

УДК 543/545

Гибридный сорбционно-каталитический метод химического анализа

И. Ф. Долманова, Т. Н. Шеховцова

ИНГА ФЕДОРОВНА ДОЛМАНОВА — кандидат химических наук, доцент кафедры аналитической химии Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Область научных интересов: аналитическая химия, каталитические методы анализа.

ТАТЬЯНА НИКОЛАЕВНА ШЕХОВЦОВА — доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Область научных интересов: аналитическая химия, ферментативные методы анализа.

119899 Москва, Ленинские горы, МГУ им. М.В. Ломоносова, тел. (095)939-33-46, факс (095)939-46-75, E-mail shekhov@analyt.chem.msu.ru

Одним из самых высокочувствительных методов химического анализа является каталитический вариант кинетических методов, в которых аналитическим сигналом служит скорость индикаторной реакции, а определяемый компонент выступает в роли катализатора или соединения, влияющего на его активность — активатора либо ингибитора. Кинетические методы анализа отличаются высокой чувствительностью, экспрессностью, простотой методического и аппаратного оформления, однако, как правило, они недостаточно селективны.

Для повышения селективности каталитического метода наряду с другими известными приемами часто используют сорбционное концентрирование определяемых компонентов. Представлялось целесообразным изучить возможности сочетания селективного сорбционного выделения и концентрирования определяемого соединения с детектированием его каталитическим методом непосредственно на сорбенте, т.е. реализовать гибридный сорбционно-каталитический метод.

В практике развития каталитического метода есть примеры комбинации его с сорбционными методами выделения и концентрирования, когда анализ выполняется по схеме: сорбция компонента, его последующая десорбция и затем каталитическое определение в растворе. Гибридный вариант, т.е. сочетание сорбции компонента с его каталитическим определением непосредственно на сорбенте, к началу наших исследований не был известен. Между тем идея перехода от комбинированного к гибриднему методу весьма привлекательна: это позволяет не только сочетать достоинства разных методов, но и упростить анализ за

счет исключения одной стадии — десорбции компонента, а также открывает возможности разработки тест-методик — простых и экспрессных приемов обнаружения и определения веществ преимущественно во внелабораторных условиях и с визуальным детектированием аналитического сигнала.

Отдельные сообщения о проведении каталитических реакций на носителях можно найти в ранее опубликованных работах по кинетическим методам анализа [1—3]. Во всех этих работах внимание уделяется только проведению каталитических реакций на носителях, стадии же выделения и концентрирования на сорбентах не рассматриваются. Но, как показывают физико-химические исследования каталитических (в том числе окислительно-восстановительных) реакций, при перенесении каталитической индикаторной реакции из раствора на носитель часто меняются ее промежуточные и конечные продукты, а также кинетика [4—6].

Мы предположили, что проведение индикаторных реакций на поверхности носителей может привести к изменению не только скорости, а в некоторых случаях и механизма протекающих процессов, но и метрологических характеристик аналитических методик. В частности, возможно повышение чувствительности и селективности химического анализа.

В последние годы на кафедре аналитической химии МГУ проводятся систематические исследования каталитических индикаторных реакций на твердых носителях различного типа, закладываются теоретические основы гибридного сорбционно-каталитического метода, разрабатываются и

внедряются в практику анализа тест-методики определения неорганических ионов и органических соединений.

Выбор индикаторных систем

Для создания теоретических основ сорбционно-каталитического метода требуется выяснение ряда вопросов, в частности, как влияет матрица носителя на механизм и кинетику протекаемой на нем реакции, как изменяются метрологические характеристики индикаторной реакции при перенесении ее из раствора на поверхность сорбента, каков возможный круг соединений, определяемых сорбционно-каталитическим методом, а также каковы целесообразные области применения этого метода.

Для исследования всех этих вопросов необходимы модельные системы — индикаторные реакции и носители для проведения реакций, выбор которых определяется как общими требованиями к каталитическим методикам, так и спецификой условий осуществления сорбционного варианта метода.

Индикаторные реакции. При разработке сорбционно-каталитического метода в качестве модельных индикаторных реакций нами использовались те реакции, катализаторами которых являются ионы металлов в различных степенях окисления, органические соединения и ферменты различных классов. При выборе индикаторных реакций учитывалось наличие данных об использовании их в каталитическом методе при проведении реакции в растворе, о промежуточных и конечных продуктах реакций, кинетике процессов и схеме каталитического действия определяемого компонента. Обращалось внимание на то, чтобы промежуточные или конечные продукты реакций были окрашенными, что давало возможность использовать спектрофотометрический метод контроля скорости реакции и разрабатывать тест-методики и тест-устройства с визуальным детектированием. И, наконец, важным фактором являлась потребность в высокочувствительных, селективных и простых сорбционно-каталитических методиках определения веществ. В табл. 1 представлены индикаторные реакции, которые были изучены на носителях различного типа.

Таблица 1

Индикаторные реакции, использованные в сорбционно-каталитическом методе анализа

Реакционная система		Примечание
реагенты	катализатор (ингибитор)	
3,3',5,5'-Тетраметилбензидин — IO_4^- Гидрохинон — IO_4^-	Mn(II)	Активатор — 2,2'-дипиридил
3,3',5,5'-Тетраметилбензидин — IO_4^- Гидрохинон — IO_4^-	Cd(II)	
Гидрохинон — H_2O_2 Гидрохинон — H_2O_2 Дифенилкарбазид — O_2	Cu(II)	Активатор — 2,2'-дипиридил Модификатор — динитрил малоновой кислоты
o-Дианизидин — H_2O_2 o-Дианизидин — $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$	Cr(II), Cr(VI) Cr(VI)	
o-Дианизидин — H_2O_2	Метафос, фозалон, метилбензоат, бензойная кислота, акриламид	Собственное ускоряющее действие
o-Дианизидин — IO_4^-	Метиламин, бутиламин, D-сахароза	
o-Дианизидин — H_2O_2		Фермент выделен из корней хрена и клеток арахиса
3,3',5,5'-Тетраметилбензидин — H_2O_2 o-Фенилендиамин — H_2O_2	Пероксидаза	
л-Нитрофенилфосфат (гидролиз)	Щелочная фосфатаза	Фермент выделен из кишечника цыпленка

Носители. В качестве носителей в модельных системах были опробованы сорбенты различной природы:

- 1) неорганические материалы — оксиды металлов NiO, PbO, ZnO, Al₂O₃, силикагели;
- 2) природные органические пористые материалы: фильтровальная и хроматографическая бумага, микрокристаллическая целлюлоза;
- 3) синтетические органические полимеры — пенополиуретаны, полистирольные планшеты, ионообменники.

Среди изученных носителей помимо выпускаемых промышленностью материалов были носители, модифицированные в лабораторных условиях: бумажные носители (фильтры) с привитыми комплексообразующими группами (гексаметилендиамин, диэтилентриаминтетраацетат, диэтилентриамин), бумаги и кремнеземы, нековалентно модифицированные комплексообразующими реагентами (бромбензтиазо). Нанесенные силикагели различались природой подложки (полимерная, алюминиевая), зернением, толщиной слоя порошка, связанного с подложкой; использовали также пластинки для тонкослойной хроматографии («Сорбтон», «Сорбфил», «Силуфол», «Алуфол»). Что касается типа матрицы и формы сорбента (плоскостной, насыпной и т.д.), то их выбирали с точки зрения удобства использования, доступности и экономичности. Обычная форма носителей: фильтры диаметром 12—15 см, пластинки размером 10×10 и 10×20 см, таблетки диаметром 8 мм и толщиной 3 мм. При выборе носителей принимали во внимание также их окраску, которая важна для контрастного восприятия окраски продуктов реакции при визуальном детектировании. И, конечно, носители должны обеспечивать протекание реакции с воспроизводимой скоростью, удобной для измерения.

В случае использования индикаторных ферментативных реакций носители и условия иммобилизации на них ферментов не должны снижать каталитическую активность биокатализаторов, а иммобилизованные препараты должны сохранять стабильность в течение длительного времени.

Как показали эксперименты, наиболее удобными и эффективными носителями для целей сорбционно-каталитического анализа оказались фильтровальная бумага с привитыми функциональными группами и без них, силикагели и пенополиуретан на основе простых эфиров.

Особенности протекания индикаторных реакций на сорбентах

На протекание каталитических реакций на носителях значительно влияет природа сорбента. В частности, может измениться характер действия катализатора — иона металла или органического соединения. Так, ион марганца(II), катализирующий реакцию окисления 3,3',5,5'-тетра-

метилбензида периодатом в растворе, уменьшает ее скорость при проведении на «Силуфоле» и катионообменнике «Фиксион 50×8», не влияет на скорость процесса на целлюлозе и проявляет каталитическое действие в реакции на силикагелях «Сорбтон 8» и «Сорбфил», оксиде титана и фильтровальной бумаге с привитыми диэтилен-триаминтетраацетатными группами.

Часто на сорбентах появляются новые или стабилизируются наблюдаемые и в растворе промежуточные продукты реакции. Так, при проведении катализируемой марганцем(II) реакции окисления тетраметилбензида периодатом на силикагелях и фильтровальной бумаге как с привитыми диэтилен-триаминтетраацетатными группами, так и без них стабилизируется промежуточный синезеленый ($\lambda_{\text{макс}} = 380, 650 \text{ нм}$) продукт димеризации радикалов тетраметилбензида. Контроль скорости реакции по изменению концентрации этого промежуточного (а не конечного) продукта позволяет повысить чувствительность определения марганца(II), что дает возможность разработать визуальную тест-методику его определения.

В катализируемых хромом(III) и хромом(VI) реакциях окисления *o*-дианизида пероксидом водорода и персульфатом на бумагах и силикагелях обнаруживается зеленый продукт метахиноидной структуры ($\lambda_{\text{макс}} = 386, 704 \text{ нм}$), не фиксируемый в случае проведения реакции в растворе. И здесь также сорбционный вариант проведения реакций дает возможность визуально контролировать скорость процесса при тест-определении хрома.

Изучение реакций окисления пероксидом водорода арилдиаминов — *o*-дианизида, *o*-фенилендиамина и 3,3',5,5'-тетраметилбензида на поверхности носителей с иммобилизованной пероксидазой показало, что переходы окрасок промежуточных и конечных продуктов окисления этих ароматических диаминов при катализе пероксидазой, иммобилизованной на силикагеле и микрокристаллической целлюлозе, совпадают с изменениями окрасок в тех же реакциях, катализируемых нативной пероксидазой в растворе. Переходы окрасок в тех же ферментативных реакциях на пенополиуретане и хроматографической бумаге практически совпадают, но значительно отличаются от переходов окрасок в реакции с нативным ферментом (табл. 2).

Сопоставление спектров поглощения продуктов окисления *o*-фенилендиамина, *o*-дианизида и 3,3',5,5'-тетраметилбензида, образующихся при катализе нативной пероксидазой в растворе, и спектров диффузного отражения продуктов окисления тех же веществ, но катализируемых пероксидазой, иммобилизованной на бумаге и пенополиуретане (рис. 1), показало, что проведение индикаторных реакций на носителях приводит к батохромному сдвигу максимумов в спектре диффузно-

Переходы окрасок промежуточных и конечных продуктов окисления *o*-фенилендиамина, *o*-дианизидина и 3,3',5,5'-тетраметилбензидаина, катализируемого пероксидазой нативной и иммобилизованной на носителях

Носитель	Субстрат-восстановитель		
	<i>o</i> -фенилендиамин	<i>o</i> -дианизидин	3,3',5,5'-тетраметилбензидин
—	Желтая—оранжевая	Зеленая—бурая—коричневая	Голубая—зеленая—желтая
Силикагель	Желтая—оранжевая	Зеленая—бурая—коричневая	Голубая—зеленая—желтая
Микрокристаллическая целлюлоза	Желтая—оранжевая	Зеленая—бурая—коричневая	Голубая—зеленая—желтая
Хроматографическая бумага	Кирпичная—синяя—зеленая	Окраски бледные и неконтрастные	Голубая—зеленая—желтая—бледно-сине-фиолетовая
Пенополиуретан	Кирпичная—синяя—зеленая	Зеленая—красная	Голубая—зеленая—сине-фиолетовая

го отражения (характеризуемого функцией Гуревича—Кубелки—Мунка — F) продуктов окисления 3,3',5,5'-тетраметилбензидаина ($\lambda_{\text{макс}} = 370, 455, 690 \text{ нм}$) и *o*-дианизидина ($\lambda_{\text{макс}} = 380, 470 \text{ нм}$) по сравнению с максимумами их поглощения в растворе ($\lambda_{\text{макс}} = 410, 475, 710 \text{ нм}$ и $410, 500 \text{ нм}$, соответственно), а в спектре диффузного отражения фенилендиамина появляется дополнительная, не наблюдаемая в спектре погло-

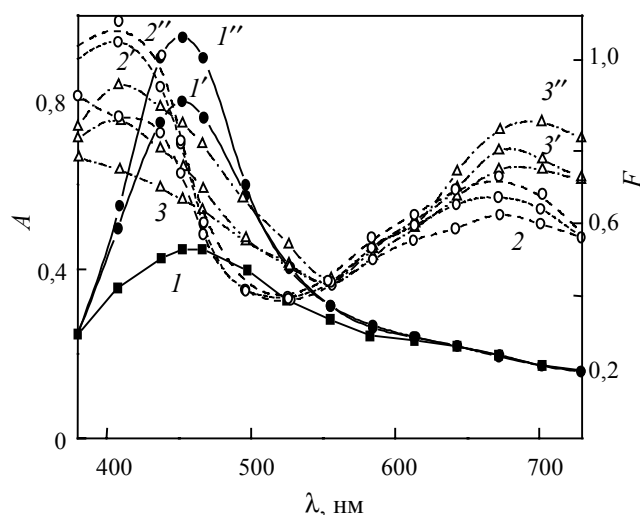


Рис. 1. Изменение во времени спектров поглощения продуктов окисления *o*-фенилендиамина для реакции в растворе с нативной пероксидазой (1, 1', 1'') и спектров диффузного отражения для реакций с пероксидазой, иммобилизованной на пенополиуретане (2, 2', 2'') и хроматографической бумаге (3, 3', 3'').

Время с момента смешения компонентов реакции (в мин): 1, 2, 3 — 0,5; 1', 2', 3' — 15; 1'', 2'', 3'' — 45. F — функция Гуревича—Кубелки—Мунка

щения полоса продукта окисления ($\lambda_{\text{макс}} = 690 \text{ нм}$). Дополнительная полоса ($\lambda_{\text{макс}} = 590 \text{ нм}$) появляется также в спектре тетраметилбензидаина, окисляемого на пенополиуретане.

Указанные особенности спектров диффузного отражения свидетельствуют о том, что промежуточные и конечные продукты ферментативных процессов на твердых носителях иные, чем для реакций в растворе.

При переводе индикаторных реакций из раствора на сорбенты, как правило, изменяются их кинетика и оптимальные условия проведения. Приведем несколько примеров. На рис. 2 представлены кинетические кривые реакции тетраметилбензидин- Mn^{II} —периодат в растворе и на носителях. Из рисунка видно, что начальная ско-

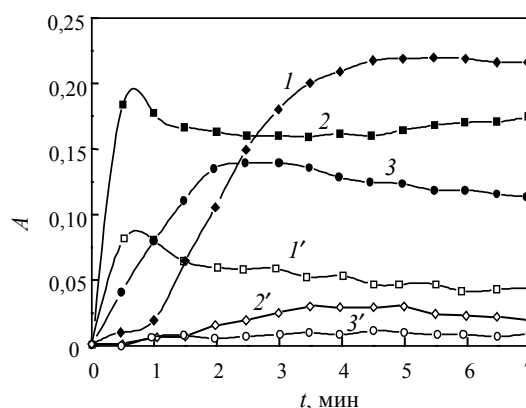


Рис. 2. Кинетические кривые для реакции 3,3',5,5'-тетраметилбензидин — KIO_4 :

1—3 — в присутствии $\text{Mn}(\text{II})$; 1'—3' — без $\text{Mn}(\text{II})$;
1, 1' — в растворе; 2, 2' — на фильтре с привитыми диэтилтриацетатными группами;
3, 3' — на фильтровальной бумаге.
Контроль скорости реакции по интенсивности поглощения

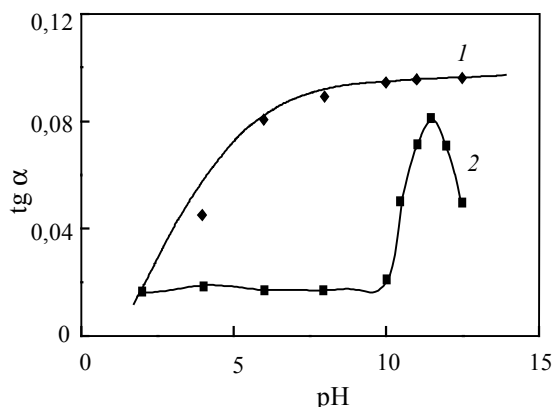


Рис. 3. Зависимость от pH среды скорости реакции окисления о-дианизидина пероксидом водорода, катализируемой метафосом на поверхности кремнезема (1) и в водно-ацетоновом растворе (2).

tg α — тангенс угла наклона кинетической кривой

рость каталитической реакции в растворе значительно ниже, чем на сорбентах.

Сравнение кинетических характеристик реакций окисления фенилендиамина, дианизидина и тетраметилбензидамина с участием пероксидазы в растворе и на твердых носителях показало, что независимо от природы субстрата скорость накопления продуктов ферментативной индикаторной реакции понижается в ряду раствор > хроматографическая бумага > пенополиуретан. Тот факт, что скорость ферментативной реакции в растворе наибольшая, можно объяснить более полным и быстрым контактом компонентов индикаторного процесса (включая фермент), который усиливается вследствие механического перемешивания, что технически невозможно при работе на носителях.

Наиболее яркой иллюстрацией влияния свойств носителя на оптимальные условия протекания индикаторных процессов на поверхности являются кривые зависимости скорости реакции от pH среды. На рис. 3 приведен пример расширения оптимальной области pH для каталитической реакции окисления о-дианизидина пероксидом водорода при переводе ее из раствора на поверхность кремнезема. Полученные данные можно объяснить, тем, что OH-группы, находящиеся на поверхности кремнезема принимают участие в окислении диамина.

Сорбционно-каталитическое определение ионов металлов

Изменение кинетики и оптимальных условий протекания реакций при реализации их на сорбентах приводит к изменению метрологических характеристик каталитического метода анализа в его сорбционном варианте. Покажем это на конкретных примерах определения ионов металлов и органических соединений.

Определение меди(II) [7, 8]. В основу сорбционно-каталитического метода определения Cu(II) положена катализируемая ионами меди реакция окисления гидрохинона пероксидом водорода в присутствии 2,2'-дипиридила (активатор) — хорошо изученная в растворах реакция, характеризующаяся высокой чувствительностью к меди(II) [9—11]. В этой реакции гидрохинон окисляется в 4-бензохинон, реагирующий далее с пероксидом с образованием розового продукта ($\lambda_{\text{макс}} = 490 \text{ нм}$), по которому обычно и контролируют скорость реакции. Повышение контрастности индикаторной реакции за счет получения продуктов, поглощающих в более длинноволновой области, может быть достигнуто, если в реакционную систему ввести модифицирующий реагент, динитрил малоновой кислоты, который при взаимодействии с 4-бензохиноном образует ряд окрашенных продуктов [12, 13]. Поскольку скорость образования промежуточного продукта — 4-бензохинона зависит от количества катализатора (ионы меди), то при разных содержаниях меди(II) отношение [бензохинон]:[динитрил] должно быть различным, в соответствии с чем могут получаться продукты разной окраски. Действительно, при проведении индикаторной реакции на фильтрах в зависимости от количества введенной меди(II) и времени от начала реакции наблюдаются продукты и смеси продуктов оранжевого, серого, зеленого и сине-зеленого цвета. В случае бумажных фильтров с привитыми гексаметилендиаминными группами скорость реакции контролировали по зеленому продукту (при 500 нм). Введение малонитрила позволило расширить интервал определяемых содержаний меди до 6 пг—0,1 мкг.

На основе каталитической реакции окисления гидрохинона с образованием продуктов, имеющих различные окраски в зависимости от концентрации меди(II), создана визуальная тест-методика ее определения. Путем сравнения с цветной шкалой окраски пятна, появляющегося через 2—12 мин после начала реакции, можно различать количества меди, отличающиеся на порядок в интервале 0,01 нг—0,5 мкг. Разработанная методика была использована для определения меди в сыворотке крови человека и опробована в клинических условиях для диагностики гепатита. Методика экспрессна, не требует сложного оборудования, имеет значительный запас по чувствительности, для выполнения анализа достаточно всего лишь 3 мкл сыворотки крови.

Определение марганца(II) и кадмия(II) [14, 15]. Для определения этих металлов использована реакция окисления 3,3',5,5'-тетраметилбензидамина периодатом калия. Было обнаружено, что марганец(II) оказывает каталитическое, а кадмий(II) — ингибирующее действие в этой реакции.

Из разработанных методик сорбционно-каталитического определения марганца примени-

тельно к разным носителям наибольший интерес представляет методика определения марганца(II) на фильтровальной бумаге с привитыми диэтилен-триаминтетраацетатными группами. Каталитическое действие ионов марганца на этих фильтрах несколько выше, чем на фильтровальной бумаге без привитых групп и на кремнеземе, что, по-видимому, связано с активирующим действием данного триамина в реакции. Сочетание предварительного концентрирования марганца(II) прокачиванием анализируемого раствора через модифицированный бумажный носитель с последующим проведением индикаторной реакции непосредственно на поверхности фильтра позволило разработать методику определения марганца(II) в интервале концентраций 5 пг/мл — 0,1 мкг/мл (относительное стандартное отклонение s_r для 5 пг/мл—0,02).

В качестве носителей в сорбционно-каталитическом методе определения кадмия(II) по его ингибирующему действию на индикаторную реакцию были использованы сорбенты — фильтровальная бумага и силикагель, модифицированные селективным реагентом на кадмий(II) — (1-[(6-бром-2-бензтиазолил)азо]-2-нафтол). Разработаны методики определения кадмия(II) на этих носителях в интервале концентраций 0,05—2 мкг/мл и 0,4 нг/мл—0,05 мкг/мл, соответственно, а также визуальная тест-методика определения кадмия(II) в интервале концентраций 0,1—3 нг/мл. Использование приема сорбционного выделения кадмия(II) с последующим определением его каталитическим методом непосредственно на носителях обеспечивает высокую селективность определения этого металла (табл.3).

Повышение наряду с чувствительностью селек-

тивности при сорбционно-каталитическом определении ионов металлов — одно из основных преимуществ этого нового гибридного метода. На примере определения марганца(II) показано, что и без предварительного сорбционного выделения селективность определения иона металла на сорбентах повышается.

Определение ртути(II), кадмия(II), свинца(II) [16, 17]. Ранее нами было установлено, что такие биологически активные ионы, как ртуть(II), кадмий(II) и свинец(II), являются эффективными ингибиторами нативной пероксидазы (выделенной из корней хрена) в индикаторной реакции окисления о-дианизидина. Для разработки тест-методик определения этих токсикантов использовали пероксидазу, модифицированную хитозаном.

Показано, что ртуть(II) оказывает слабое ингибирующее действие на каталитическую активность иммобилизованной пероксидазы в интервале концентраций 2,5—50 нг/мл. Как и в случае нативного фермента, ингибирующее действие ртути(II) на каталитическую активность иммобилизованной пероксидазы значительно усиливается в присутствии другого органического ингибитора — тиомочевины. При этом сама тиомочевина значительно ингибирует (на 40—50%) нативную пероксидазу, ингибирующее действие проявляется после предварительного инкубирования с ферментом в течение 4 ч, а в случае фермента, иммобилизованного на силикагеле и микрокристаллической целлюлозе, — после пятиминутного инкубирования; для фермента на пенополиуретане предварительное инкубирование с тиомочевинной вообще не требуется.

Изучение реакции окисления ртутью(II) о-дианизидина с участием иммобилизованного фер-

Таблица 3

Влияние посторонних ионов на определение Cd(II) по реакции 3,3',5,5'-тетраметилбензидин—Mn(II)—KIO₄ в растворе и на сорбентах

Посторонний ион (А)	C _A /C _{Cd(II)} , не мешающее определению		
	в растворе	на ББТ/ФБ*	на ББТ/SiO ₂
Mn(II)	—	500	10
Zn(II)	0,01	10 ³	30
Fe(II)	10 ⁴	10 ⁴	10 ³
Fe(III), F ⁻	100	10 ³	10 ³
Co(II)	0,2	100	150
V(V) (NH ₄ VO ₃)	20	200	10 ³
Pb(II)	30	10 ³	10 ³
Cu(II)	70	10 ³	600
Ni(II), Ca ²⁺ , Na ⁺	10 ³	10 ³	10 ⁴

* ББТ — бромбензтиазо; ФБ — фильтровальная бумага.

мента ртути(II) и тиомочевины показало, что ртуть заметно ингибирует (на 50—60%) пероксидазу без дополнительного выдерживания ртути со смесью фермента и тиомочевины (как это требуется в случае нативного фермента). Это может быть объяснено большей степенью «подготовленности» иммобилизованной пероксидазы для взаимодействия ее сульфогидрильных и других групп со ртутью(II) вследствие того, что иммобилизация, облегчает доступ тиомочевины к дисульфидным мостикам в молекуле биокатализатора и их восстановление.

На основе ингибирующего действия ртути (в присутствии тиомочевины) на каталитическую активность пероксидазы, иммобилизованной на силикагеле, микрокристаллической целлюлозе и пенополиуретане, в реакции окисления *o*-дианизидина были разработаны тест-методики определения Hg(II) в интервалах концентраций 0,01—50; 0,005—50 и 0,001—50 нг/мл, соответственно.

Кадмий(II) и свинец(II) также ингибируют в большей степени иммобилизованную пероксидазу, чем нативный фермент. Установлено, кроме того, что свинец(II) является эффективным ингибитором щелочной фосфатазы, иммобилизованной на силикагеле, микрокристаллической целлюлозе и пенополиуретане, в интервалах концентраций металла 1—100, 0,5—100 и 0,05—100 нг/мл, соответственно. Наличие прямо пропорциональных зависимостей степени ингибирования иммобилизованной пероксидазы от логарифма концентрации ионов кадмия(II) и свинца(II) в интервалах 0,1—1000 и 0,5—1000 нг/мл, соответственно, и ингибирования иммобилизованной щелочной фосфатазы, от логарифма концентрации свинца(II) позволило предложить тест-методики определения этих металлов (табл.4).

Визуальные тест-методики определения кадмия(II), свинца(II), ртути(II) с использованием ферментов, иммобилизованных на пенополиуретане, отличаются простотой, экспрессностью (продолжительность анализа не превышает 15 мин), по чувствительности и воспроизводимости превосходят разработанные ранее методики с применением ферментов как нативных, так и иммобилизованных на других носителях.

Все разработанные тест-методики достаточно селективны. Так, из ряда ионов металлов и анионов — Cd(II), Bi(III), Pb(II), Cu(II), Zn(II), Fe(II), Ni(II), Co(II), Ca(II), Mg(II), Cl⁻, Br⁻, I⁻, F⁻, S²⁻, PO₄³⁻, SO₄²⁻, CO₃²⁻ — мешающее влияние на определение ртути(II) в концентрации 1 пг/мл с использованием иммобилизованной на пенополиуретане пероксидазы оказывают только Cd(II), Bi(III) и Fe(III) в 10⁵-

Нижние границы определяемых концентраций (С_n) Cd(II), Pb(II) и Hg(II) по тест-методикам с использованием нативных и иммобилизованных на пенополиуретане ферментов

Определяемый ион	Фермент	Предел обнаружения, нг/мл	
		с нативным ферментом	с ферментом на сорбенте
Hg(II)	Пероксидаза	0,001	0,001
Cd(II)		10	0,1
Pb(II)		50	0,5
Pb(II)	Щелочная фосфатаза	0,5	0,05

10⁵- и 10⁶-кратных количествах, соответственно. При этом кадмий(II) и висмут(III) так же, как и ртуть(II) ингибируют иммобилизованный фермент, а железо(III) в концентрации ≥1 мкг/мл активизирует его. Активирующее действие железа(III) не проявляется при анализе морских и речных вод с низким его содержанием (≤0,1 мкг/мл), и в таких случаях тест-методика определения ртути(II) оказывается высокоселективной. При анализе подземных, минеральных и водопроводных вод, где содержание железа(III) может варьировать от 1 мкг до нескольких мг/л, для его маскирования предлагается использовать винную кислоту, которая образует достаточно устойчивый комплекс с железом(III), при этом сама кислота не оказывает действия на фермент и не взаимодействует с ионами ртути(II).

Сорбционно-каталитическое определение органических соединений

Органические соединения могут быть катализаторами индикаторных реакций, проводимых на носителях, либо активаторами или ингибиторами каталитического действия ионов металлов или ферментов. В табл. 5 представлены некоторые системы, использованные нами для разработки методик определения органических соединений сорбционно-каталитическим методом, и метрологические характеристики этих методик. Все преимущества гибридного метода (повышение чувствительности и селективности, возможность создания тест-методик, экономичность, экспрессность) сохраняются и в случае определения органических соединений.

Отметим тест-методики определения ртутьорганических соединений (метил-, этил- и фенилртути) [20]. Они основаны на действии этих токсикантов на каталитическую активность иммобилизованной на пенополиуретане пероксида-

Примеры определения органических соединений сорбционно-каталитическим методом [18, 19]

Индикаторная реакция	Носитель	Определяемое соединение	Интервал определяемых количеств (концентраций)	Примечание
o-Дианизидин—H ₂ O ₂	Кремнезем «Сорбтон-8»	Метафос	0,2—10 мкг	Собственное ускоряющее действие
		Фозалон	0,3—10 мкг	
		<i>l</i> -Толуолсульфонил хлорид	0,1—100 нмоль/л	
		Бензойная кислота	1—100 нмоль/л	
		Метилбензоат	0,1 нмоль/л	
o-Дианизидин—Cr(VI) —S ₂ O ₈ ²⁻	Фильтровальная бумага	Аскорбиновая кислота	5—40 нмоль	Ингибирующее действие
Дифенилкарбазид—Cu(II) —O ₂	То же	Цистеин	4—50 нмоль	
Гидрохинон—Cu(II) —H ₂ O ₂ —динитрил малоновой кислоты	Силикагель	Цистин	0,2—2 нмоль	
	То же	Цистеин	0,1—3 нмоль	
	Фильтровальная бумага	Цистеин	1—30 нмоль	
Гидрохинон—Cu(II) —H ₂ O ₂	Силикагель	Полиэтиленимин	5 нмоль/л—1 ммоль/л	
	Фильтр с привитыми гексаметилендиаминными группами	Имазапир	1—30 нмоль	
o-Дианизидин—пероксидаза—H ₂ O ₂	Пенополиуретан	Фенолы	1—25 мкмоль/л	Ингибирующее и субстратное действие

зы, предварительно ингибированной фенилтиомочевинной, в реакции окисления o-дианизида, а также на эффекте влияния на продолжительность индукционного периода в реакции окисления 3,3',5,5'-тетраметилбензида в присутствии диэтилдитиокарбамина (нижняя граница определяемых концентраций для метилртути составляет 0,2 и 2 нг/мл, s_r — 0,11 и 0,09, соответственно).

Заключение

Проведение каталитических индикаторных реакций на носителях обеспечивает повышение чувствительности, и, что особенно важно, селективности определения ионов металлов и органических соединений. Стабилизация на сорбентах ярко окрашенных промежуточных продуктов ряда реакций открывает возможность создания визуальных тест-методик, отличающихся простотой исполнения, экспрессностью и экономичностью.

Эффективность сорбционно-каталитического метода подтверждена анализом ряда природных объектов (вод, почв) на содержание меди(II), марганца(II), кадмия(II), ртути(II), свинца(II), метилртути, фосфорсодержащих пестицидов и др.

В настоящем исследовании принимали участие М. К. Беклемишев, Н. А. Багирова, И. А. Веселова, С. В. Мугинова, А. Л. Капанадзе, Ю. Ю. Петрова, Т. А. Стоян. Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 97-03-33578а).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабко А.К., Максименко Т.С. Ж. анал. химии, 1967, т. 22, № 4, с. 570.
2. Tikhonova L.P., Bakay E.A., Prokhorenko E.P., Tarkovskaya I.A., Svarkovskaya I.P. The 5th International Symp. «Kinetics in Analytical Chemistry», Sept. 25—28, Moscow, Russia, 1995, p. 224.
3. Mueller H. CRC Crit. Rev. Anal. Chem., 1982, v. 13, p. 313.
4. Шпота Г.П., Тарковская И.А. Теор. exper. химии, 1986, т. 22, № 6, с. 706.

5. Кокорин А.И., Фрумкина Е.Л., Копылова В.Д. Изв. АН СССР. Сер. химия, 1989, № 9, с. 1970.
6. Shekhovtsova T.N., Muginova S.V., Bagirova N.A. *Anal. Chim. Acta*, 1997, v. 344, p. 145.
7. Beklemishev M.K., Petrova Yu.Yu., Dolmanova I.F. *Analyst*, 1999, v. 127, p. 1523.
8. Петрова Ю.Ю., Беклемишев М.К., Бажанова Н.А. и др. *Ж. анал. химии*, 2000, т. 58, № 3, с. 318.
9. Долманова И.Ф., Поддубиенко В.П., Пешкова В.М. Там же, 1973, т. 28, с. 592.
10. Долманова И.Ф., Мельникова О.И., Цизин Г.И., Шеховцова Т.Н. Там же, 1980, т. 35, с. 728.
11. Cao, Shun-an, Zhong, e.a. *Anal. Chim. Acta*, 1996, v. 331, p. 257.
12. Craven R. *J. Chem. Soc.*, 1931, № 6, p. 1605.
13. King T.J., Newall C.E. *J. Chem. Soc.*, 1965, № 2, p. 974.
14. Beklemishev M.K., Stoyan T.A., Dolmanova I.F. *Analyst*, 1997, v. 122, p. 1161.
15. Beklemishev M.K., Stoyan T.A., Dolmanova I.F., Fresenius J. *Anal. Chem.*, 2000, v. 367, p. 17.
16. Veselova I.A., Shekhovtsova T.N. *Anal. Chim. Acta*, 1999, v.392, p. 151.
17. Veselova I.A., Shekhovtsova T.N. *Ibid.*, 2000, v. 413, p. 95. 18.
18. Капанадзе А.Л., Беклемишев М.К., Долманова И.Ф. *Ж. аналит. химии*, 1999, т. 54, с. 1182.
19. Beklemishev M.K., Kapanadze A.L., Bakhilina N.N., Dolmanova I.F. *Talanta*, 2000, v. 51, p. 389.
20. Veselova I.A., Shekhovtsova T.N. *Mend. Commun.*, 2000, № 6, p. 98.