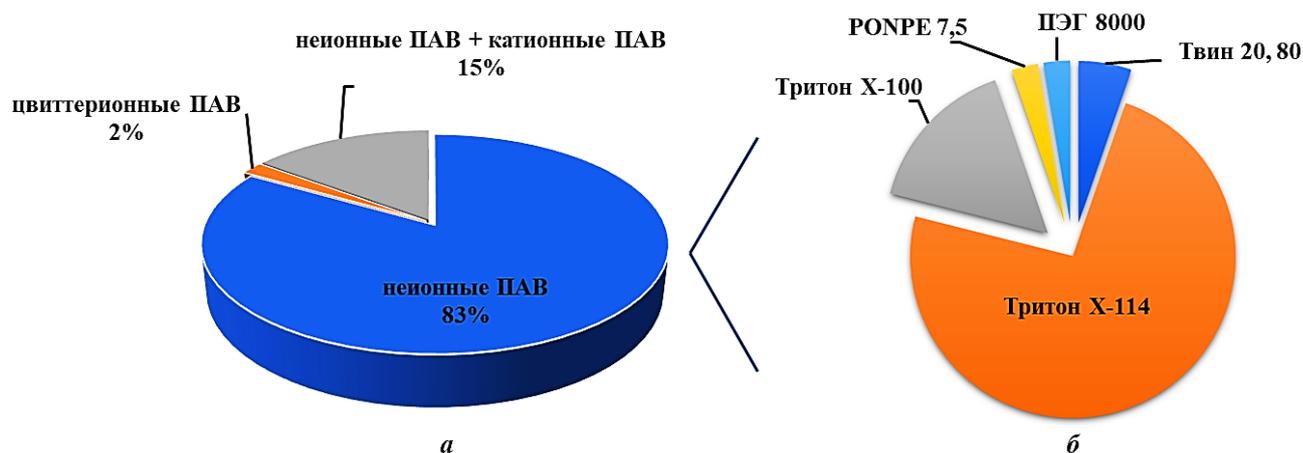
Сведения о применении мицеллярных сред ПАВ в реакциях с участием органических аналитов и их аналитических форм позволяют выделить следующие три направления: 1) катализ реакций и, как результат, усиление регистрируемого различными методами аналитического сигнала; 2) экстракция на основе «точки помутнения», включающая концентрирование в мицеллярно-насыщенную фазу ПАВ органического аналита, и последующее, как правило, хроматографическое определение; 3) сочетание первого и второго эффектов.

В этом разделе рассматривается разделение, концентрирование и определение органических аналитов в их модифицированной форме с применением реакций дериватизации. Перейдем к рассмотрению СР-концентрирования аналитических форм органических аналитов, в основном – лекарственных препаратов (рис. 1.7), после их дериватизации.



**Рисунок 1.7** – Распределение числа публикаций по типам определяемых органических аналитов в различных объектах системами на основе ПАВ с применением реакций дериватизации.

Для реализации СР-концентрирования полученных аналитических форм (табл. 1.2) преимущественно применяют неионогенные ПАВ (рис. 1.8, а), лидирующие позиции среди которых занимает Тритон X-114 (рис. 1.8, б).



**Рисунок 1.8** – Диаграмма распределения числа публикаций по типам применяемых ПАВ для СР-концентрирования органических аналитов с применением реакций дериватизации (а) и представителям нПАВ (б).

**Таблица 1.2 – СР-концентрирование системами на основе ПАВ для определения органических аналитов  
с применением реакций дериватизации**

№ п/п	Аналит / объект (метод)	Реагент	ПАВ, условия СР	Характеристики		Лит-ра
				ДОС (ПрО), нг/мл	R (D), %	
<b>ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ</b>						
1	Кармин Е 120 / порошкообразные напитки (СФМ)	Ni (II) (0.5 мкг/л)	Твин 20 (0.1 масс. %), рН = 6.5; УЗ 10 мин при 55°C; ЦФ 2 мин при 4000 об/мин	1.5-350 (0.4)	94.8-104.7	[77]
2	Меламин / молоко и продукты на его основе: йогурты, сухое молоко, детское питание (ААС)	Эозин Y (4 мкмоль/л) + Mn (II) (0.75 мг/л) + ЦТАБ (20 мкмоль/л), рН = 4.5	Тритон X-114 (0.1 %), NaCl (0.075 M), УЗ 10 мин (40 кГц 300 Вт) при 45°C; ЦФ 5 мин при 3000 об/мин	0.8-130 (0.23)	95.5-98.6	[78]
3	I-Нафтилметил- карбамат – карбарил, I-нафтол / овощи (СФМ)	4-Аминоантипирин (100 мг/л) + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (0.2 ммоль/л) + фермент пероксидаза, рН = 6	Тритон X-114 (4 масс. %), NaCl (6 % масс), УЗ 15 мин. при 45°C, ЦФ 10 мин при 3000 об/мин	25-200 (9; 24)	81.9-102.4	[79]
4	Понсо 4R Е 124 / соки, порошкообразные напитки (СФМ)	Cu (II) (0.3 мг/л), рН = 6	PONPE 7.5 (0.2 масс. %), УЗ инк. 10 мин при 35°C, ЦФ 5 мин при 4000 об/мин	20-750 (6.5)	94.3-104.2	[80]
5	Пролин / мёд, вино, фруктовые соки (СФМ)	Cu (II) (5 мг/л) + гистамин (0.001 M) + флуоресцеин (0.0001 M), рН = 5.5	Твин 80 (1 масс. %), УЗ 10 мин при 50°C, ЦФ 5 мин при 3000 об/мин	15-600 (5.7)	95.3-103.3	[81]
6	Сульфаметазин, сульфадиметоксин, сульфатиазол / молоко (ЦВ)	n-Диметиламинокоричный альдегид (0.3 mM) + ДДС (0.02 M)	Тритон X-114 (7 масс. %), инк. 20 мин при 40°C, ЦФ 20 мин при 2950 об/мин	10-400 10	73-106	[82]
7	Фенолы, флавоноиды / кожура граната (СФМ)	Фолина-Чокалтеу + Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ; AlCl <sub>3</sub> (0.2 %) + CH <sub>3</sub> COOK (1 M)	Тритон X-114 (8 - 9 масс. %), NaCl (4 масс. %), рН = (4-5), инк. 3 мин при 34 - 37°C, ЦФ 10 мин. при 8000 об/мин	–	95-96	[83]

№ п/п	Аналит / объект (метод)	Реагент	ПАВ, условия СР	Характеристики		Лит-ра
				ДОС (ПрО), нг/мл	R (D), %	
<b>ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ</b>						
8	Аллопуринол (СФМ)	Ag (II) (50 мкг/мл), pH = 8	Тритон X-114 (1 %), инк. 10 мин при 60°C, ЦФ 10 мин при 4000 об/мин	5000-35000 (250)	94.1-102.5	[84]
9	Аллопуринол (СФМ)	Co (II) (40 мкг/мл), pH = 11	Тритон X-114 (1.2 %), инк. 15 мин при 50°C, ЦФ 10 мин при 4000 об/мин	5000-35000 (393)	85.9-91.7	[85]
10	Ацетазоламид (СФМ)	NaOH (0.4 M) + HCl (0.03 M) + NaNO <sub>2</sub> (0.02 %) + 8-гидроксихинолин (0.15 mM), pH = 7 + Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (0.006 M)	Тритон X-114 (0.25 %), инк. 10 мин при 55°C, ЦФ 10 мин при 3500 об/мин	500-6000 (43)	98-100.1	[86]
11	Ванкомицина гидрохлорид (СФМ)	4,4-Сульфанилдианилин (0.04 mM) + HCl (0.02 M) + NaNO <sub>2</sub> (0.002 M) + NaOH (0.015 M)	Тритон X-114 (1 %), инк. 20 мин при 65°C, ЦФ 10 мин при 3000 об/мин	500-25000 (214)	100.9-103.0	[87]
12	Дапсон, тимол (СФМ)	Дапсон (0.02 mM) + NaNO <sub>2</sub> (0.864 mM) + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (12 mM) + мочевины (6.6 mM) + тимол (0.03 mM) + NaOH (89 mM)	Тритон X-100 (1.67 %), инк. 30 мин при 95°C	300-7000 (53; 86)	100.9-101.9	[88]
13	Кармин Е 120 (СФМ)	Ni (II) (0.5 мкг/л)	Твин 20 (0.1 масс. %), pH = 6.5; УЗ 10 мин при 55°C; ЦФ 2 мин при 4000 об/мин	1.5-350 (0.4)	94.8-104.7	[77]
14	Лизиноприл (СФМ)	Co(SCN) <sub>2</sub> (0.075 M), pH = 2	Тритон X-114 (0.05 M), инк. 30 мин при 40°C, ЦФ 8 мин при 4000 об/мин	1000-6000 (58.8)	99.8-100.3	[89]
15	Метилдопа, сальбутамола сульфат (СФМ)	Тиосемикарбазид (0.5 mM) + Fe(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ·9H <sub>2</sub> O (0.0075 M) (метилдопа); нитрофенилгидразин (0.01 M) + KIO <sub>3</sub> (0.0075 M) + NaOH (0.025 M) (сальбутамол)	Тритон X-114 (0.7 %) и ЦТАБ (0.001 M), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.7 масс. %), УЗ инк. 50 мин при 40, 50°C, ЦФ 10 мин при 4000 об/мин	250-6000 (24; 29)	99.7-100.2	[90]

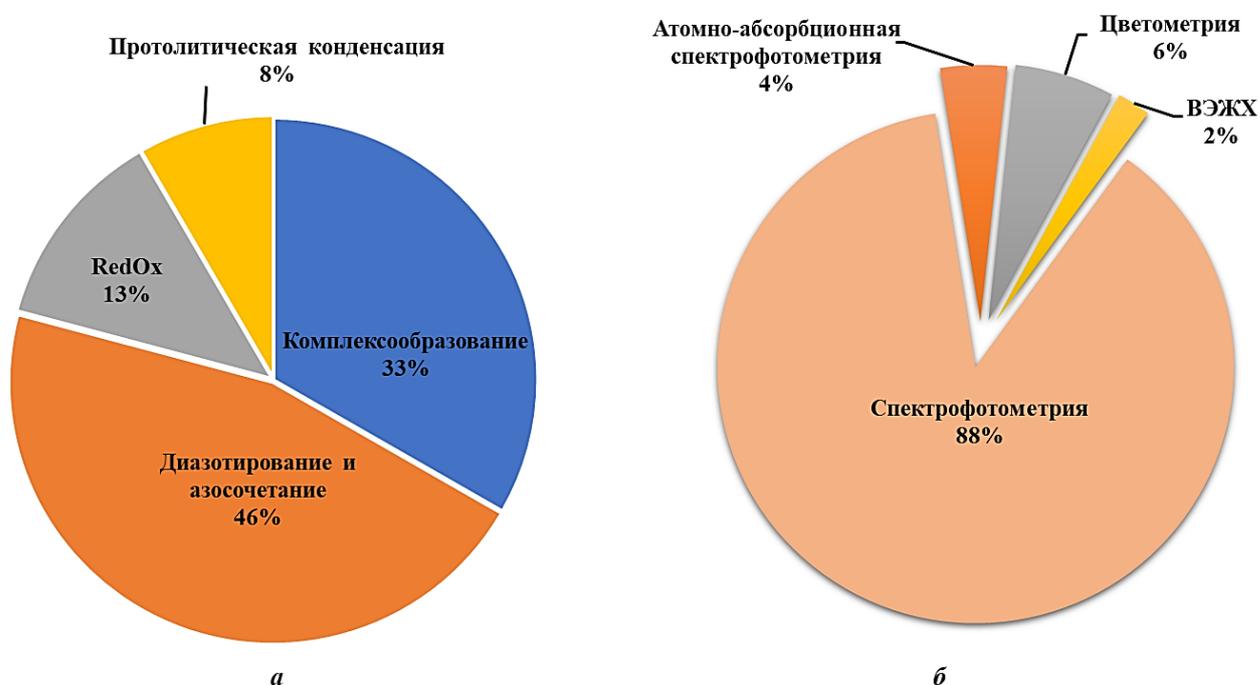
№ п/п	Аналит / объект (метод)	Реагент	ПАВ, условия СР	Характеристики		Лит-ра
				ДОС (ПрО), нг/мл	R (D), %	
16	Метоклопрамид (СФМ)	NaNO <sub>2</sub> (0.3 мМ) + HCl (0.4 мМ) + сульфаминовая кислота (0.03 %) + <i>l</i> -нафтол (30 мкг/мл) + NaOH (0.01 М)	Тритон X-114 (0.6 %), инк. 25 мин при 65°C; ЦФ 20 мин при 35000 об/мин	1000-9000 (100)	96.99-104.11	[91]
17		NaNO <sub>2</sub> (0.06 %) + CH <sub>3</sub> COOH (0.03 М) + сульфаминовая кислота (0.01 %) + <i>n</i> -нитрофенол (8 мкг/мл) + KOH (0.03 М)	Тритон X-114 (1.6 %), инк. 20 мин при 55°C, ЦФ 20 мин при 4000 об/мин	1000-12000 (33.1)	98.4-99.2	[92]
18		NaNO <sub>2</sub> + HCl (0.04 М) + <i>n</i> -кумаровая кислота (0.2 мМ) + NH <sub>4</sub> OH (0.24 М)	Тритон X-114 (1 %), инк. 30 мин при 70°C, ЦФ 10 мин при 4000 об/мин	50-4000 (28)	97-101	[93]
19	Милнаципрапа гидрохлорид (СФМ)	<i>n</i> -Диметиламинобензальдегид (0.1 масс. %) в H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.1 М)	Тритон X-114 (0.7 %) и ЦТАБ (0.7 мМ), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.3 масс. %), инк. 15 мин при 40°C, ЦФ 5 мин при 4000 об/мин	200-4000 (60)	98.6-99.4	[94]
20	Нитразепам, клоназепам (СФМ)	NaNO <sub>2</sub> (0.1 М) + HCl (1 М) + сульфаминовая кислота (0.2 М) + 2,5-диметоксианилин (0.005 М)	Тритон X-114 (1 %); инк. 10 мин. при 65°C; ЦФ 10 мин при 3500 об/мин	25-1200 (8.4; 8.5)	99.6-100.7	[95]
21	Оксиметазолин (СФМ)	Диазотированный метоклопрамид (0.6 мМ) + NaOH (0.03 М)	Тритон X-114 (0.4 %), инк. 5 мин при 40°C, ЦФ 10 мин при 3500 об/мин	50-17000 (47)	101.9	[96]
22	Парацетомол (СФМ)	<i>m</i> -Нитроанилин (0.98 мМ) + HCl, pH = 5.11	Тритон X-114 (0.1 %), NaIO <sub>4</sub> (10 масс. %), инк. 25 мин при 70°C, ЦФ 5 мин при 4000 об/мин	5000-500000 (58)	90-107.2	[97]
23	Преднизолон (СФМ)	FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O (0.05 мМ) + NaOH (0.003 М)	Тритон X-114 (0.4 %), инк. 10 мин при 50°C; ЦФ 15 мин при 4000 об/мин	2000-18000 (29.3)	99.5-100.5	[98]
24	Ранитидин гидрохлорид (СФМ)	FeCl <sub>3</sub> (0.08 мМ) + K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] (0.01 мМ), pH = 4	Тритон X-114 (0.7 %), инк. 20 мин при 50°C	500-60000 (475)	99.1-99.8	[99]

№ п/п	Аналит / объект (метод)	Реагент	ПАВ, условия СР	Характеристики		Лит-ра
				ДОС (ПрО), нг/мл	R (D), %	
25		Co(SCN) <sub>2</sub>	Тритон X-114 (0.2 %), инк. 10 мин при 27°C, ЦФ 5 мин при 5000 об/мин	100-10000 (37.1)	98.6-99.3	[100]
26	Сальбутамол (СФМ)	HCl + NaNO <sub>2</sub> (0.12 %) + мочевины (0.56 %) + бензидин (30 мг/л) + NaOH (2.5 %)	Тритон X-100 (1.4 %), инк. 40 мин при 80°C, ЦФ 10 мин при 4000 об/мин	1000-5500 (41)	100.3-100.5	[101]
27	Сальбутамола сульфат, метилдопа (СФМ)	Эозин Y (0.2 %), pH = 4	Тритон X-114 (0.1 %), инк. 20 мин при 50°C и 60°C, ЦФ 10 мин при 3500 об/мин	100-20000 (41; 16.5)	98.2; 101.3	[102]
28	Сульфадимидин натрия (СФМ)	CH <sub>3</sub> COOH (0.025 M) + NaNO <sub>2</sub> (0.03 %) + H <sub>3</sub> NSO <sub>3</sub> (0.009 %) + I-нафтол (4 мкг/мл) + KOH (0.05 M)	Тритон X-114 (1.4 %), инк. 20 мин. при 50°C; ЦФ 20 мин при 4000 об/мин	1000-12000 (17.5)	94.6-101.3	[103]
29		H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (0.035 M) + NaNO <sub>2</sub> (0.11 %) + сульфаминовая кислота (0.11 %) + салициловая кислота (11 мкг/мл) + NaOH (0.045 M)	Тритон X-114, инк. 20 мин при 50°C, ЦФ 20 мин при 4000 об/мин	1000-12000 (25.9)	–	[104]
30	Сульфадоксин (СФМ)	HCl (1:1) + NaNO <sub>2</sub> (0.02 %) + 4-метоксифенол (40 мкг/мл) + NaOH (2 %)	Тритон X-114 (1.3 %) и ЦТАБ (0.001 M), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.7 масс. %), УЗ инк. 55 мин при 50°C, ЦФ 5 мин при 4000 об/мин	250-6000 (23)	100.4 (320.88)	[105]
31	Сульфацетамид натрия (СФМ)	NaNO <sub>2</sub> (0.1 %) + HCl (1 %) + мочевины (0.4 %) + <i>n</i> -крезол (180 мкг/мл) + NaOH (0.5 %)	Тритон X-100 (1.8 %), инк. 30 мин при 80°C, ЦФ 1 мин при 2000 об/мин	1000-60000 (70)	99.3	[106]
32	Цефдинир (СФМ)	NaNO <sub>2</sub> (0.05 или 0.0375 M) + HCl (0.543 или 0.465 M) + 4-трет-бутилфенол или 2-нафтол (0.252 мМ) + NaOH (0.78 M)	Тритон X-114 (0.375 или 0.75 %), ЦТАБ (0.001 или 0.0005 M), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , (6.25 масс. %), pH = 12; УЗ 2 мин при 70 или 60°C; инк. 75 или 45 мин при 70 или 60°C; ЦФ 5 мин при 4000 об/мин	100-6000 (32; 54)	–	[107]

№ п/п	Аналит / объект (метод)	Реагент	ПАВ, условия СР	Характеристики		Лит-ра
				ДОС (ПрО), нг/мл	R (D), %	
33	Цефдинир (СФМ)	NaNO <sub>2</sub> (0.0036 М) + HCl (1:1) + бисфенол А (50 мкг/мл) + NaOH (0.5 М)	Тритон X-114 (0.5 %) и ЦТАБ (0.001 М), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.5 масс. %), инк. 50 мин при 60°C	250-6000 (36)	100.3 (394.13)	[108]
34	Цефдинир (СФМ)	NaNO <sub>2</sub> (0.0036 М) + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1:1) + 2,5-диметилфенол (0.126 мМ) + КОН (0.45 М)	Тритон X-114 (0.7 масс. %) и ЦТАБ (0.001 М) и Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.8 масс. %), pH = 12; УЗ 2 мин, инк. 45 мин при 50°C, ЦФ 5 мин при 4000 об/мин	100-6000 (10)	98.5-98.9 (3906)	[109]
35	Цефиксим (СФМ)	NaNO <sub>2</sub> (0.0036 М) + HCl (1:1) + бисфенол А (50 мкг/мл) + NaOH (0.5 М)	Тритон X-114 (0.5 %) и ЦТАБ (0.001 М), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.5 масс. %), инк. 50 мин при 60°C	250-6000 (31)	(314.03)	[110]
36	Цефепим (СФМ)	HCl (1:1) + NaNO <sub>2</sub> (0.025 %) + 2,6-диметилфенол (50 мкг/мл) + NaOH (2.5 %)	Тритон X-114 (0.7 %) и ЦТАБ (0.001 М), Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , инк. 40 мин при 70°C, ЦФ 10 мин при 4000 об/мин	250-10000 (27)	99.8 (332.35)	[111]
37	Цефиксим (СФМ)	Cu (II) (0.2 мг/мл), pH = 13; Fe (III) (0.08 мг/мл), pH = 11	Тритон X-114 (1.6 или 1 %), инк. 20 или 30 мин при 50 или 60°C; ЦФ 10 мин при 3000 об/мин	10000-160000 (1700;1600)	94-97.6	[112]
38	Цефиксим (СФМ)	NaNO <sub>2</sub> (0.08 %) + HCl (0.04 М) + сульфаминовая кислота (0.02 %) + о-нитрофенол (5 мкг/мл) + NaOH (0.05 М)	Тритон X-114 (1.4 %), инк/ 20 мин при 50°C, ЦФ 20 мин при 4000 об/мин	10000-160000 (66.8)	100.8	[113]
39	Цефиксим (СФМ, ААС)	Pd (II) (30 г/мл)	Тритон X-114 (1.2 %), pH = 9; инк. 10 мин при 50°C, ЦФ 10 мин при 3000 об/мин	(2.5-32.5) × 10 <sup>9</sup> (4.6; 3.3) × 10 <sup>8</sup>	98-103	[114]
40	Цефотаксим (СФМ)	FeCl <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O (25 мкг/мл), pH = 12	Тритон X-100 (2 %), инк. 35 мин при 75°C, ЦФ 5 мин при 4000 об/мин	2500-30000 (26)	99.02-99.64 (331.44)	[115]

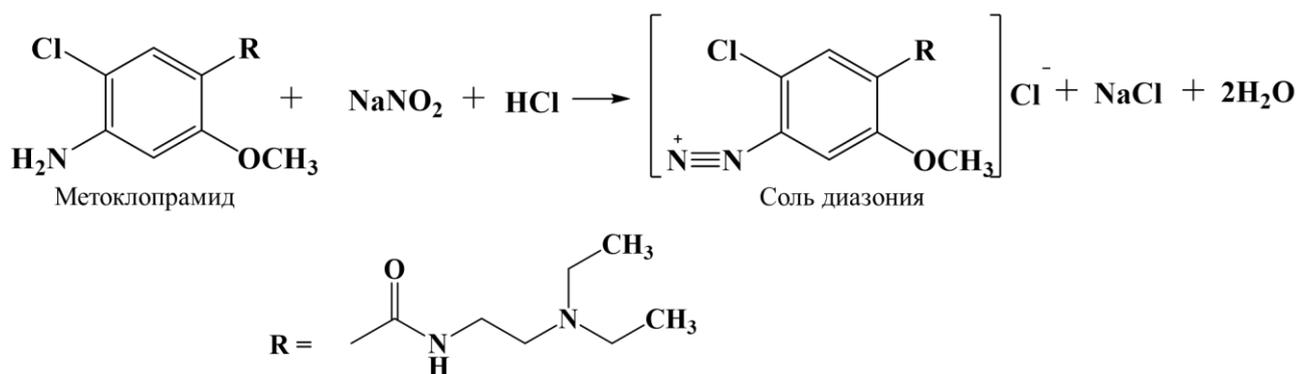
№ п/п	Аналит / объект (метод)	Реагент	ПАВ, условия СР	Характеристики		Лит-ра
				ДОС (ПрО), мг/мл	R (D), %	
41	Ципрофлоксацин (СФМ)	Fe (II) (FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O) (15 мкг/мл), pH = 8.3	Тритон X-100 (1.8 %), инк. 40 мин при 80°C, ЦФ 1 мин при 1000 об/мин	1000-50000 (129)	98-102.8	[116]
42	Эзомепразол (СФМ)	<i>n</i> -Нитроанилин (0.625 мМ), NaOH (0.125 М)	Тритон X-114 (0.5 %), инк. 25 мин при 50°C, ЦФ 10 мин при 4000 об/мин	1000-20000 (45)	101.9-104.4	[117]
<b>ОБЪЕКТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ</b>						
43	Анилин / вода сточная (ВЭЖХ)	HCl (22 мМ) + NaNO <sub>2</sub> (1.86 мМ) + мочеви́на (6.6 мМ) + 8-гидроксихинолин (0.045 мМ) + NaOH (54 мМ)	Тритон X-100 (0.3 %), инк. 25 мин при 90°C	0.011-1.6 (27.3)	–	[118]
44	Полифенолы / вода сточная (СФМ)	Фолина-Чокалтеу + Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1.4 %)	Лецитин (3 %), NaCl (30 %), pH = 3.5; ЦФ 5 мин при 4500 об/мин	–	–	[119]
45	Полифенолы / вода сточная (СФМ)	Фолина-Чокалтеу + Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (4 %)	ПЭГ 8000 (2 масс. %), NaCl (3 масс. %), инк. 20 мин при 65°C, ЦФ 5 мин. при 3500 об/мин	–	99	[120]
46	Фенилаланин / вода минеральная и сточная (ЦВ)	NaOH (0.25 М)	Тритон X-114 (0.23 масс. %), KCl (0.1 М), pH = 4; инк. 12.5 мин при 40°C, ЦФ 10 мин	200-10000 (60)	94.1-107.7	[121]
<b>ДРУГИЕ ОБЪЕКТЫ</b>						
47	Формальдегид / косметические продукты для волос (СФМ)	Толуидиновый синий (6 мкМ) + Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> (0.4 мг/л)	Тритон X-114 (0.05 %), pH = 5; инк. 10 мин при 50°C, ЦФ 5 мин при 3500 об/мин	2-120 (0.38)	97.3-101.7	[122]
48	Фенол, резорцин, флороглюцин / водные среды (ЦВ)	<i>n</i> -Нитроанилин (0.02 мМ) + NaNO <sub>2</sub> (0.02 мМ) + HCl (0.1 М)	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH (15 об. %) + Тритон X-114 (7 масс. %) + NaOH (2.8 М)	9.4-2800	–	[123]

Применяют различные способы дериватизации (рис. 1.9, а), среди которых можно выделить реакции диазотирования и азосочетания (*I тип реакций*; №№ 10 – 12, 16 – 18, 20 – 21, 26, 28 – 36, 38, 42, 43, 48 табл. 1.2), комплексообразования (*II тип реакций*; №№ 1 – 2, 4 – 5, 8 – 9, 13 – 14, 23, 25, 27, 37, 39 – 41, 47, табл. 1.2), Red-Ox процессы (*III тип реакций*; №№ 3, 7, 15, 24, 44 – 45, табл. 1.2), а также протолитической конденсации (*IV тип реакций*; №№ 6, 19, 22, 46, табл. 1.2) для получения гидрофобных окрашенных аналитических форм с последующим их СР-концентрированием в насыщенные фазы ПАВ и, в большинстве случаев, спектрофотометрическим детектированием (рис. 1.9, б).

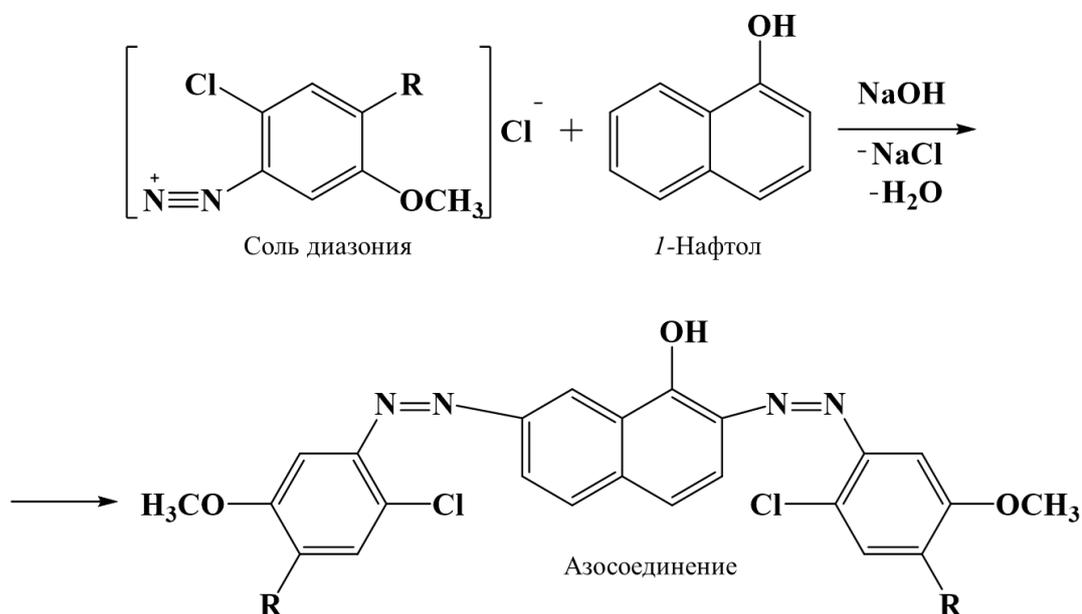


**Рисунок 1.9** – Диаграммы распределения числа публикаций по типам реакций дериватизации (а), применяемым для получения аналитических форм, и методам их определения (б).

**I тип реакций. Реакции диазотирования и азосочетания.** С целью получения окрашенных аналитических форм азосоединений предварительно проводят реакцию диазотирования исследуемого аналита азотистой кислотой с образованием диазосоединений (солей диазония). Ниже приведена схема диазотирования на примере метоклопрамида (№ 16, табл. 1.2):

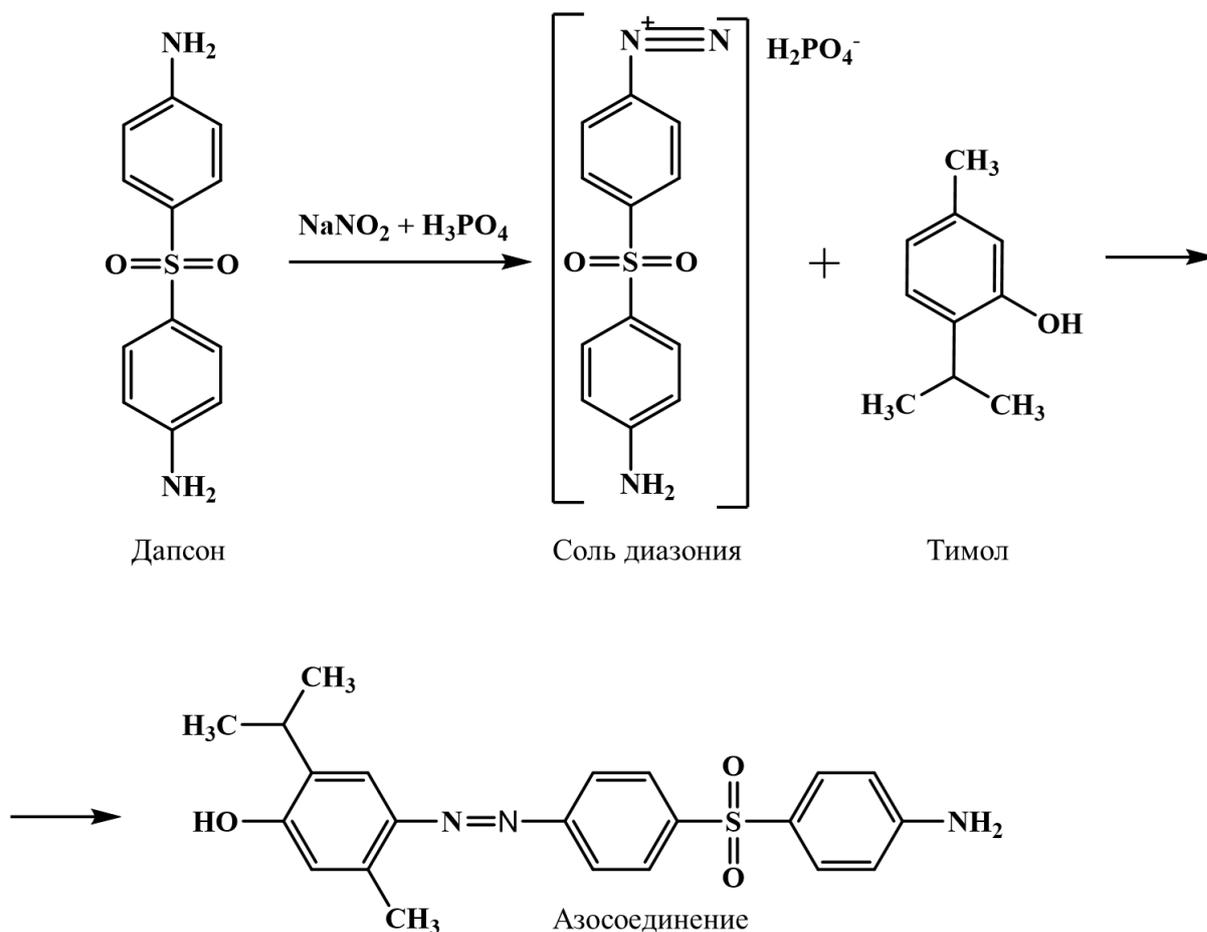


Затем соли диазония (диазокомпонента) сочетают с ароматическими фенолами или аминами (азокомпонента) с образованием яркоокрашенных азосоединений:



В качестве азосоставляющих применяют 1-, 2-нафтол (№№ 16, 28, 32, табл. 1.2), *o*-, *n*-нитрофенол (№№ 17, 38, табл. 1.2), *n*-кумаровую кислоту (№ 18, табл. 1.2), 2,5-диметоксианилин (№ 20, табл. 1.2), бензидин (№ 26, табл. 1.2), салициловую кислоту (№ 29, табл. 1.2), 4-метоксифенол (№ 30, табл. 1.2), *n*-крезол (№ 31, табл. 1.2), 4-*трет*-бутилфенол (№ 32, табл. 1.2), бисфенол А (№№ 33, 35, табл. 1.2), 2,5-, 2,6-диметилфенол (№№ 34, 36, табл. 1.2), *o*-нитрофенол (№ 38, табл. 1.2), 8-гидроксихиолин (№№ 10, 43, табл. 1.2). Однако, представлены единичные работы, в которых азокомпонентой является аналит (№№ 11, 21, 48 табл. 1.2). Предложен вариант, основанный на взаимной дериватизации и определении дапсона и тимола (№ 12, табл. 1.2). В этом случае

ТИМОЛ является реагентом при определении дапсона, и наоборот дапсон – реагент на ТИМОЛ.

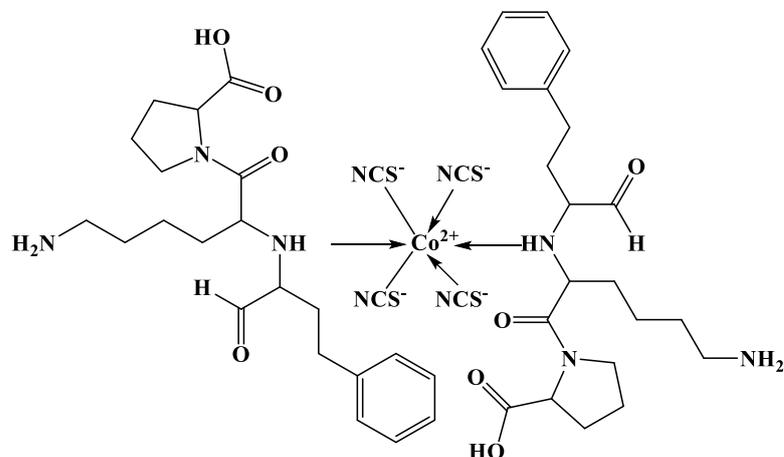


*I тип реакций* положен в основу спектрофотометрического определения содержания бензодиазепиновых соединений (клоназепам и нитрозепама) как в чистом виде, так и в фармацевтических препаратах (№ 20, табл. 1.2) с достаточно низкими пределами обнаружения (8.4 и 8.5 нг/мл). Это было достигнуто путем диазотирования целевых аналитов и последующим сочетанием солей диазония с 2,5-диметоксианилином с образованием окрашенных в красный цвет (500 и 502 нм) азосоединений.

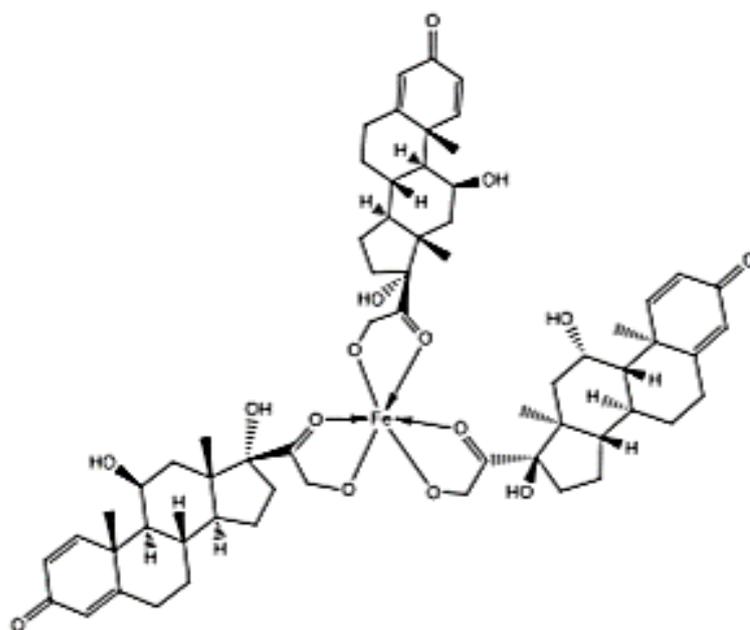
**II тип реакций. Реакции комплексообразования.** В литературе представлены 3 основных варианта реализации реакций комплексообразования для дериватизации.

1) Исследуемые аналиты – лиганды, их определяют взаимодействием с ионами металлов с образованием хелатных комплексов (№№ 1, 4, 8, 9, 13, 14, 23,

39, 40, 41, табл. 1.2). Комплексообразователями являются соединения Ni (II), Cu (II), Ag (II), Co (II), Fe (III), Pd (II), Fe (II). Например, лизиноприл (№ 14, табл. 1.2), препарат для лечения высокого кровяного давления и сердечной недостаточности, образует с тиоцианатом кобальта комплекс синего цвета:



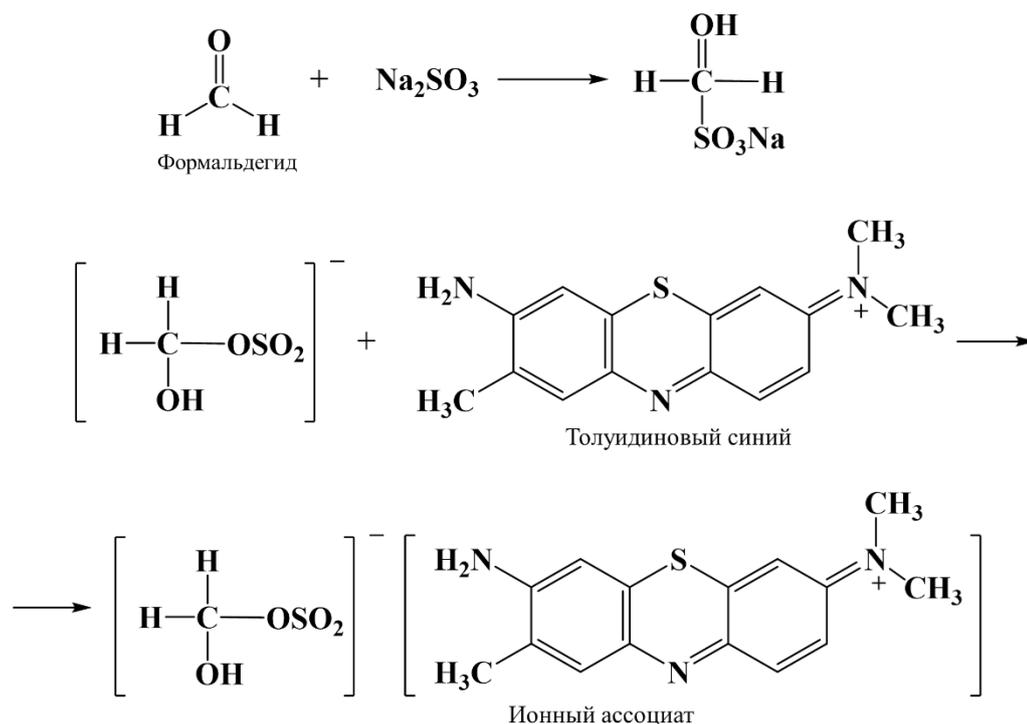
Еще один пример таких реакций – образование комплекса синтетического глюкокортикостероида преднизолона с солями Fe (III):



Кармин (E 120), пищевая добавка, образует стабильный хелатный комплекс с  $Ni^{2+}$  в фосфатно-цитратном буфере, который применён для разработки простого, дешевого и экологически безопасного спектрофотометрического его обнаружения в пищевых продуктах с предварительной ультразвуковой СР-экстракцией (№ 1, табл. 1.2). Способ

отличается высокими коэффициентами извлечения (94.8 – 104.7 %) и низким пределом обнаружения (0.4 нг/мл).

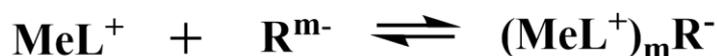
2) Другим вариантом реакций комплексообразования является ионная ассоциация исследуемых аналитов с реагентами неорганической ( $\text{Co}(\text{SCN})_2$ , № 25, табл. 1.2) и органической (эозин, толуидиновый синий, № 27, 47, табл. 1.2) природы. Данный вариант можно рассмотреть на примере спектрофотометрического определения формальдегида (№ 47, табл. 1.2), основанного на его ионной ассоциации с катионным красителем фенотиазиновой группы в присутствии сульфит-иона при  $\text{pH} = 5$ . Поскольку для формальдегида не характерны реакции комплексообразования его дериватизацию проводят в две стадии: на первой стадии получают его анионную форму взаимодействием с  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , а на второй стадии к полученной анионной форме добавляют толуидиновый синий, что приводит к образованию ионной пары:



Таким образом, предложен простой, быстрый, точный и надёжный способ определения формальдегида в косметических продуктах с погрешностью менее 5.2 % и степенью его извлечения более 95 %.

3) Третий вариант дериватизации сочетает первый и второй способы и основан на образовании как хелатных комплексов, так и ионных ассоциатов

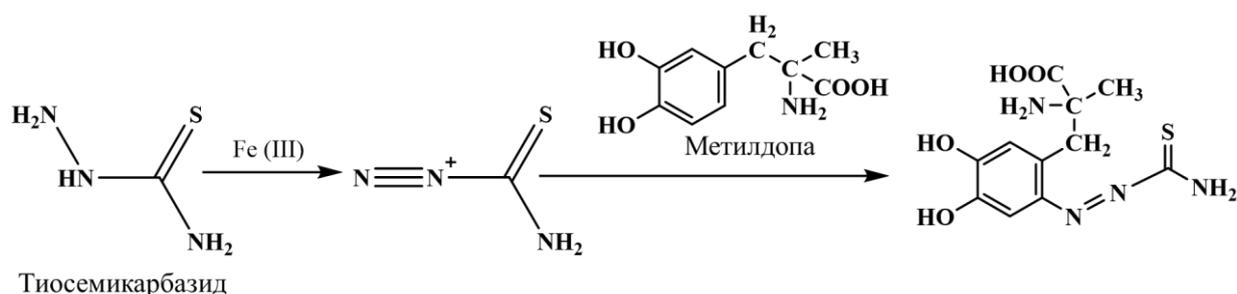
(№№ 2, 5, табл. 1.2). Так, предложен способ ультразвукового СР-концентрирования в сочетании с пламенной атомно-абсорбционной спектрометрией для предварительного концентрирования и косвенного определения меламина в образцах молока (№ 2, табл. 1.2). Он основан на образовании чувствительного к переносу заряда тройного комплекса из меламина,  $Mn(II)$  и эозина в присутствии катионного ПАВ – цетилтриметиламмония бромида при pH 4.5:

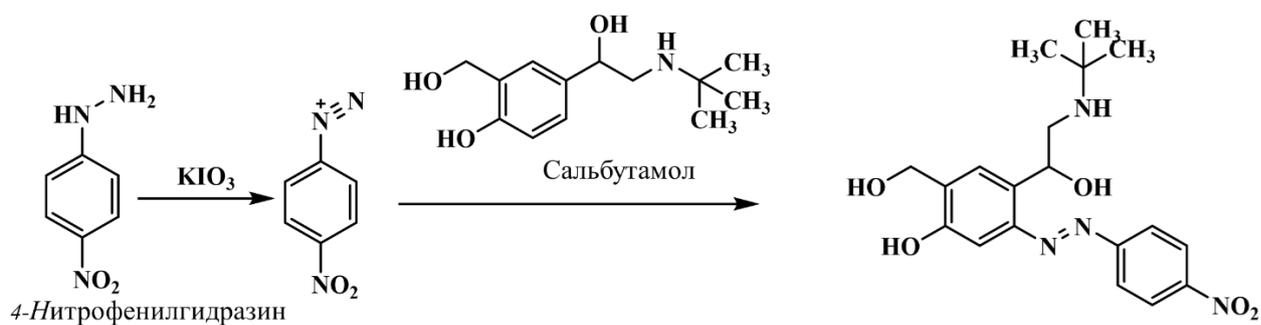


Этот способ характеризуется низким ПрО (0.23 нг/мл), высокой прецизионностью (4.2 – 6.0 %) и степенью извлечения (91.4 – 96.0 %). Присутствие большого количества веществ в матрицах образцов не оказывает существенного влияния на СР-концентрирование и ААС определение меламина.

**III тип реакций. Red-Ox процессы.** В зависимости от природы окислителя и способа получения окрашенной аналитической формы можно выделить несколько вариантов их реализации.

Так, применяют относительно мягкие окислители ( $Fe^{3+}$  и  $IO_3^-$ ) в реакциях окислительной конденсации с тиосемикарбазидом и 4-нитрофенилгидразином, что позволяет определять фенольные соединения (метилдопу и сальбутамол) по окрашенным соответственно в темно-зеленый и фиолетовый цвет продуктам взаимодействия (№ 15, табл. 1.2) спектрофотометрическим методом «остановленного потока»:

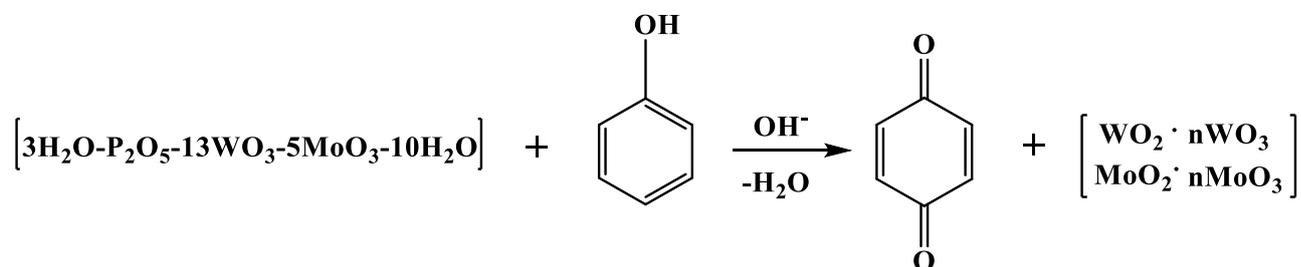




Такой вариант обеспечивает ДОС в интервале (250 – 6000 нг/мл), отличается точностью и прецизионностью, может быть применён для определения фенольных лекарственных средств в фармацевтических препаратах.

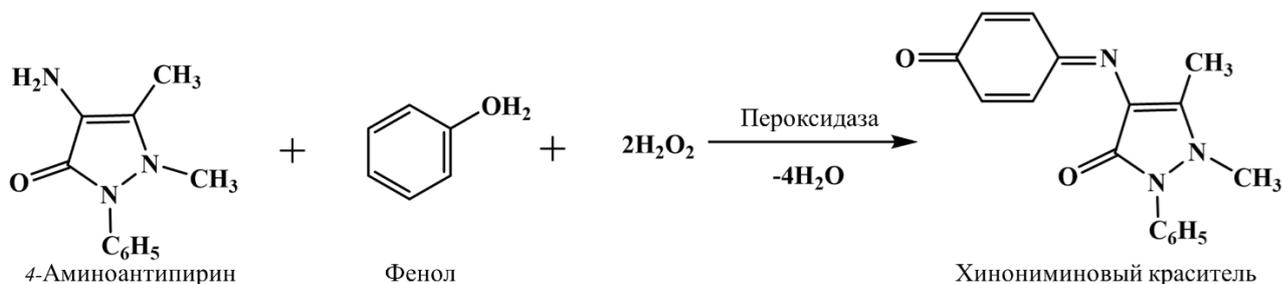
Соли Fe (III) применяют и для окисления гидрохлорида ранитидина, обладающего противоязвенным действием (№ 24, табл. 1.2). Восстановленный ион Fe<sup>2+</sup> вступает в реакцию с K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] с образованием осадка темно-синего цвета – комплексной соли Fe (II) – турнбуллевой сини (рН 4.0).

Более сложный окислитель молибдофосфоровольфрамовая гетерополикислота применяется в качестве интегрального реагента на фенольные соединения (реактив Фолина-Чокальтеу, ФЧ) (№ 7, 44 – 45, табл. 1.2):



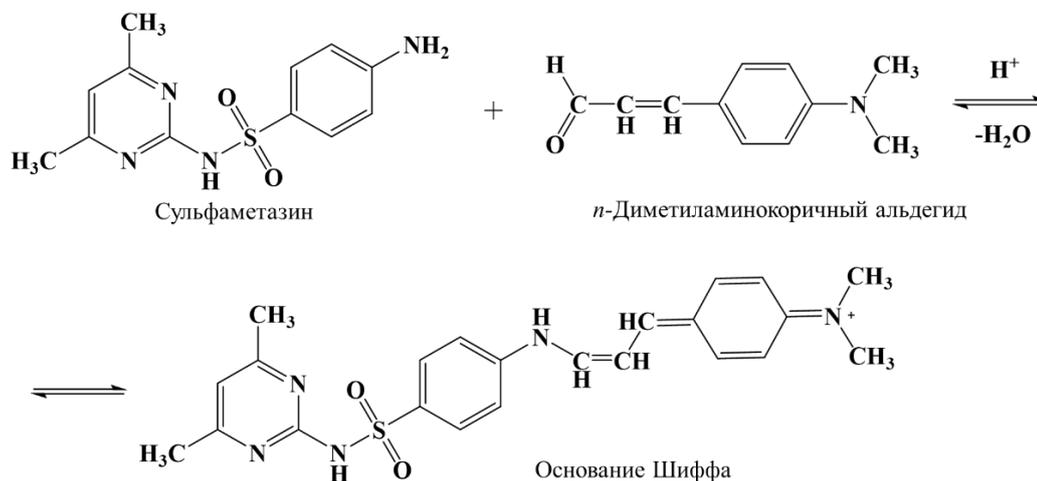
Восстановленная форма окислителя ФЧ имеет синий цвет, на чем и основано суммарное определение фенолов.

Также предложен пример ферментативной окислительной конденсации (№ 3, табл. 1.2), в котором H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> при участии фермента пероксидазы вызывает окислительное азосочетание 4-аминоантипирина и фенола с образованием окрашенного в розово-малиновый цвет соединения (хинониминный краситель):



На основе такого подхода авторами разработан способ определения инсектицида карбарила и его метаболита 1-нафтола на уровне 9 и 24 нг/мл соответственно.

**IV тип реакций. Реакции протолитической конденсации.** Данному типу посвящено наименьшее число публикаций, согласно которым исследуемые аналиты, содержащие первичную аминогруппу, взаимодействуют с ароматическими альдегидами (*n*-диметиламинобензальдегидом или *n*-диметиламинокоричным альдегидом) с образованием окрашенных оснований Шиффа. Так, взаимодействие сульфаниламидных препаратов, на примере сульфаметазина, с *n*-диметиламинокоричным альдегидом в кислой среде приводит к образованию окрашенных в розовый цвет (557 нм) оснований Шиффа (№ 6, табл. 1.2):



Предложен способ определения общего содержания сульфаниламидов в образцах коровьего молока на основе цветометрической оценки с применением камеры смартфона, который обладает достаточной чувствительностью (ПрО = 10 нг/мл) и соответствует результатам, полученным с помощью ВЭЖХ с уровнем достоверности 95 %.

Предложен вариант дериватизации, в котором перевод аналита в окрашенную форму осуществляется при помощи протолитических реакций, но без конденсации. Так, представлен способ (№ 46, табл. 1.2) извлечения и цветометрического определения фенилаланина посредством добавления NaOH в качестве реагента для перевода аналита в окрашенную в розовый цвет форму.

\*            \*  
\*

Обобщены и систематизированы данные литературы глубиной в 5 лет по извлечению, концентрированию организованными средами на основе ПАВ и последующему определению органических аналитов с применением и без предварительной стадии их дериватизации.

Последний вариант эффективно применяют для извлечения красителей, антиоксидантов, токсикантов, лекарственных препаратов и других аналитов с последующим их определением методами спектрофотометрии и хроматографии.

Для повышения эффекта концентрирования мицеллярными системами на основе ПАВ (оксиэтилированные алкилфенолы, например, Тритон X-100 и Тритон X-114) органических аналитов применяют различные способы их дериватизации: реакции диазотирования и азосочетания, комплексообразования, конденсации, а также Red-Ox процессы. Такой подход находит широкое применение при извлечении преимущественно лекарственных препаратов с последующим спектрофотометрическим определением.

Синергетический эффект влияния смесей ионных и неионных ПАВ на процесс извлечения и концентрирования органических аналитов в литературе практически отсутствует, чему и посвящена настоящая работа.

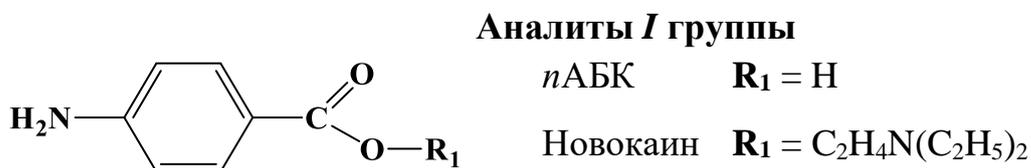
## ГЛАВА 2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ, АППАРАТУРА, РЕАКТИВЫ

### 2.1. Обоснование и выбор модельных систем

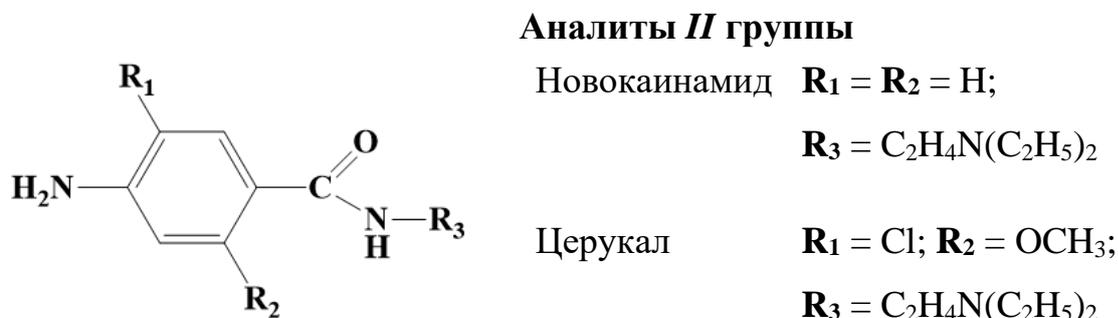
*n*-Аминобензойная кислота и ряд её лекарственных производных относятся к первичным ароматическим аминам (ПАА) и способны взаимодействовать с электрофильными реагентами, благодаря наличию свободной электронной пары атома азота. Типичными примерами таких реакций, применяемых и в аналитических целях для обнаружения и определения ПАА, являются реакции получения изонитрильных и diaзосоединений, азометинов и т. д.

Из вышеперечисленных систем нами выбраны одностадийные, в отличие от реакций диазотирования и азосочетания, реакции конденсации ПАА с ароматическими альдегидами, которые протекают с образованием окрашенных оснований Шиффа (ОШ).

В качестве представителей производных *n*АБК выбраны две группы аналитов. Группа I представлена *n*АБК и её сложным эфиром – новокаином.



Производные амида *n*АБК – новокаинамид и церукал представители II группы исследуемых аналитов.



Выбор анализов обусловлен, с одной стороны, сходным химическим строением, характеризующимся наличием первичной аминогруппы при ароматическом кольце, с другой стороны, различием природы заместителей и фармакологическим действием.

Кратко рассмотрим механизм реакций ПАА с карбонильными соединениями. Подчиняясь общим закономерностям реакций нуклеофильного присоединения слабоосновных соединений (схема 2.1), в кислой среде ПАА вступают в реакцию конденсации с альдегидами с образованием азометинов (ОШ). Механизм таких реакций, реализующийся сменой скоростьопределяющей стадии, хорошо изучен и лимитируется двумя процессами: протонированием амина и дегидратацией интермедиата – аминспирта:

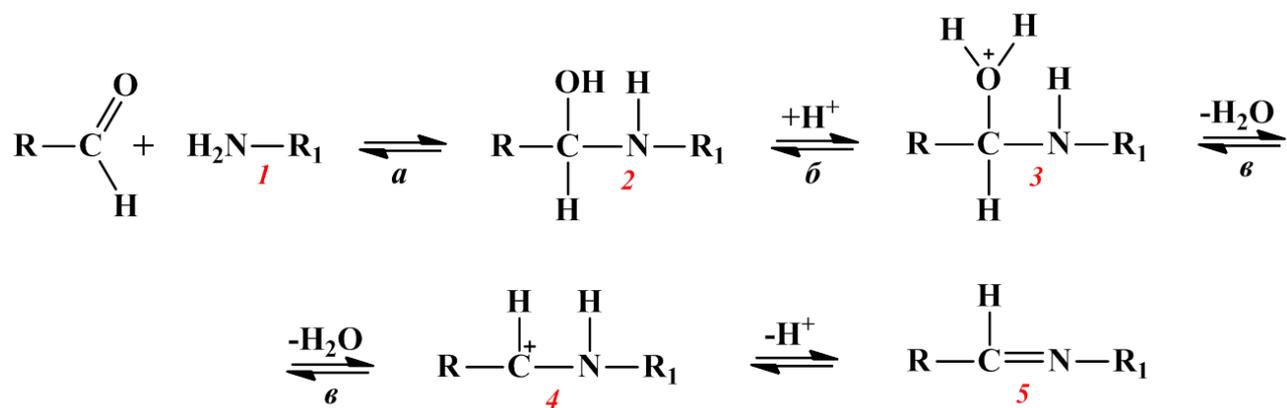


Схема 2.1 – Образование оснований Шиффа.

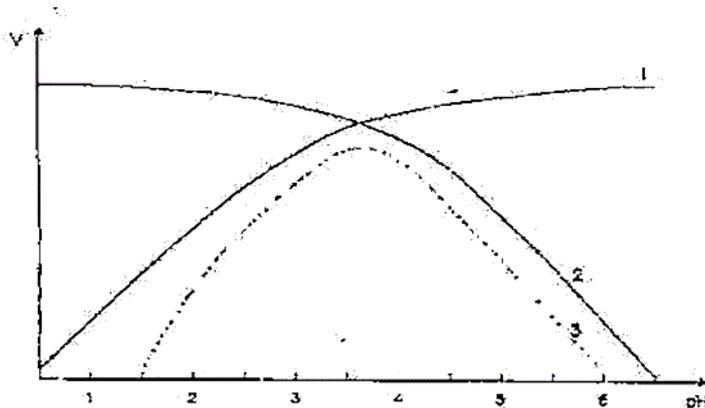
Из представленной схемы реакции следует, что первоначально идет присоединение нуклеофильного реагента по карбонильной группе. На следующих этапах происходит отщепление молекул воды. Скорость переноса протона между атомами О и N очень высока и может приближаться к диффузионному пределу. Вследствие этого лимитирующей стадией может быть либо стадия присоединения нуклеофильного реагента – *a*, либо отщепление молекул воды от протонированного продукта присоединения 3 – стадия *c*.

Обязательной стадией является протонирование 2 с образованием 3, поскольку гидроксильная группа является очень плохой уходящей группой и от непротонированной формы ее отщепление невозможно. Следовательно, стадия дегидратации (стадия *c*) должна катализироваться ионами водорода.

Анализируя типичную зависимость (для большинства карбонильных и аминсоединений) суммарной скорости реакции от кислотности среды (рис. 2.1), можно рассмотреть многостадийный характер процесса.

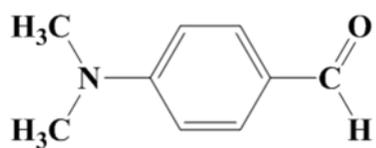
Протонирование промежуточного продукта присоединения (2) в области высоких значений рН невелико, что свидетельствует о малой концентрации протонированной формы (3). Стадия *в* будет скоростьопределяющей, так как ее скорость мала при высоких значениях рН. Скорость этой стадии увеличивается по мере уменьшения рН и повышается суммарная скорость процесса.

В свою очередь, скорость процесса дегидратации будет возрастать только до определенного значения рН, которое близко к значению  $pK_a$  сопряженной кислоты азотистого основания. По мере увеличения кислотности среды будет протонироваться нуклеофил, в результате концентрация промежуточного продукта присоединения (2) уменьшается.

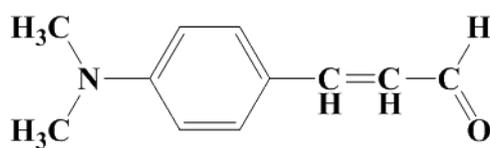


**Рисунок 2.1** – Влияние рН на скорость реакций: 1 – присоединения; 2 – дегидратации; 3 – суммарное изменение скорости реакции [124].

Из этого следует, что последующее уменьшение рН, понижает концентрацию 2 и увеличивает концентрацию протонов. Таким образом, скорость дегидратации (стадия *в*) в области низких значений рН мало зависит от кислотности среды (кривая 2, рис. 2.1) и зависимость суммарной скорости процесса от рН описывалась бы кривой 2, если стадия дегидратации всегда была скоростьопределяющей. В качестве реагентов на ПАА среди многочисленных альдегидов рекомендуют *n*-диметиламинобензальдегид и *n*-диметиламинокоричный альдегид:



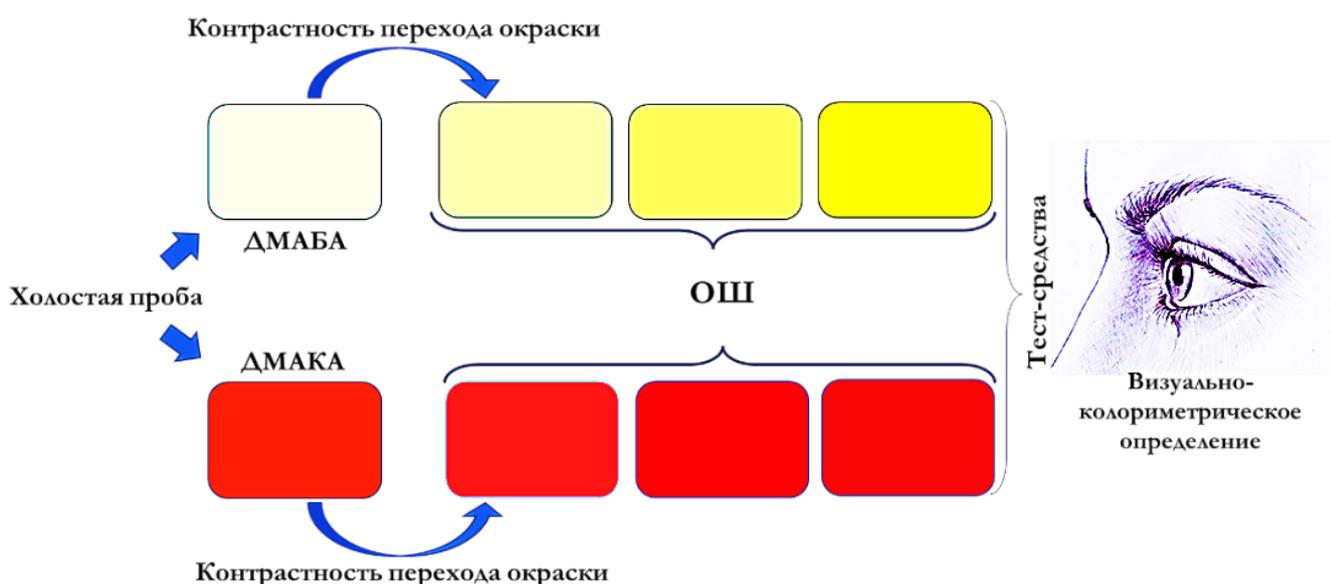
*n*-Диметиламинобензальдегид  
(ДМАБА)



*n*-Диметиламинокоричный альдегид  
(ДМАКА)

Электронодонорная диметиламиногруппа этих альдегидов влияет на хромофорную систему образующихся аналитических форм ОШ и обуславливает существование в кислых средах азометинового основания преимущественно в виде устойчивой хиноидной формы [124].

Создание визуально-колориметрических (экспресс, тест-) способов определения исследуемых аналитов в значительной степени зависит от выбора используемого реагента. Индивидуальный раствор ДМАБА практически не окрашен, в отличие от раствора ДМАКА, который обладает насыщенным и ярким цветом. Поэтому контрастность перехода окраски от холостого раствора к анализируемому будет более выраженной при использовании ДМАБА (рис. 2.2). Таким образом, основные результаты работы были достигнуты именно с этим альдегидом. Более того, образуемые с ДМАБА аналитические формы ОШ, располагаются в наиболее восприимчивой для глаз человека области видимого участка спектра.



**Рисунок 2.2** – Контрастность реакции новокаина с ДМАБА и ДМАКА.

## 2.2. Применяемые в работе посуда, реактивы и аппаратура

### 2.2.1. Посуда

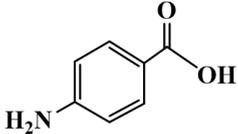
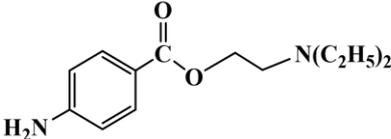
1. Колбы мерные 2-го класса точности, номинальной вместимостью 25, 50, 100, 200, 250, 500, 1000 мл, ГОСТ 1770-74.
2. Пипетки 1, 2-го класса точности, номинальной вместимостью 1, 2, 5, 10 мл, ГОСТ 29227-91.
3. Пипетки автоматизированные (дозаторы) градуированные, номинальной вместимостью 200 и 1000 мкл.
4. Бюретка по ГОСТ 29251-91 вместимостью 25.0 мл, с ценой деления 0.1 мл.
5. Пробирки стеклянные, ГОСТ 1770-74.
6. Стаканы стеклянные мерные 2-го класса точности, номинальной вместимостью 50, 100, 200 мл, ГОСТ 1770-74.
7. Воронки стеклянные лабораторные, тип В стекло ХС, ГОСТ 25336-82.

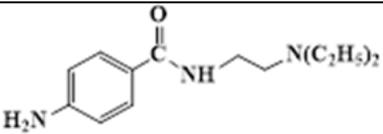
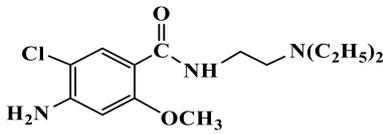
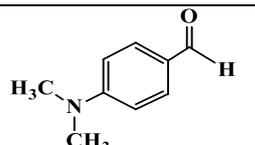
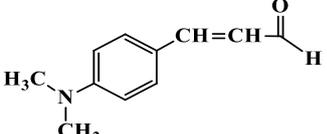
### 2.2.2 Реактивы и материалы

#### 2.2.2.1. Аналиты и реактивы

Исследуемые в работе аналиты и применяемые реактивы сведены в табл. 2.1.

Таблица 2.1 – Исследуемые аналиты и применяемые реактивы

№ п/п	Название	Структурная формула	Фармакотерапевтическая группа	Mr
<i>Аналиты</i>				
1	<i>n</i> -Аминобензойная кислота ( <i>n</i> АБК)		Витамин В10, Н1	137.14
<i>Эфиры nАБК</i>				
2	Новокаин, прокаина гидрохлорид		Местноанестезирующее средство	272.78

Амиды <i>n</i> АБК				
3	Новокаинамид, прокаинамида гидрохлорид		Антиаритмическое средство	271.79
4	Церукал, метоклопрамида гидрохлорид		Противорвотное средство	336.26
Реагенты				
5	<i>n</i> -Диметиламинобензальдегид (ДМАБА)		–	149.19
6	<i>n</i> -Диметиламинокоричный альдегид (ДМАКА)		–	175.23

1. *n*-Аминобензойная кислота (*n*АБК)  $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{COOH}$ , ч.д.а., перекристаллизованная из воды, ТУ 6-09-11-1430-80.
2. В работе использовали аптечные препараты (растворы для инъекций) лекарственных производных *n*АБК (новокаин, новокаинамид, церукал) с содержанием основного вещества не менее 99.9 % (фармацевтически чистые) и дополнительно не очищались.
3. В качестве органических реагентов применяли предварительно перекристаллизованные из этанола *n*-диметиламинобензальдегид (ДМАБА), ч.д.а., и *n*-диметиламинокоричный альдегид (ДМАКА), ч.д.а. фирмы «Merk».

### 2.2.2.2. Поверхностно-активные вещества

В табл. 2.2 представлены типы ПАВ, применяемые в работе в качестве модификаторов свойств органических реагентов.

1. Додecilсульфат натрия (ДДС),  $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{OSO}_3\text{Na}$ , ч.д.а., содержание основного вещества не менее 99.9 %, ТУ 6-09-64-75.
2. ОП–10, содержание основного вещества 80.0 %, Россия ГОСТ 8433-81.

3. Тритон X-100 и Тритон X-114 с содержанием основного вещества не менее 99.9 %, Германия, Sigma-Aldrich.

**Таблица 2.2** – Применяемые в работе ПАВ

Тип ПАВ	Представители ПАВ		Формула
Анионные	Додецилсульфат натрия (ДДС)		$C_{12}H_{25}OSO_3Na$
Неионогенные	Оксиэтилированные алкилфенолы	ОП-10	$C_nH_{(2n+1)}C_6H_4O(C_2H_4O)_mH$ , где $n = m = 8-10$
		Тритон X-100	$C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$ , где $n = 9-10$
		Тритон X-114	$C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$ , где $n = 7-8$

### 2.2.2.3. Компоненты буферных систем и другие реактивы

1. Вода дистиллированная, ГОСТ 6709-7.
2. Гидрокарбонат натрия,  $NaHCO_3$ , х.ч., ГОСТ 2156-76.
3. Гидроксид натрия,  $NaOH$ , ч.д.а., ГОСТ 4328-77.
4. Гидроортофосфат калия,  $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ , ч.д.а., ГОСТ 2493-75.
5. Лимонная кислота моногидрат,  $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ , ч., ГОСТ 3652-69.
6. Лимоннокислый натрий 5,5-водный,  $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 5,5 H_2O$ , ч.д.а., ГОСТ 22280-76.
7. Метилловый фиолетовый,  $C_{24}H_{28}N_3Cl$ , ч.д.а., ТУ 6-09-945-86.
8. Спирт этиловый, ректификационный,  $C_2H_5OH$ , ГОСТ 5962-67.
9. Сульфат натрия,  $Na_2SO_4$ , х.ч., ГОСТ 4166-76.
10. Хлорид калия,  $KCl$ , х.ч., ГОСТ 4234-77.
11. Хлороводородная кислота,  $HCl$ , х.ч., ГОСТ 3118-77.
12. Хлорид магния гексагидрат,  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , х.ч., ГОСТ 4209-77.
13. Хлорид натрия,  $NaCl$ , ч.д.а., ГОСТ 4233-77.
14. Хлористый кальций,  $CaCl_2$ , ч., ТУ 6-09-4711-81.

### 2.2.3 Аппаратура

1. Двухлучевой сканирующий спектрофотометр Shimadzu UV-1800 (Япония);
2. Аналитические весы общего типа AND HR-250AZG I специального класса точности с наибольшим пределом взвешивания 252 г / 0.1 мг по ГОСТ 24104-88Е («A&D Co. LTD», Япония,  $\pm 0.0001g$ );

3. Весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г ВЛР–200д–М, ГОСТ 42104-88;
4. Шкаф сушильный SNOL 58/350, интервал рабочих температур 0 – 300 °С, (Литва);
5. рН-метр Анион 7000 со стеклянным комбинированным электродом ЭСК-10601, погрешность измерения  $\pm 0.02$  рН;
6. Центрифуга лабораторная ELMi CM-6M, скорость вращения 100 – 3500 об/мин (Латвия);
7. Бокс для фотографирования, позволяющий зафиксировать расстояние до измеряемого объекта и стандартизировать условия освещения; размером 22×23×24 см с двумя полосками светодиодного освещения;
8. Цифровое фоторегистрирующее устройство: 64-Мегапиксельная камера смартфона Xiaomi Redmi Note 9 Pro.

#### 2.2.4. Методики приготовления растворов

##### Аналиты и реагенты

*n*-Аминобензойная кислота (*n*АБК). Исходный 0.010 М раствор готовили растворением 0.0686 г реактива в мерной колбе вместимостью 50.0 мл в дистиллированной воде. Рабочие концентрации готовили разбавлением исходного.

*Новокаин*, *новокаинамид*, *церукал*. Исходные растворы концентрации 0.010 – 0.0010 М готовили растворением аликвот растворов для инъекций в мерных колбах вместимостью 25.0 мл в дистиллированной воде. Рабочие концентрации готовили разбавлением исходного.

*n*-Диметиламинобензальдегид (ДМАБА), *n*-диметиламинокоричный альдегид (ДМАКА). Исходные 0.010 – 0.040 М растворы готовили растворением навесок в мерной колбе вместимостью 100.0 мл в 50 %-ном этаноле или диспергированием в растворе 0.040 – 0.10 М ДДС при нагревании на водяной бане. Рабочие концентрации готовили разбавлением исходного.

### Поверхностно-активные вещества

*Додецилсульфат натрия* (ДДС). Исходные 0.0010 – 0.10 М растворы готовили растворением навесок в мерной колбе вместимостью 100.0 мл в дистиллированной воде при нагревании на водяной бане с учётом массовой доли основного вещества.

*ОП-10, Тритон X-100 и Тритон X-114*. Исходные 5.0 – 20 %-ные растворы готовили растворением навесок в дистиллированной воде с учетом массовой доли основного вещества.

### Компоненты буферных систем и другие реактивы

*Цитратные буферные растворы* [125]. Для приготовления цитратных буферных растворов с заданным рН смешивали растворы цитрата натрия (0.10 М), соляной кислоты (0.10 М) или гидроксида натрия (0.10 М) в пропорциях, представленных в табл. 2.3.

**Таблица 2.3** – Цитратные буферные растворы

<b>рН (18°C)</b>	<b>Исходный цитратный раствор, мл</b>	<b>0.10 М HCl, мл</b>
1.2	11.0	89.0
2.0	30.9	69.1
3.0	40.4	59.6
4.0	56.0	44.0
<b>рН (18°C)</b>	<b>Исходный цитратный раствор, мл</b>	<b>0.10 М NaOH, мл</b>
5.0	96.0	4.00
6.0	59.5	40.5

*Цитрат натрия*. Исходный раствор 0.10 М готовили растворением 21.014 г лимонной кислоты и 200.0 мл 1.0 М раствора NaOH в мерной колбе вместимостью 1000 мл в дистиллированной воде.

*Гидроксид натрия* (NaOH). Исходный 1.0 М раствор готовили растворением 40.0 г реактива в мерной колбе вместимостью 1000 мл в дистиллированной воде. Стандартизацию раствора проводили титриметрически с 0.100 М HCl.

*Соляная кислота (HCl).* Исходный 0.10 М раствор готовили растворением 8.3 мл концентрированной HCl (1.1470 г/мл) в мерной колбе вместимостью 1000 мл в дистиллированной воде. Для приготовления буферных растворов применяли 0.100 М фиксанальный раствор HCl.

*Хлорид натрия (NaCl).* Исходный 20 %-ный раствор готовили растворением навески реактива в дистиллированной воде.

*Сульфат натрия (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).* Исходный 19 %-ный раствор готовили растворением навески реактива в дистиллированной воде.

*Цитрат натрия (Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>, Na<sub>3</sub>Cit).* Исходный 1.0 М раствор готовили растворением навески реактива в дистиллированной воде.

*Метиловый фиолетовый.* Исходный 0.0010 М раствор готовили растворением навески реактива в мерной колбе вместимостью 50.0 мл в дистиллированной воде. Рабочие концентрации готовили разбавлением исходного.

*Имитируемая жидкость организма (SBF)* [126] – раствор, имеющий концентрацию неорганических ионов, аналогичную концентрации внеклеточных жидкостей человека, но не содержащий каких-либо клеток или белков.

*Методика приготовления SBF.* Для приготовления используют стеклянную посуду, промытую раствором HCl, нейтральным моющим средством и деионизированной водой. В ёмкость объемом 1 л наливают 700 мл деионизированной воды и перемешивают магнитной мешалкой, при этом последовательно добавляют соответствующие реагенты в порядке, указанном в таблице 2.4 после полного растворения каждого реагента. Температуру раствора доводят до 36.5 °С на водяной бане, а pH раствора доводят до 7.25 титрованием 1.0 М раствором HCl. Затем раствор переливают в стеклянную мерную колбу ёмкостью 1000 мл. Добавляют деионизированную воду до получения общего объема раствора и тщательно перемешивают. Хранят раствор в полипропиленовом или полистирольном флаконе в холодильнике при температуре 4 – 10 °С. Жидкость хранят в холодильнике при температуре 5 – 10 °С.

**Таблица 2.4** – Концентрация ионов плазмы крови, имитированной жидкости организма (SBF) и реагентов для приготовления 1 л SBF

Ион	Концентрация, мМ		Реагент	Количество
	Плазма крови	SBF		
Na <sup>+</sup>	142	142	NaCl	7.996 г
K <sup>+</sup>	5.00	5.0	NaHCO <sub>3</sub>	0.350 г
Mg <sup>2+</sup>	1.50	1.5	KCl	0.224 г
Ca <sup>2+</sup>	2.50	2.5	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O	0.228 г
Cl <sup>-</sup>	103	148	MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.305 г
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	27.0	4.2	HCl (1.0 M)	40.0 мл
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1.00	1.0	CaCl <sub>2</sub>	0.278 г
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.500	0.5	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.071 г

### 2.3. Методы исследования

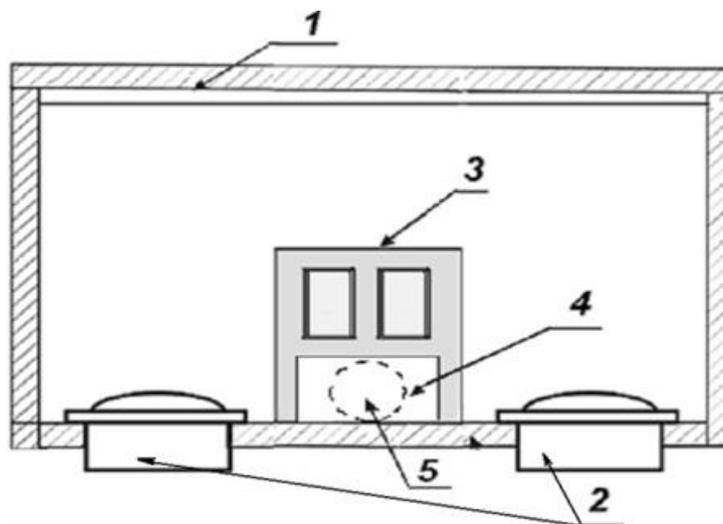
Спектрофотометрия. Электронные спектры поглощения исследуемых растворов регистрировали на двухлучевом сканирующем спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Япония) с программным обеспечением UVProbe-2.31. Спектральный диапазон 190 – 1100 нм,  $l=1$  см. Предел допускаемых значений абсолютной погрешности: по шкале  $\lambda \pm 0.3$  нм, по коэффициенту пропускания  $\pm 1\%$ . Спектрофотометрически рассчитана величина  $pK_a$  протонирования реагента (ДМАБА) по известной в литературе методике [127].

Цветометрически оценивали содержание аналитических форм в мицеллярно-насыщенных фазах после АТРС-концентрирования с применением математической обработки цифровых изображений окрашенных зон тест-средств, полученных при помощи камеры смартфона Xiaomi Redmi Note 9 Pro в специализированном боксе для фотографирования (рис. 2.3), позволяющем зафиксировать расстояние до измеряемого объекта и стандартизировать условия освещения. Параметры камеры: фотокамера (Мп) – 64, размер матрицы (дюйм) – 1/1.7, диафрагма –  $f/1.9$ . Необходимую часть цветного изображения окрашенных мицеллярных фаз смешанных ПАВ усредняли, применяя графический редактор Adobe Photoshop версии CS6, до одного пикселя с помощью фильтра «Blur» («Average»). После усреднения цвета определяли значения координат цветовых параметров R, G, B и C, M, Y, K. В указанных координатах цветности в оболочке электронных таблиц Microsoft Excel строили лепестковые диаграммы (ЛД), а также зависимости математически обработанных параметров цветности (интенсивности

цветовых сигналов (I), площади (S) и периметра (P) (геометрических параметров ЛД)) от логарифма концентрации исследуемых аналитов.

Метод потенциометрии использовали для контроля pH растворов (прямая потенциометрия) с помощью pH метра Анион 7000 со стеклянным комбинированным электродом ЭСК-10601, погрешность измерения  $\pm 0.02$  pH.

Метод потенциометрического титрования применяли для определения  $pK_a$  аналитов в присутствии мицелл ДДС для оценки их кислотно-основных свойств при помощи метода «полунейтрализованных» растворов. В качестве титранта применяли раствор NaOH и смесь NaOH и ДДС (после ККМ). К раствору соответствующего протолита в присутствии ДДС по каплям добавляли смесь NaOH и ДДС при постоянном перемешивании на магнитной мешалке и измеряли pH. Электродом сравнения при этом являлся хлоридсеребряный электрод, заполненный насыщенным раствором NaCl [128]. Благодаря этому, концентрация ПАВ остается постоянной в процессе всего титрования. По полученным данным строили зависимости pH от объема добавленного титранта и рассчитывали константы диссоциации  $pK_a$  сопряженных слабым основаниям кислот.



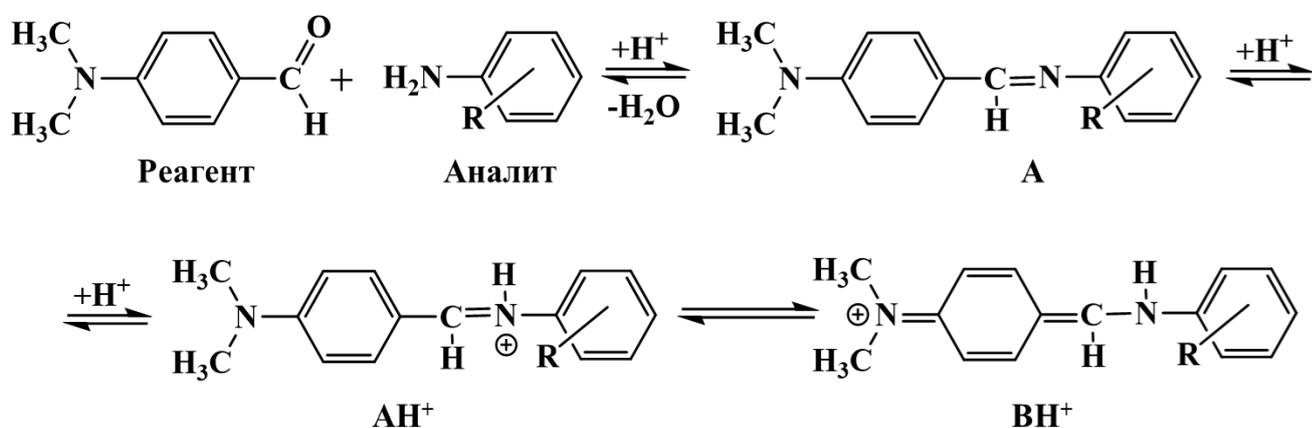
**Рисунок 2.3** – Схема бокса для цифровой фотокамеры (ЦФК): 1 – белый экран; 2 – галогеновые лампы; 3 – штатив, 4 – оборачивающее зеркало; 5 – отверстие для объектива ЦФК.

### ГЛАВА 3. Спектрофотометрическое исследование реакций взаимодействия *p*-диметиламинобензальдегида с некоторыми производными *p*-аминобензойной кислоты в водных растворах

Ранее в разделе 2.1. главы 2 обоснован выбор модельных реактантов (аналитов и реагентов), а также представлен общий механизм их взаимодействия (схема 2.1). В настоящем разделе приводятся результаты исследований особенностей этих реакций в условиях, исключающих воздействие каких-либо модификаторов, в частности ПАВ, т.е. в водной среде при различных рН.

#### 3.1. Состояние исходных реактантов при различных рН

Реакции конденсации лекарственных производных *p*-аминобензойной кислоты с ДМАБА в среде цитратных буферных растворов (ЦБР) образуют соответствующие ОШ: формы (А), протонирование которых в кислой среде даёт две протонированные (таутомерные) формы  $\text{АН}^+$  и аналитически значимую окрашенную форму  $\text{ВН}^+$ :



Чрезвычайно важным фактором, оказывающим влияние на скорость и механизм реакций конденсации, является рН (рис. 2.1, раздел 2.1.). Поэтому изучены протолитические свойства аналитов, реагентов и аналитических форм (ОШ) при варьировании рН.

### 3.1.1. Реагенты

При взаимодействии первичных ариламинов с карбонильными соединениями, такими как альдегиды и кетоны, образуются ОШ. Аналитически значимые эффекты достигаются с ароматическими альдегидами – *n*-диметиламинокоричным (ДМАКА) и *n*-диметиламинобензальдегидом (ДМАБА). Образуемые в кислых средах азометины (ОШ), благодаря электронодонорной диметиламиногруппе, существуют преимущественно в виде устойчивой хиноидной формы ( $BH^+$ ).

Цитратный буферный раствор (ЦБР), как было установлено ранее [124], лучшая буферная система для создания соответствующих значений рН в отличие от применения HCl с требованием постоянного контроля значений рН (незабуференная среда) или ацетатно-аммиачного буферного раствора, в среде которого ОШ менее устойчивы. Поэтому дальнейшие исследования проводили в среде ЦБР. Спектрофотометрически исследованы протолитические свойства альдегидов (ДМАБА и ДМАКА) и зарегистрированы их спектры поглощения в водной среде, при варьировании рН (рис 3.1, 3.2).

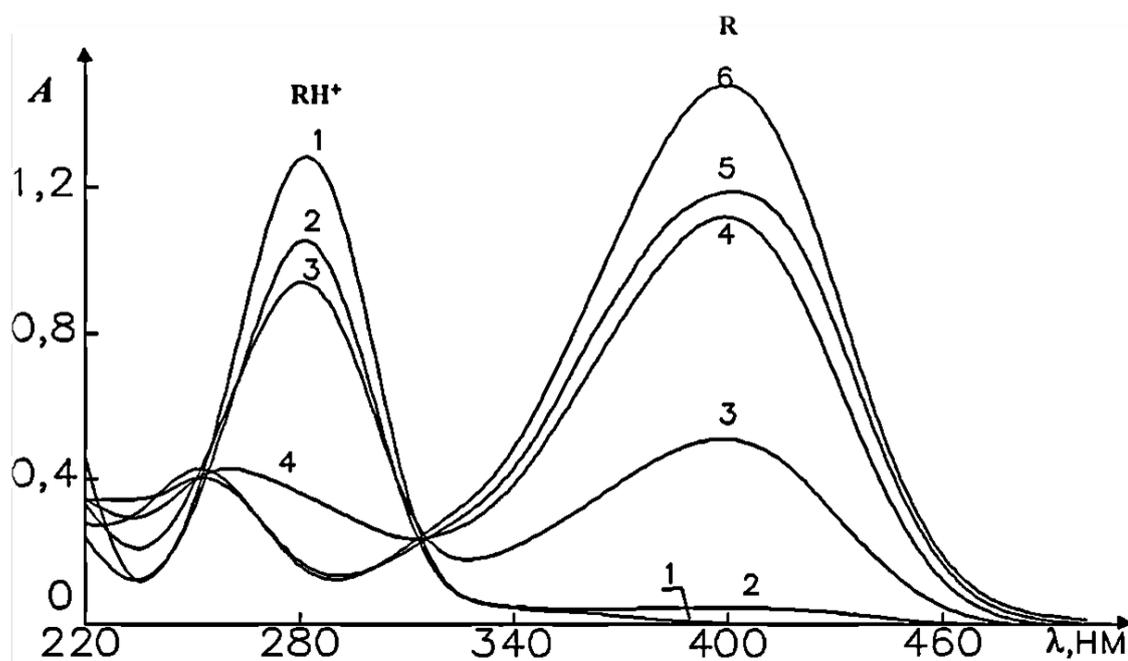


Рисунок 3.1 – Электронные спектры поглощения  $5 \cdot 10^{-5}$  М раствора ДМАКА в ЦБР при различных рН;  $l = 1$  см. Номер кривой соответствует значению рН. Кривая 1 соответствует рН = 1.1 для ЦБР.

Как следует из рис. 3.1, электронные спектры поглощения ДМАКА в ЦБР при  $\text{pH} = 1.0$  характеризуется одной полосой с  $\lambda_{\text{max}} = 280$  нм ( $\text{RH}^+$ ). Начиная с  $\text{pH} = 2.0$ , в спектре появляется вторая полоса поглощения с  $\lambda_{\text{max}} = 400$  нм (R). При дальнейшем увеличении  $\text{pH}$  до 6.0 в спектре фиксируется полоса с  $\lambda_{\text{max}} = 250$  нм и полоса с  $\lambda_{\text{max}} = 400$  нм. При  $\text{pH} = 4.0$  в УФ-области спектра полоса поглощения является сложной (с  $\lambda_{\text{max}} = 260$  нм) и обусловлена наложением полос поглощения с  $\lambda_{\text{max}} = 250$  нм и  $\lambda_{\text{max}} = 280$  нм.

Наличие изобестической точки при 315 нм свидетельствует о существовании двух равновесных форм, что можно объяснить протонированием ДМАКА:

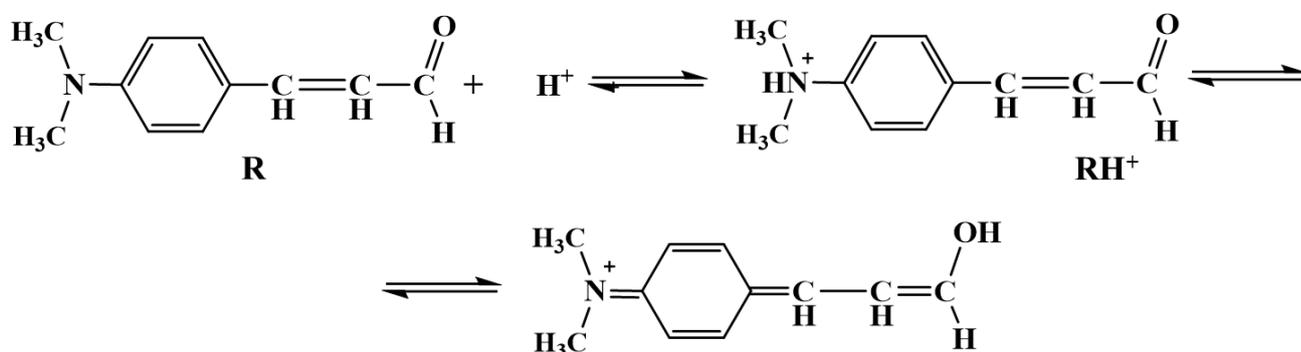


Схема 3.1 – Протонирование ДМАКА.

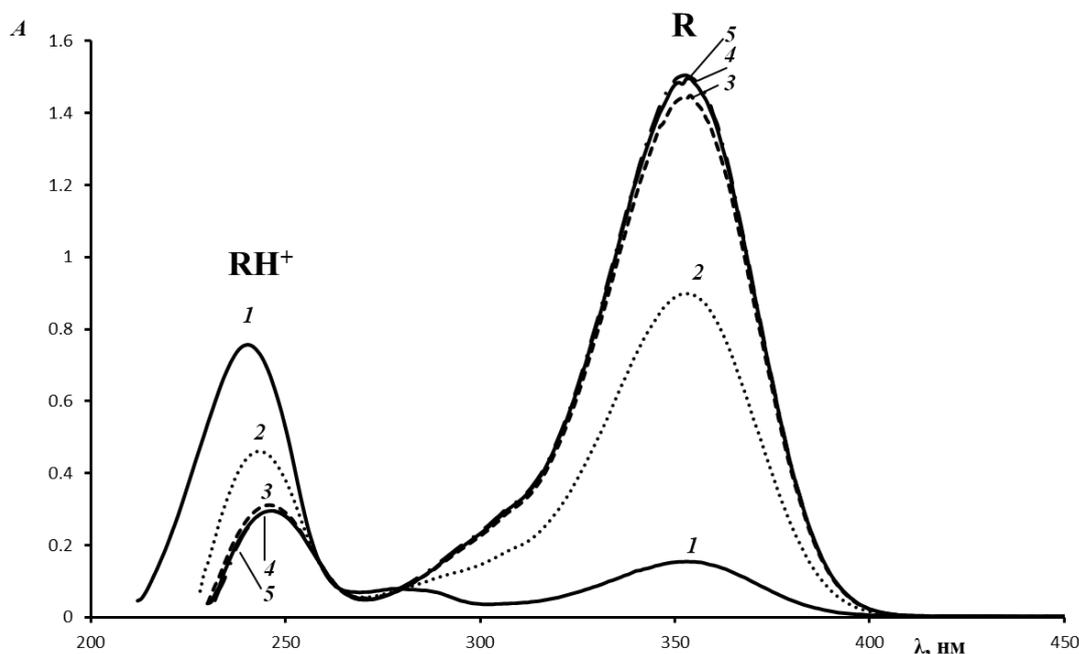


Рисунок 3.2 – Электронные спектры поглощения  $5 \cdot 10^{-5}$  М раствора ДМАБА в ЦБР при различных  $\text{pH}$ ;  $l = 1$  см. Номер кривой соответствует значению  $\text{pH}$ . Кривая 1 соответствует  $\text{pH} = 1.1$  для ЦБР.

Электронные спектры поглощения ДМАБА (рис. 3.2) в ЦБР при рН = 1.0 в отличие от ДМАКА характеризуются двумя полосами поглощения с  $\lambda_{\max} = 240$  нм ( $RH^+$ ) и 353 (R). При дальнейшем увеличении рН до 5.0 наблюдается гипохромный эффект и bathochromный сдвиг полосы 240 нм на 7 нм и гиперхромный эффект полосы 353 нм. Наличие изобестической точки при 280 нм также свидетельствует о существовании двух равновесных форм, что можно объяснить протонированием ДМАБА:

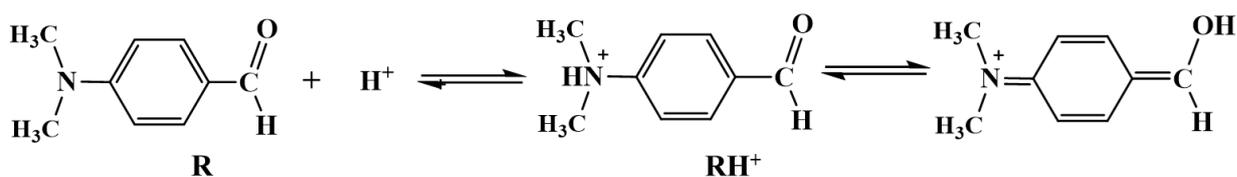


Схема 3.2 – Протонирование ДМАБА

Спектрофотометрически рассчитаны величины  $pK_a$  протонирования ДМАКА [124]. Расчёт проводили по формуле, учитывая что  $\epsilon$  (катиона) <  $\epsilon$  (нейтральной молекулы):

$$pK_a = pH + \lg \frac{A_m - A}{A - A_1},$$

где:  $A_m$  – оптическая плотность нейтральной молекулы;  $A_1$  – оптическая плотность катиона;  $A$  – оптическая плотность смеси двух форм. Полученные результаты представлены в табл. 3.1 (ДМАКА) и табл. 3.2 (ДМАБА).

Таблица 3.1 – Результаты расчётов величины  $pK_a$  ДМАКА (аналитическая длина волны – 400 нм;  $A_m = 1.503$ ;  $A_1 = 0.001$ )

$pH$	$A$	$A_m - A$	$A - A_1$	$\lg \frac{A_m - A}{A - A_1}$	$pK_a$	$pK_a \pm \Delta pK_a$
3.39	0.915	0.588	0.914	-0.192	3.20	3.18 ± 0.02
3.31	0.871	0.632	0.870	-0.139	3.17	
3.22	0.786	0.717	0.785	-0.0399	3.18	
2.85	0.488	1.02	0.487	0.318	3.17	
2.71	0.381	1.12	0.380	0.469	3.18	
2.59	0.317	1.19	0.316	0.573	3.16	
2.51	0.271	1.23	0.270	0.658	3.17	

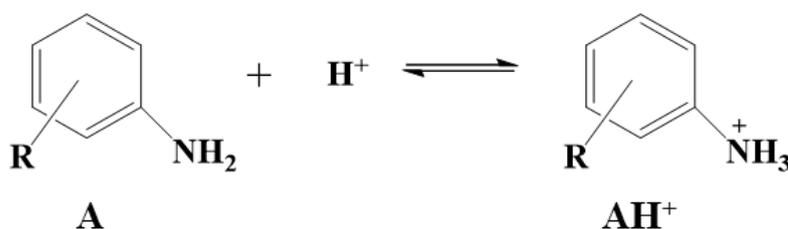
**Таблица 3.2** – Результаты расчётов величины  $pK_a$  ДМАБА  
(аналитическая длина волны – 353 нм;  $A_m = 1.398$ ;  $A_l = 0.026$ )

$pH$	$A$	$A_m - A$	$A - A_l$	$\lg \frac{A_m - A}{A - A_l}$	$pK_a$	$pK_a \pm \Delta pK_a$
1.52	0.596	0.802	0.570	0.148	1.67	1.67 ± 0.03
1.62	0.684	0.714	0.658	0.0355	1.67	
1.74	0.795	0.603	0.769	-0.106	1.63	
1.85	0.877	0.521	0.851	-0.213	1.64	
1.93	0.933	0.465	0.907	-0.290	1.64	
2.06	0.995	0.403	0.969	-0.381	1.68	
2.11	1.04	0.361	1.01	-0.447	1.66	
2.18	1.12	0.283	1.09	-0.585	1.59	
2.34	1.15	0.253	1.12	-0.646	1.69	
2.45	1.19	0.210	1.16	-0.743	1.71	
2.51	1.20	0.200	1.17	-0.768	1.74	

Таким образом, полученные значения  $pK_a$  свидетельствуют о более основных характеристиках  $NH_2$ -группы ДМАКА по сравнению с ДМАБА из-за наличия винильного фрагмента, что приводит к удлинению общей цепи  $\pi$ -сопряжения.

### 3.1.2. Аналиты

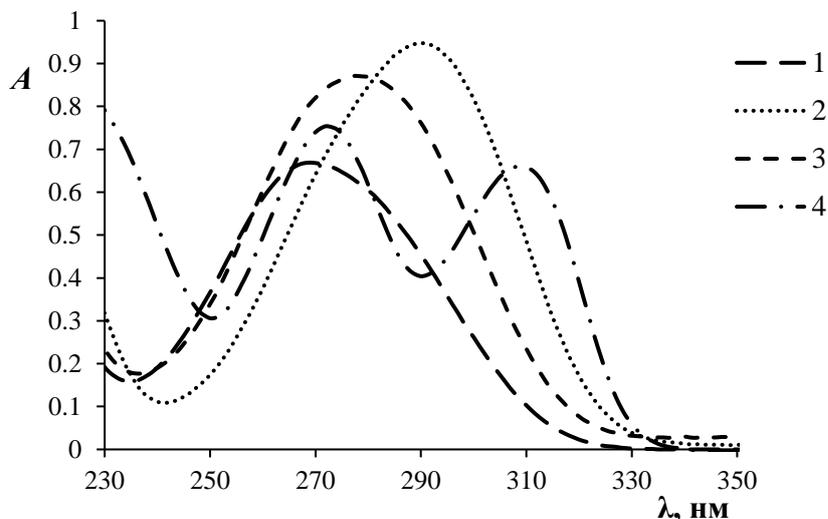
Все исследуемые в работе аналиты проявляют в кислых средах слабые основные свойства за счёт  $NH_2$ -группы, поэтому они протонируются (схема 3.3). Спектрофотометрически исследованы протолитические свойства аналитов и зарегистрированы их спектры поглощения в водной среде (рис. 3.3) при варьировании  $pH$  (рис. 3.4).



**Схема 3.3** – Протонирование аналитов

Как видно из рис. 3.3, в электронных спектрах поглощения водных растворов  $nABK$ , новокаина, новокаинамида регистрируются максимумы

поглощения при 269 нм, 290 нм, 278 нм соответственно; в спектре церукала – два максимума поглощения при 272 и 309 нм.

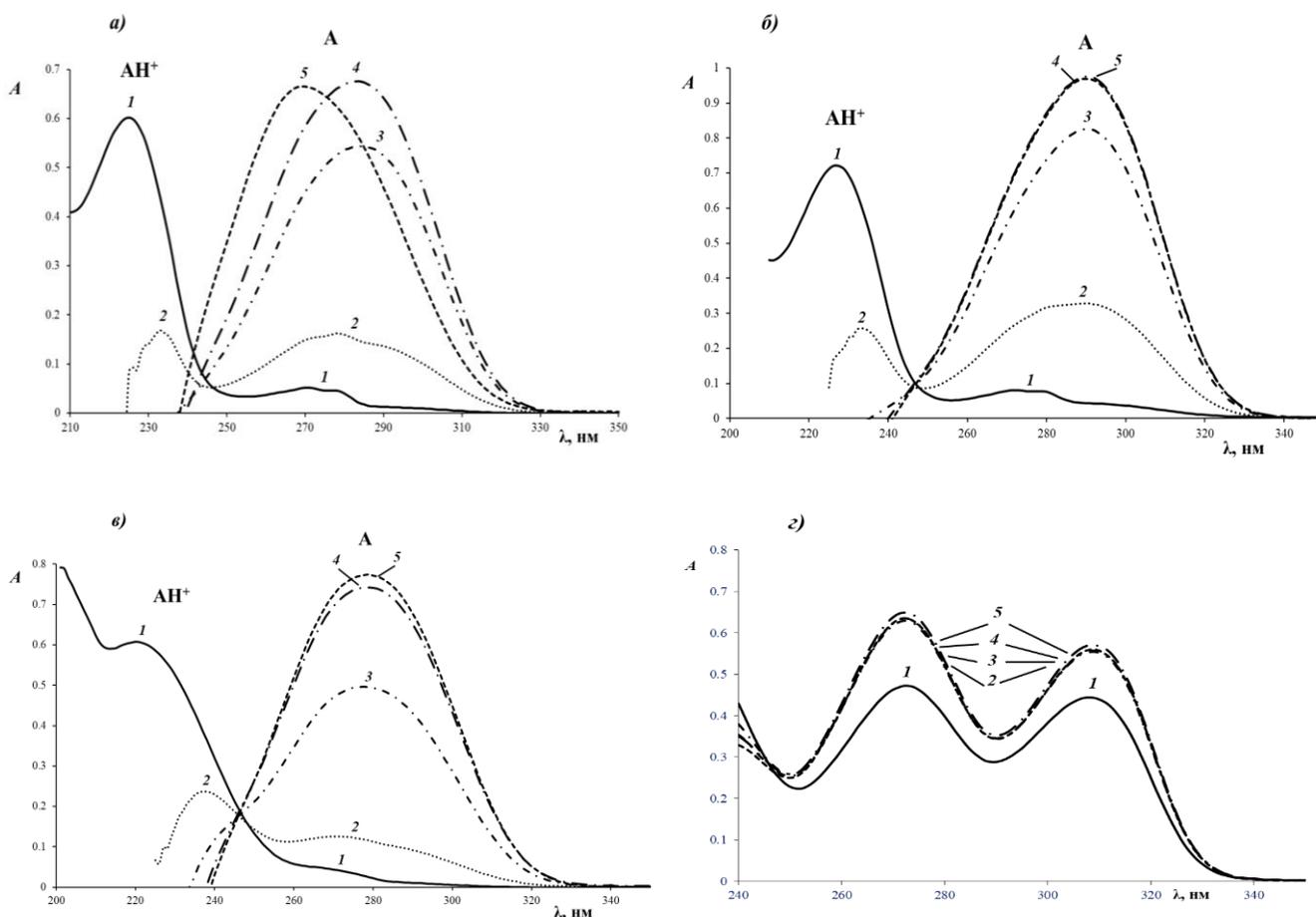


**Рисунок 3.3** – Электронные спектры поглощения  $5 \cdot 10^{-5}$  М растворов аналитов в водной среде: **1** – *n*АБК; **2** – новокаин; **3** – новокаинамид; **4** – церукал.

Электронные спектры поглощения *n*АБК (*a*), новокаина (*б*) и новокаинамида (*в*) (рис. 3.4) в ЦБР при рН = 1.0 характеризуются двумя полосами поглощения с  $\lambda_{\max}$  ( $\text{АН}^+$  и А) = 225 и 270 (*n*АБК), 227 и 280 нм (новокаин) соответственно, а для новокаинамида – одной полосой поглощения с  $\lambda_{\max} = 226$  нм ( $\text{АН}^+$ ). При уменьшении рН до 2.0 наблюдается гипохромные эффекты и батохромные сдвиги соответствующих полос поглощения. При увеличении рН от 3.0 до 5.0 электронные спектры поглощения аналитов характеризуются одной полосой (форма А) с  $\lambda_{\max} = 284$  (*a*), 290 (*б*) и 280 (*в*) нм соответственно.

В отличие от других аналитов, электронные спектры церукала (*г*) при рН = 1, характеризуются 3 полосами поглощения с  $\lambda_{\max} = 210$  ( $\text{АН}^+$ ), 272 и 309 (А) нм. При увеличении рН от 2 до 5 наблюдается гипохромный эффект и батохромный сдвиг полосы  $\text{АН}^+$  и гиперхромный эффект полос, соответствующих форме А.

Максимумы поглощения нейтральных и протонированных форм аналитов в среде ЦБР представлены в табл. 3.3.



**Рисунок 3.4** – Электронные спектры поглощения  $5 \cdot 10^{-5}$  М растворов аналитов в ЦБР при различных рН: *а* – *nABK*; *б* – новокаин; *в* – новокаинамид; *г* – церукал. Номер кривой соответствует значению рН. Кривая *1* соответствует рН = 1.1 для ЦБР.

**Таблица 3.3** – Максимумы поглощения нейтральных (А) и протонированных (АН<sup>+</sup>) форм аналитов в среде ЦБР

рН	$\lambda_{\text{max}}$ , нм							
	<i>nABK</i>		<i>Новокаин</i>		<i>Новокаинамид</i>		<i>Церкукал</i>	
	АН <sup>+</sup>	А	АН <sup>+</sup>	А	АН <sup>+</sup>	А	А	
1.1	225	270	227	280	226		272	309
2.0	233	278	233	290	237	271	272	309
3.0	–	284		290		280	272	309
4.0	–	284		290		280	272	309
5.0	–	269		290		280	272	309

Таким образом, полученные данные не противоречат известным в литературе [129] и могут быть применены для установления и объяснения оптимальных интервалов рН для соответствующих форм ОШ.

## 3.2. Особенности образования оснований Шиффа

Предварительные исследования показали, что в отсутствии органических растворителей и различных модификаторов исследуемые производные *n*-аминобензойной кислоты взаимодействуют с рассматриваемыми ароматическими альдегидами и образуют в водной среде соответствующие ОШ. Настоящий раздел посвящен определению скорости реакции образования ОШ на примере систем ДМАБА (модельный альдегид) – ариламины и их стабильности при варьировании рН, концентрации и времени контакта реагентов.

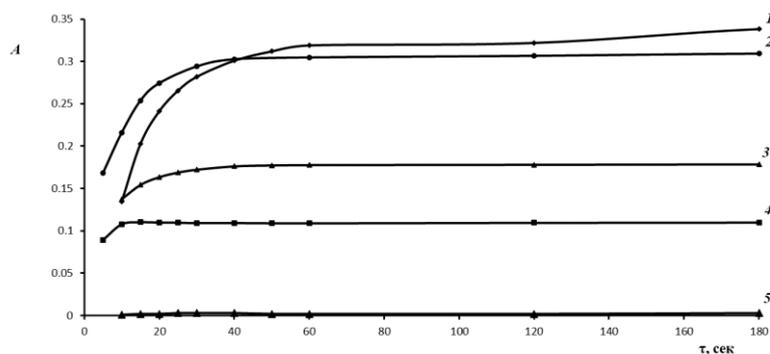
### 3.2.1. Изучение скорости реакций ДМАБА с ариламинами

Для определения времени установления равновесия в исследуемых системах готовили реакционные смеси, состоящие из равных концентраций ДМАБА и ариламина в среде ЦБР со значениями рН в интервале от 2 до 3. Регистрировали электронные спектры поглощения полученных смесей через фиксированные временные отрезки и по полученным данным строили зависимости  $A$  при  $\lambda_{\max} - \tau$  (рис. 3.5).

Следует отметить, что для создания реакционной смеси церукал – ДМАБА, в отличие от других аналитов, концентрация реагентов требовалась на порядок выше, поскольку скорость реакции в этой системе ниже, что вероятно, связано с созданием *орто*-заместителем – Cl по отношению к аминогруппе пространственного препятствия и, как следствие, снижением основности ариламина.

Как видно из рис. 3.5, в указанном концентрационном интервале реагентов равновесие достигается в течение двух минут, что свидетельствует о высокой скорости реакции (кривые 1 – 4, рис. 3.5).

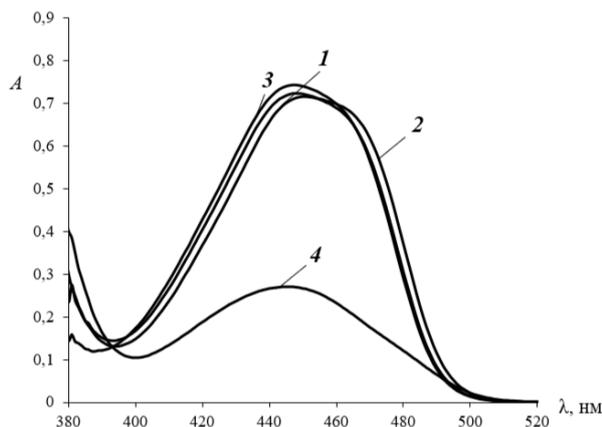
При уменьшении концентраций реагентов скорость реакций ДМАБА с ариламинами резко снижалась до значений оптических плотностей, близких к погрешности измерения (кривая 5, рис. 3.5), поэтому дальнейшее изучение кинетики реакций в водных средах спектрофотометрически не целесообразно.



**Рисунок 3.5** – Кинетические зависимости  $A - \tau$  в исследуемых системах:  
**1** – новокаиnamид; **2** – *n*АБК; **3** – новокаин ( $c(\text{аминa}) = c(\text{ДМАБА}) = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $\text{pH} = 3.0$ );  
**4** – церукал ( $c(\text{аминa}) = 6 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ;  $c(\text{ДМАБА}) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ;  $\text{pH} = 2.0$ );  
**5** – новокаин ( $c(\text{аминa}) = c(\text{ДМАБА}) = 3 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $\text{pH} = 3.0$ ).

### 3.2.2. Стабильность исследуемых систем

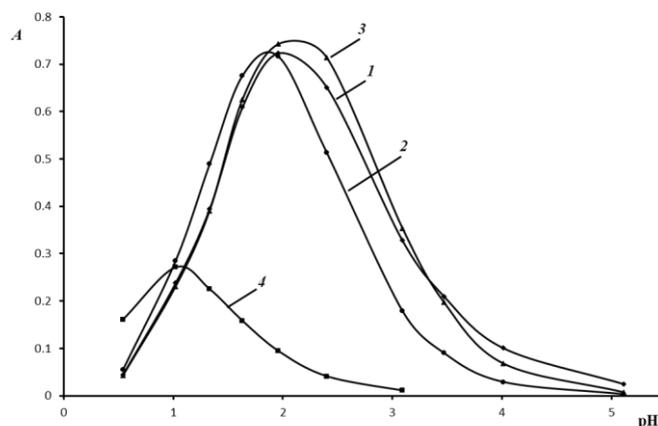
Установлено, что характерная для формы ОШ –  $\text{BH}^+$  (стр. 65) образуется для каждого аналита, в электронном спектре поглощения при этом (рис. 3.6) фиксируются полосы с  $\lambda_{\text{max}} = 449 \text{ нм}$  (*n*АБК),  $453 \text{ нм}$  (новокаин),  $448 \text{ нм}$  (новокаиnamид),  $445 \text{ нм}$  (церукал).



**Рисунок 3.6** – Спектры поглощения ОШ в среде ЦБР:  
**1** – *n*АБК; **2** – новокаин; **3** – новокаиnamид ( $c(\text{аминa}) = c(\text{ДМАБА}) = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $\text{pH} = 2.0$ );  
**4** – церукал ( $c(\text{аминa}) = c(\text{ДМАБА}) = 2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ,  $\text{pH} = 1.1$ ).

Спектрофотометрически изучены зависимости оптических плотностей для систем амин – ДМАБА от  $\text{pH}$  в широком интервале кислотности (рис. 3.7). Полученные колокообразные кривые согласуются с данными литературы (рис. 2.1, глава 2). В области высоких значений  $\text{pH}$  аналит полностью находится в протонированной, а следовательно, нереакционной форме. По мере увеличения

pH скорость реакции возрастает, т. к. лимитирующей стадией становится присоединение аминов к карбонильной группе. При дальнейшем увеличении pH концентрация протонов понижается, вследствие чего затрудняется стадия дегидратации, катализируемая протонами.



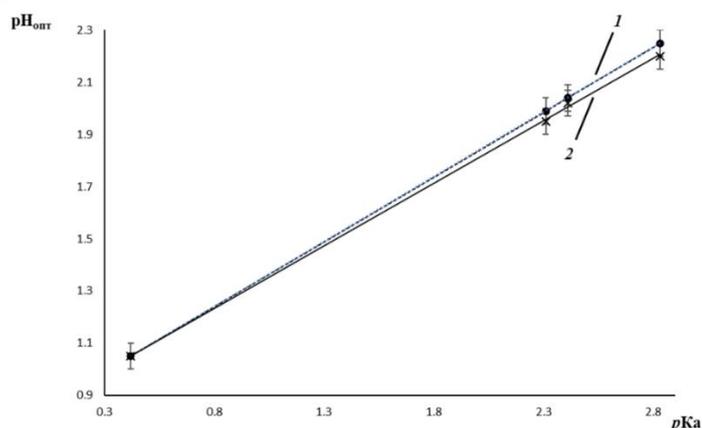
**Рисунок 3.7** – Зависимости  $A$  (при  $\lambda_{\max}$ ) систем амин – ДМАБА от pH:  
**1** – *n*АБК; **2** – новокаин; **3** – новокаионамид ( $c(\text{амин}) = c(\text{ДМАБА}) = 5 \cdot 10^{-4} \text{ М}$ );  
**4** – церукал ( $c(\text{амин}) = c(\text{ДМАБА}) = 2 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ).

Исходя из полученных данных, выбраны оптимальные интервалы pH для образования ОШ, которые соответственно составили (1.60 – 2.40) для *n*АБК, (1.55 – 2.35) для новокаина, (1.80 – 2.60) для новокаионамида и (0.95 – 1.15) для церукала.

Между  $pK_a$  аналита и оптимальными значениями pH эмпирически установлена корреляция вида (рис. 3.8):

$$pH_{\text{опт}} = \frac{(pK_{\text{амин}} + 1.67)}{2}$$

где:  $pK_{\text{амин}}$  – величина  $pK_a$  амина; 1.67 – величина  $pK_a$  протонирования ДМАБА, найденная спектрофотометрически по предельному поглощению протонированной и непротонированной формам альдегида (табл. 3.2). Это уравнение позволяет прогнозировать оптимальные условия реакций взаимодействия ДМАБА с производными *n*АБК (табл. 3.4).



**Рисунок 3.8** – Корреляционная зависимость  $pH_{\text{опт}} - pK_{\text{амин}}:$   
**1** – теоретическая; **2** – экспериментальная.

Ранее аналогичная зависимость установлена для ДМАКА и других ариламинов –ОН, –СН<sub>3</sub>, –СООН-замещенных анилина [124].

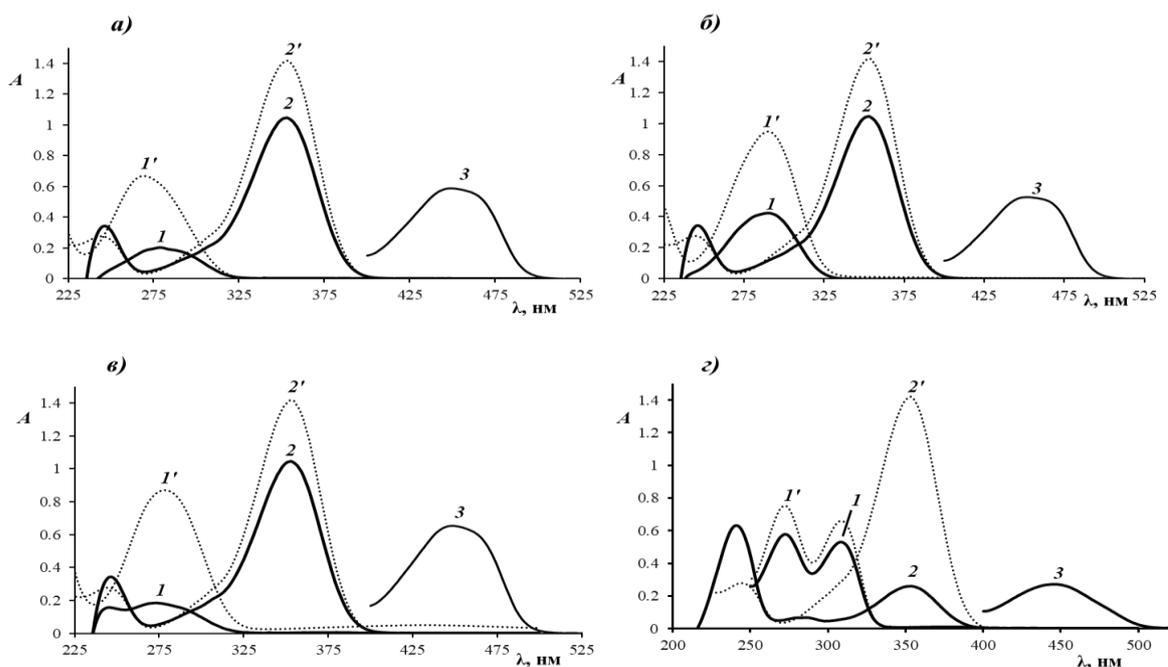
**Таблица 3.4** – Значения  $pK_a$  [130 – 133] исследуемых аминов и pH соответствующих ОШ

Аналит	$pK_a$	$pH_{\text{опт.}}$		Оптимальный интервал pH
		теоретическое	практическое	
<i>n</i> АБК	2.41	2.04	2.02	1.60 – 2.40
Новокаин	2.31	1.99	1.95	1.55 – 2.35
Новокаинамид	2.83	2.25	2.20	1.80 – 2.60
Церукал	0.42	1.05	1.05	0.95 – 1.15

Взаимодействие производных *n*АБК с ДМАБА, в отличие от реакций с ДМАКА, протекает при более низких значениях pH, поэтому смещение равновесия в сторону образования протонированных форм ОШ реализуется в большей степени.

### 3.3. Метрологические характеристики спектрофотометрического определения исследуемых аналитов

Спектрофотометрически показано, что в водных средах в отсутствие органических растворителей и организованных сред ПАВ все исследуемые аналиты образуют с ДМАБА аналитические формы (ОШ) (рис. 3.9). Установлены оптимальные интервалы pH, максимумы поглощения соответствующих ОШ, а также некоторые метрологические характеристики, которые сведены в табл. 3.5.



**Рисунок 3.9** – Электронные спектры поглощения  $5 \cdot 10^{-5}$  М растворов исходных реактантов (*а* – *n*АБК; *б* – новокаин; *в* – новокаинамид; *г* – церукал) в водных средах (*1'* – аналит, *2'* – ДМАБА), в среде ЦБР (*1, 2*) и соответствующих ОШ (*3*) ( $c_{\text{ДМАБА}} = 2 \cdot 10^{-3}$  М;  $c_{\text{амина}} = 1 \cdot 10^{-4}$  М (*а* – *в*) и  $2 \cdot 10^{-3}$  М (*г*)) в среде ЦБР (рН = 2.0 ((*а* – *в*) и 1.1 (*г*)).

Системы амин–ДМАБА в водной среде можно применять для определения производных *n*АБК с концентрацией не менее 0.1 мкг/мл, однако это не соответствует современным требованиям контроля их содержаний в фармацевтических препаратах и других объектах.

**Таблица 3.5** – Характеристики взаимодействия производных *n*АБК с ДМАБА в ЦБР

Аналит	$\lambda_{\text{max}}$ , нм	Оптим. интервал рН	Уравнение градуировочного графика; $R^2$	ПрО (3 $\sigma$ ), мг/л	НГОС, мг/л	ВГОС, мг/л
<i>n</i> АБК	448	1.60 – 2.40	$Y = 0.59x$ ; 0.999	0.12	0.27	27
Новокаин	452	1.55 – 2.35	$Y = 0.51x$ ; 0.999	0.30	0.65	55
Новокаинамид	448	1.80 – 2.60	$Y = 0.64x$ ; 0.999	0.23	0.52	54
Церукал	447	0.95 – 1.15	$Y = 0.086x$ ; 0.999	2.1	4.7	673

Проведению реакций лекарственных ариламинов с ДМАБА (ДМАКА) в организованных средах неионных ПАВ и их смесей с анионными ПАВ посвящена дальнейшая работа.

## ГЛАВА 4. Мицеллярно-экстракционное концентрирование оснований Шиффа исследуемых аналитов с ДМАБА

Прежде чем исследовать особенности фазообразования в растворах ПАВ в присутствии различных высаливателей кратко рассмотрим получение жидких мицеллярных фаз в системах  $n\text{ПАВ} - \text{H}_2\text{O} - \text{электролит}$  (неэлектролит). Влияние на водные растворы ПАВ таких факторов, как температура (политермический режим) или добавление высаливающего агента (например, сильных электролитов) при постоянной температуре (изотермический режим) приводит к разделению гомогенного раствора на две (обогащенную и обедненную ПАВ) изотропные фазы. При этом различают экстракцию «в точке помутнения» («cloud point» extraction, CP-экстракция) и технологию экстракции АТРС (aqueous biphasic systems, two-phase systems) соответственно (рис. 4.1).



Рисунок 4.1 – Условия получения жидких мицеллярных фаз.

**Выбор представителей неионных и анионных ПАВ.** Лекарственные производные  $n\text{АБК}$ , относящиеся к классу ариламинов, образуют в среде ЦБР с ароматическими альдегидами (ДМАБА и др.), соответствующие ОШ в отсутствие каких-либо модификаторов, например ПАВ (глава 3). В настоящем разделе рассматривается получение аналитических форм (ОШ) в присутствии комбинированных ПАВ неионного и анионного типов (глава 1, рис. 1.3).

Анализ данных литературы показал, что при СР-экстракции органических аналитов преимущественно применяют нПАВ (стр. 28, 37, глава 1), среди которых лидирующие позиции занимают полиоксиэтилированные алкилфенолы серии Тритона X. Поэтому в качестве неионного ПАВ выбран представитель этой группы ПАВ – Тритон X-114, отличающийся низкой температурой помутнения, близкой к температуре 20 – 25°C, пониженной токсичностью, коммерческой доступностью, низким значением ККМ и высокой плотностью мицеллярной фазы. Тритон X-114 также является одним из наиболее широко используемых ПАВ из-за его способности к биоразложению. Как установлено ранее [124], при систематическом изучении влияния различных типов ПАВ на реакции образования ОШ, аналитический эффект вызывают лишь анионные ПАВ, модельным представителем которых выбран додецилсульфат натрия (ДДС).

#### **4.1. Особенности фазообразования в растворах ПАВ при варьировании природы и концентрации высаливателя**

Перейдем к предварительному рассмотрению фазообразования на примере Тритона X-114 в водной системе и в присутствии ДДС.

Для оценки высаливающей способности солей в системе *Тритон X-114 – H<sub>2</sub>O – соль* (20 – 25 °C) в качестве электролитов выбраны натриевые соли одно- (HCl), двух- (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) и трёхосновной (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>) кислот. Это связано с тем, что NaCl и Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> являются солями сильных кислот, которые не подвергаются гидролизу. Выбор соли лимонной кислоты – трехзамещенного цитрата натрия (Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>, Na<sub>3</sub>Cit) обусловлен тем, что образование аналитических форм ОШ при взаимодействии лекарственных производных *n*АБК с ДМАБА наиболее стабильно в среде цитратных буферных растворов. Таким образом, цитрат анион является одним из важных компонентов исследуемых систем.

Ионы Na<sup>+</sup> являются космотропами – упорядочивающими структуру воды ионами [134, 135]. Они проявляют сильные взаимодействия с молекулами воды и способны разрушать водородные связи между ними, таким образом способствуя наибольшему эффекту высаливания, так как гидрофобизация

мицелл, их агрегация и связана с увеличением дегидратации полиоксиэтиленовых цепей при введении электролита в систему *n*ПАВ –  $H_2O$ . Однако, катионы менее сольватированы, чем анионы, и оказывают незначительное влияние на формирование двухфазных систем. Кроме того, поскольку катион  $Na^+$  является общим для трёх исследуемых солей, различия в фазовом поведении систем *Тритон X-114* –  $H_2O$  – соль будет обусловлено преимущественно анионами  $Cl^-$ ,  $SO_4^{2-}$  и  $C_6H_5O_7^{3-}$ .

#### 4.1.1. Система *Тритон X-114* – $NaCl$ ( $Na_2SO_4$ , $Na_3C_6H_5O_7$ )

Ключевым фактором, который способствует эффективному процессу концентрирования аналитов или их аналитических форм мицеллярными фазами *n*ПАВ, является объем образующейся фазы ( $V_{м. ф.}$ ). В связи с этим, чем меньше факторов будут влиять на величину  $V_{м. ф.}$ , тем лучше будет воспроизводимость рассчитанных значений концентраций аналитов после их экстракции в такие фазы. По соотношению  $V_{м. ф.}$  к объему водной фазы  $V_{в. ф.}$  рассчитывают коэффициент абсолютного концентрирования, который может быть достигнут в условиях эксперимента. Объем мицеллярной фазы связан с исходной концентрацией ПАВ в растворе. Для получения мицеллярно-насыщенных фаз в системах *Тритон X-114* –  $H_2O$  – электролит в изотермическом режиме (20 – 25 °С) выбраны три концентрации *n*ПАВ (0.50, 0.75 и 1.0 %), обеспечивающие образование фаз в объеме от 0.1 до 0.5 мл. Выбор концентраций Тритона X-114 менее 0.50 % и более 1.0 % является нецелесообразным. Это связано с тем, что формирование мицеллярных фаз менее 0.1 мл не всегда позволяет достичь эффективного концентрирования (степень извлечения аналитов достигает менее 70 %), а также затрудняет её отделение от водной фазы. С другой стороны, большой объем мицеллярной фазы способствует разбавлению аналитических форм и, как следствие, ухудшению чувствительности. Натриевые соли вводили в следующих диапазонах концентраций:  $NaCl$  (0.05 – 1.5 М),  $Na_2SO_4$  (0.02 – 0.5 М) и  $Na_3Cit$  (0.01 – 0.25 М). Выбор диапазонов соответствующих концентраций

электролитов обусловлен их растворимостью (табл. 4.1) и объемами получаемых мицеллярных фаз (0.1 – 0.5 мл).

**Таблица 4.1** – Некоторые свойства и характеристики исследуемых электролитов

Высаливатель	Коэффициент растворимости $k$ , г/100 г $H_2O$ (при 20 °С) [136]	Ион	Энергия гидратации ионов, $\Delta G_{гидр}$ , кДж/моль [137, 138]
NaCl	35.9	Cl <sup>-</sup>	-340
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	19.1	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	-1080
Na <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	70.3	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> <sup>3-</sup>	-2645

Для измерения объёмов мицеллярных фаз в градуированные пробирки общим объемом 5 мл последовательно вводили соответствующие аликвоты всех компонентов систем *Тритон X-114 – H<sub>2</sub>O – электролит* в соответствии с обоснованными выше диапазонами концентраций. Полученные растворы тщательно перемешивали и термостатировали на водяной бане при температуре 25 °С. После наблюдали формирование прозрачных неокрашенных мицеллярных фаз. Визуальное установление границы, отделяющей водную фазу от мицеллярной, и, как следствие, измерение  $V_{м. ф.}$  с наименьшей погрешностью, в данных условиях затруднено (рис. 4.2).



**Рисунок 4.2** – Пример образования прозрачной мицеллярной фазы.

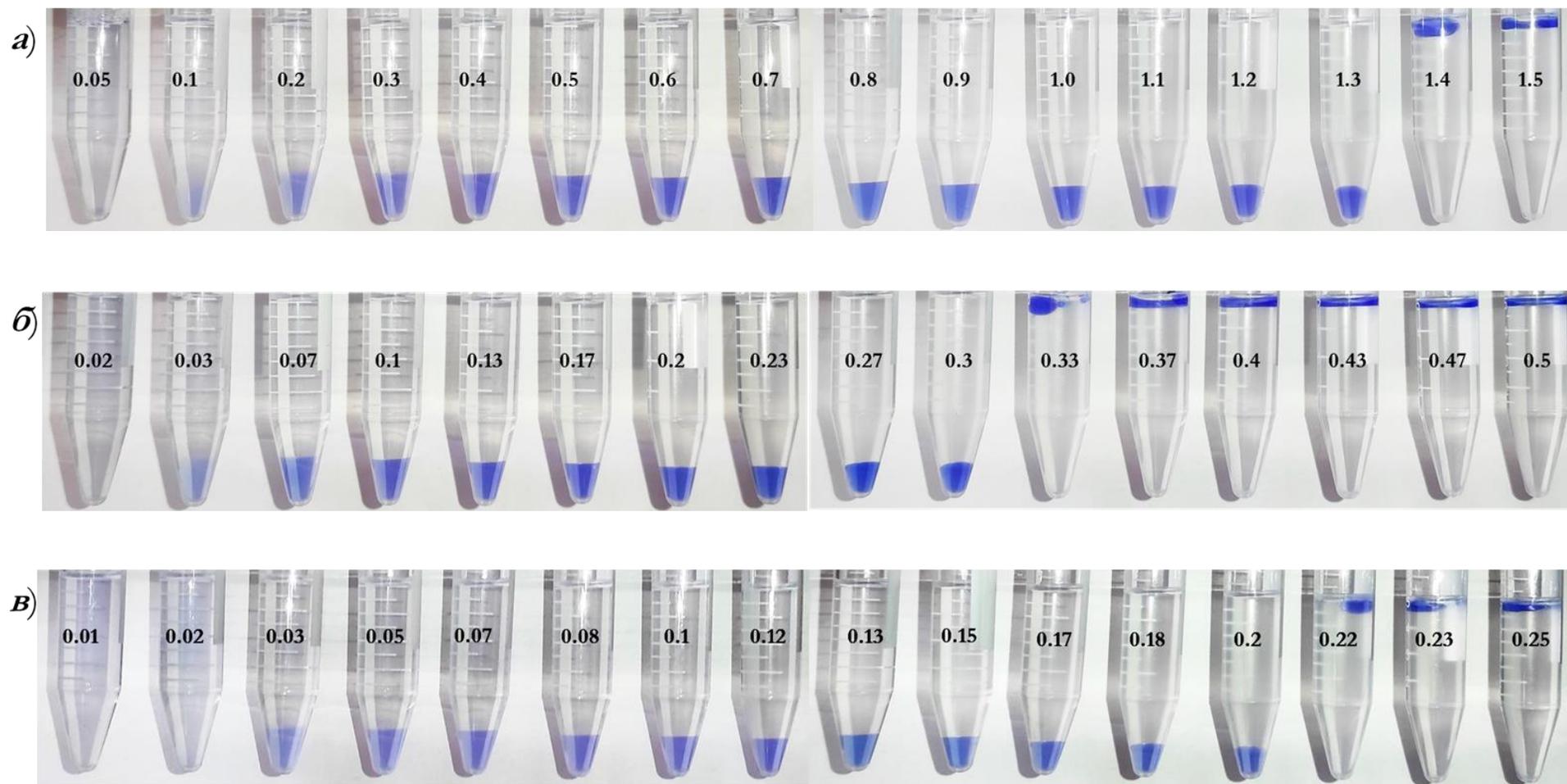
Поэтому для улучшения контрастности и визуального детектирования получаемых мицеллярных фаз, а также снижения погрешности измерения их объёмов в исследуемые системы вводили  $1 \cdot 10^{-6}$  М раствор хорошо растворимого в воде, с высоким молярным коэффициентом светопоглощения кислотно-основного индикатора – метилового фиолетового. Концентрация индикатора крайне мала и воздействия на характеристики фазообразования в исследуемых системах не оказывает. Также данный индикатор применяют как тест-краситель в аналитической практике и для определения других физико-химических параметров, например ККМ [139, 140].

Примеры фотографий полученных мицеллярных фаз в системах *Тритон X-114* ( $\omega = 0.75 \%$ ) –  $H_2O - NaCl$  ( $Na_2SO_4$ ,  $Na_3Cit$ ) в зависимости от концентраций высаливателей представлены на рис. 4.3. Фото демонстрируют, что природа соли оказывает влияние на характер фазообразования в таких системах.

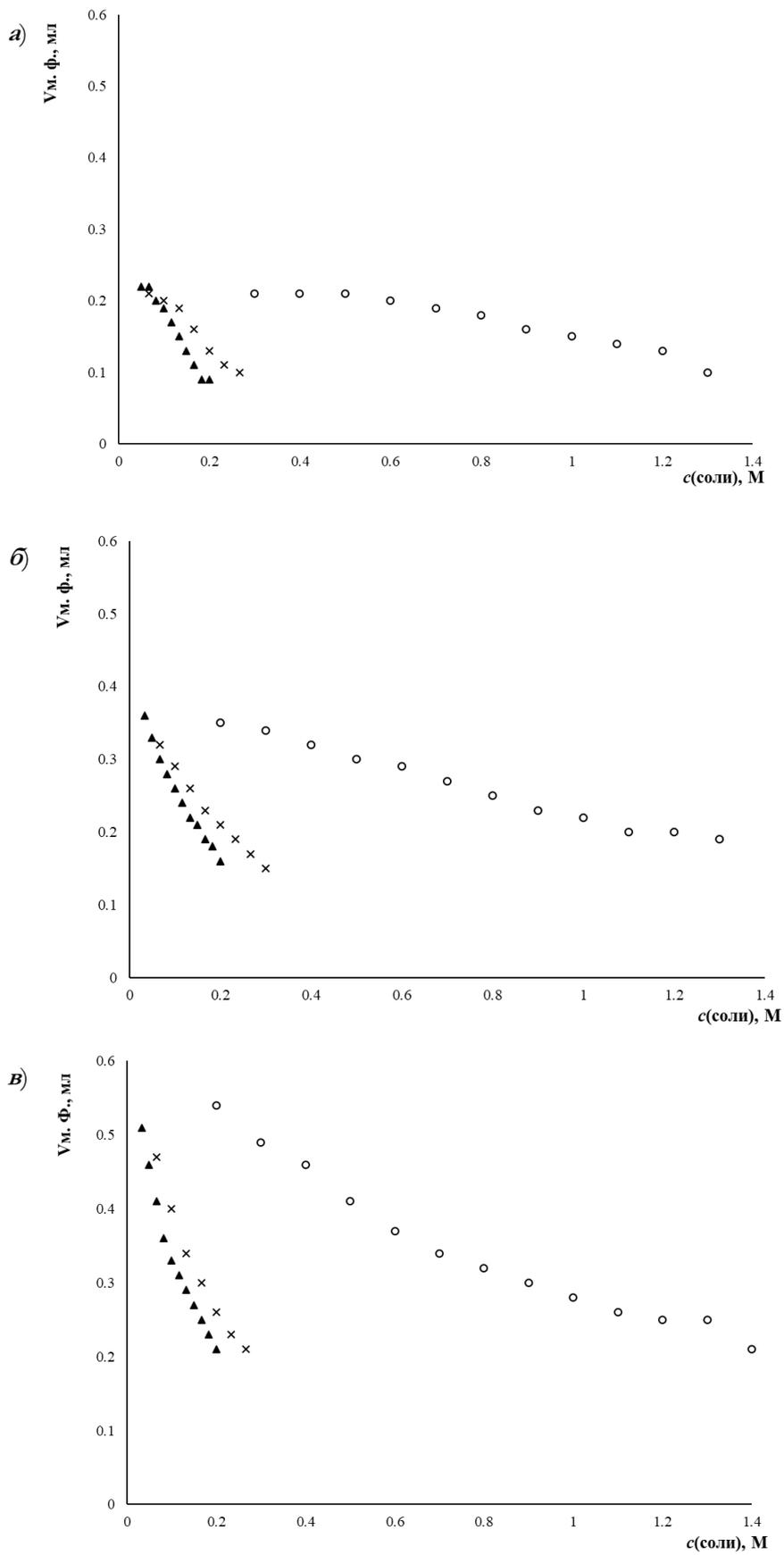
Следует отметить общие особенности формирования мицеллярно-насыщенных фаз в исследуемых системах. Так, как видно из рис. 4.3, при добавлении небольших количеств электролитов разделение гомогенных растворов не происходит. При увеличении концентрации высаливателей мицеллярно-насыщенная фаза локализуется в нижней части раствора, становится более вязкой и уменьшается в объёме. Локализация мицеллярной фазы зависит от её плотности и поэтому может находиться как внизу, так и наверху раствора. При дальнейшем увеличении концентрации добавленных высаливателей мицеллярная фаза находится в верхней части системы, что, в свою очередь, затрудняет её отделение от водной фазы.

Так, например, при концентрации сульфата натрия 0.02 М фазовое разделение в исследуемой системе отсутствует. Увеличение количества  $Na_2SO_4$  в диапазоне 0.03 до 0.3 приводит к формированию ПАВ-обогащенной фазы в нижней части системы и уменьшению её объема. При более высоких концентрациях высаливателя (0.33 – 0.50) М мицеллярная фаза локализуется вверху. Таким образом, выбраны концентрационные диапазоны высаливателей с чётко сформированными в нижней части раствора мицеллярными фазами, которые впоследствии были измерены микропипеткой. На основании полученных данных построены зависимости объёмов мицеллярных фаз,  $V_{м. ф.}$ , от концентрации соответствующих солей (рис. 4.4).

Как видно из рис. 4.4, с увеличением концентрации нПАВ (от 0.50 до 1.0 %) в системах *Тритон X-114* –  $H_2O - NaCl$  ( $Na_2SO_4$ ,  $Na_3Cit$ ) объём мицеллярной фазы увеличивается. Рост концентрации добавленных солей приводит к уменьшению объёмов мицеллярных фаз.



**Рисунок 4.3** – Зависимости объёмов мицеллярных фаз от природы и концентрации высаливателя при  $\omega(\text{Тритона X-114}) = 0.75\%$ :  
*a)* NaCl; *б)* Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; *в)* Na<sub>3</sub>Cit. Цифры на пробирках - концентрации солей, М.



**Рисунок 4.4** – Зависимости объемов мицеллярных фаз от природы и концентраций высаливателей  $\omega$  (Тритона X-114):  $a$  – 0.50 %;  $б$  – 0.75 %;  $в$  – 1.0 %):  
 ○ – NaCl; x – Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; ▲ – Na<sub>3</sub>Cit

Достижение одного и того же диапазона значений  $V_{м. ф.}$  наблюдается в различных концентрационных интервалах для каждой из используемых солей. Например, при фиксированной массовой доли Тритона X-114, равной 0.75 %, объём мицеллярной фазы изменялся в пределах от 0.36 до 0.15 мл в интервалах концентраций (0.20 – 1.3), (0.07 – 0.3) и (0.03 – 0.2) М для NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и Na<sub>3</sub>Cit соответственно.

Из этого следует, что для хлорида натрия характерен более широкий диапазон концентраций для достижения таких же  $V_{м. ф.}$ , что и в присутствии сульфата и цитрата. Это свидетельствует о наименьшей разнице в объёмах мицеллярных фаз ( $\Delta V_{м. ф.}$ ) при переходе от наименьшей к наибольшей его концентрации в системе. Иными словами,  $V_{м. ф.}$  менее чувствителен к изменению концентрации хлорида натрия в системе.

В подтверждение вышесказанному, из полученных зависимостей  $V_{м. ф.}$  от концентраций вводимых солей (рис. 4.4) выбраны линейные участки и их уравнения сведены в табл. 4.2.

**Таблица 4.2** – Уравнения линейных зависимостей  $V_{м. ф.}$  –  $c$ (соли)

Высаливатель	Интервалы линейных участков $c$ (соли), М	$\omega$ (Тритона X-114), %		
		0.50	0.75	1.0
NaCl	0.50 – 1.2	$y = -0.12x + 0.27;$ $R^2 = 0.99$	$y = -0.16x + 0.38;$ $R^2 = 0.98$	$y = -0.22x + 0.51;$ $R^2 = 0.97$
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.10 – 0.27	$y = -0.66x + 0.27;$ $R^2 = 0.98$	$y = -0.71x + 0.36;$ $R^2 = 0.99$	$y = -1.13x + 0.50;$ $R^2 = 0.97$
Na <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	0.050 – 0.20	$y = -0.99x + 0.28;$ $R^2 = 0.98$	$y = -1.09x + 0.37;$ $R^2 = 0.99$	$y = -1.55x + 0.51;$ $R^2 = 0.96$

Сравнение значений угловых коэффициентов, полученных для линейных зависимостей  $V_{м. ф.}$  –  $c$ (соли) указывает на незначительные их изменения при увеличении  $\omega$  (Тритона X-114) в системе для хлорида натрия, но существенный рост их значений при переходе от хлорида к цитрату натрия. Это обусловлено возрастанием высаливающей способности солей, что связано с увеличением плотности заряда аниона. Введение высаливателей в систему Тритон X-114 – H<sub>2</sub>O приводит к дегидратации оксиэтилированных групп ПАВ, что способствует

его агрегации в виде мицелл и формированию обогащенной мицеллярной фазы. Одной из величин, характеризующих высаливающую способность анионов является свободная энергия Гиббса гидратации ионов ( $\Delta G_{\text{гидр}}$ ) (табл. 4.1). Анионы, обладающие повышенной способностью к высаливанию, имеют более отрицательные значения  $\Delta G_{\text{гидр}}$ . Высаливающая способность рассматриваемых солей убывает в ряду:  $\text{Na}_3\text{Cit} > \text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{NaCl}$  (табл. 4.1), что не противоречит полученным экспериментальным данным (рис. 4.4).

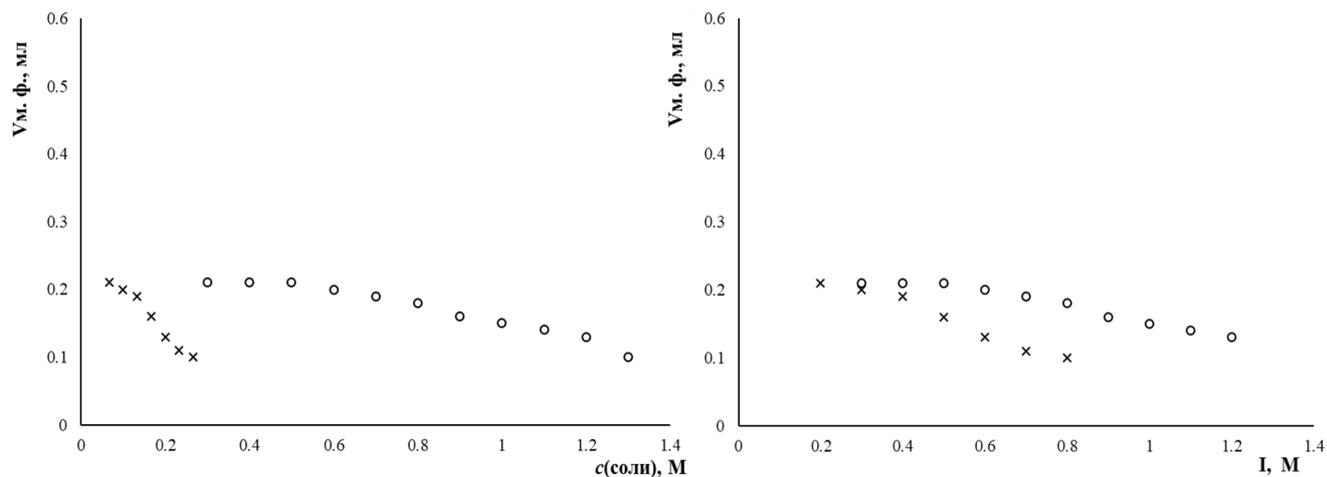
Однако, объём мицеллярной фазы является ключевым параметром в системах *Тритон X-114 – H<sub>2</sub>O – электролит*, который в дальнейшем влияет на стабильность и воспроизводимость колориметрического и тест-определения целевых аналитов. Поэтому малые вариации в объёмах мицеллярных фаз в широком концентрационном диапазоне NaCl могут обеспечить получение достоверных, сходимых и точных результатов определения. Таким образом, для формирования мицеллярно-насыщенных фаз в системах *Тритон X-114 – H<sub>2</sub>O* в качестве высаливателя выбран и применён в дальнейшей работе хлорид натрия.

Наряду с зависимостями объёмов мицеллярных фаз от концентраций вводимых электролитов также исследованы зависимости этих объёмов от ионной силы негидролизующихся солей, а именно NaCl и Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (рис. 4.5). Также проанализированы линейные участки зависимостей  $V_{\text{м. ф.}}$  от ионной силы вводимых солей, их уравнения сведены в табл. 4.3.

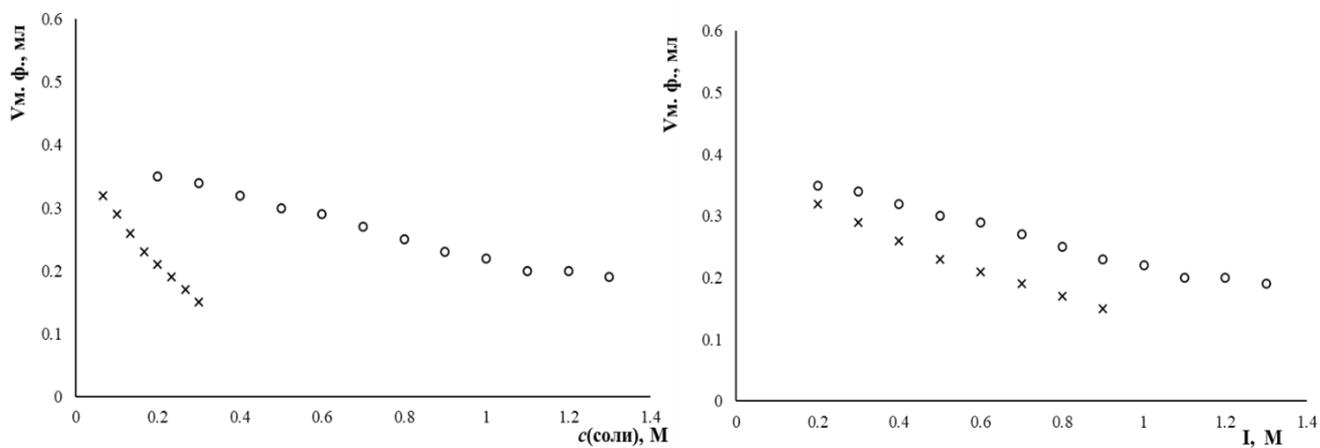
**Таблица 4.3** – Уравнения линейных зависимостей  $V_{\text{м. ф.}}$  – I

Высаливатель	Интервалы линейных участков I	$\omega$ (Тритона X-114), %		
		0.50	0.75	1.0
NaCl	0.50 – 1.2	$y = -0.12x + 0.27;$ $R^2 = 0.99$	$y = -0.16x + 0.38;$ $R^2 = 0.98$	$y = -0.22x + 0.51;$ $R^2 = 0.97$
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.30 – 0.80	$y = -0.22x + 0.27;$ $R^2 = 0.98$	$y = -0.24x + 0.36;$ $R^2 = 0.99$	$y = -0.30x + 0.45;$ $R^2 = 0.97$

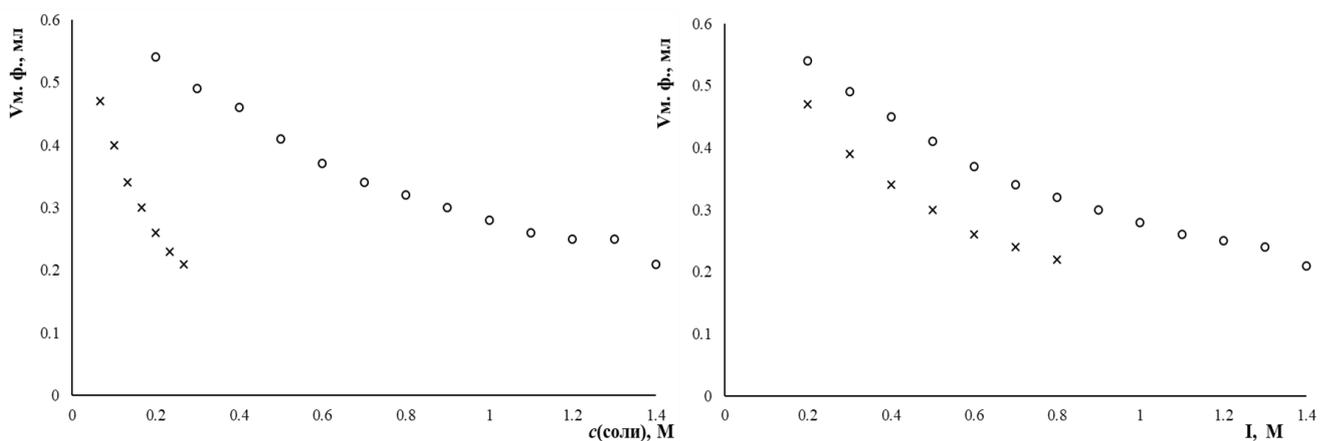
$\omega(\text{Тритона X-114}) = 0.50 \%$



$\omega(\text{Тритона X-114}) = 0.75 \%$



$\omega(\text{Тритона X-114}) = 1.0 \%$



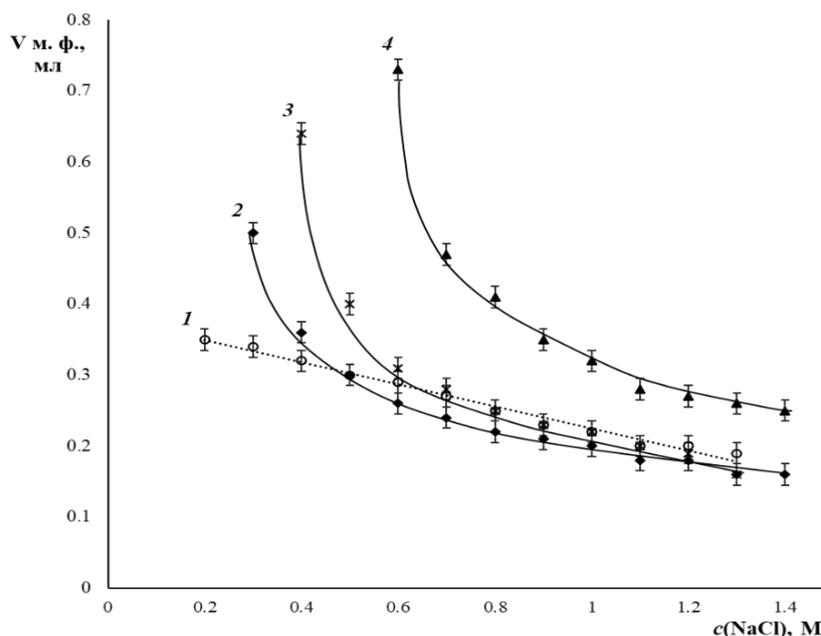
**Рисунок 4.5** – Зависимости объемов мицеллярных фаз от природы, концентраций и ионной силы высаливателей: ○ – NaCl; x – Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Несмотря на то, что электролиты различной природы создают одинаковую ионную силу в исследуемых системах, угловой коэффициент в линейных зависимостях  $V_{м. ф.} - I$  все же изменяется, что обусловлено влиянием природы электролитов на объемы мицеллярных фаз в исследуемой системе.

#### 4.1.2. Влияние концентрации ДДС на примере системы *Тритон X-114 – NaCl*

Ранее в разделе 4.1 рассмотрено влияние природы и концентрации высаливателя на характер фазообразования в системе *nПAB – H<sub>2</sub>O*. Однако, на процесс образования мицеллярных фаз в присутствии сложной аналитической системы могут оказывать влияние все её компоненты, а именно второй тип ПАВ, буферный раствор, реактанты (аналит и реагент). В связи с этим далее поэтапно исследовано воздействие отдельных компонентов этой системы на процесс фазообразования растворов *Тритона X-114* ( $\omega = 0.75\%$ ) в присутствии высаливателя – NaCl.

Так, изучено влияние анионного ПАВ – ДДС на формирование мицеллярных фаз при различных его концентрациях: до и после достижения ККМ. Зависимости  $V_{м. ф.}$  от концентраций ДДС приведены на рис. 4.6.

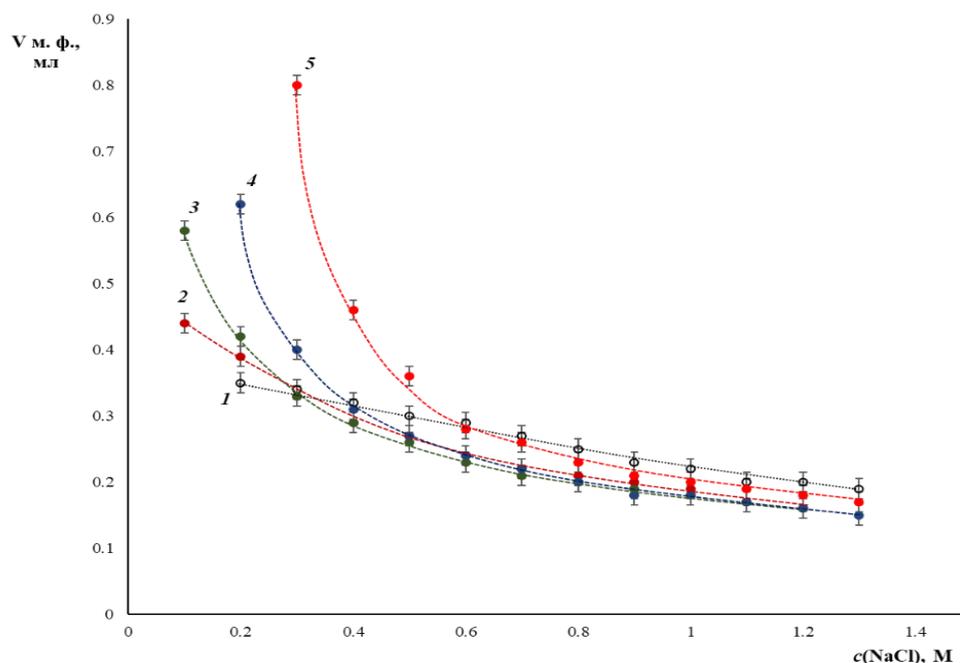


**Рисунок 4.6** – Зависимости  $V_{м. ф.}$  от  $c(\text{NaCl}) = 0.05 - 1.5 \text{ M}$ ,  $\omega(\text{Тритона X-114}) = 0.75\%$ : 1 – в отсутствие ДДС; в присутствии ДДС: 2 – 4 мМ (до ККМ); 3 – 8 мМ (ККМ); 4 – 20 мМ (2.5 ККМ).

Из рис. 4.6 видно, что характер зависимостей  $V_{м.ф.}$  от концентраций хлорида натрия в присутствии ДДС меняется с линейной на экспоненциальную. Однако, в концентрационном интервале NaCl (0.60 – 1.4) М наблюдаются прямолинейные зависимости, которые соизмеримы с результатами, полученными в отсутствие ДДС. Существенное влияние на исследуемую систему оказывают высокие концентрации аПАВ (2.5 ККМ и выше), которые приводят к значительному увеличению  $V_{м.ф.}$  В то же время введение ДДС до (4 мМ) и на уровне ККМ (8 мМ) в систему *Тритон X-114* ( $\omega = 0.75 \%$ ) –  $H_2O$  –  $NaCl$ , т. е. как в виде ионов, так и в виде мицелл (при  $c = 1.0 - 1.5$  ККМ) существенного влияния на изменение объёмов мицеллярных фаз не оказывает, что способствует достижению требуемых для анализа значений  $V_{м.ф.}$  в системе комбинированных ПАВ *Тритон X-114* – ДДС.

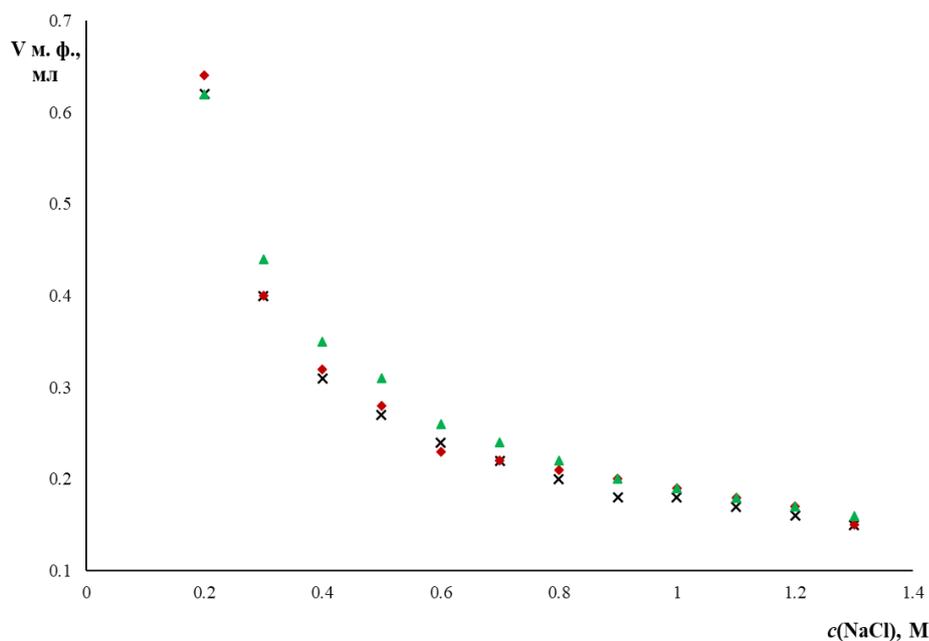
#### **4.1.3. Система *Тритон X-114* – ДДС – $NaCl$ в присутствии цитратного буферного раствора и реактантов**

В данном разделе рассматривается влияние добавок ДДС на изменение зависимостей  $V_{м.ф.} - c(NaCl)$  в цитратном буферном растворе ( $pH = 2$ ). Ранее установлено, что по сравнению с водным раствором, где значение ККМ ДДС составляет 8 – 9 мМ, в среде ЦБР происходит резкое его уменьшение до значений  $\sim 2$  мМ [124]. Поэтому для данных систем выбраны другие концентрации ДДС, а именно до ККМ (1 мМ), уровень ККМ (2 мМ), в 2 и 4 раза соответственно превышающие ККМ (4 мМ и 8 мМ). Полученные объёмы мицеллярных фаз в системе *Тритон X-114* – ДДС –  $NaCl$  в присутствии цитратного буферного раствора приведены на рис. 4.7. Как видно из рис. 4.7, цитратный буферный раствор во всем диапазоне концентраций ДДС (1 – 8 мМ), не оказывает существенного влияния на объёмы формирующихся мицеллярных фаз, а следовательно не повлияет на точность полученных результатов определения целевых аналитов в виде аналитических форм ОШ, сконцентрированных в мицеллярно-насыщенные фазы комбинированных ПАВ (*Тритона X-114* и ДДС).



**Рисунок 4.7** – Зависимости  $V_{м. ф.}$  от  $c(\text{NaCl}) = 0.05 - 1.5 \text{ М}$ ,  $\omega(\text{Тритона X-114}) = 0.75 \%$  в среде ЦБР ( $\text{pH} = 2.0$ ): **1** – в отсутствие ДДС; в присутствии ДДС **2** – 1 мМ (до ККМ); **3** – 2 мМ (ККМ); **4** – 4 мМ (2 ККМ); **5** – 8 мМ (4 ККМ).

Также установлено, что добавки аналита (на примере новокаинамида) и реагента (ДМАБА) не оказывают влияния на изменение объёмов мицеллярно-насыщенных фаз ПАВ (рис. 4.8), поскольку их концентрации невелики по отношению к остальным компонентам системы.



**Рисунок 4.8** – Зависимости  $V_{м. ф.}$  от  $c(\text{NaCl}) = 0.05 - 1.5 \text{ М}$ ,  $\omega(\text{Тритона X-114}) = 0.75 \%$  в среде ЦБР ( $\text{pH} = 2.0$ ): **x** –  $c(\text{ДДС}) = 4 \text{ мМ}$ ; **♦** –  $c(\text{ДДС}) = 4 \text{ мМ}$ ,  $c_{\text{аналита}} = 1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ; **▲** –  $c(\text{ДДС}) = 4 \text{ мМ}$ ,  $c_{\text{реагента}} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ .

Таким образом, для получения воспроизводимых оптимальных объёмов мицеллярно-насыщенных фаз комбинированных ПАВ для концентрирования целевых аналитов в виде их аналитических форм ОШ концентрации компонентов системы *Тритон X-114 – ДДС – NaCl* рекомендуются в следующих интервалах:  $\omega$  (Тритона X-114) = (0.20 – 0.50) %;  $c(\text{NaCl})$  = (0.60 – 1.2) М;  $c(\text{ДДС})$  = (2 – 6) мМ.

## **4.2. Мицеллярно-каталитическое действие анионных ПАВ в исследуемых системах**

Известно, что мицеллярно-каталитическое действие аПАВ на 1 – 2 порядка снижает предел обнаружения ариламинов в реакциях образования ОШ с карбонильными соединениями. Такие системы изучены на примере анилина, а также его гидрокси-, карбокси-, метил- и нитропроизводных, однако в присутствии только одного типа дифильных соединений – анионных ПАВ [124]. Каталитическое действие последних связано с возможностью образования амфифильных агрегатов (мицелл) (глава 1, стр. 15), действующих как особые «нанореакторы», и солубилизацией в них органических веществ (субстратов) [4]. Характер распределения субстрата между водной и мицеллярной фазой, а также скорость реакций в этих фазах количественно оценивают ферментативной и псевдофазной моделью «мицеллярного катализа» (глава 1, стр. 34). В настоящем разделе рассмотрен мицеллярно-каталитический эффект анионных ПАВ как в отсутствие, так и в присутствии неионных ПАВ.

### **4.2.1. Влияние анионных и неионных ПАВ на протолитические свойства реактантов**

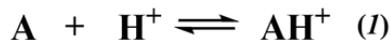
Процесс солубилизации (концентрирования) органических соединений мицеллами ПАВ осуществляется преимущественно за счёт гидрофобных взаимодействий и электростатических сил [1]. Изменение протолитических свойств реактантов в реакциях, катализируемых мицеллами ПАВ, является определяющим фактором, влияющим на скорость реакций, что обусловлено

концентрированием в мицеллах различных их форм. Образование ионных пар с протонированными формами реагентов, а также с протонированными формами ОШ, позволяют аПАВ выступать не только в роли среды, но и в качестве реагента в реакциях конденсации первичных ариламинов с карбонильными соединениями [1]. Поэтому состояние реагентов и аналитических форм при оптимальных значениях рН будет оказывать определяющее влияние на чувствительность реакций и эффективность действия ПАВ.

Исследованы протолитические свойства исследуемых в работе аналитов, реагентов (на примере ДМАБА) и образующихся аналитических форм ОШ в присутствии ПАВ анионного (ДДС) и неионного (Тритон Х-114) типов.

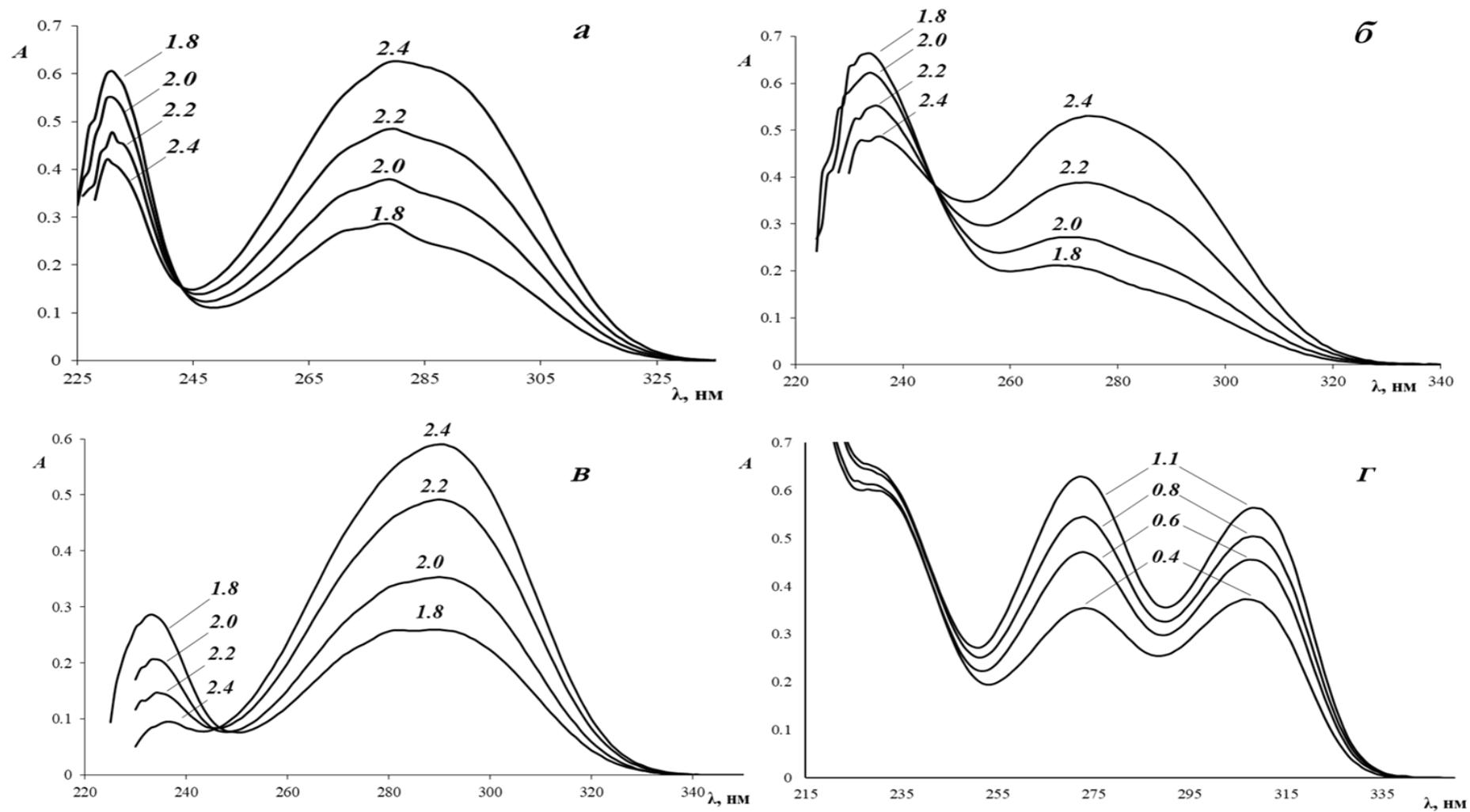
#### 4.2.1.1. Аналиты

Мицеллярные среды ДДС могут приводить к эффекту «кажущегося сдвига»  $pK_a$ , характеризующегося значением  $\Delta pK_a$ , которое связано со смещением протолитических равновесий (1, 2) вправо.



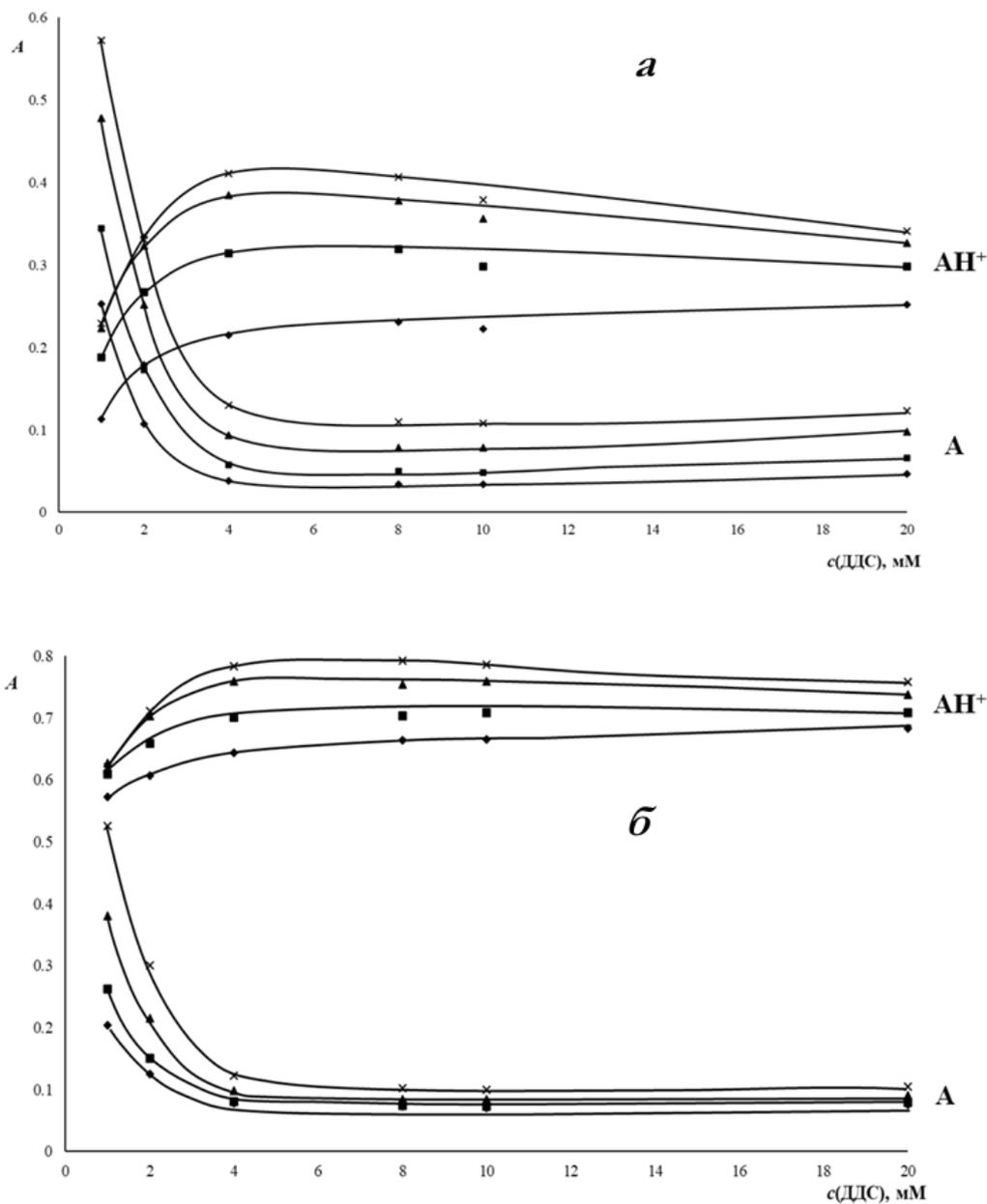
Такие эффекты устанавливают, как правило, потенциометрически. Однако, оценить характер смещения равновесия (1) в большинстве случаев удаётся и спектрофотометрически. Так, в диапазонах рН, близких к значениям  $pK_a$  каждого аналита, зарегистрированы электронные спектры поглощения исследуемых производных *n*АБК в присутствии ДДС с концентрацией до и после ККМ (рис. 4.9).

Построены зависимости  $A$  при  $\lambda_{max}$ ,  $A(\lambda_{max})$ , протонированных и непротонированных форм аналитов от концентрации ДДС (рис. 4.10, 4.11). Так, при увеличении концентрации ДДС, т. е. при переходе от домицеллярной (менее 2 мМ) к мицеллярной (более 2 мМ) области, для новокаина и новокаинамида наблюдаются схожие закономерности (рис. 4.10): оптическая плотность нейтральных форм (A) уменьшается, в то время как для протонированных форм (AH<sup>+</sup>) она возрастает.



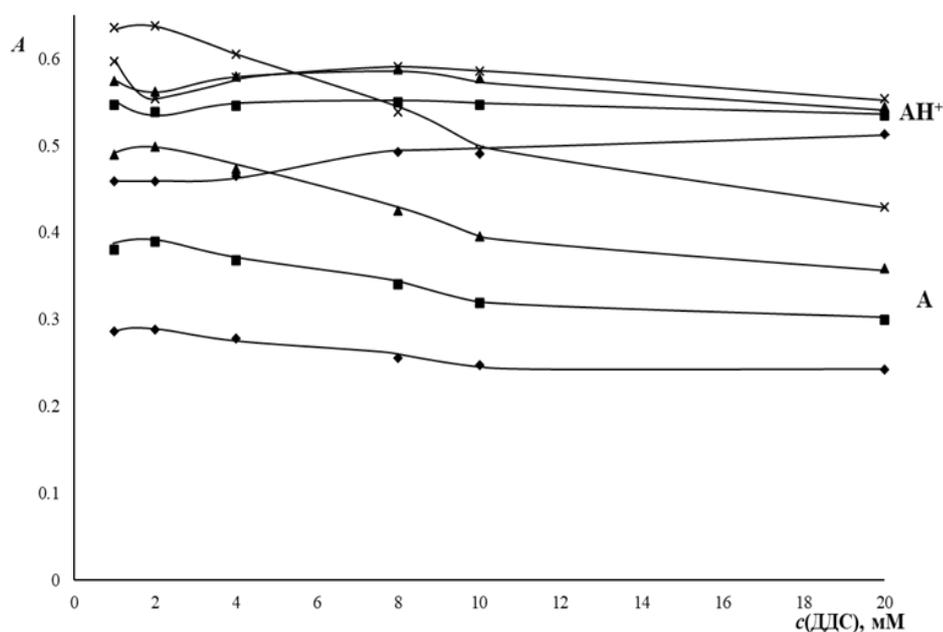
**Рисунок 4.9** – Электронные спектры поглощения  $1 \cdot 10^{-4}$  М растворов *n*АБК (*a*), новокаинамида (*б*),  $5 \cdot 10^{-5}$  М растворов новокаина (*в*), церукала (*г*) в ЦБР при различных рН. Номер кривой соответствует значению рН.

В интервале концентраций ДДС от 4 до 10 мМ для обеих форм исследуемых анализов можно отметить выход на плато. При дальнейшем увеличении количества ДДС (10 ККМ) происходит небольшое снижение и увеличение оптической плотности протонированных и нейтральных форм соответственно, что связано с разбавлением солюбилизаторов в мицеллярной фазе ПАВ и уменьшением их концентрации.



**Рисунок 4.10** – Зависимости  $A(\lambda_{\max}) - c(\text{ДДС})$  нейтральных (А) и протонированных ( $\text{АН}^+$ ) форм  $5 \cdot 10^{-5}$  М растворов новокаина (а) и  $1 \cdot 10^{-4}$  М растворов новокаинамида (б) при различной концентрации ДДС (0 – 20 мМ) и кислотности среды (рН):  
 ◆ – 1.8; ■ – 2.0; ▲ – 2.2; х – 2.4.

В отличие от вышерассмотренных аналитов зависимости  $A(\lambda_{\max}) - c(\text{ДДС})$  протонированных и нейтральных форм *n*АБК имеют некоторые особенности (рис. 4.11). Так, в отличие от новокаина и новокаинамида, у которых при образовании псевдофазы ( $c(\text{ДДС})$  от 1 до 4 мМ) фиксируется резкое изменение оптической плотности обеих форм, в спектрах поглощения *n*АБК подобные изменения проявляются гораздо в меньшей степени. Так, например, при  $\text{pH} = 2.4$  оптическая плотность ( $\Delta A$ ) нейтральных и протонированных форм для новокаина изменяется на 0.45 и 0.11 единиц соответственно, в то время как для *n*АБК эти значения составляют 0.21 и 0.04 единицы. Смещение протолитического равновесия в этом случае имеет невыраженный характер, что, вероятно, связано с образованием разнозаряженной формы *n*АБК (цвиттериона) и, как следствие, ухудшением её солубилизации в мицеллярные псевдофазы ДДС.



**Рисунок 4.11** – Зависимости  $A(\lambda_{\max}) - c(\text{ДДС})$  нейтральной ( $A$ ) и протонированной ( $\text{АН}^+$ ) форм *n*АБК ( $1 \cdot 10^{-4}$  М) при различной концентрации ДДС (0 – 20 мМ) и кислотности среды (pH):  $\blacklozenge$  – 1.8;  $\blacksquare$  – 2.0;  $\blacktriangle$  – 2.2;  $\times$  – 2.4.

Спектрофотометрическое изучение влияния ДДС на протолитические свойства церукала мало информативно, так как максимумы поглощения ионных форм не дают характерных гипсо- и гиперхромных эффектов при смещении протолитического равновесия.

Для оценки кислотно-основных свойств исследуемых аналитов проведены потенциометрические исследования, направленные на расчёт  $pK_a$  аминов в присутствии мицелл ДДС методом «полунейтрализованных» растворов. В качестве титранта применяли раствор NaOH, а также его смесь с ДДС. Получены кривые титрования слабых сопряженных кислот исследуемых аналитов сильным основанием в координатах  $pH - V(\text{NaOH})$  (рис. 4.12) и рассчитаны соответствующие константы диссоциации  $pK_a$  (табл. 4.4).

**Таблица 4.4** – Константы диссоциации исследуемых аналитов в водной среде и в присутствии мицелл ДДС

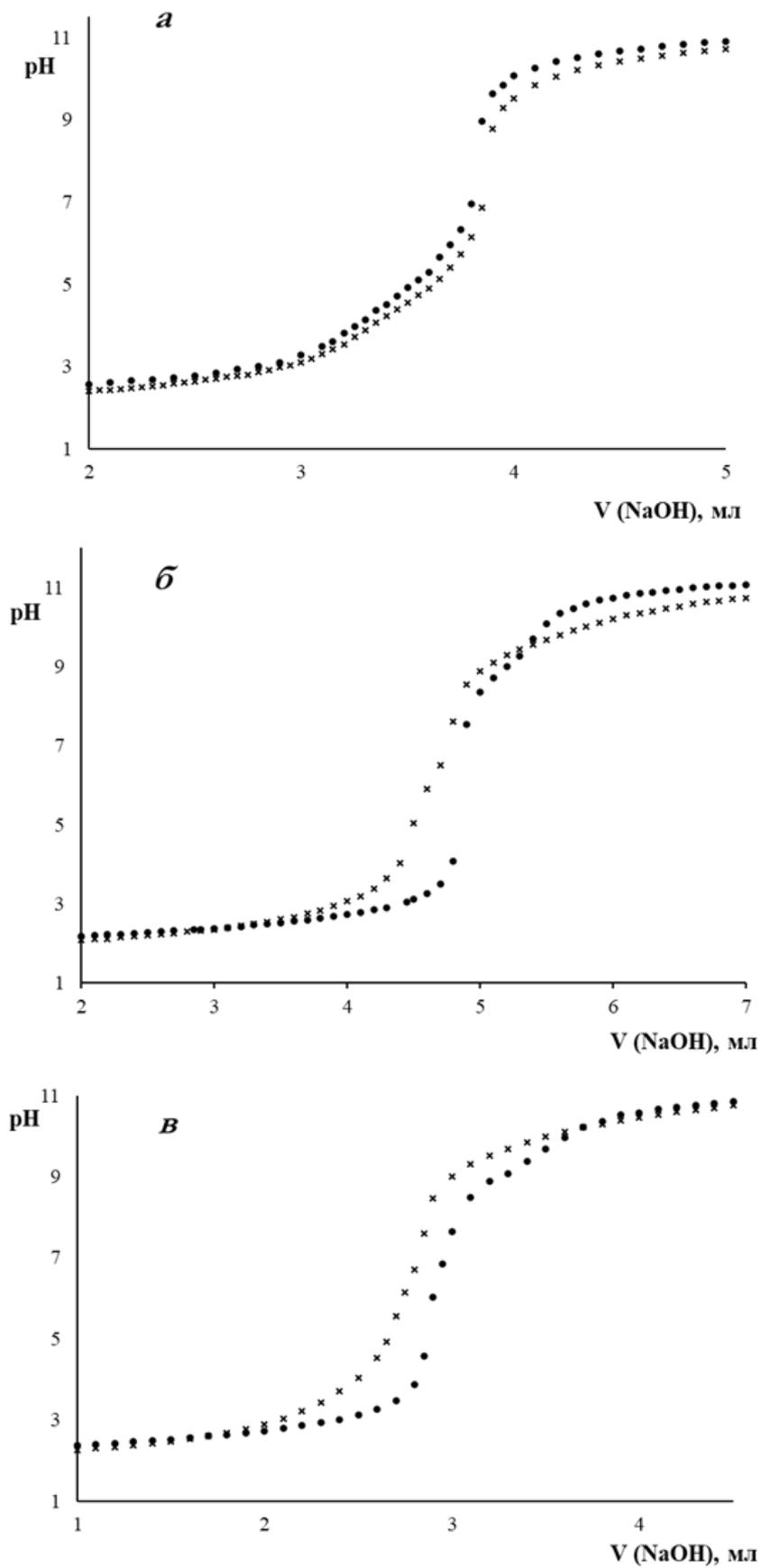
Амин	$pK_a$			$\Delta pK_a$ (ДДС)
	H <sub>2</sub> O (лит.)	H <sub>2</sub> O (эксп.)	ДДС (ККМ)	
<i>n</i> АБК	2.41	2.20	2.15	–
Новокаин	2.31	2.70	3.10	0.40
Новокаиранаид	2.83	2.75	3.25	0.50

Таким образом, в присутствии мицелл ДДС установлен сдвиг  $pK_a$  протонирования аминов в сторону больших значений («кажущийся сдвиг  $pK_a$ »), что обусловлено связыванием протонированной формы аналита анионными мицеллами ДДС. Это приводит к смещению протолитического равновесия (1) вправо, повышению экспериментального значения  $pK_a$ , а также сопровождается соответствующими изменениями в электронных спектрах поглощения (рис. 4.9). Ослабление кислотных свойств исследуемых аналитов может быть объяснено их мицеллярным связыванием по схеме, предложенной авторами [128]:



где  $A^+$  – протонированная форма аналита (амин).

В поверхностном слое мицеллы ДДС происходит замещение ионов натрия на катионы аналитов с последующей их солубилизацией и депротонированием.

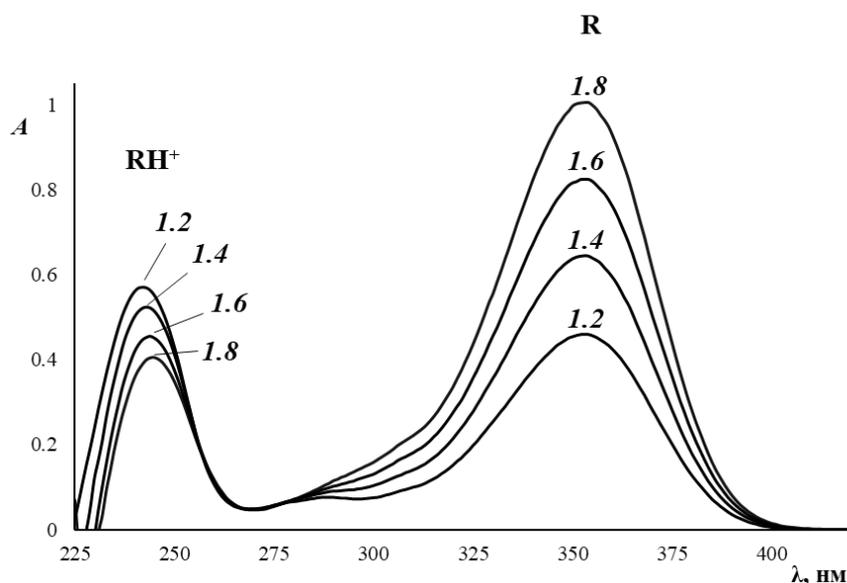


**Рисунок 4.12** – Зависимости рН – V (NaOH) в отсутствие (•) и присутствии (x) ДДС  
 $c(\text{амин}) = 2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ,  $c(\text{NaOH}) = 1 \cdot 10^{-1} \text{ M}$ ,  $c(\text{ДДС}) = 1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ :  
**а)** nABK; **б)** новокаин; **в)** новокаинамид.

Наличие гидрофобного ароматического кольца в составе исследуемых ариламинов способствует сольбилизации этих соединений вглубь мицеллы, что и обуславливает процесс депротонирования в присутствии мицелл ДДС, а также связыванию катионов аналитов с поверхностной сульфогруппой мицеллы ДДС. Таким образом, происходит концентрирование нейтральных реакционноспособных форм аналитов в ядре мицелл ДДС.

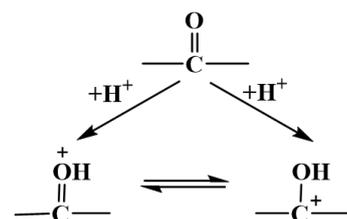
#### 4.2.1.2. ДМАБА

Спектрофотометрически изучены протолитические свойства реагента, на примере ДМАБА, в организованных средах аПАВ. Для этого зарегистрированы электронные спектры поглощения альдегида в интервале рН, близком к значению  $pK_a$  (рис. 4.13).

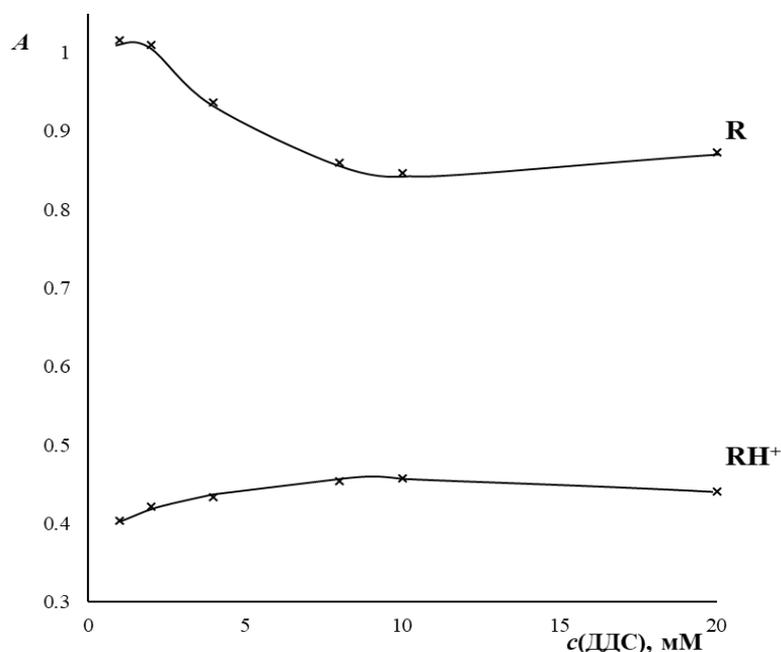


**Рисунок 4.13** – Электронные спектры поглощения  $5 \cdot 10^{-5}$  М раствора ДМАБА в ЦБР при различных рН. Номер кривой соответствует значению рН.

На примере рН = 1.8 построены зависимости  $A(\lambda_{\max})$  протонированной и нейтральной форм ДМАБА от концентрации ДДС (рис. 4.14). В присутствии мицелл ДДС в электронных спектрах поглощения увеличивается интенсивность поглощения протонированной ( $RH^+$ ) формы ДМАБА ( $\lambda_{\max} = 244$  нм) и уменьшение интенсивности поглощения полосы нейтральной (R) формы ( $\lambda_{\max} = 353$  нм), то есть



мицеллы ДДС смещают протолитическое равновесие (2) вправо и повышают концентрацию протонированной (реакционноспособной) формы ДМАБА. Протекание специфического кислотного катализа за счёт предварительного протонирования карбонильного атома кислорода ДМАБА при низких значениях рН увеличивает нуклеофильность карбонильной группы.



**Рисунок 4.14** – Зависимости  $A(\lambda_{\max}) - c(\text{ДДС})$  нейтральной (**R**) и протонированной (**RH<sup>+</sup>**) форм ДМАБА ( $5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ) при различной концентрации ДДС (0 – 20 мМ) и рН = 1.8.

Таким образом, концентрирование мицеллами аПАВ реактантов реакции (ариламинов и альдегида) способствует увеличению скорости реакции конденсации и, как следствие, увеличивает выход аналитической формы ОШ.

### 4.2.1.3. Основания Шиффа

Изучено влияние ионов и мицелл ДДС (при концентрациях до и после ККМ) на состояние образованных в результате взаимодействия исследуемых аналитов с ДМАБА аналитических форм (ОШ) в ЦБР. Для этого готовили реакцию смесь реактантов равных концентраций ( $c(\text{амин}) = c(\text{ДМАБА})$ ) при варьировании концентраций ДДС в интервале от 0 до 20 мМ (рН = 0.7 – 4.0) и регистрировали спектры поглощения полученных смесей. Далее в электронных спектрах поглощения выбирали характерные для ОШ каждого аналита полосы с  $\lambda_{\max}$

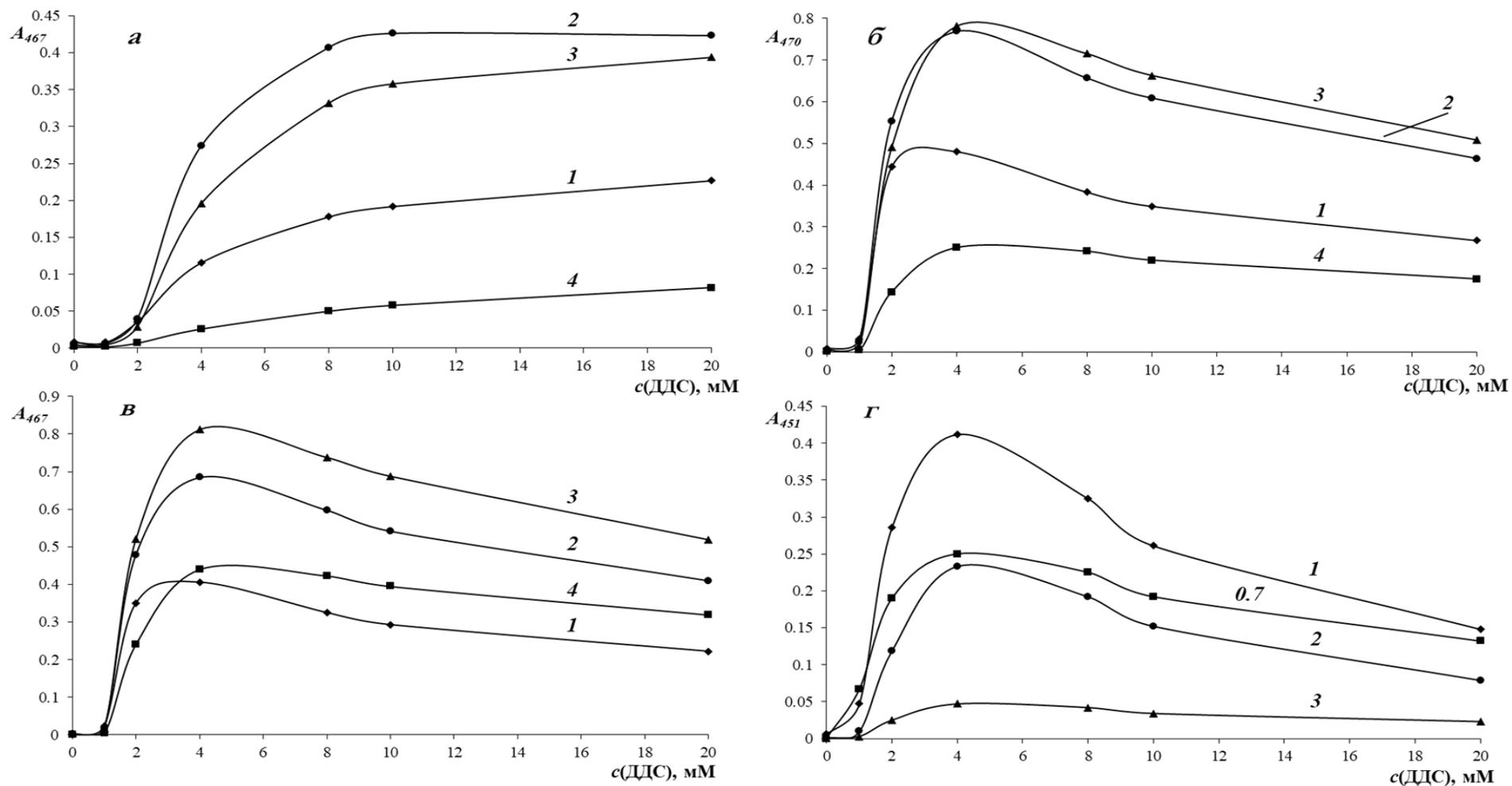
467 нм (*n*АБК и новокаинамид), 470 нм (новокаин), 451 нм (церукал) и строили зависимости оптических плотностей при максимальных длинах волн для каждого аналита от концентрации ДДС (рис. 4.15).

Как видно из рис. 4.15, в отсутствие ДДС и при его концентрации 1 мМ при выбранных  $\lambda_{\max}$  для каждого из исследуемых аналитов соответствующие ОШ практически не образуются. При увеличении концентрации ДДС интенсивность поглощения при  $\lambda_{\max} = 470$  и 467 нм в случае новокаина и новокаинамида увеличивается и достигает максимума при  $c(\text{ДДС}) = 4$  мМ и  $\text{pH} = 3.0$ . Дальнейшее увеличение концентрации ДДС в системах приводит к уменьшению интенсивностей соответствующих полос поглощения. В случае с *n*АБК и церукалом максимальное поглощение полос при  $\lambda_{\max} = 467$  и 451 нм достигается при  $c(\text{ДДС}) = 10$  и 4 мМ и значениях  $\text{pH} = 2.0$  и 1.1 соответственно. Уменьшение оптической плотности в системах амин (новокаин, новокаинамид, церукал) – ДМАБА при увеличении концентрации ДДС (более 4 мМ) связано с увеличением мицеллярных агрегатов и, как следствие, разбавлением аналитической формы ОШ в них.

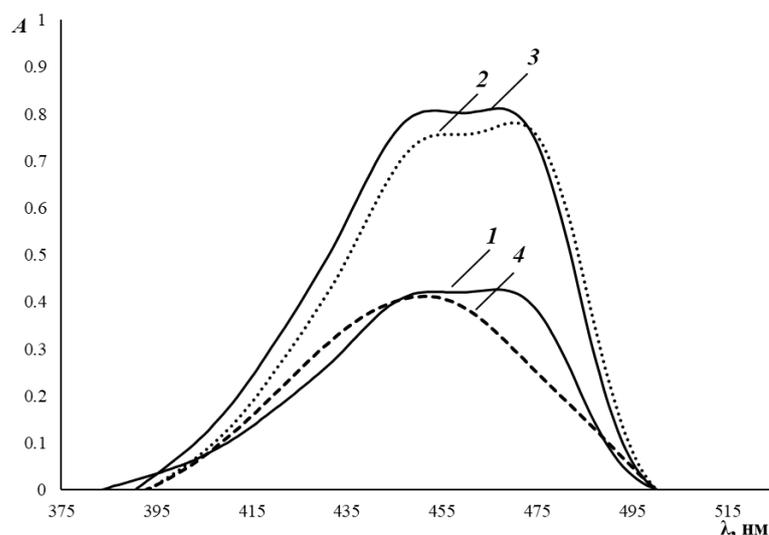
В отличие от остальных аналитов в системе *n*АБК – ДМАБА вместо снижения концентрации аналитических форм ОШ в мицеллярной фазе после достижения максимума поглощения, как это отмечается в других системах, напротив, наблюдается увеличение интенсивности соответствующей полосы поглощения при всех значениях  $\text{pH}$  в исследуемом концентрационном интервале ДДС, т. е. концентрация ОШ в мицеллах монотонно возрастает и не достигает насыщения. Поэтому солубилизация ОШ в системе *n*АБК – ДМАБА кинетически затруднена, в отличие от остальных систем, что также может быть связано с нахождением *n*АБК в цвиттерионной форме.

Полученные данные позволяют установить оптимальную концентрацию ДДС и кислотность среды для реакций исследуемых аминов с ДМАБА: для новокаина, новокаинамида и церукала  $c(\text{ДДС})$  составила 4 мМ при  $\text{pH} = 3.0$  и 1.1 соответственно. Для *n*АБК оптимальная концентрация ДДС – 10 мМ при  $\text{pH} = 2.0$ .

Электронные спектры поглощения ОШ, полученных при оптимальных концентрации ДДС и кислотности среды, приведены на рис. 4.16.



**Рисунок 4.15** – Зависимости  $A(\lambda_{\max}) - c(\text{ДДС})$  системы амин – ДМАБА – ДДС при различной концентрации ДДС (0 – 20 мМ) и кислотности среды (рН = 0.7 – 4.0): **а)** *n*АБК; **б)** новокаин; **в)** новокаинамид ( $c(\text{амина}) = c(\text{ДМАБА}) = 3 \cdot 10^{-5}$  М); **г)** церукал ( $c(\text{амина}) = c(\text{ДМАБА}) = 1.2 \cdot 10^{-4}$  М). Номер кривой соответствует значению рН. Кривая **1** соответствует рН = 1.1 для ЦБР.



**Рисунок 4.16** – Спектры поглощения ОШ в присутствии ДДС в среде ЦБР:

- 1 – *n*АБК ( $c(\text{аминa}) = c(\text{ДМАБА}) = 3 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ,  $c(\text{ДДС}) = 10 \text{ мМ}$ ,  $\text{pH} = 2$ );  
 2 – новокаин; 3 – новокаинамид ( $c(\text{аминa}) = c(\text{ДМАБА})$ ,  $c(\text{ДДС}) = 4 \text{ мМ}$ ,  $\text{pH} = 3$ );  
 4 – церукал ( $c(\text{аминa}) = c(\text{ДМАБА}) = 1.2 \cdot 10^{-4} \text{ М}$ ,  $c(\text{ДДС}) = 4 \text{ мМ}$ ,  $\text{pH} = 1.1$ ).

#### 4.2.2. Изучение скорости реакций в смешанных мицеллах

##### Тритона X-114 и ДДС

Известно, что на скорость химических реакций оказывают влияние много факторов: температура, pH, ионная сила, присутствие катализаторов, тип растворителей и др., а также природа и концентрация реагентов.

Как правило, концентрацию одного из участников реакции, как в аналитических целях, так и при изучении её скорости, берут в большом избытке (принцип избытка реагента). Это является довольно распространенной практикой для смещения равновесия химических процессов, которая позволяет повысить выход продукта (аналитических форм) и получать более точные и воспроизводимые результаты.

Для приготовления растворов реагентов широко применяют органические растворители, например такие как этанол, метанол, ацетон и др. Однако, их использование, с одной стороны, обеспечивает необходимую растворимость реагентов, но с другой – противоречит принципам «зелёной химии», в рамках которой предполагается применение более безопасных растворителей с низким уровнем токсичности и менее агрессивным воздействием на экосистемы.

Увеличение растворимости реактантов в органических растворителях приводит к повышению их концентрации, что, в свою очередь, способствует росту скорости реакции. Однако, важно отметить, что это ускорение не обусловлено каталитическим эффектом «среды», так как повышение растворимости и, как следствие, концентрации реактантов не затрагивает механизм самого процесса.

Ранее установлено, что в отличие от органических растворителей мицеллярные агрегаты ионного типа (аПАВ) могут выступать как в качестве реагента, так и среды для различных химических процессов [1]. Солубилизирующее действие мицеллярных наноагрегатов аПАВ способствует повышению растворимости органических компонентов систем, что позволяет готовить растворы реактантов без добавок органических растворителей. Так, на примере реакции конденсации анилина с ДМАКА в мицеллярном растворе ДДС показано [124], что электростатическое взаимодействие между анионной поверхностью мицелл и протонированными формами реактантов, а также с аналитическими формами ОШ (образование ионных ассоциатов), приводит к эффекту их концентрирования и стабилизации в мицеллярной псевдофазе. Это приводит к увеличению растворимости ассоциированных соединений и получению изотропных систем, которые пригодны для фотометрического анализа, увеличению скорости реакции (каталитическое действие мицелл аПАВ) и, как следствие, увеличению чувствительности определения органических аналитов.

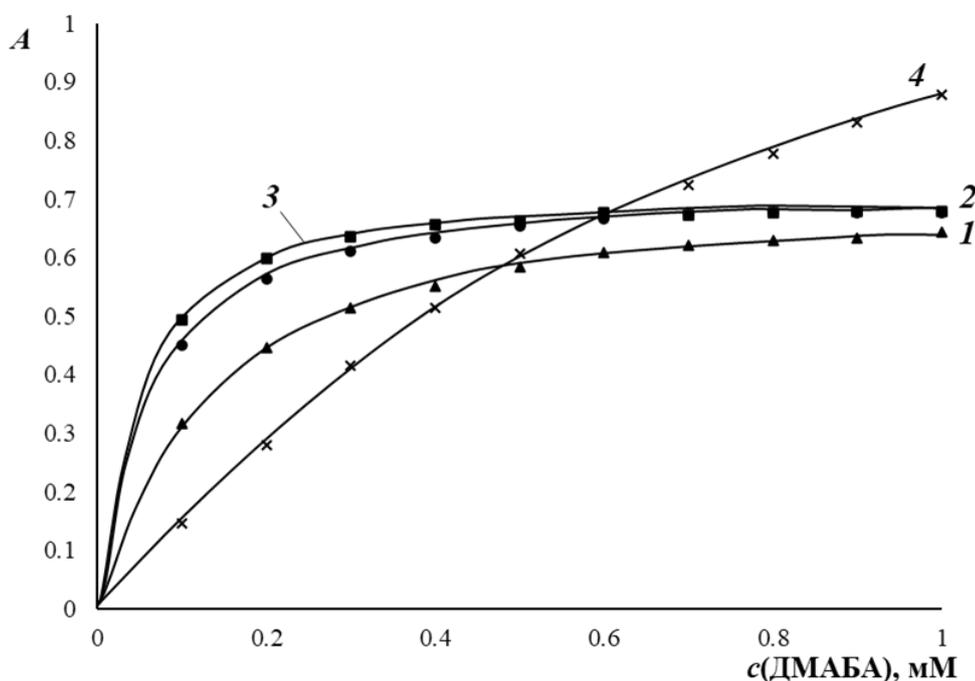
Так, в настоящей работе с учётом вышеизложенного для приготовления исходного раствора реагента (ДМАБА) предложено заменить органический растворитель, этанол, на водный раствор аПАВ (ДДС), который не только повышает растворимость и стабильность получаемого раствора ДМАБА за счёт солубилизирующего действия мицелл, но и оказывает каталитическое действие в реакциях конденсации первичных ариламинов с ДМАБА.

Целесообразно изучить влияние анионных, неионных ПАВ и их смесей на скорость реакций образования оснований Шиффа. Известно, что анионные ПАВ оказывают каталитическое действие в реакциях первичных ариламинов с альдегидами [124]. Неионные ПАВ, как правило, не влияют на их скорость.

Совместное присутствие мицелл анионных и неионных ПАВ ранее не изучено и может оказывать каталитический или ингибирующий эффекты, влияющие на скорость реакции.

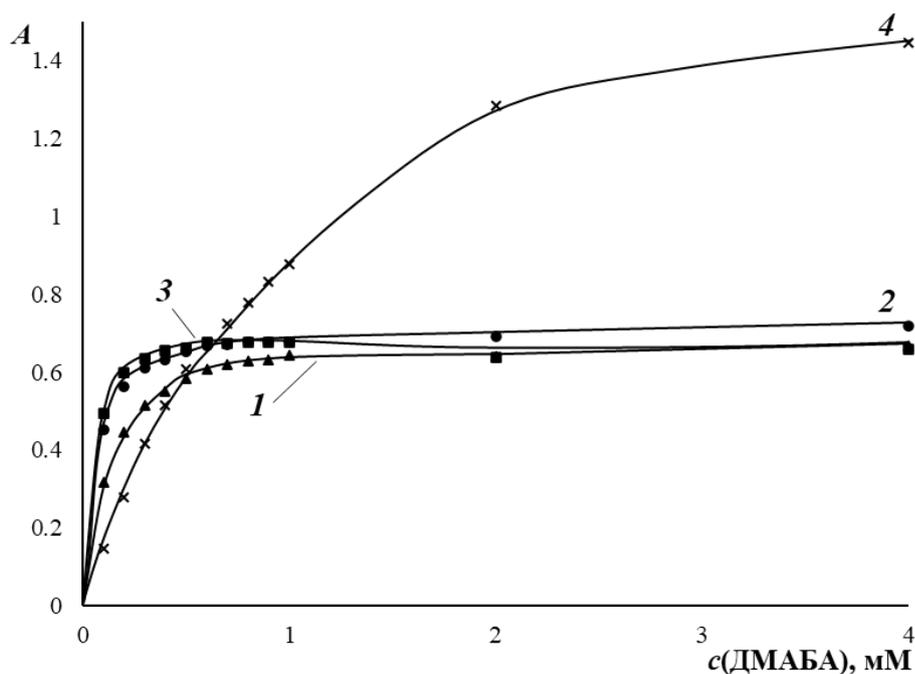
Прежде чем перейти к изучению скорости исследуемых реакций в смешанных мицеллах ПАВ анионного и неионного типов, рассмотрим зависимость оптической плотности системы *амин – ДМАБА – ДДС* от концентрации реагента (рис. 4.17), раствор которого получен его диспергированием в растворе ДДС.

Так, при увеличении концентрации ДМАБА (рис. 4.17) оптическая плотность в исследуемых системах возрастает, причём для новокаина, новокаинамида и *n*АБК (зависимости 1 – 3, рис. 4.17), следует отметить достижение равновесных значений в области концентраций ДМАБА 0.8 – 1.0 мМ. Для церукала (кривая 4, рис. 4.17), оптическая плотность последовательно возрастает на протяжении всего исследуемого диапазона концентраций реагента (0.1 – 1.0 мМ).



**Рисунок 4.17** – Зависимость  $A(\lambda_{\text{max}}) - c(\text{ДМАБА})$  (0.1 – 1.0 мМ) системы *амин – ДМАБА – ДДС*; 1 – *n*АБК,  $c(\text{амина}) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ,  $c(\text{ДДС}) = 1 \cdot 10^{-2} \text{ М}$ ,  $\text{pH} = 2.0$ ; 2 – новокаин; 3 – новокаинамид,  $c(\text{амина}) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ,  $c(\text{ДДС}) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ,  $\text{pH} = 3.0$ ; 4 – церукал,  $c(\text{амина}) = 5 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ;  $c(\text{ДДС}) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ;  $\text{pH} = 1.1$ .

Благодаря солюбилизации ДМАБА в мицеллы ДДС, удаётся повысить концентрацию реагента в исследуемых системах (в отсутствие этанола) по сравнению с водной средой ( $c(\text{ДМАБА}) > 2 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ). Так, в диапазоне концентраций ДМАБА от 1.0 до 4.0 мМ (рис. 4.18) оптическая плотность системы *церукал – ДМАБА – ДДС* (кривая 4, рис. 4.18) продолжает возрастать, в отличие от других аналитов, для которых избыток реагента, превышающий 1 мМ не целесообразен (кривые 1 – 3, рис. 4.18).



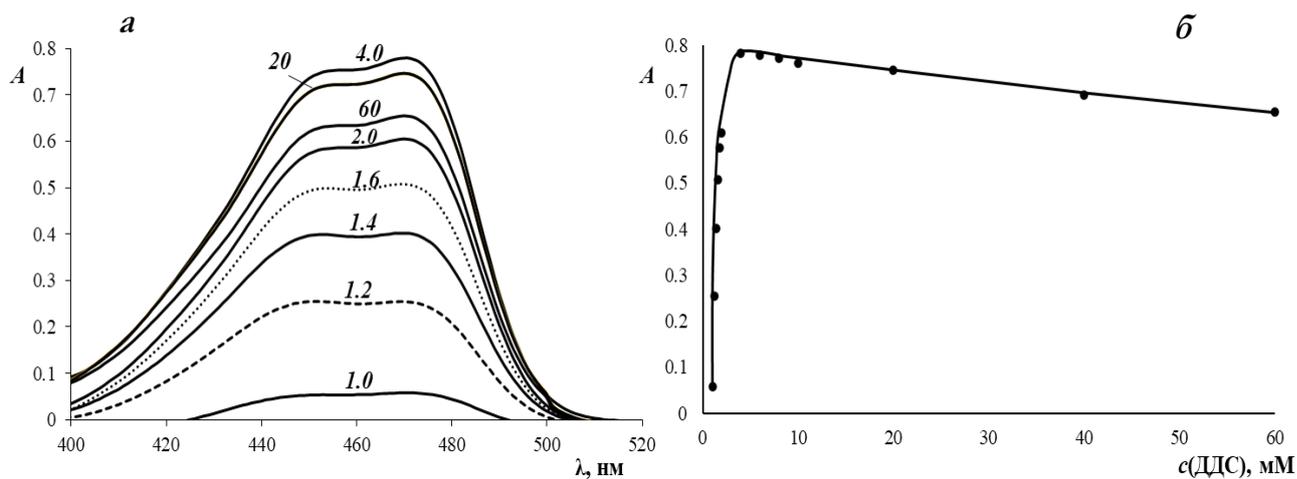
**Рисунок 4.18** – Зависимость  $A(\lambda_{\max}) - c(\text{ДМАБА})$  (0.1 – 4.0 мМ) системы *амин – ДМАБА – ДДС*; **1** – *n*АБК,  $c(\text{амин}) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ,  $c(\text{ДДС}) = 1 \cdot 10^{-2} \text{ М}$ ,  $\text{pH} = 2.0$ ; **2** – новокаин; **3** – новокаинамид,  $c(\text{амин}) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ,  $c(\text{ДДС}) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ,  $\text{pH} = 3.0$ ; **4** – церукал,  $c(\text{амин}) = 5 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ;  $c(\text{ДДС}) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ;  $\text{pH} = 1.1$ .

Выбрать одну оптимальную концентрацию реагента для всех исследуемых аналитов не позволяют особенности взаимодействия церукала с ДМАБА. В отличие от новокаинамида, молекула церукала содержит в своём строении атом хлора и метокси-группу, расположенные в орто- и мета-положениях относительно аминогруппы. Стерический фактор, представляющий собой влияние пространственного расположения заместителей церукала на его сближение с молекулой реагента, затрудняет процесс образования ОШ, замедляя реакцию, что и продемонстрировано на рис. 4.18 (кривая 4). Следует отметить,

что при уровне концентрации ДМАБА, равном 4 мМ, кривая зависимости оптической плотности системы *церукал – ДМАБА – ДДС* так и не достигает области насыщения, а создание условий с более высокой концентрацией реагента не целесообразно. Поэтому для трёх исследуемых аналитов выбрана концентрация реагента, равная 1 мМ. В целях унификации методик определения всех аналитов для церукала выбрана и реализована в дальнейшей работе аналогичная концентрация.

Предварительным экспериментом показано, что в оптимальных условиях, установленных ранее (раздел 4.2.1.3, стр. 100), с учётом выбранной концентрации ДМАБА (1 мМ) скорость реакций образования ОШ со всеми аналитами чрезвычайно высока, поэтому изучение кинетики таких реакций спектрофотометрически не представляется возможным. Для спектрофотометрического изучения скоростей исследуемых реакций в растворах аПАВ, нПАВ, а также их смесях, предложено понизить скорость химических реакций варьированием концентрации аПАВ и рН. Перейдём к рассмотрению первого фактора.

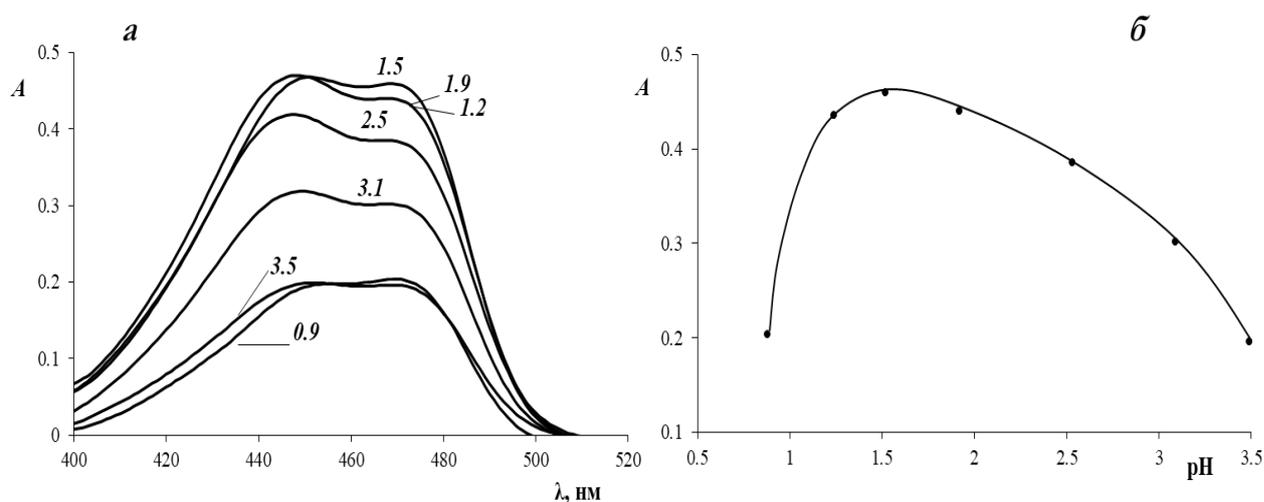
Так, исследовано поведение системы *амин – ДМАБА*, на примере новокаина (модельный амин), при варьировании концентрации ДДС (рис. 4.19).



**Рисунок 4.19** – Электронные спектры поглощения при различной концентрации ДДС (*a*) и зависимость  $A(\lambda_{\max}) - c(\text{ДДС})$  (*б*) системы *новокаин – ДМАБА – ДДС*:  $c(\text{новокаина}) = 1 \cdot 10^{-5}$  М;  $c(\text{ДМАБА}) = 1 \cdot 10^{-3}$  М; рН = 3.0. Номер кривой соответствует значению  $c(\text{ДДС})$ , мМ.

Как видно из рис. 4.19, в узком интервале концентраций ДДС (1 – 4 мМ) происходит резкое увеличение оптической плотности этой системы. Исходя из этого, выбрана концентрация ДДС на уровне ККМ в цитратных буферных растворах (1.2 мМ), при которой скорость реакции значительно снижается, однако, каталитические свойства ещё проявляются.

Далее при  $c(\text{ДДС}) = 1.2 \text{ мМ}$  изучено влияние рН на спектры поглощения системы *новокаин – ДМАБА* (рис. 4.20).

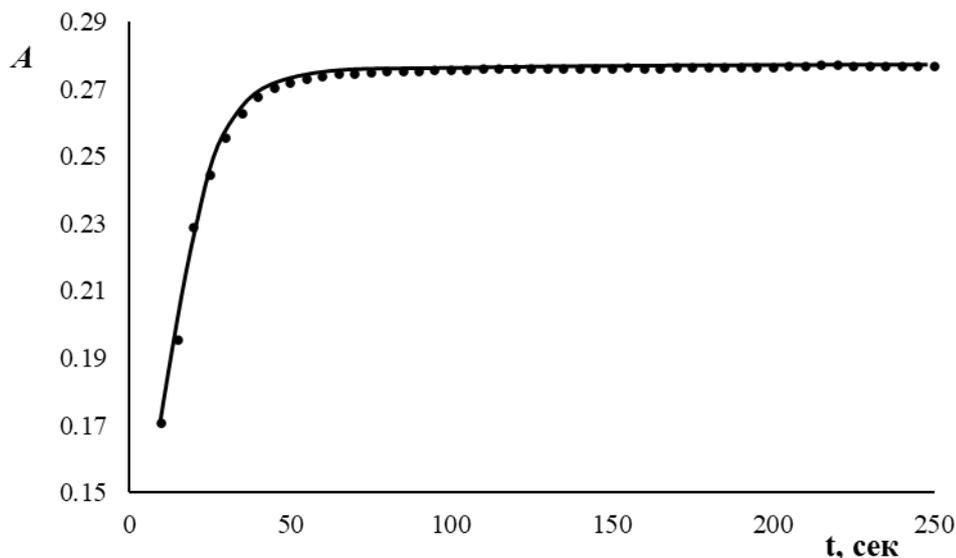


**Рисунок 4.20** – Электронные спектры поглощения при различных рН (*а*) и зависимость  $A(\lambda_{\max}) - \text{рН}$  (*б*) системы *новокаин – ДМАБА – ДДС*:  $c(\text{новокаина}) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ;  $c(\text{ДМАБА}) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ;  $c(\text{ДДС}) = 1.2 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ . Номер кривой соответствует значению рН.

Полученная колоколообразная зависимость оптической плотности (при  $\lambda_{\max} = 469 \text{ нм}$ ) от рН согласуется с ранее полученной в водной среде для рассматриваемого амина и установленным оптимальным интервалом рН для образования ОШ (1.55 – 2.35) (раздел 3.2.2, стр. 75).

Однако, в оптимальном диапазоне рН (1.2 – 2.0) скорость взаимодействия новокаина с ДМАБА в присутствии 1.2 мМ ДДС всё ещё остается достаточно высокой. Поэтому, для замедления реакции исследуемой системы необходимо, с одной стороны, понизить концентрацию ДДС до уровня ККМ (1.2 мМ), с другой стороны – повысить рН до  $\sim 3.0$ . В таких условиях спектрофотометрически удаётся регистрировать кинетические кривые, на которых фиксируется

первоначальный линейный участок и становится возможным устанавливать порядок реакции и рассчитывать константы скоростей (рис. 4.21).



**Рисунок 4.21** – Кинетическая зависимость  $A - t$  системы *новокаин – ДМАБА – ДДС*:  
 $c(\text{новокаина}) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ;  $c(\text{ДМАБА}) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ;  $c(\text{ДДС}) = 1.2 \cdot 10^{-3}$ ;  $\text{pH} = 3.0$ .

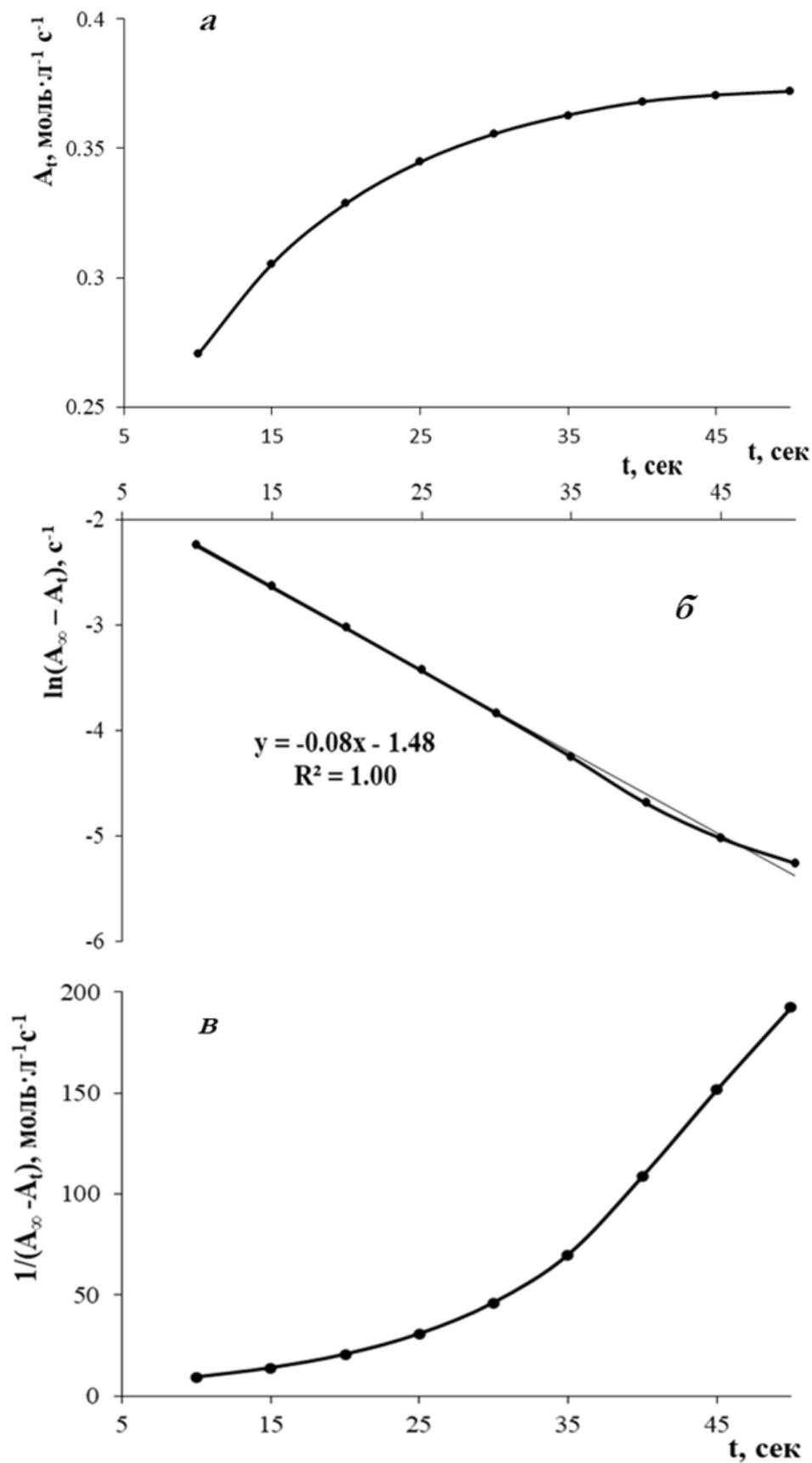
Для установления порядка реакции по новокаину (в избытке реагента) кинетическую зависимость  $A$ , пропорциональную  $c(\text{ОШ})$ , от времени интерпретировали по уравнениям нулевого (1), первого (2) и второго (3) порядков:

$$A_t = kt \quad 1)$$

$$\ln(A_\infty - A_t) = \ln(A_\infty - A_0) - kt \quad 2)$$

$$1/(A_\infty - A_t) = 1/(A_\infty - A_0) + kt \quad 3)$$

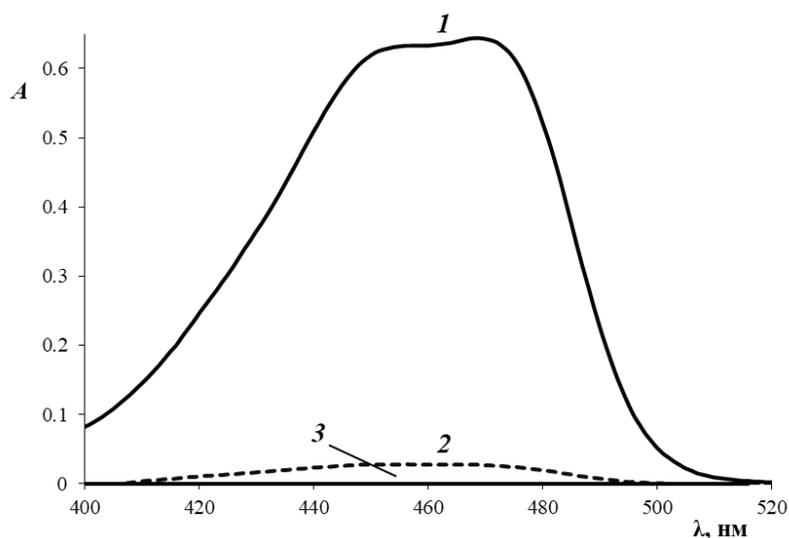
Начальная концентрация аналита в уравнениях кинетической константы скорости соответствует  $(A_\infty - A_0)$ , а его концентрация в момент времени  $t$  -  $(A_\infty - A_t)$ , где  $A_\infty$ ,  $A_0$  и  $A_t$  представляют максимальное поглощение, начальное ( $t = 0$ ) и в момент времени  $t$  соответственно. Построение зависимостей  $A_t$ ,  $\ln(A_\infty - A_t)$ ,  $1/(A_\infty - A_t)$  от времени и выявление линейных участков среди них позволяет установить порядок реакции по аналиту (рис. 4.22).



**Рисунок 4.22** – Кинетическая зависимость  $A - t$  системы *новокаин – ДМАБА – ДДС* в зависимости от порядка реакции **а)** нулевой; **б)** первый; **в)** второй;  $c(\text{новокаина}) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ;  $c(\text{ДМАБА}) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ;  $c(\text{ДДС}) = 1.2 \cdot 10^{-3}$ ,  $\text{pH} = 3.0$ .

Таким образом, выявлена линейная зависимость  $\ln(A_\infty - A_t)$  от времени (рис. 4.22, б), которая соответствует реакции первого порядка по новокаину, тангенс угла наклона которой равен  $-\lg K$ , следовательно можно рассчитать константу скорости реакции.

Для оценки влияния неионных ПАВ на поведение системы *новокаин – ДМАБА* зарегистрированы спектры поглощения в присутствии Тритона X-114 (рис. 4.23).

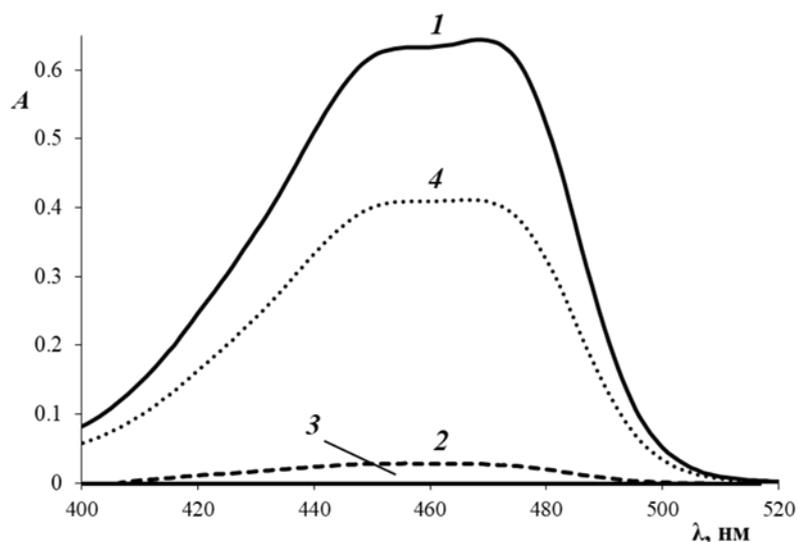


**Рисунок 4.23** – Электронные спектры поглощения системы *новокаин – ДМАБА* в присутствии ДДС (1) и Тритона X-114 (2) и без добавления ПАВ (3);  $c(\text{новокаина}) = 1 \cdot 10^{-5}$  М;  $c(\text{ДМАБА}) = 1 \cdot 10^{-3}$  М;  $c(\text{ДДС}) = 4 \cdot 10^{-3}$  М; pH = 3.0;  $c(\text{Тритона X-114}) = 4 \cdot 10^{-3}$  М.

Рис. 4.23 демонстрирует каталитическое действие мицеллярных сред ДДС на скорость взаимодействия новокаина с ДМАБА (кривая 1). Спектр поглощения системы *новокаин – ДМАБА*, полученный в присутствии Тритона X-114 (кривая 2), характеризуется изменениями оптических плотностей в пределах погрешности измерений, аналогичными тем, что наблюдаются в отсутствие ПАВ (кривая 3). Как и следовало ожидать, нПАВ индивидуально в таких системах не оказывают каталитического эффекта, что и подтверждается спектрами поглощения (кривые 2, 3).

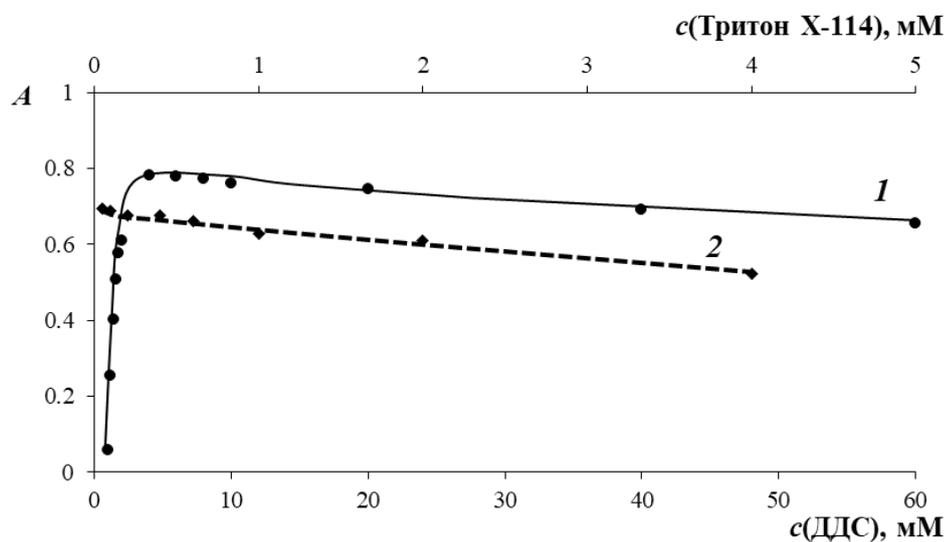
Для исследования поведения исследуемой системы в присутствии мицелл ПАВ анионного и неионного типов зарегистрирован спектр поглощения системы *новокаин – ДМАБА – ДДС* в присутствии Тритона X-114 (рис. 4.24). Так, при добавлении в вышеуказанную систему неионного ПАВ наблюдается гипохромный сдвиг полосы поглощения (4), что свидетельствует о снижении

скорости реакции и уменьшении выхода аналитической формы ОШ в мицеллах ПАВ смешанного типа.



**Рисунок 4.24** – Электронные спектры поглощения системы *новокаин – ДМАБА* в присутствии ДДС (1) и Тритона X-114 (2), без добавления ПАВ (3) и в присутствии смешанных мицелл ДДС и Тритона X-114 (4);  $c(\text{новокаина}) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ;  $c(\text{ДМАБА}) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ;  $c(\text{ДДС}) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ;  $\text{pH} = 3.0$ ;  $c(\text{Тритона X-114}) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ .

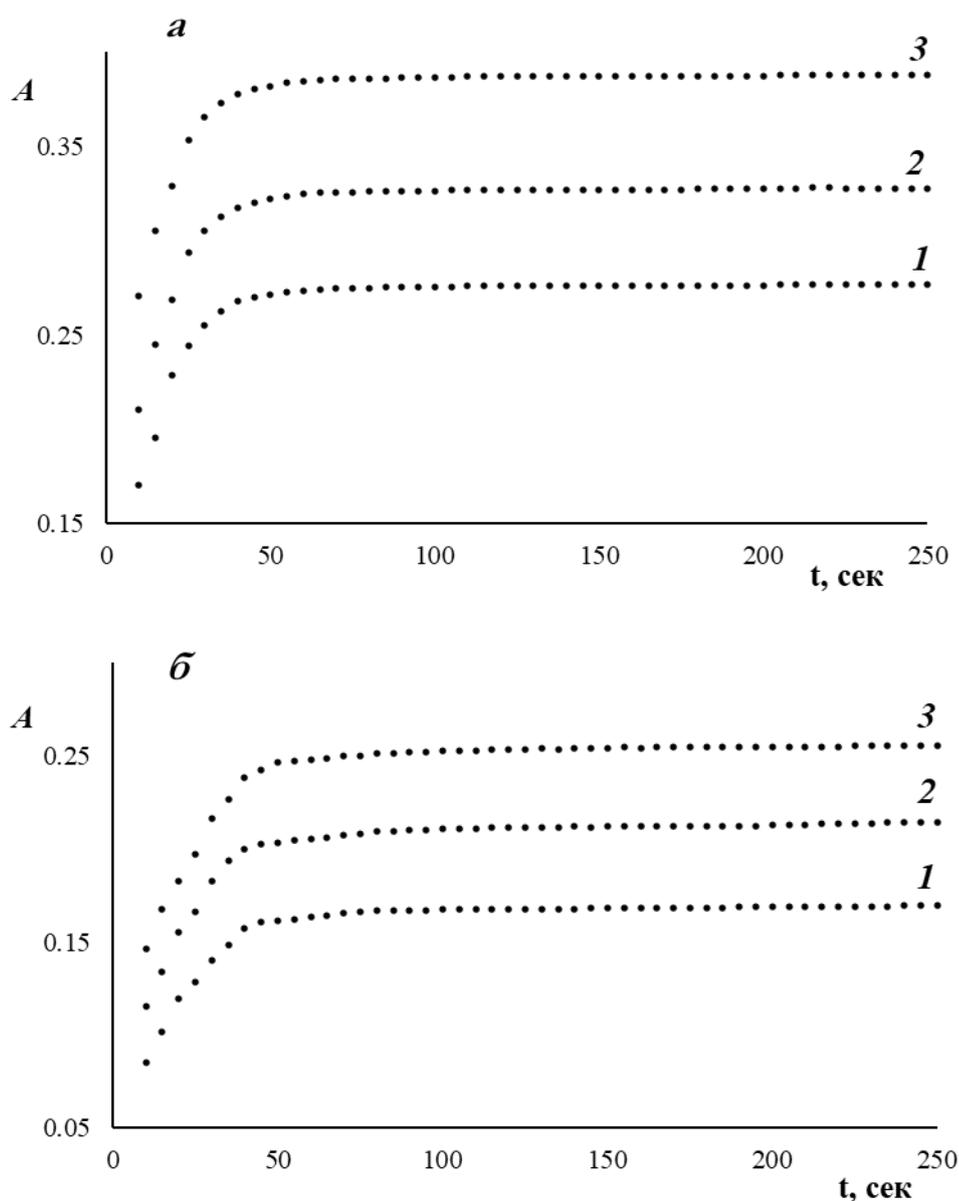
Также рассмотрена зависимость оптической плотности системы *новокаин – ДМАБА – ДДС* при варьировании концентрации Тритона X-114 (рис. 4.25).



**Рисунок 4.25** – Зависимости  $A(\lambda_{\text{max}}) - c(\text{ДДС})$  (1) и  $A(\lambda_{\text{max}}) - c(\text{Тритона X-114})$  (2) при постоянной  $c(\text{ДДС}) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ;  $c(\text{новокаина}) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ;  $c(\text{ДМАБА}) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ;  $\text{pH} = 3.0$ .

При увеличении концентрации Тритона X-114 в реакционной смеси оптическая плотность растворов уменьшается, следовательно скорость образования ОШ уменьшается.

Для оценки влияния различных по своей природе ПАВ на кинетику реакций ОШ зарегистрированы соответствующие кинетические кривые (рис. 4.26) и рассчитаны константы скоростей реакции первого порядка при варьировании концентрации новокаина (табл. 4.5).



**Рисунок 4.26** – Кинетические зависимости  $A - t$  системы *новокаин – ДМАБА – ДДС* при варьировании концентрации новокаина в присутствии ДДС (*a*); в присутствии ДДС и Тритона X-114 (*б*);  $c(\text{новокаина}) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$  (1),  $1.2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$  (2),  $1.4 \cdot 10^{-5} \text{ M}$  (3);  $c(\text{ДМАБА}) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ;  $c(\text{ДДС}) = 1.2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ;  $\text{pH} = 3.0$ ;  $c(\text{Тритона X-114}) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ .

**Таблица 4.5** – Значения констант скоростей реакции первого порядка в системе *новокаин – ДМАБА* в присутствии ДДС и смеси ДДС и Тритона X-114

<b>c(новокаина), мМ</b>	<b>k<sub>скр.</sub>, с<sup>-1</sup></b>	<b>k ± Δk</b>
0.0100	0.0824	0.082 ± 0.002
0.0120	0.0812	
0.0140	0.0812	
<b>c(новокаина), мМ</b>	<b>k<sub>скр.</sub>, с<sup>-1</sup></b>	<b>k ± Δk</b>
0.0100	0.0551	0.055 ± 0.004
0.0120	0.0563	
0.0140	0.0531	

Ранее проведённые исследования кинетики реакций взаимодействия первичных ариламинов с карбонильными соединениями в мицеллах ДДС показали, что мицеллярный катализ приводит к ускорению таких реакций в ~1000 раз по сравнению с водной средой [124]. Введение в систему *новокаин – ДМАБА – ДДС* Тритона X-114 приводит к снижению скорости реакции в ~1.5 раза за счёт образования смешанных мицелл ПАВ. В этом случае нПАВ (Тритон X-114) экранируют полярных группы аПАВ (ДДС) в мицелле (уменьшают их отталкивание) [4], что и приводит к снижению общего отрицательного заряда поверхности смешанной мицеллы, замедляя реакцию.

Однако, реализованная далее в работе методология АТРС позволяет достигать коэффициентов концентрирования порядка  $x \cdot 10^2$ , что приводит к дополнительному снижению пределов обнаружения исследуемых аналитов по отношению к водной среде ~ на 3 порядка.

### **4.3. Концентрирование оснований Шиффа мицеллами анионных и неионных ПАВ**

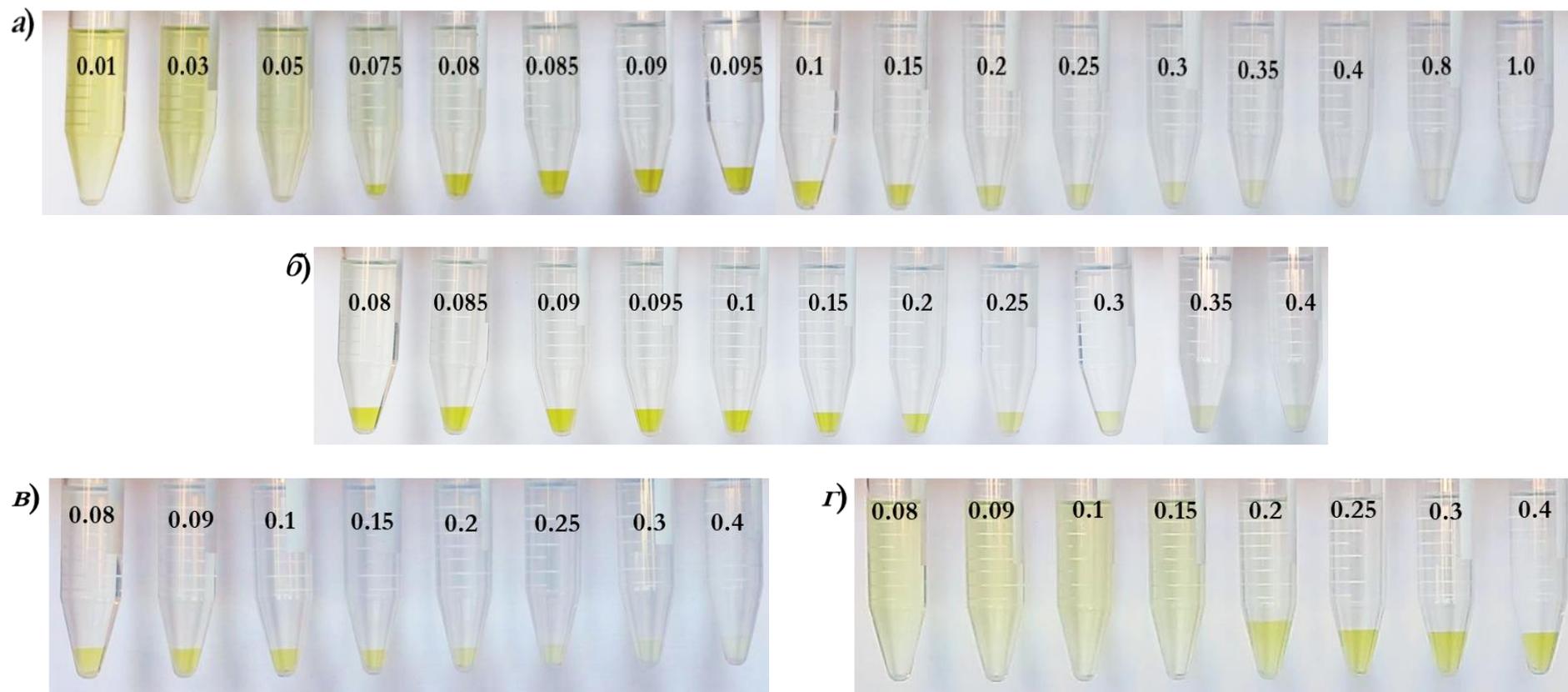
Ранее проведенные исследования позволили установить рабочие концентрации реагента (1 мМ), рН (1.1 – 3.0) и ДДС (4 – 10 мМ). Установлено, что основным фактором, влияющим на  $V_{м.ф.}$  индивидуальных, а также смешанных мицелл неионных ПАВ с анионными является концентрация Тритона X-114. Поэтому целесообразно было изучить влияние этого фактора на

визуально-колориметрическое поведение системы *аналит – реагент* и провести оценку количественных характеристик экстракции ОШ.

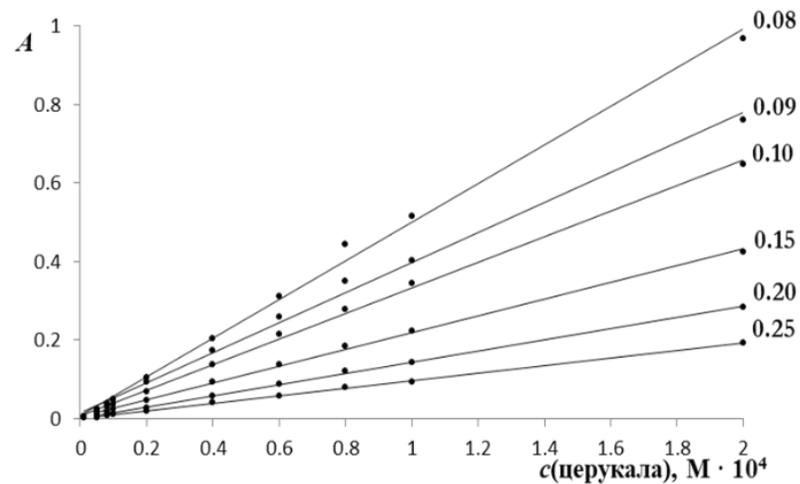
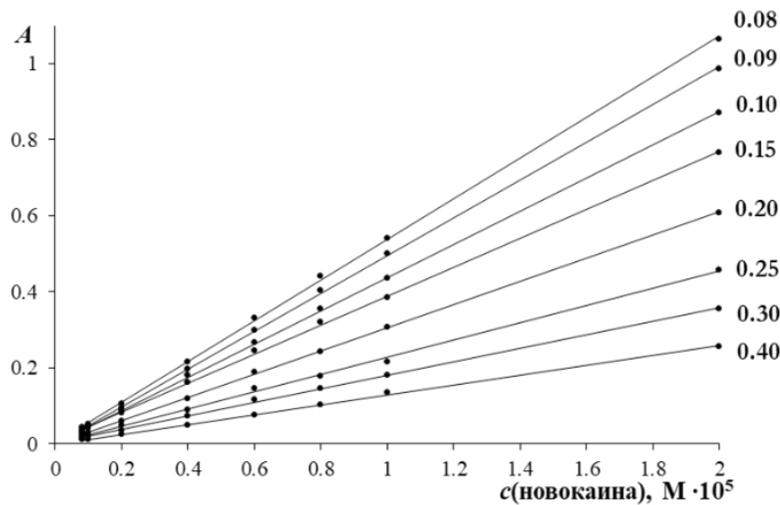
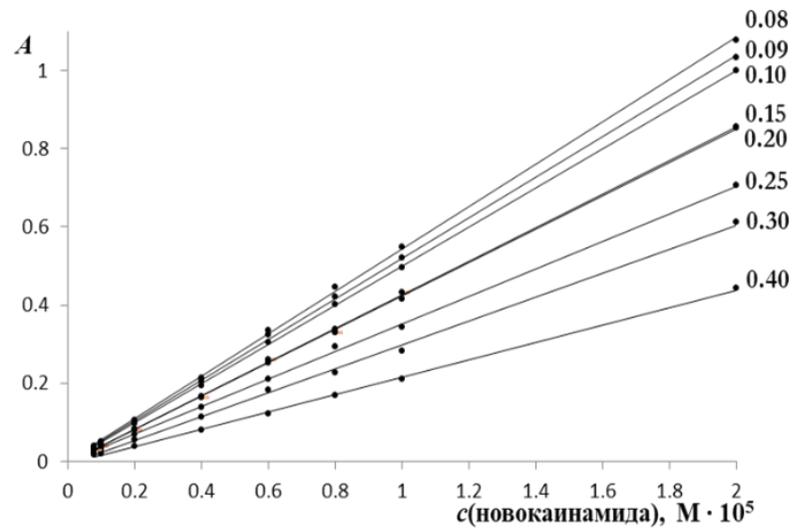
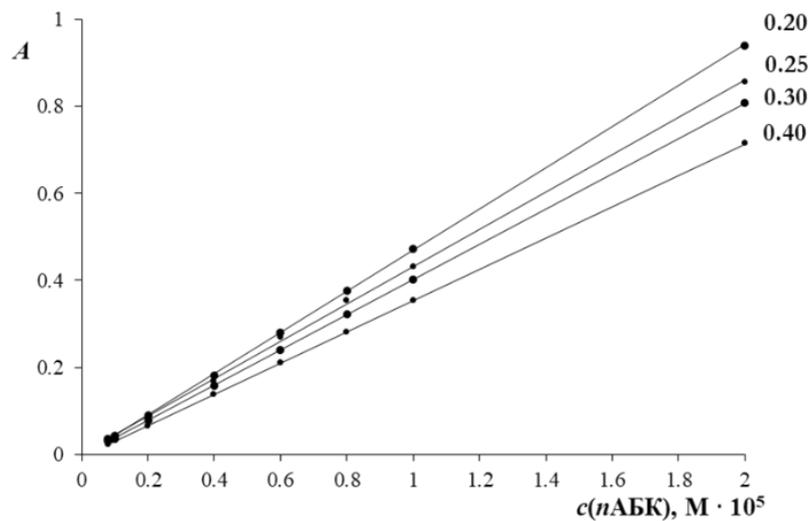
#### 4.3.1. Варьирование концентрации Тритона X-114

Для каждого из исследуемых аналитов рассмотрен характер фазообразования при варьировании концентрации Тритона X-114 от 0.08 до 1.0 % при  $c(\text{NaCl}) = 0.6 \text{ M}$  (рис. 4.27). Так, в диапазоне 0.01 – 0.05 % Тритона X-114 образование мицеллярных фаз в системах с новокаином, новокаинамидом и церукалом не наблюдалось. В диапазоне от 0.08 до 1.0 % окрашенная мицеллярно-насыщенная фаза смешанных ПАВ локализуется в нижней части раствора. Следует отметить, что при  $\omega(\text{Тритона X-114}) = 0.08 \%$  водная часть исследуемых систем окрашена в желтый цвет соответствующего ОШ, интенсивность которой ослабевает при дальнейшем увеличении концентрации нПАВ. Характер фазообразования в системе с *n*АБК отличается от остальных аналитов: разделение растворов на две фазы достигается при большей концентрации, начиная с  $\omega(\text{Тритона X-114}) = 0.2 \%$ .

Поскольку ранее установленные данные свидетельствуют о снижении скорости реакции при введении в систему *аналит – ДМАБА – ДДС* Тритона X-114, что визуально подтверждается уменьшением интенсивности окраски получаемых мицеллярных фаз при увеличении  $\omega(\text{Тритона X-114})$  (рис. 4.27), то для расчёта количественных характеристик экстракции ОШ предварительно необходимо строить линейные зависимости  $A(\text{при } \lambda_{\text{max}}) - c(\text{аналита})$  для каждой концентрации нПАВ в выбранном диапазоне (рис. 4.28). Корреляционные уравнения полученных прямых сведены в таблицу 4.6. Полученные зависимости тангенса угла наклона (коэффициента чувствительности) калибровочных прямых от концентрации Тритона X-114 для каждого из аналитов (рис. 4.29) свидетельствует об уменьшении чувствительности исследуемой реакции при увеличении концентрации нПАВ в исследуемых системах.



**Рисунок 4.27** – Характер фазообразования при варьировании  $\omega$ (Тритона X-114): *а)* новокаин; *б)* новокаинамид;  $c(\text{аналита}) = 5 \cdot 10^{-6} \text{ М}$ ,  $c(\text{ДМАБА}) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ,  $c(\text{ДДС}) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ,  $\text{pH} = 3.0$ ; *в)* церукал;  $c(\text{аналита}) = 5 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ,  $c(\text{ДМАБА}) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ,  $c(\text{ДДС}) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ,  $\text{pH} = 1.1$ ; *г)* *n*АБК;  $c(\text{аналита}) = 5 \cdot 10^{-6} \text{ М}$ ,  $c(\text{ДМАБА}) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ,  $c(\text{ДДС}) = 1 \cdot 10^{-2} \text{ М}$ ,  $\text{pH} = 2.0$ ;  $c(\text{NaCl}) = 0.6 \text{ М}$ .  
Цифры на пробирках –  $\omega$ (Тритона X-114), %.



**Рисунок 4.28** – Градуировочные зависимости  $A(\lambda_{\text{max}}) - c(\text{аналита})$  при различных концентрациях Тритона X-114.  
Цифры на прямых –  $\omega(\text{Тритона X-114}), \%$ .

Таблица 4.6 – Уравнения градуировочных графиков при варьировании  $\omega$ (Тритона X-114)

Аналит (диапазон линейности, $M \cdot 10^{-5}$ )	$\omega$ (Тритона X-114), %	Корреляционные уравнения; $R^2$
<i>n</i> АБК (0.008 – 0.2)	0.20	$y = 0.473x$ ; 0.999
	0.25	$y = 0.429x$ ; 0.999
	0.30	$y = 0.405x$ ; 0.999
	0.40	$y = 0.360x$ ; 0.999
Новокаин (0.008 – 0.2)	0.08	$y = 0.534x$ ; 0.999
	0.09	$y = 0.496x$ ; 0.999
	0.10	$y = 0.436x$ ; 0.999
	0.15	$y = 0.381x$ ; 0.999
	0.20	$y = 0.305x$ ; 0.999
	0.25	$y = 0.226x$ ; 0.999
	0.30	$y = 0.178x$ ; 0.999
	0.40	$y = 0.129x$ ; 0.999
Новокаинамид (0.008 – 0.2)	0.08	$y = 0.543x$ ; 0.999
	0.09	$y = 0.519x$ ; 0.999
	0.10	$y = 0.501x$ ; 0.999
	0.15	$y = 0.431x$ ; 0.999
	0.20	$y = 0.427x$ ; 0.999
	0.25	$y = 0.353x$ ; 0.999
	0.30	$y = 0.304x$ ; 0.999
	0.40	$y = 0.222x$ ; 0.999
Церукал (0.08 – 2.0)	0.08	$y = 0.491x$ ; 0.997
	0.09	$y = 0.382x$ ; 0.996
	0.10	$y = 0.327x$ ; 0.998
	0.15	$y = 0.213x$ ; 0.998
	0.20	$y = 0.143x$ ; 0.999
	0.25	$y = 0.096x$ ; 0.999

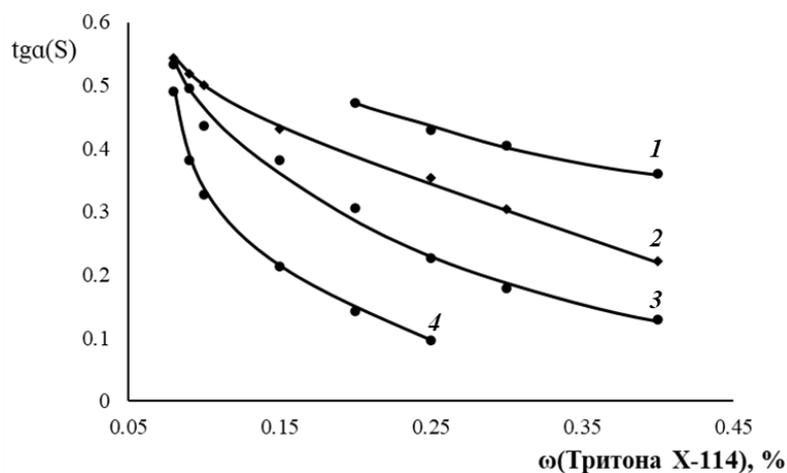


Рисунок 4.29 – Зависимости  $\text{tg}\alpha - \omega$ (Тритона X-114), % :  
1 – nАБК; 2 – новокаинамид; 3 – новокаин; 4 – церукал.

### 4.3.2. Расчет количественных характеристик мицеллярной экстракции

Количественные характеристики (степень извлечения, R и коэффициент распределения, D) экстракции исследуемых лекарственных производных *n*АБК в мицеллярные фазы смешанных ПАВ рассчитаны по формулам [141]:

$$D = \frac{C_o}{C_B}$$

где  $C_o$  – концентрация компонента в мицеллярной фазе;

$C_B$  – концентрация компонента в водной фазе.

$$R = \frac{D \cdot 100}{D + \frac{V_B}{V_o}}$$

где D – коэффициент распределения;  $V_B$  – объём водной фазы, мл;  $V_o$  – объём мицеллярной фазы, мл.

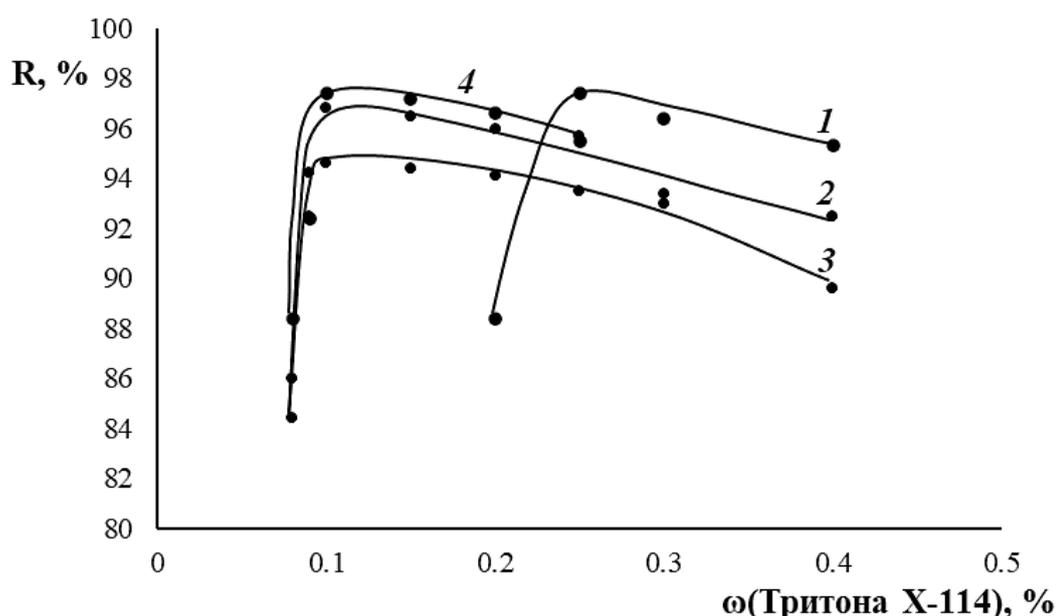
Рассчитанные характеристики и зависимости степени извлечения для каждого исследуемого анализа при варьировании концентрации Тритона X-114 сведены в таблицу 4.7 и представлены на рис. 4.30 соответственно.

**Таблица 4.7** – Значения R и D при экстракции ОШ при варьировании  $\omega$ (Тритона X-114)

Аналит		$\omega$ (Тритона X-114), %							
		0.08	0.09	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.40
R, %	<i>n</i> АБК	–	–	–	–	88	97	96	95
	Новокаин	84	94	97	97	96	96	93	93
	Новокаинамид	86	93	95	94	94	94	93	90
	Церукал	88	92	97	97	97	96	–	–
D	<i>n</i> АБК	–	–	–	–	47.0	390	260	290
	Новокаин	190	530	1050	1230	1070	910	580	400
	Новокаинамид	230	400	610	690	780	590	500	280
	Церукал	250	460	1670	1900	1750	1040	–	–

Из таблицы 4.7 и рис. 4.30 видно, что при увеличении концентрации Тритона X-114 степень извлечения соответствующих ОШ возрастает и достигает

максимума для *n*АБК, новокаина и новокаинамида при  $\omega(\text{Тритона X-114}) = 0.10 \%$ . Для *n*АБК максимальное значение степени извлечения ОШ достигается при  $0.25 \%$  Тритона X-114. Дальнейшее увеличение количества ПАВ в исследуемых системах приводит к постепенному уменьшению эффективности экстракции производных *n*АБК, что связано, с одной стороны, уменьшением общего отрицательного заряда смешанных мицелл и, как следствие, снижением каталитического и действия на реакции образования ОШ. С другой стороны, рост концентрации Тритона X-114 приводит к увеличению объемов мицеллярно-насыщенных фаз, что сопровождается разбавлением аналитических форм ОШ в этих фазах.



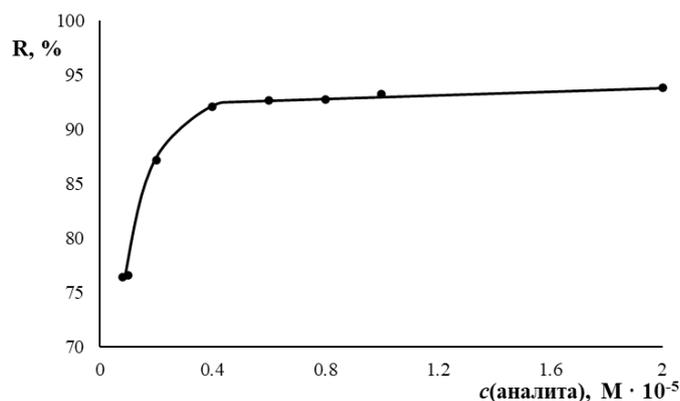
**Рисунок 4.30** – Зависимости степени извлечения ОШ от  $\omega(\text{Тритона X-114})$ :

1 – *n*АБК, 2 – новокаин, 3 – новокаинамид; 4 – церукал;  $c(\text{аналита}) = 5 \cdot 10^{-6} \text{ М}$  (1–3),  $c(\text{аналита}) = 5 \cdot 10^{-5} \text{ М}$  (4),  $c(\text{ДМАБА}) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ,  $c(\text{ДДС}) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ М}$  (2–4),  $c(\text{ДДС}) = 1 \cdot 10^{-2} \text{ М}$  (1),  $\text{pH} = 1.1$  (4), 2.0 (1), 3.0 (2–3),  $c(\text{NaCl}) = 0.6 \text{ М}$ .

Таким образом, наиболее эффективная экстракция новокаина, новокаинамида и церукала достигается при концентрациях Тритона X-114 в диапазоне  $(0.10 - 0.15) \%$ , а в случае с *n*АБК –  $(0.25 - 0.30) \%$ . С учётом этого рассчитаны параметры экстракции на примере новокаинамида при  $\omega(\text{Тритона X-114}) = 0.15 \%$  (таблица 4.8) и построена зависимость степени извлечения этого аналита от его концентрации (рис. 4.31). Из таблицы 4.8 и рис. 4.31 видно, что при увеличении концентрации новокаинамида степень его извлечения возрастает.

**Таблица 4.8** – Зависимости R и D от  $c(\text{новокаиамида})$

$c(\text{аналита}), \text{M} \cdot 10^{-5}$	R, %	D
0.080	76	160
0.10	77	160
0.20	87	330
0.40	92	570
0.60	93	620
0.80	93	630
1.0	93	680
2.0	94	750



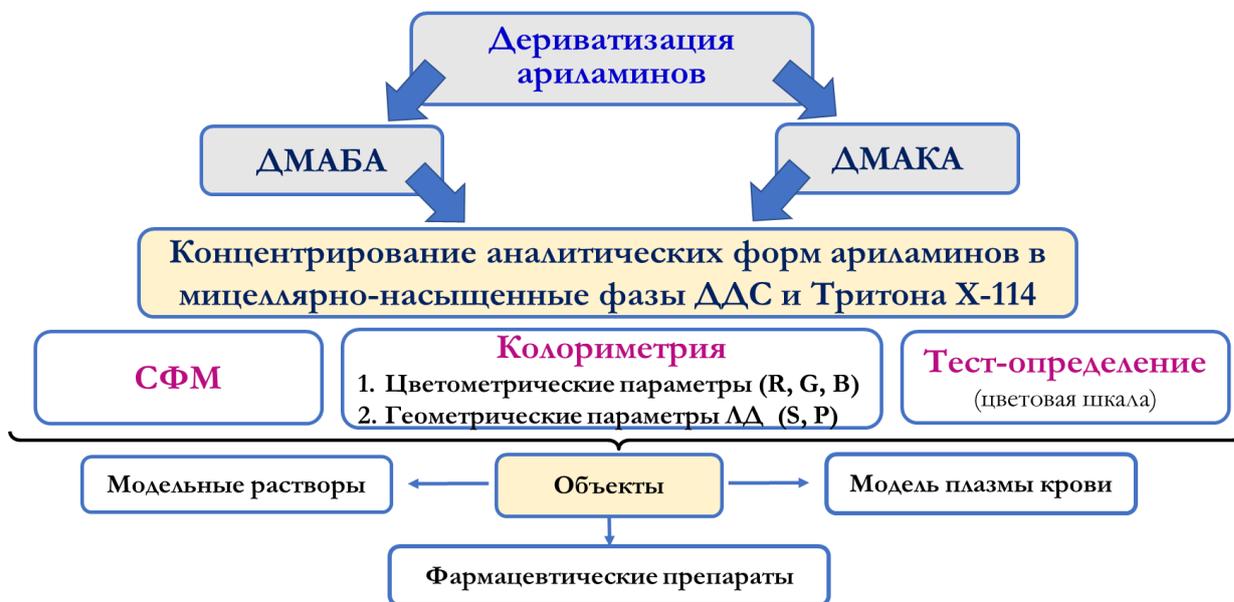
**Рисунок 4.31** – Зависимость степени извлечения R от  $c(\text{новокаиамида})$ :

\* \*  
\*

Таким образом, исследованы особенности фазообразования в растворе Тритона X-114 при варьировании природы и концентрации высаливателя. Показано, что значения  $V_{\text{м.ф.}}$  наименее чувствительны к градиенту концентрации NaCl в присутствии ионов и мицелл ДДС, реагентов. Изучено влияние эффекта «мицеллярного катализа» ДДС на образование ОШ, который частично подавляется мицеллами Тритона X-114; при этом константы скоростей реакций снижаются в  $\sim 1.5$  раза. Мицеллярно-насыщенные фазы Тритона X-114 и ДДС позволяют эффективно концентрировать ОШ исследуемых аналитов, при этом степени их извлечения достигают 95-97 %.

## ГЛАВА 5. Практическое применение результатов исследований

В основу разработки спектрофотометрического, цветометрического и тест-определения лекарственных производных *n*АБК в модельных растворах и реальных объектах (рис. 5.1) положены некоторые установленные ранее закономерности: уменьшение  $V_{м.ф.}$  при увеличении концентраций высаливателей неорганической и органической природы, ионной силы раствора; увеличение  $V_{м.ф.}$  при концентрациях аПАВ  $\geq 4$  ККМ, при этом выявлена наименьшая чувствительность  $V_{м.ф.}$  к градиенту концентраций NaCl, ДДС ( $\leq 4$  ККМ), а также присутствию рабочих концентраций компонентов цитратного буферного раствора и реактантов (аналитов и реагента).



**Рисунок 5.1** – Схема получения мицеллярно-насыщенных фаз смешанных ПАВ и способы определения исследуемых ариламинов в различных объектах.

Для получения мицеллярно-насыщенных фаз смешанных ПАВ придерживались следующего алгоритма: в пробирки общим объёмом 5 мл вносили соответствующие аналиты в интервале концентраций от  $1 \cdot 10^{-6}$  до  $1 \cdot 10^{-5}$  М, затем 0.5 мл  $1 \cdot 10^{-2}$  М раствора ДМАБА, диспергированного в  $4 \cdot 10^{-2}$  М (или  $1 \cdot 10^{-1}$  М) растворе ДДС, и доводили объём в каждой пробирке до  $\sim 3$  мл цитратным буферным раствором с pH 1.1 – 3.0. Затем в каждую пробирку вносили (0.15 – 0.25) мл 5 %-ного Тритона X-114 и 0.88 мл 20 %-ного раствора NaCl. После

внесения каждого из компонентов содержимое пробирок тщательно перемешивали.

Нами предложен цветометрический вариант регистрации аналитического сигнала (измерение интенсивностей параметров цветности), не требующий разбавления мицеллярной фазы, что сохраняет эффект концентрирования и позволяет снизить пределы обнаружения лекарственных производных *n*АБК до концентраций уровня нг/л.

### 5.1. Спектрофотометрическое определение исследуемых аналитов с предварительным АТРС-концентрированием

Для разработки спектрофотометрического способа определения исследуемых ариламинов мицеллярно-насыщенную фазу смешанных ПАВ, содержащую аналитические формы ОШ, необходимо отделять от водной и разбавлять в ~20 раз (ввиду малого объёма таких фаз, 0.1 – 0.2 мл) для последующей регистрации электронных спектров поглощения. При этом эффект концентрирования ОШ снижается (в отличие от цветометрического способа, не требующего разбавления фаз), что не позволяет максимально понизить пределы обнаружения исследуемых аналитов. Так, для каждой системы получены зависимости оптической плотности от концентрации производных *n*АБК (табл. 5.1), по которым определяли их содержание в различных объектах.

Таблица 5.1 – Градуировочные зависимости  $A(\lambda_{\max}) - c(\text{аналита})$

Аналит	Корреляционные уравнения, $R^2$	$\lambda_{\max}$ , нм
<i>n</i> АБК	$y = 0.478x; 0.999$	454
Новокаин	$y = 0.381x; 0.999$	469
Новокаинамид	$y = 0.431x; 0.999$	454
Церукал	$y = 0.213x; 0.998$	450

Оценку правильности результатов спектрофотометрического определения осуществляли способом «введено – найдено» (табл. 5.2). Этот способ апробирован на примере определения новокаина в ампульных 0.50 %-ных растворах для инъекций «Новокаин» [142 –145].

**Таблица 5.2** – Результаты спектрофотометрического определения лекарственных производных *n*АБК в модельных растворах (n = 3, P = 0.95)

Введено, М	Найдено ( $X \pm \Delta X$ ), М	Sr
<b><i>n</i>АБК</b>		
$2.00 \cdot 10^{-6}$	$(2.0 \pm 0.5) \cdot 10^{-6}$	0.06
$4.00 \cdot 10^{-6}$	$(4.0 \pm 0.2) \cdot 10^{-6}$	0.03
$6.00 \cdot 10^{-6}$	$(6.0 \pm 0.3) \cdot 10^{-6}$	0.02
<b>Новокаин</b>		
$2.00 \cdot 10^{-6}$	$(2.0 \pm 0.2) \cdot 10^{-6}$	0.04
$3.00 \cdot 10^{-6}$	$(3.0 \pm 0.4) \cdot 10^{-6}$	0.03
$5.00 \cdot 10^{-6}$	$(5.0 \pm 0.3) \cdot 10^{-6}$	0.02
<b>Новокаинамид</b>		
$3.00 \cdot 10^{-6}$	$(3.0 \pm 0.2) \cdot 10^{-6}$	0.05
$4.00 \cdot 10^{-6}$	$(4.0 \pm 0.5) \cdot 10^{-6}$	0.02
$5.00 \cdot 10^{-6}$	$(5.0 \pm 0.5) \cdot 10^{-6}$	0.02
<b>Церукал</b>		
$2.00 \cdot 10^{-5}$	$(2.0 \pm 0.5) \cdot 10^{-5}$	0.03
$4.00 \cdot 10^{-5}$	$(4.0 \pm 0.5) \cdot 10^{-5}$	0.02
$6.00 \cdot 10^{-5}$	$(6.0 \pm 0.5) \cdot 10^{-5}$	0.01

Для оценки сходимости результатов на примере спектрофотометрического определения новокаина в водном растворе варьировали концентрации NaCl (табл. 5.3) и Тритона X-114 (табл. 5.4).

**Таблица 5.3** – Определение содержания новокаина при различных  $c(\text{NaCl})$

$c(\text{NaCl}), \text{M}$	Новокаин		Sr, %
	Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	
0.400	1.00	1.3	32
0.500		1.1	8.0
0.600		0.94	6.0
0.700		0.96	4.0
0.800		1.1	5.0
0.900		0.95	5.0
1.00		1.1	6.0
1.10		1.2	20

Как видно из данных табл. 5.3 и табл. 5.4 наименьшие погрешности определения новокаина спектрофотометрическим методом достигаются при рекомендованных нами ранее концентрациях высаливателя и нПАВ.

**Таблица 5.4** – Определение содержания новокаина при различной  $c$ (Тритона X-114)

$c$ (Тритона X-114), М	Новокаин		Sr, %
	Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	
$0.8 \cdot 10^{-3}$	1.00	1.3	32
$2.4 \cdot 10^{-3}$		1.1	6.0
$4.0 \cdot 10^{-3}$		0.97	3.0
$5.6 \cdot 10^{-3}$		0.96	4.0
$7.2 \cdot 10^{-3}$		0.95	5.0
$8.8 \cdot 10^{-3}$		1.1	6.0
$1.0 \cdot 10^{-2}$		0.93	7.0
$1.2 \cdot 10^{-2}$		1.2	20

Оценку правильности результатов по t-критерию для спектрофотометрического определения ариламинов на примере новокаина осуществляли способом «введено-найдено» в лекарственном препарате «Новокаин» (табл. 5.5). Рассчитанные значения  $t_{\text{эсп}}$  свидетельствуют об отсутствии систематической погрешности.

**Таблица 5.5** – Определение содержания новокаина в ампулах 0.50 % -ного раствора новокаина ( $t_{\text{табл}} = 2.78$ ,  $n = 5$ ,  $P = 0.95$ )

Введено, мкг/мл	Найдено ( $X \pm \Delta X$ ), мкг/мл	Sr, %	$t_{\text{эсп}}$
30.0	$28 \pm 2$	5.9	2.71
	$31 \pm 1$	4.7	1.53
	$29 \pm 1$	4.3	1.79
	$32 \pm 2$	5.8	2.41
	$29 \pm 1$	4.3	1.79

Спектрофотометрические способы позволяют определять исследуемые аналиты в диапазоне концентраций от  $1.2 \cdot 10^{-7}$  –  $1 \cdot 10^{-5}$  М, при этом погрешность не превышала 5 – 6 %. Однако, стадия разбавления мицеллярной фазы приводит к снижению эффективности концентрирования исследуемых аналитов. Поэтому нами предложен цветометрический способ регистрации аналитического сигнала

по измерению интенсивностей параметров цвета без разбавления мицеллярной фазы, что приводит к снижению пределов обнаружения аналитов.

## 5.2. Цветометрическое определение лекарственных производных *n*АБК

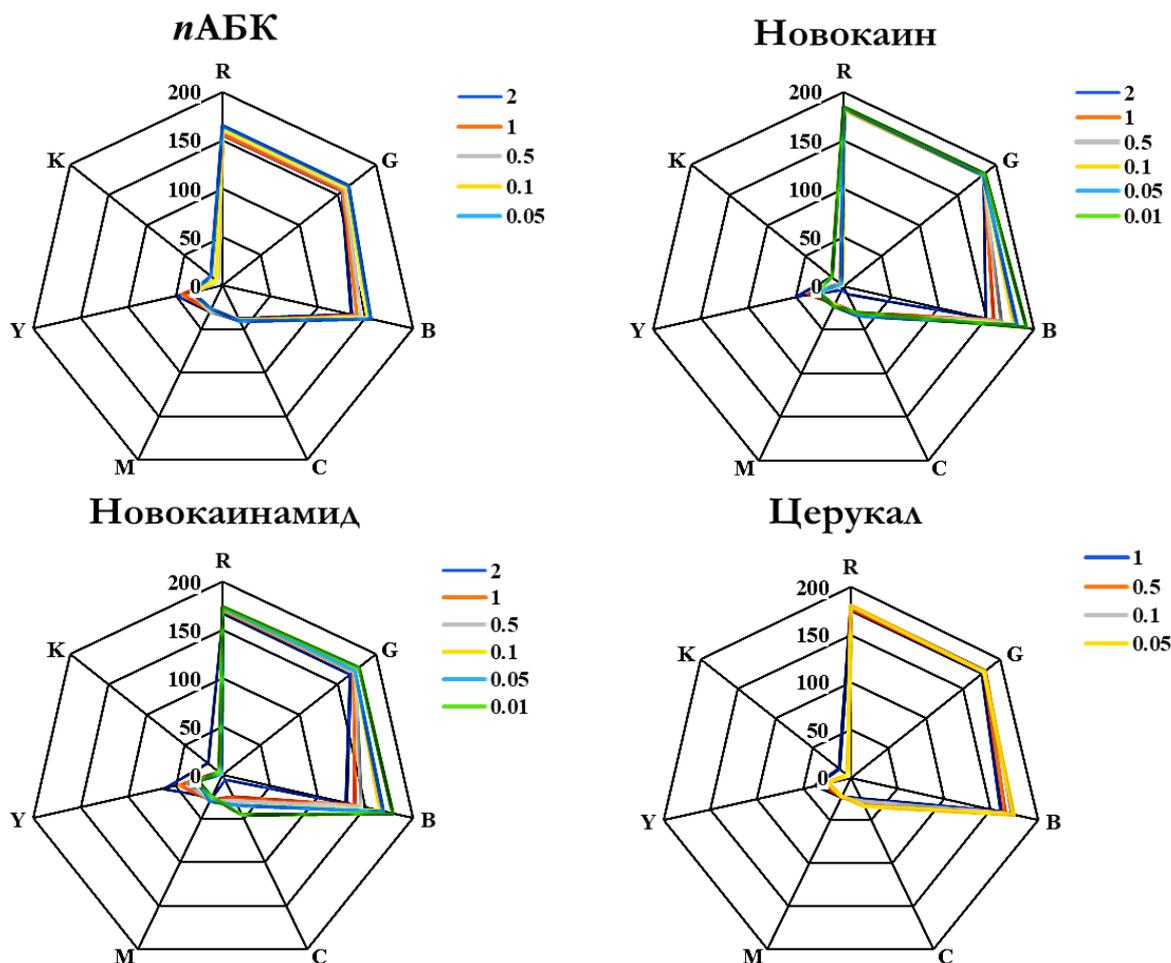
В последнее время вызывает интерес применение в аналитической химии цветометрии, базирующейся на способах измерения цвета и его количественном выражении [146]. Цветометрические системы, максимально схожие с человеческим зрением, позволяют решить задачу определения содержания вещества по суммарному изменению цвета тест-образца, которая возникает вследствие развития в настоящее время экспресс-методов с визуальным детектированием (тест-методов). При создании тест-систем применяют оценку индикаторного эффекта химической реакции по характеристикам цветности цифрового изображения: светлоте или отражающей способности [147]. Основными носителями информации, указывающими о содержании тестируемого вещества в анализируемом объекте, являются: координаты цвета  $X$ ,  $Y$  и  $Z$ , насыщенность цвета ( $S$ ), светлота ( $L$ ), цветовой тон ( $T$ ) и желтизна ( $G$ ).

Каждую точку системы, которая представлена окрашенным веществом, можно представить в координатах различных цветовых систем – RGB, CMYK, XYZ, Lab, HSB. Система RGB образована тремя основными цветами – красным (R), зеленым (G) и синим (B), которые отвечают монохроматическому излучению с длинами волн 700.0; 546.1 и 435.8 нм соответственно.

Специализированные программные пакеты позволяют преобразовывать цифровые изображения, созданные с использованием различных фотоустройств [148, 149], в соответствующие интенсивности параметров цвета. Это позволяет получать вторичные аналитические данные в форме градуировочных кривых и геометрических фигур, которые легче интерпретировать.

Для цветометрического определения лекарственных производных *n*АБК необходимую часть цветного изображения окрашенных мицеллярных фаз смешанных ПАВ усредняли, применяя графический редактор Adobe Photoshop версии CS6, до одного пикселя с помощью фильтра «Blur» («Average»). После

усреднения цвета определяли значения координат цветовых параметров R, G, B и C, M, Y, K. В указанных координатах цветности в оболочке электронных таблиц Microsoft Excel строили лепестковые диаграммы (ЛД) (рис. 5.2).



**Рисунок 5.2** – Профили лепестковых диаграмм исследуемых ариламинов в координатах цветовых каналов R, G, B, C, M, Y, K при различных концентрациях:  $(0.05 - 2.0) \cdot 10^{-6}$  М для nABK;  $(0.01 - 2.0) \cdot 10^{-6}$  М для новокаина и новокаинамида;  $(0.05 - 1.0) \cdot 10^{-5}$  М для церукала.

Как видно из рис. 5.2, профили ЛД исследуемых ариламинов имеют схожие формы, т.е. они малоразличимыми, что не позволяет осуществлять их достоверную идентификацию. Однако, в объектах, содержащих конкретный анализ профиль ЛД позволяет идентифицировать принадлежность лекарственного препарата к производным nABK. Кроме того, значения интенсивностей цветовых сигналов (I), а также геометрических параметров таких профилей (площадь, S и периметр, P) могут применяться и для

определения концентрации аналитов. Геометрические параметры S и P рассчитывали по формулам (1) и (2):

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

$$S = \Sigma(1/2 \cdot ab \cdot \sin(ab)) \quad (2)$$

где где a, b – стороны треугольника;  $\cos(ab)$  – cos угла между сторонами a, b;  $\sin(ab)$  – sin угла между сторонами a, b (соседними радиусами на лепестковой диаграмме).

Корреляционные уравнения линейных градуировочных зависимостей цветометрических и геометрических параметров ЛД от  $\rho$ c(ариламина) и величины достоверности аппроксимации сведены в табл. 5.6.

**Таблица 5.6** – Градуировочные зависимости площадей (S) и периметров (P) ЛД от  $\rho$ c исследуемых аналитов

Аналит	Корреляционные уравнения		
	Канал В	S	P
<b>nАБК</b>	$y = 11.9x + 69;$ $R^2 = 0.98$	$S = 2.53 \cdot 10^3 x + 1.08 \cdot 10^4;$ $R^2 = 0.98$	$P = 16.6x + 640;$ $R^2 = 0.98$
<b>Новокаин</b>	$y = 18.4x + 47;$ $R^2 = 0.98$	$S = 2.52 \cdot 10^3 x + 1.65 \cdot 10^4;$ $R^2 = 0.98$	$P = 19.2x + 700;$ $R^2 = 0.98$
<b>Новокаионамид</b>	$y = 21.9x + 8.0;$ $R^2 = 0.98$	$S = 6.37 \cdot 10^3 x + 1.63 \cdot 10^4;$ $R^2 = 0.98$	$P = 20.4x + 660;$ $R^2 = 0.98$
<b>Церукал</b>	$y = 8.6x + 120;$ $R^2 = 0.98$	$S = 1.92 \cdot 10^3 x + 5.26 \cdot 10^4;$ $R^2 = 0.98$	$P = 10.7x + 750;$ $R^2 = 0.98$

Предложенные цветометрические варианты, основанные на реализации методологии АТРС, позволяют цветометрически определять исследуемые аналиты с пониженным пределом обнаружения на уровне концентраций  $10^{-8}$  –  $10^{-6}$  М, с погрешностью не превышающей (10 – 15) %. Так, цветометрический способ апробирован для определения новокаина в водных растворах прокаина в диапазоне его концентраций от 82 до 270 нг/мл с пониженным пределом обнаружения – 48 нг/мл [150].

Сравнительный анализ некоторых метрологических характеристик (табл. 5.7) методик определения аналитов методами колориметрии и цветометрии показал, что за счёт мицеллярно-каталитического действия и эффекта

концентрирования лекарственных производных *n*АБК (коэффициенты концентрирования имели порядок  $\times 10^2$ ) смешанными фазами неионных и анионных ПАВ дополнительно понижает их ПрО по сравнению с системами без АТРС-концентрирования на порядок.

**Таблица 5.7** – Сравнительная характеристика ДОС и ПрО в водной и мицеллярной средах

Аналит	ДОС, М			ПрО, М		
	СФМ	СФМ (АТРС)	Цветометрия (ЦМ)	СФМ	СФМ (АТРС)	ЦМ
<b><i>n</i>АБК</b>	$2.0 \cdot 10^{-6} - 2.0 \cdot 10^{-4}$	$1.2 \cdot 10^{-7} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	$1.3 \cdot 10^{-8} - 2.0 \cdot 10^{-6}$	$9.1 \cdot 10^{-7}$	$1.1 \cdot 10^{-7}$	$0.60 \cdot 10^{-8}$
<b>Новокаин</b>	$2.4 \cdot 10^{-6} - 2.0 \cdot 10^{-4}$	$5.4 \cdot 10^{-7} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	$1.5 \cdot 10^{-8} - 2.0 \cdot 10^{-6}$	$1.1 \cdot 10^{-6}$	$5.2 \cdot 10^{-7}$	$0.70 \cdot 10^{-8}$
<b>Новокаин-амид</b>	$1.9 \cdot 10^{-6} - 2.0 \cdot 10^{-4}$	$5.3 \cdot 10^{-7} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	$0.9 \cdot 10^{-8} - 2.0 \cdot 10^{-6}$	$8.6 \cdot 10^{-7}$	$4.5 \cdot 10^{-7}$	$0.4 \cdot 10^{-8}$
<b>Церукал</b>	$1.0 \cdot 10^{-5} - 2.0 \cdot 10^{-3}$	$8.9 \cdot 10^{-7} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	$5.0 \cdot 10^{-7} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	$6.4 \cdot 10^{-6}$	$8.1 \cdot 10^{-7}$	$2.2 \cdot 10^{-7}$

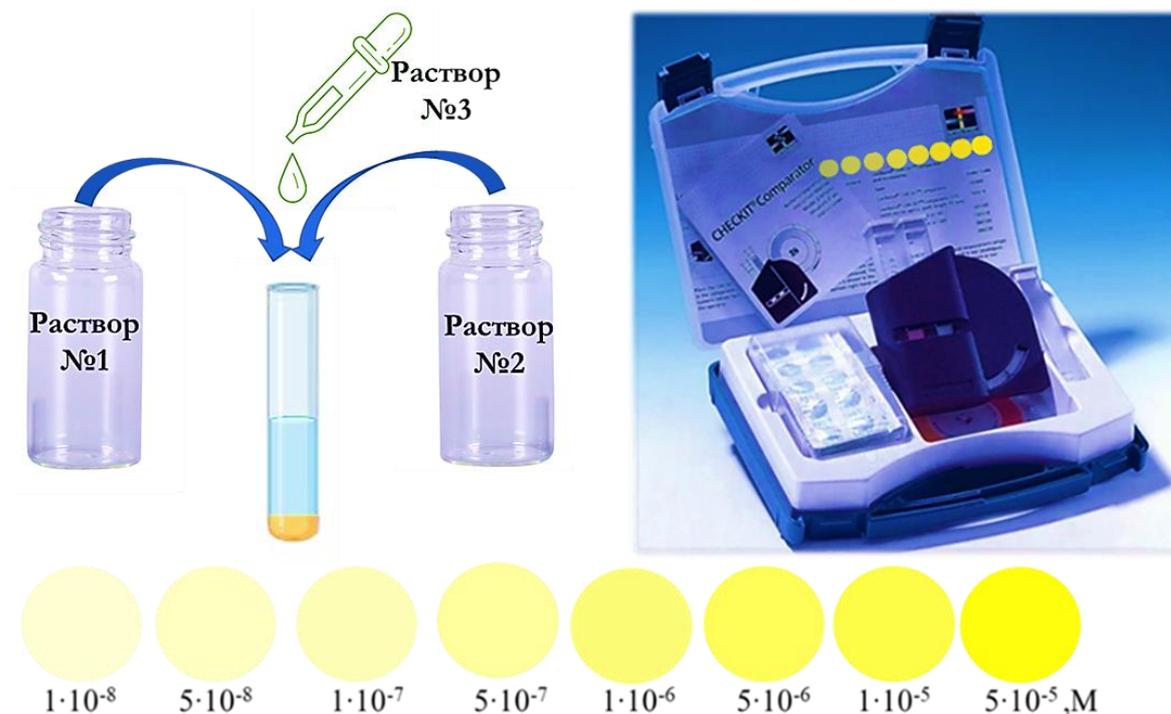
### 5.3. Визуально-колориметрическое определение исследуемых аналитов

Для визуально-колориметрического определения *n*АБК и её лекарственных производных предложены цветовые шкалы (табл. 5.8), которые могут быть применены для полуколичественной экспресс-оценки содержания исследуемых аналитов в водных средах.

**Таблица 5.8** – Цветовые шкалы для полуколичественного визуально-колориметрического определения лекарственных производных *n*АБК в водных средах

Аналит	<i>c</i> (аналита), М · 10 <sup>-5</sup>								
	0	0.001	0.005	0.01	0.05	0.1	0.5	1.0	5.0
<b><i>n</i>АБК</b>									
<b>Новокаин</b>									
<b>Новокаиnamид</b>									
<b>Церукал</b>									

Кроме того, для тест-определения аналитов предложены соответствующие компараторы, общая схема и вид которых приведены на рис. 5.3.



**Рисунок 5.3** – Схема колориметрического компаратора для тест-определения лекарственных производных *n*АБК.

В состав компараторов входят три ёмкости: в первой содержится раствор № 1 – раствор ДМАБА, диспергированный в мицеллах ДДС и Тритона X-114 (эффективный способ повышения растворимости гидрофобных аналитических форм [151]); во второй – раствор № 2, представляющий собой смесь NaCl и компонентов цитратной буферной системы; третья ёмкость – для отбора аликвоты анализируемого образца и проведения аналитической реакции дозированием растворов № 1 и № 2. Компараторы для определения новокаина и новокаинамида, *n*АБК и церукала отличаются концентрациями ДДС и рН соответственно.

#### **5.4. Примеры определения лекарственных производных *n*АБК в реальных объектах и модели плазмы крови. Оценка правильности результатов**

В клинической практике сложный эфир *n*АБК новокаин применяют в качестве местноанестезирующего вещества, механизм действия которого связан с влиянием на процесс генерации возбуждения и способность блокировать

проведение импульса по нервным волокнам. Производные амида *n*АБК – церукал и новокаинамид, несмотря на сходство в химической структуре, по фармакологическому действию различаются между собой: первый успокаивает рвоту и икоту, вызванную различными причинами, а второй применяют при разнообразных нарушениях сердечного ритма [129]. Независимо от терапевтического действия лекарственных производных *n*АБК важной аналитической задачей является контроль их содержания в плазме крови при выборе лечебной дозы соответствующего препарата. Поэтому нами предложены варианты определения исследованных аналитов в модели плазмы крови, состав которой представлен в разделе 2.2.4.

Методика цветометрического определения лекарственных производных  
*n*АБК в модели плазмы крови

Построение *градуировочной характеристики* (способ цветометрического определения *n*АБК и её лекарственных производных). Для этого аликвотные части 0.1; 0.2; 0.3; 0.4 и 0.5 мл рабочих растворов *n*АБК (новокаина, новокаинамида и церукала) помещали в пробирки, добавляли по 0.5 мл  $1 \cdot 10^{-2}$  М раствора ДМАБА, диспергированного в растворе ( $4 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-2}$ ) М ДДС. Далее вносили 0.15 – 0.25 мл 5%-ного раствора Тритона X-114, перемешивали и прибавляли 0.88 мл 20%-ного раствора NaCl. Содержимое пробирок доводили ЦБР с pH = 1.1 – 3.0 до общего объёма – 5 мл и тщательно перемешивали. Наблюдали помутнение системы. Для ускорения образования мицеллярных фаз смешанных ПАВ (при необходимости) полученные гомогенные растворы помещали в центрифугу (число оборотов 3000 – 40000 об/мин). Наблюдали образование в нижней части пробирок окрашенных мицеллярно-насыщенных фаз двухфазных систем. Затем регистрировали электронные фотографии таких фаз при помощи цифровой фотокамеры смартфона и обрабатывали цветные изображения как указано во второй главе.

Для цветометрического определения аналитов способом «введено – найдено» в имитируемую жидкость организма (SBF) вводили добавку стандартного раствора каждого из исследуемых аналитов. Далее к аликвотной

части SBF с добавкой конкретного аналита вводили последовательно все компоненты системы согласно алгоритму, указанному выше для построения градуировочной характеристики. Результаты цветометрического определения *n*АБК и её лекарственных производных в модели плазмы крови представлены в табл. 5.9. Погрешность цветометрического определения исследуемых аналитов, как правило, не превышала 10 – 15 %.

**Таблица 5.9** – Результаты цветометрического определения производных *n*АБК в модели плазмы крови ( $n = 3, P = 0.95$ )

Аналит	Введено, М	Найдено ( $S \pm \Delta S$ ), М	Sr
<i>n</i> АБК	$8.0 \cdot 10^{-7}$	$(7.8 \pm 0.8) \cdot 10^{-7}$	0.08
	$3.0 \cdot 10^{-6}$	$(2.9 \pm 0.6) \cdot 10^{-6}$	0.07
	$8.0 \cdot 10^{-6}$	$(8.1 \pm 0.4) \cdot 10^{-6}$	0.09
Новокаин	$5.0 \cdot 10^{-7}$	$(5.1 \pm 0.4) \cdot 10^{-7}$	0.07
	$3.0 \cdot 10^{-6}$	$(2.8 \pm 0.6) \cdot 10^{-6}$	0.08
	$2.0 \cdot 10^{-6}$	$(1.9 \pm 0.7) \cdot 10^{-6}$	0.08
Новокаинамид	$6.0 \cdot 10^{-7}$	$(5.9 \pm 0.5) \cdot 10^{-7}$	0.09
	$3.0 \cdot 10^{-7}$	$(3.2 \pm 0.7) \cdot 10^{-7}$	0.07
	$1.5 \cdot 10^{-6}$	$(1.3 \pm 0.4) \cdot 10^{-6}$	0.07
Церукал	$5.0 \cdot 10^{-7}$	$(4.9 \pm 0.4) \cdot 10^{-7}$	0.08
	$3.0 \cdot 10^{-6}$	$(2.9 \pm 0.3) \cdot 10^{-6}$	0.09
	$2.5 \cdot 10^{-6}$	$(2.4 \pm 0.5) \cdot 10^{-6}$	0.08

Методика спектрофотометрического и цветометрического определения новокаина в лекарственном препарате «Новокаин» (раствор для инъекции)

Для построения градуировочных зависимостей последовательность вводимых компонентов аналогична вышеуказанной методике с учётом различий в концентрационных интервалах определяемого аналита (новокаин) и уравнениях в координатах  $A - c$ , параметр цветности ( $I, S, P$ ) –  $pc$ . Далее в жидкие лекарственные формы вводили добавку стандартного раствора новокаина и повторяли последовательность операций.

Для спектрофотометрического способа определения новокаина полученные мицеллярно-насыщенные фазы отделяли от водных, разбавляли до 3 мл ЦБР в присутствии смеси ПАВ и фотометрировали в кюветах  $l = 1$  см при 469 нм относительно контрольного раствора (ДДС – Тритон X-114 – ЦБР). Результаты спектрофотометрического и цветометрического определения новокаина в реальном объекте и оценка их правильности по t-критерию представлены в таблице 5.10.

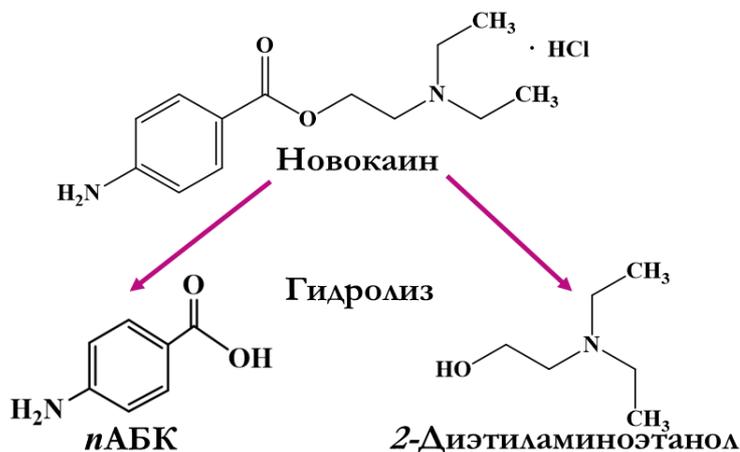
**Таблица 5.10** – Результаты спектрофотометрического и цветометрического определения новокаина в ампулах 0.50 % -ного раствора новокаина ( $t_{табл} = 2.78$ ,  $n = 5$ ,  $P = 0.95$ )

Аналит	Введено, мкг/мл	Найдено ( $X \pm \Delta X$ ), мкг/мл	Sr	$t_{эксп}$
Новокаин	<i>Спектрофотометрия с методологией ATPS</i>			
	40	$38 \pm 2$	0.065	1.81
	30	$28 \pm 2$	0.059	2.71
	20	$22 \pm 3$	0.081	2.51
	<i>Цетометрия</i>			
	Введено, мкг/мл	Найдено ( $S \pm \Delta S$ ), М	Sr	$t_{эксп}$
	0.20	$0.18 \pm 0.04$	0.14	1.77
	0.40	$0.45 \pm 0.05$	0.11	2.26
	0.60	$0.57 \pm 0.04$	0.098	1.20

Рассчитанные значения  $t_{эксп}$  свидетельствуют об отсутствии систематических погрешностей.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Перспективы настоящей работы связаны с повышением селективности определения смесей ариламинов, например, новокаин и продукт его гидролиза – *n*-аминобензойная кислота (схема):



Такой подход основан на применении ЛД не одной цветометрической, а двух реакций, построенных в координатах  $RGBR_1G_1B_1$ , который ранее успешно применён для идентификации и количественного определения близких по свойствам изомеров 1- и 2-нафтолов [152]. Так, реакциями исследуемых аналитов с двумя альдегидами ДМАБА и ДМАКА можно получить различные по контрастности цветовые шкалы, приведённые ниже на примере новокаина.

**Цветовые шкалы для полуколичественного визуально-колориметрического определения новокаина**

Аналит	$c(\text{аналита}), \text{M} \cdot 10^{-5}$							
	0	0.005	0.01	0.05	0.1	0.5	1.0	5.0
ДМАБА								
ДМАКА								

Таким образом, задача сравнения профилей ЛД, построенных в координатах  $RGBR_1G_1B_1$  сводится к расчету величины  $\varepsilon$  (коэффициент близости векторных массивов), позволяющего определять концентрации ариламинов в их смесях.

## ВЫВОДЫ

1. Предложен новый подход для понижения предела обнаружения (более чем на 2 порядка) *n*-аминобензойной кислоты и некоторых её лекарственных производных в реакциях конденсации с *n*-диметиламинобензальдегидом, основанный на сочетании катализа анионными (эффект «мицеллярного катализа») и концентрирования неионными (эффект «мицеллярной микроэкстракции») ПАВ.

2. Показана возможность предварительного концентрирования и последующего тест-определения нанограммовых количеств *n*-аминобензойной кислоты (новокаина, новокаинамида, церукала) мицеллярно-насыщенными фазами неионных и анионных ПАВ в варианте гомогенной жидкостной микроэкстракции аналитических форм – оснований Шиффа, образованных реакциями аналитов с *n*-диметиламинобензальдегидом при температуре 20-25 °С в присутствии неорганических и органических высаливателей.

3. Спектрофотометрически изучены реакции конденсации исследованных аминов с *n*-диметиламинобензальдегидом в водной среде и в присутствии организованных сред неионных (Тритон Х-114) и анионных (додецилсульфат натрия) ПАВ. Показано, что эффект «мицеллярного катализа» додецилсульфатом натрия частично подавляется мицеллами Тритона Х-114; при этом константы скорости реакций снижаются в ~1.5 раза. При этом эффект «мицеллярной микроэкстракции» Тритоном Х-114 компенсирует снижение скорости реакций и приводит к дополнительному понижению предела обнаружения аналитов.

4. В изотермическом режиме оптимизированы условия получения мицеллярно-насыщенных фаз Тритона Х-114 без и в присутствии ионов и мицелл додецилсульфата натрия, реактантов, высаливателей (NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>), компонентов буферных систем. Установлены закономерности: уменьшение объемов мицеллярных фаз ( $V_{\text{м.ф.}}$ ) при увеличении концентрации высаливателей, ионной силы раствора; увеличение  $V_{\text{м.ф.}}$  при концентрациях анионного ПАВ  $\geq 4$  ККМ. Показано, что значения  $V_{\text{м.ф.}}$  наименее чувствительны

к градиенту концентрации NaCl, который рекомендован в качестве оптимального высаливателя для получения прецизионных результатов, основанных на применении цветометрии.

5. Мицеллярно-насыщенные фазы Тритона X-114 и додецилсульфата натрия предложены в качестве тест-средств, позволяющих эффективно концентрировать аналитические формы оснований Шиффа исследуемых аналитов (степени извлечения,  $R = 82-97\%$ ) и определять их на уровне нанограммовых количеств в водных средах, модели плазмы крови, лекарственных формах при концентрациях порядка  $x \times 10^{-8}$  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, содействие в работе, обсуждение результатов, поддержку и вдохновение.*

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Чернова Р. К., Доронин С. Ю. Определение органических аналитов в растворах ПАВ: ионные и мицеллярные эффекты. Саратов: Изд-во Саратовского университета, 2017. 200 с.
2. Kori S. Cloud point extraction coupled with back extraction: a green methodology in analytical chemistry // *Forensic sciences research*. 2021. Vol. 6, № 1. P. 19-33. DOI:10.1080/20961790.2019.1643567.
3. Al\_Saadi M. R., Al-Garawi Z. S., Thani M. Z. Promising technique, cloud point extraction: Technology & applications // *Journal of Physics: Conference Series*. IOP Publishing. 2021. Vol. 1853, № 1. P. 012064. DOI:10.1088/1742-6596/1853/1/012064.
4. Холмберг К., Йёнссон Б., Кронберг Б., Линдман Б. Поверхностно-активные вещества и полимеры в водных растворах. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. 2007. 528с.
5. Березин И. В., Мартинек К., Яцимирский А. К. Физико-химические основы мицеллярного катализа // *Успехи химии*. 1973. Т. 42. № 10. С. 1729-1756.
6. Mortada W. I. Recent developments and applications of cloud point extraction: A critical review // *Microchemical Journal*. 2020. Vol. 157. P. 105055.
7. Gniazdowska E. et al. Determination of antidepressants in human plasma by modified cloud-point extraction coupled with mass spectrometry // *Pharmaceuticals*. 2020. Vol. 13, № 12. P. 458. DOI:10.3390/ph13120458.
8. El-Wakil M. M. et al. Enhanced dispersive solid phase extraction assisted by cloud point strategy prior to fluorometric determination of anti-hepatitis C drug velpatasvir in pharmaceutical tablets and body fluids // *RSC advances*. 2018. Vol. 8, № 24. P. 13292–13300. DOI: 10.1039/C7RA13719B.
9. Doroschuk V. O. et al. Cloud point extraction combined with liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the determination of verapamil in urine // *Journal of Analytical Chemistry*. 2019. Vol. 74. P. 701–706. DOI:10.1134/s1061934819070025.

10. Zhou J., Sun J. B., Wang Q. F. Determination of isoquercitrin in rat plasma by high performance liquid chromatography coupled with a novel synergistic cloud point extraction // *Journal of Chromatography B*. 2018. Vol. 1072. P. 136–141. DOI:10.1016/j.jchromb.2017.11.014.
11. Федорчук О. И., Куличенко С. А. Определение ненаркотических анальгетиков методом ВЭЖХ с предварительным концентрированием индуцированными фазами Тритон Х-100 // *Журнал аналитической химии*. 2018. Т. 73, № 9. С. 699–703. DOI:10.1134/S0044450218090025.
12. Makukha O. G. et al. Cloud point extraction combined with HPLC–MS for the determination of nimesulide in biological samples // *Chemical Papers*. 2019. Vol. 73. P. 693–699. DOI:10.1007/s11696-018-0618-0.
13. Kachangoon R. et al. Cloud-point extraction coupled to in-situ metathesis reaction of deep eutectic solvents for preconcentration and liquid chromatographic analysis of neonicotinoid insecticide residues in water, soil and urine samples // *Microchemical Journal*. 2020. Vol. 152. P. 104377. DOI:10.1016/j.microc.2019.104377.
14. Kori S. et al. Cloud point extraction coupled with microwave-assisted back-extraction (CPE-MABE) for determination of Eszopiclone (Z-drug) using UV–Visible, HPLC and mass spectroscopic (MS) techniques: Spiked and in vivo analysis // *Journal of Chromatography B*. 2018. Vol. 1074. P. 129–138. DOI:10.1016/j.jchromb.2018.01.005.
15. Khana S. A. et al. Development of new cloud point extraction procedure using mixed micelles of TX-114 and DOSS for the determination of azocarmine G // *Journal of the Indian Chemical Society*. 2018. Vol. 95. P. 1085–1088.
16. Luo X. et al. A rapid synergistic cloud point extraction for nine alkylphenols in water using high performance liquid chromatography and fluorescence detection // *Journal of Chromatography A*. 2020. Vol. 1611. P. 460606. DOI:10.1016/j.chroma.2019.460606.

17. Hamed M. M., Aglan R. F. Removal of Arsenazo-III from liquid radioactive waste by cloud point extraction // *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2019. Vol. 321, № 3. P. 917–926. DOI:10.1007/s10967-019-06669-5.
18. Khan S. A., Krishna D. R., Shyamala P. Determination of thermodynamic parameters for cloud point extraction of Arsenazo-III and Magdala Red dyes using mixed micelles: An essential requirement for high performance // *Journal of the Indian Chemical Society*. 2021. Vol. 98, № 10. P. 100142. DOI:10.1016/j.jics.2021.100142.
19. Dimmiti R. K., Shaik A. K., Pulipaka S. Determination of aurintricarboxylic acid (a viral inhibitor) using mixed micellar cloud point extraction procedures // *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2022. Vol. 14, № 4. P. 279–281. DOI:10.22159/ijap.2022v14i4.44206.
20. Shokrollahi A., Ebrahimi F. Simultaneous determination of brilliant green and basic fuchsin by Cloud point extraction–scanometry // *Journal of Analytical Chemistry*. 2019. Vol. 74. P. 1019–1026. DOI:10.1134/s1061934819100101.
21. Chen Y. et al. A green and efficient method for the preconcentration and determination of gallic acid, bergenin, quercitrin, and embelin from *Ardisia japonica* using nonionic surfactant genapol X-080 as the extraction solvent // *International Journal of Analytical Chemistry*. 2018. Vol. 2018. P. 1–10. DOI:10.1155/2018/1707853.
22. Luo X. et al. Cloud point extraction for simultaneous determination of 12 phenolic compounds by high performance liquid chromatography with fluorescence detection // *Microchemical Journal*. 2018. Vol. 137. P. 148–154. DOI:10.1016/j.microc.2017.09.026.
23. Guo N. et al. Application of integrative cloud point extraction and concentration for the analysis of polyphenols and alkaloids in mulberry leaves // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2019. Vol. 167. P. 132–139. DOI:10.1016/j.jpba.2019.02.002.
24. Ooi P. W. et al. Removal of phthalates in aqueous samples using non-ionic silicone surfactant mediated cloud point extraction via spectrophotometry //

- Malaysian Journal of Analytical Sciences. 2019. Vol. 23, № 5. P. 839–848. DOI:10.17576/mjas-2019-2305-09.
25. Giovanoudis I. et al. Development of a cloud point extraction technique based on lecithin for the recovery of carotenoids from liquid tomato wastewater // Waste. MDPI. 2022. Vol. 1, № 1. P. 105–114. DOI:10.3390/waste1010008.
  26. Fraihat S. M., Amayreh M., Al Jaar N. Cloud point extraction for spectrophotometric determination of acid blue 29 dye in water samples // Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry. 2022. Vol. 23, № 1. P. 141–147. DOI:10.21743/pjaec/2022.06.14.
  27. Kachangoon R. et al. Ultrasonically modified amended-cloud point extraction for simultaneous pre-concentration of neonicotinoid insecticide residues // Molecules. 2018. Vol. 23, № 5. P. 1165. DOI:10.3390/molecules23051165.
  28. Zhang Z., Liu R., Liu J. Simultaneously preconcentration of malachite green and construction of SERS substrate in water based on cloud point extraction // Microchemical Journal. 2021. Vol. 169. P. 106572. DOI:10.1016/j.microc.2021.106572.
  29. Suneetha D., Shyamala P., Khan S. A. Mixed micellar cloud point extraction and spectrophotometric determination of Meldola's Blue dye in tap and sea water samples // Asian Journal of Chemistry. 2019. Vol. 31. P. 1454–1456. DOI:10.14233/ajchem.2019.21883.
  30. Hazrina H. Z. et al. Formulation of chelating agent with surfactant in cloud point extraction of methylphenol in water // Royal Society open science. 2018. Vol. 5, №. 7. P. 180070. DOI:10.1098/rsos.180070.
  31. Feng Wang Q. et al. Simultaneous separation and determination of five monoterpene glycosides in *Paeonia suffruticosa* flower samples by ultra-high-performance liquid chromatography with a novel reinforced cloud point extraction based on ionic liquid // Microchemical Journal. 2021. Vol. 168. P. 106457. DOI:10.1016/j.microc.2021.106457.
  32. de Araújo Padilha C. E. et al. Recovery of polyphenols from camu-camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) depulping residue by cloud point extraction //

- Chinese journal of chemical engineering. 2018. Vol. 26, № 12. P. 2471–2476. DOI:10.1016/j.cjche.2017.10.032.
33. Osaghi B., Safa F. Cloud point extraction in presence of multi-walled carbon nanotubes for removal of direct green 26 from aqueous solutions: optimization by box-behnken design and desirability functions // Journal of Analytical Chemistry. 2020. Vol. 75. P. 802–811. DOI:10.1134/S1061934820060167.
  34. Qu L. et al. Simultaneous determination of six isoflavones from puerariae lobatae radix by cpe-hplc and effect of puerarin on tyrosinase activity // Molecules. 2020. Vol. 25, № 2. P. 344. DOI:10.3390/molecules25020344.
  35. Khan A. U. et al. Preconcentration of rifampicin prior to its efficient spectroscopic determination in the wastewater samples based on a nonionic surfactant // Turkish Journal of Chemistry. 2021. Vol. 45, № 4. P. 1201–1209. DOI:10.3906/kim-2102-28.
  36. Bişgin A. T. et al. Separation, preconcentration and spectrophotometric determination of rhodamine B in industrial, cosmetic and water samples by cloud point and solid phase extraction // Journal of Analytical Chemistry. 2018. Vol. 73. P. 452–458. DOI:10.1134/S1061934818050040.
  37. Ulusoy S. et al. Preconcentration and determination of safranin t in environmental water samples // Environmental Engineering and Management Journal. 2018. Vol. 17, № 1. P. 147–154.
  38. Ghaderi E., Amiri A. A. Extraction of spirotetramat insecticide by cloud point extraction method and its determination in environmental samples using high performance liquid chromatography // Journal of the Iranian Chemical Society. 2021. Vol. 18. P. 1373–1380. DOI:10.1007/s13738-020-02121-8.
  39. Zhou X. et al. Cloud point extraction coupled with ultrasound-assisted back-extraction for determination of trace legacy and emerging brominated flame retardants in water using isotopic dilution high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry // Talanta. 2021. Vol. 224. P. 121713. DOI:10.1016/j.talanta.2020.121713.

40. Matsuura Y., Sekikawa T., Sakata M. A simple method for separating phenanthrene from soil by cloud-point extraction // *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*. 2019. Vol. 28, № 3. P. 274–284. DOI:10.1080/15320383.2018.1562421.
41. Asman S., Abas N. A. Triton X-100/ $\beta$ -Cyclodextrin cloud point extraction for removal of phenol using different of sodium salts as inducing phase separation agent // *Asian Journal of Chemistry*. 2018. Vol. 30, № 6. P. 1299–1305. DOI:10.14233/ajchem.2018.21228.
42. Liu W. et al. 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. 164. P. 105963. DOI:10.1016/j.microc.2021.105963.
43. Hong J. et al. 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, № 11. P. 1719–1733. DOI:10.1080/00032719.2020.1717508.
44. Kiai H. et al. Recovery of phenolic compounds from table olive processing wastewaters using cloud point extraction method // *Journal of environmental chemical engineering*. 2018. Vol. 6, № 1. P. 1569–1575. DOI:10.1016/j.jece.2018.05.007.
45. Arunakumari K. et al. Adsorptive micellar flocculation and cloud point extraction as pre-concentration methods for the determination of phenosafranine dye in aqueous solutions // *Rasayan Journal of Chemistry*. 2022. Vol. 15, № 2. P. 1102–1107. DOI:10.31788/RJC.2022.1526873.
46. Ji Y. et al. Facile cloud point extraction for the separation and determination of phenolic acids from dandelion // *ACS omega*. 2021. Vol. 6, № 20. P. 13508–13515. DOI:10.1021/acsomega.1c01768.

47. Mai X. et al. Sequential extraction and enrichment of flavonoids from *Euonymus alatus* by ultrasonic-assisted polyethylene glycol-based extraction coupled to temperature-induced cloud point extraction // *Ultrasonics Sonochemistry*. 2020. Vol. 66. P. 105073. DOI:10.1016/j.ultsonch.2020.105073.
48. Wu L., Li Z., Hu M. dynamic microwave-assisted micelle extraction coupled with cloud point preconcentration for the determination of triazine herbicides in soil // *Journal of Chromatographic Science*. 2022. Vol. 60, № 5. P. 493–500. DOI:10.1093/chromsci/bmab096.
49. Mohd N. I. et al. Determination of carcinogenic herbicides in milk samples using green non-ionic silicone surfactant of cloud point extraction and spectrophotometry // *Royal Society open science*. 2018. Vol. 5, № 4. P. 171500. DOI:10.1098/rsos.171500.
50. Mohammadzadeh M. et al. A new approach for separation and recovery of betaine from beet molasses based on cloud point extraction technique // *Journal of food science and technology*. 2018. Vol. 55. P. 1215–1223. DOI:10.1007/s13197-017-2999-4.
51. Safdarian M., Hashemi P., Ghiasvand A. A fast and simple method for determination of  $\beta$ -carotene in commercial fruit juice by cloud point extraction-cold column trapping combined with UV–Vis spectrophotometry // *Food Chemistry*. 2021. Vol. 343. P. 128481. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.128481.
52. Güray T. Spectrophotometric determination of sunset yellow (E-110) in powdered beverages and pharmaceutical preparations after cloud point extraction method // *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*. 2018. Vol. 5, № 2. P. 479–492. DOI:10.18596/jotcsa.349382.
53. Khani R., Irani M. Mixed magnetic dispersive micro-solid phase–cloud point extraction of sunset yellow in food and pharmaceutical samples // *ChemistrySelect*. 2021. Vol. 6, № 3. P. 273–278. DOI:10.1002/slct.202004066.
54. Khani R., Sheykhi R., Bagherzade G. An environmentally friendly method based on micro-cloud point extraction for determination of trace amount of quercetin

- in food and fruit juice samples // *Food chemistry*. 2019. Vol. 293. P. 220–225. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.04.099.
55. Takla S., Shawky E. Optimization of micelle-mediated extraction and cloud point pre-concentration for the simultaneous determination of caffeine, theophylline and theobromine in green tea leaves by high performance thin layer chromatography // *Records of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 2023. Vol. 7, № 2. P. 167–179.
56. Bişgin A. T. Cloud point extraction and spectrophotometric determination of Allura red (E129) in foodstuffs // *Journal of the Institute of Science and Technology*. 2018. Vol. 8, № 4. P. 239–246. DOI:10.21597/jist.397479.
57. Amraei A. et al. Cloud point extraction and simultaneous spectrophotometric determination of allura red and carmoisine using wavelet orthogonal signal correction–partial least squares method // *Journal of Analytical Chemistry*. 2019. Vol. 74. P. 93–99. DOI:10.1134/S1061934819020023.
58. Yu J. et al. “Inverse” cloud point extraction coupled with large volume injection ion-pair chromatography: A green route integrating extraction, challenging sample cleanup and on-column concentration into fast simple operation // *Talanta*. 2018. Vol. 190. P. 38–46. DOI:10.1016/j.talanta.2018.07.074.
59. Sohaimi N. M. et al. An environmentally friendly method for extraction of parabens in various samples using low viscosity and low cloud point temperature surfactant // *Malaysian Journal of Analytical Sciences*. 2018. Vol. 22, № 3. P. 365–374. DOI:10.17576/mjas-2018-2203-01.
60. de Sousa P. A. R. et al. Cloud-point extraction associated with voltammetry: preconcentration and elimination of the sample matrix for trace determination of methyl parathion in honey // *Analytical Methods*. 2020. Vol. 12, № 48. P. 5801–5814. DOI:10.1039/D0AY02057E.
61. Motikar P. D., More P. R., Arya S. S. A novel, green environment-friendly cloud point extraction of polyphenols from pomegranate peels: A comparative assessment with ultrasound and microwave-assisted extraction // *Separation*

- Science and Technology. 2021. Vol. 56, № 6. P. 1014–1025. DOI:10.1080/01496395.2020.1746969.
62. Thani M. Z., Al-Ameri S. A. H., Sultan M. S. Spectrophotometric determination of ponceau 4r in the several beverages using mixed micelles after cloud point extraction // *Al-Nahrain Journal of Science*. 2018. Vol. 21, № 1. P. 8–13. DOI:10.22401/JUNS.21.1.02.
63. Mohd Nasir N. et al. Optimization and determination of Tartrazine by Green Tween-20 cloud point extraction for food samples // *Journal of Academia*. 2019. Vol. 7, № 1. P. 1–10.
64. Güray T. A novel method for simultaneous analysis of tartrazine and indigo carmine by cloud point extraction using spectrophotometric technique // *International Journal of Chemical Studies*. 2019. Vol. 7, № 6. P. 17–23.
65. Saridal K., Ulusoy H. İ. A simple methodology based on cloud point extraction prior to HPLC-PDA analysis for tetracycline residues in food samples // *Microchemical Journal*. 2019. Vol. 150. P. 104170. DOI:10.1016/j.microc.2019.104170.
66. Caixeta-Neta A. et al. Electrochemical determination of thiabendazole pesticide extracted and preconcentrated from tomato samples by cloud point extraction // *Analytical Methods*. 2020. Vol. 12, № 48. P. 5823–5832. DOI:10.1039/D0AY01918F.
67. Campillo N. et al. Microwave assisted cloud point extraction for the determination of Vitamin K homologues in vegetables by liquid chromatography with tandem mass spectrometry // *Journal of agricultural and food chemistry*. 2019. Vol. 67, № 23. P. 6658–6664. DOI:10.1021/acs.jafc.9b01617.
68. Güray T., Menevşe B., Yavuz A. A. Determination of optimization parameters based on the Box-Behnken design for cloud point extraction of quinoline yellow using Brij 58 and application of this method to real samples // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2020. Vol. 243. P. 118800. DOI:10.1016/j.saa.2020.118800.

69. Xu X. et al. Synergic cloud-point extraction using [C<sub>4</sub>mim][PF<sub>6</sub>] and Triton X-114 as extractant combined with HPLC for the determination of rutin and narcissoside in *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. and its compound oral liquid // *Journal of Chromatography B*. 2021. Vol. 1168. P. 122589. DOI:10.1016/j.jchromb.2021.122589.
70. Üstün Özgür M., Delmidan M. Development and validation of an effective spectrophotometric method for simultaneous determination of synthetic colorants after cloud point extraction and comparison with new green HPLC method // *Journal of AOAC International*. 2019. Vol. 102, № 4. P. 1241–1252. DOI:10.5740/jaoacint.18-0229.
71. Wen J. et al. A novel cloud point extraction based on fatty acid deep eutectic solvent combined with high-performance liquid chromatography for determination of ultraviolet absorbent in food packaging bags // *Microchemical Journal*. 2020. Vol. 153. P. 104466. DOI:10.1016/j.microc.2019.104466.
72. Semmoud R., Ma D. Cloud point extraction of toxic red Bemacid dye by ionic liquids and nonionic surfactant system and factorial design // *Academic Journal of Engineering Studies*. 2020. Vol. 1, № 4. P. 1–8.
73. Ramachandran S. K. et al. Experimental design and optimization of decolourization of reactive black-5 dye using cloud point extraction // *Journal of Chemistry*. 2022. Vol. 2022. P. 11. DOI:10.1155/2022/2376597.
74. Архипов В. П., Архипов Р. В., Идиятуллин З. Ш. Эффективность и кинетика экстракции фенола из водных растворов с помощью неионогенных ПАВ // *Журнал физической химии*. 2018. Т. 92, № 8. С. 1241–1245. DOI:10.7868/S0044453718080071.
75. Michałowska A., Kupczyk O., Czyrski A. The chemometric evaluation of the factors influencing cloud point extraction for fluoroquinolones // *Pharmaceutics*. 2023. Vol. 15, № 6. P. 1774. DOI:10.3390/pharmaceutics15061774.
76. Соколова Т. А., Косырева И. В., Доронин С. Ю. Колориметрическое экспресс-определение биологически активных органических аналитов //

- Журнал аналитической химии. 2023. Т. 78. № 9. С. 813-820.  
DOI:10.31857/S004445022309013X.
77. Adil E. Interference-free determination of carmine in food samples using ultrasonic assisted cloud point extraction coupled with spectrophotometry // Cumhuriyet Science Journal. 2019. Vol. 40 № 2. P. 305–316.
78. Gürkan R., Kartal Temel N. Manganese sensitised-indirect determination of melamine in milk-based samples by flame atomic absorption spectrometry coupled with ultrasound assisted-cloud point extraction // International Journal of Environmental Analytical Chemistry. 2020. Vol. 100, № 2. P. 152–174. DOI:10.1080/03067319.2019.1632302.
79. Didpinrum P. et al. A cost-effective spectrophotometric method based on enzymatic analysis of jackfruit latex peroxidase for the determination of carbaryl and its metabolite 1-naphthol residues in organic and chemical-free vegetables // Food Analytical Methods. 2020. Vol. 13. P. 433–444. DOI:10.1007/s12161-019-01667-5.
80. Meral S., Elik A. Ultrasonic-assisted cloud point microextraction and spectrophotometric determination of Ponceau 4R in various beverage samples using non-ionic surfactant PONPE 7.5 // Food Additives & Contaminants: Part A. 2021. Vol. 38, № 4. P. 573–585. DOI:10.1080/19440049.2021.1873427.
81. Dağdeviren S. et al. A new method of UA\_CPE coupled with spectrophotometry for the faster and cost-effective detection of proline in fruit juice, honey, and wine // Food chemistry. 2018. Vol. 255. P. 31–40. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.02.046.
82. Vianna V. L. F. et al. Preconcentration of sulphonamides in bovine milk by the cloud point extraction method using smartphone-based digital images // Analytical Methods. 2022. Vol. 14, № 11. P. 1117–1123. DOI:10.1039/d1ay02127c.
83. 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, № 5. P. 103306. DOI:10.1016/j.jece.2019.103306.
84. Al-Tameemi M. et al. Eco-friendly method for determination of allopurinol drug in pure form and pharmaceuticals after cloud point extraction // Egyptian Journal of Chemistry. 2021. Vol. 64, № 10. P. 5503–5510. DOI:10.21608/EJCHEM.2021.78208.3821.
85. Hassan S. S. et al. A new visible spectrophotometric approach for mutual determination of allopurinol drug in pharmaceuticals after cloud point extraction // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021. Vol. 722, № 1. P. 012033. DOI:10.1088/1755-1315/722/1/012033.
86. Mahdi M. I., Kadhim K. H. Novel approach and cloud point extraction method for determination of acetazolamide drug // Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology. 2020. Vol. 14, № 2. P. 586–592.
87. Al-ward H. S. A., Al-Abachi M. Q., Ahmed M. R. Spectrophotometric analysis of vancomycin hydrochloride in pure and pharmaceutical injections via batch and cloud point extraction techniques // Baghdad Science Journal. 2023. Vol. 20, № 2. P. 409–419. DOI:10.21123/bsj.2022.6686.
88. Altahir B. M. et al. Mutual Derivatization in the determination of dapsone and thymol using cloud point extraction followed by spectrophotometric detection // Analytical and Bioanalytical Chemistry Research. 2021. Vol. 8, № 2. P. 177–186.
89. Sarma V. M., Venugopal N. V. S., Giribabu L. Determination of lisinopril in bulk and pharmaceutical formulations by cloud point extraction—a green method // American Journal of Analytical Chemistry. 2020. Vol. 11, № 8. P. 289–300. DOI:10.4236/ajac.2020.118023.
90. Abood N. K., Hassan M. J. M., Al-Da'amy M. A. Spectrophotometric determination methyldopa and salbutamol by oxidative coupling, cloud point and flow injection in pharmaceutical formulations // International Journal of Drug Delivery Technology. 2019. Vol. 9, № 2. P. 182–192. DOI:10.25258/ijddt.9.2.11.

91. Abdulkareem H. M. et al. Surfactant cloud point extraction as a procedure of preconcentrating for metoclopramide determination using spectro analytical technique // *Baghdad Science Journal*. 2020. Vol. 17, № 1. P. 57–65. DOI:10.21123/bsj.2020.17.1.0057.
92. Mubder N. S. et al. Micro Spectrophotometric determination and cloud point extraction of metoclopramide with 4-nitro phenol in pure form and pharmaceutical drugs // *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*. 2021. Vol. 25, № 4. P. 12088–12103.
93. Al-Uzri W. A., Hadi H. Cloud point extraction method for the sensitive determination of metoclopramide hydrochloride in pharmaceutical dosage forms // *International journal of research in pharmaceutical sciences*. 2020. Vol. 11, № 3. P. 3972–3980. DOI:10.26452/ijrps.v11i3.2589.
94. Garoub M. M. et al. Utilization of cloud point extraction for enhancement the efficiency of spectrophotometric estimation of milnacipran HCl as anti-depression drug in dosage forms and application to its tablets uniformity testing // *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*. 2023. Vol. 9, № 1. P. 29–39. DOI:10.1007/s43994-022-00012-7.
95. Mahdi M. I., Kadhim K. H. A batch and cloud point extraction kinetic spectrophotometric method for determining trace and ultra trace amounts of Benzodiazepine drugs (Clonazepam and Nitrazepam) in pure and pharmaceutical preparations // *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2020. Vol. 33, № 1. P. 21–31. DOI:10.2478/cipms-2020-0006.
96. Wahdan K. et al. Cloud Point Pre-concentration with Spectrophotometric detection for determination of oxymetazoline in pharmaceutical formulations // *Chemical Sciences Journal*. 2021. Vol. 12, № 3. P. 1–5.
97. Hamran B. N., Khudhair A. F., Marhoon A. A. Cloud point extraction of paracetamol in pharmaceutical formation coupling with spectrophotometric method // *AIP Conference Proceedings*. 2020. Vol. 2213, № 1. P. 020320. DOI:10.1063/5.0000107.

98. AL-Douri S. S., AL-Samarray S. Y. Spectrophotometric determination of prednisolone drug using cloud point extraction and pharmaceutical application // *Journal of Pharmaceutical Negative Results*. 2022. Vol. 13, № 1. P. 189–197. DOI:10.47750/pnr.2022.13.S01.23.
99. Shaheed I. M. et al. Extração de ponto de névoa eco-amigável acoplada com um método espectrofotométrico para a determinação do hidrocloreto ranitidina em amostras farmacêuticas // *Periódico Tchê Química*. 2020. Vol. 17, № 35. P. 628–639.
100. Ghali A. A. Spectrophotometric method for determination of ranitidine hydrochloride in pharmaceutical formulations using cobalt thiocyanate as chromogenic reagent after cloud point extraction // *International Journal of Pharmaceutical Research*. 2020. Vol. 12, № 1. P. 221–228.
101. Thani M. Z. et al. Evaluation of salbutamol in pure form and pharmaceutical formulations using spectrophotometry and green nonionic surfactant of cloud point extraction // *Journal of Physics: Conference Series*. 2021. Vol. 1853, № 1. P. 012022. DOI:10.1088/1742-6596/1853/1/012022.
102. Shihab A. I., Al-Sabha N. T. Application of cloud point method for spectrophotometric determination of Salbutamol sulphate and Methyldopa // *Pakistan Journal of Analytical and Environmental Chemistry*. 2020. Vol. 21, № 1. P. 10–18. DOI:10.21743/pjaec/2020.06.02.
103. Dhahir S. A., Kadhim E. A., AL-Gani R. H. A. Micro spectrophotometric determination and cloud point extraction of sulphadimidine sodium in pure form and pharmaceutical drug // *Baghdad Science Journal*. 2019. Vol. 16, № 2. P. 332–344. DOI:10.21123/bsj.2019.16.2.0332.
104. Kadhim E. A., Dhahir S. A., Sando M. S. New diaz coupling reaction, cloud point extraction spectrophotometric determination of sulphadimidine sodium in pure form and pharmaceutical preparation with salicylic acid as the coupling reaction // *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*. 2020. Vol. 14, № 2. P. 868–874.
105. Abood N. K., Hassana M. J. M. Spectrophotometric determination of sulfadoxine drug use cloud point and flow injection methods in pharmaceutical

- formulations // Egyptian Journal of Chemistry. 2021. Vol. 64, № 6. P. 2913–2924.  
DOI:10.21608/EJCHEM.2021.55297.3164
106. jassam Alaallah N., Dhahir S. A., Ali H. H. Determination of sulfacetamide sodium in pure and their pharmaceutical formulations by using cloud point extraction method // Baghdad Science Journal. 2021. Vol. 18, № 3. P. 575–582.  
DOI:10.21123/bsj.2021.18.3.0575.
107. Hassan M. J. M., Mizher O. Q. New spectrophotometric estimation and cloud point extraction of cefdinir // Baghdad Science Journal. 2018. Vol. 15, № 4. P. 425–435. DOI:10.21123/bsj.2018.15.4.0425.
108. Abood N. K., Hassan M. J. M., Muneer A. A. D. New spectrophotometric determination cefdinir coupling with bisphenol A via various analytical methods // Journal of Global Pharma Technology. 2019. Vol. 11, № 7. P. 528–540.
109. Hassan M. J. M., Mizher O. Q. Cloud point extraction for the spectrophotometric determination of cefdinir // Al-Mustansiriyah Journal of Science. 2019. Vol. 30, № 1. P. 80–84. DOI:10.23851/mjs.v30i1.532.
110. kais Abood N., Hassan M. J. M., Muneer A. Determination of cefixime using batch, cloud point extraction and flow injection as new spectrophotometric methods // Al-Mustansiriyah Journal of Science. 2019. Vol. 30, № 3. P. 28–37. DOI:10.23851/mjs.v30i3.648.
111. Hashim H. J., Abood N. K., Nief O. A. Spectroscopic estimation of cefepime by using batch, cloud point extraction and flow injection analysis methods // Egyptian Journal of Chemistry. 2021. Vol. 64, № 12. P. 6891–6900. DOI:10.21608/EJCHEM.2021.62847.3440.
112. Dhahir S. A., Noor J. Spectrophotometric determination and cloud point extraction of cefixime drugs in pure form and pharmaceutical preparation // Chemical Science Transactions. 2019. Vol. 8, № 2. P. 273–288. DOI:10.7598/cst2019.1600.
113. Kadhim E. et al. Spectrophotometer determination of cefixime in pure form and pharmaceutical preparation by using cloud point extraction // Baghdad Science

- Journal. 2020. Vol. 17, № 2 (SI). P. 614–623.  
DOI:10.21123/bsj.2020.17.2(SI).0614.
114. Dhahir S. A., Mohammed N. J. Cloud point extraction of Cefixime drug by direct (UV-Vis) spectrophotometer and indirect (Flame Atomic Absorption) technique // Journal of Physics: Conference Series. IOP Publishing. 2019. Vol. 1234, № 1. P. 012093. DOI:10.1088/1742-6596/1234/1/012093.
115. Abood N. K. New spectroscopic estimation of cefotaxime in pure and pharmaceutical formulation using environmental-friendly method // Journal of Physics: Conference Series. IOP Publishing. 2021. Vol. 1853, № 1. P. 012023. DOI:10.1088/1742-6596/1853/1/012023.
116. Fahad A. S. et al. Development of an ecological-friendly method for ciprofloxacin determination and cloud point extraction in pharmaceuticals using Fe (II) ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) // IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. 2020. Vol. 871, № 1. P. 012028. DOI:10.1088/1757-899X/871/1/012028.
117. Alhfidh H. A., Othman N. S. Application of the cloud point extraction method in spectrophotometric estimation of esomeprazole using diazotised *p*-nitroaniline and Triton X-114 // Egyptian Journal of Chemistry. 2021. Vol. 64, № 11. P. 6243–6249. DOI:10.21608/ejchem.2021.76251.3728.
118. Ahmed G. S., Mahmood M. B., Altahir B. M. Determination of aniline in wastewater by cloud point extraction followed by HPLC using 8-hydroxyquinoline as a derivatization agent // Pollution Research. 2021. Vol. 40, № 4. P. 1255–1263.
119. Giovanoudis I. et al. Implementation of cloud point extraction using surfactants in the recovery of polyphenols from apricot cannery waste // Eng. 2023. Vol. 4, № 2. P. 1225-1235. DOI:10.3390/eng4020072.
120. Athanasiadis V. et al. Development of enriched oil with polyphenols extracted from olive mill wastewater // Foods. 2023. Vol. 12, № 3. P. 497. DOI:10.3390/foods12030497.

121. Shokrollahi A., Refahi M. Development of cloud point extraction-scanometry, for the preconcentration and determination of colorless species: Application for the determination of phenylalanine // *Química Nova*. 2019. Vol. 42. P. 36–41. DOI:10.21577/0100-4042.20170303.
122. Temel N. K., Gürkan R. Combination of ultrasound-assisted cloud-point extraction with spectrophotometry for extraction, preconcentration, and determination of low levels of free formaldehyde from cosmetic products // *Journal of AOAC International*. 2018. Vol. 101, № 6. P. 1763–1772. DOI:10.5740/jaoacint.17-0224.
123. 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. DOI: 10.31857/S0044450220060079.
124. Доронин С. Ю. Теоретические и прикладные аспекты применения в анализе мицеллярно-каталитических реакций первичных ароматических аминов с *n*-диметиламинокоричным альдегидом: дис. канд. хим. наук: 02.00.02. Саратов, 1998. 168 с.
125. Лурье Ю. Ю. Справочник по аналитической химии: справ. Изд. 6-е изд., перераб. и доп. Москва: Химия, 1989. 448 с.
126. Ohtsuki C., Kamitakahara M., Miyazaki T. Coating bone-like apatite onto organic substrates using solutions mimicking body fluid // *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2007. Vol. 1, № 1. P. 33-38.
127. Булатов М. И., Калинин И. П. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа. Москва: Химия, 1986. 432 с.
128. Амиров Р. Р., Сапрыкова З. А. Исследование состояния ряда протонированных аминов в растворах додецилсульфата натрия // *Коллоидный журнал*. 1996. Т. 58, № 2. С. 272-276.
129. Беликов В. Г. Фармацевтическая химия. В 2 ч.: Учебн. пособие. 4 изд., перераб. и доп. Москва: МЕДпресс-информ, 2007. 624 с.

130. El-Obeid H. A., Al-Badr A. A. Aminobenzoic acid // Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients. Academic Press. 1993. Vol. 22. P. 33-106.
131. Al-Badr A. A., Tayel M. M. Procaine hydrochloride // Analytical profiles of drug substances and excipients. Academic Press. 1999. Vol. 26. P. 395-458.
132. Mian M. S., El-Obeid H. A., Al-Badr A. A. Procainamide Hydrochloride // Analytical profile of drugs substances and excipient. 2001. Vol. 28. P. 251-332.
133. Pitre D., Stradi R. Metoclopramide hydrochloride // Analytical profiles of drug substances. Academic Press. 1987. Vol. 16. P. 327-360.
134. Collins K. D. Charge density-dependent strength of hydration and biological structure // Biophysical journal. 1997. Vol. 72, № 1. P. 65-76.
135. Vlachy N. et al. Hofmeister series and specific interactions of charged headgroups with aqueous ions // Advances in colloid and interface science. 2009. Vol. 146, № 1-2. P. 42-47.
136. Лазарев А. И. и др. Справочник химика-аналитика // Москва: металлургия. 1976. 184 с
137. Marcus Y. Thermodynamics of solvation of ions. Part 5. Gibbs free energy of hydration at 298.15 K // Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions. 1991. Vol. 87, № 18. P. 2995-2999.
138. Jimenez O. A. Q. et al. Effect of sulfate, citrate, and tartrate anions on the liquid-liquid equilibrium behavior of water+ surfactant // Processes. 2022. Vol. 10, № 10. P. 2023.
139. Edbey K. et al. Conductometric and spectrophotometric study of the interaction of methyl violet with sodium dodecyl sulfate // International Research Journal of Pure and Applied Chemistry. 2015. Vol. 9, № 4. P. 1-7.
140. Mabrouk M. M., Hamed N. A., Mansour F. R. Spectroscopic methods for determination of critical micelle concentrations of surfactants; a comprehensive review // Applied Spectroscopy Reviews. 2023. Vol. 58, № 3. P. 206-234.
141. Основы аналитической химии. В 2 т. Т. 1: учеб. для студ. учреждений высш. проф. образования / под ред. Ю. А.Золотова. Москва: Издательский центр «Академия», 2012. 384 с.

142. Патент № 2715997 С1 Российская Федерация, МПК 51 G01N 33/15 (2020.01), 31/02, 5/067. Способ количественного определения новокаина: № 2019135824/04(070688). заявл. 08.11.2019: опубл. 05.03.2020 / Доронин С. Ю., Соколова Т. А. БИ. 2020. № 7. 8 с.
143. Соколова Т. А., Доронин С. Ю. Фотометрическое определение новокаина с предварительным концентрированием мицеллами ПАВ // Журнал аналитической химии. 2022. Т. 77. № 8. С. 714-720. DOI: 10.31857/S0044450222080151.
144. Соколова Т.А., Доронин С.Ю. «Cloud point» разделение и концентрирование для определения органических аналитов // Бутлеровские сообщения. 2024. Т. 77. № 2. С. 35-49. DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/24-77-2-35.
145. Соколова Т.А., Доронин С.Ю. Дериватизация как способ повышения эффективности СР-концентрирования органических аналитов // Бутлеровские сообщения. 2024. Т. 78. №. 4. С. 1-14. DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/24-78-4-1.
146. Шульц Э.В., Моногарова О.В., Осколок К.В. Цифровая цветометрия: аналитические возможности и перспективы использования // Вестник Московского университета. Сер. 2. Химия. 2019. Т. 60. № 2. С. 79-87.
147. Черноусова О. В., Рудаков О. Б. Цифровые изображения в аналитической химии для количественного и качественного анализа // Химия, физика и механика материалов. 2019. № 2. С. 55-125.
148. Чернова Р. К., Косырева И. В., Селифонова Е. И. Применение сканера и компьютерных программ цифровой обработки аналитического сигнала в тест-методах химического анализа // Компьютерные науки и информационные технологии. 2016. С. 461-464.
149. Шаока З. А. Ч., Большаков Д. С., Амелин В. Г. Использование смартфона в химическом анализе // Журнал аналитической химии. 2023. Т. 78. № 4. С. 317-353.
150. Соколова Т. А., Доронин С. Ю. Цветометрическое определение новокаина // Межвузовский сборник научных трудов XV Всероссийской конференции

молодых ученых с международным участием «Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии». Саратов: Из-во «Саратовский источник». 2021. С.159-162.

151. Соколова Т.А., Разуваева Л.М., Доронин С.Ю. Мицеллы ПАВ как растворители гидрофобных аналитических форм // Бутлеровские сообщения. 2024. Т. 77. № 2. С. 50-56. DOI: 10.37952/ROI-jbc-01/24-77-2-50.
152. Цыгулёва Э. И., Доронин С. Ю., Рудаков О. Б. Определение  $\alpha$ - и  $\beta$ -нафтолов в их смесях с предварительным мицеллярно-экстракционным концентрированием // Сорбционные и хроматографические процессы. 2022. Т.22, № 1. С.79-88. DOI: <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/9034>.