

ISSN 0044-4502

Том 78, Номер 12

Декабрь 2023



ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ



www.sciencejournals.ru



СОДЕРЖАНИЕ

Том 78, номер 12, 2023

Аналитическая химия Урала Редактор-составитель – Н.Ю. Стожко

Аналитическая химия Урала. Предисловие к специальному выпуску 1059

ОБЗОРЫ

Комплексообразование гуминовых кислот с микроэлементами: методы и подходы
И. В. Волков, Е. В. Поляков 1064

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Сорбционное концентрирование кверцетина с использованием молекулярно импринтированных флороглюцино-меламино-формальдегидных смол
Ю. Ю. Петрова, Е. В. Булатова, Е. В. Кухтенко 1096

Анализ химического состава и структуры пленок сложных оксидов микронной толщины методами электронно-зондового микроанализа и конфокальной спектроскопии комбинационного рассеяния света на примере пленки $MgAl_2O_4$ на SiO_2
В. А. Булатов, Ю. В. Шапова, Д. А. Замятин, Л. Я. Сушанек, А. С. Каменецких, С. Л. Вотьяков 1106

Хроматографическое определение дротаверина и математическое моделирование процесса его биодеструкции в почве
Е. В. Вихарева, А. А. Селянинов, Е. А. Тюмина 1119

Исследование сорбции хлортетрациклина гидрохлорида с последующим определением методом капиллярного зонного электрофореза
А. И. Городилова, Е. Л. Лебедева, Ю. С. Петрова, Л. К. Неудачина 1128

Вольтамперометрический сенсор на основе углеродной вуали, модифицированной графеном и фитосинтезированными наночастицами оксида кобальта, для определения пищевых красителей тартразина (E102) и красного очаровательного (E129)
М. А. Бухаринова, Е. И. Хамзина, В. Ю. Колотыгина, Н. Ю. Стожко 1134

Вольтамперометрическое определение натриевой соли 7-этилтио-3-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-4-она дигидрата как потенциального противовирусного лекарственного средства
П. Н. Можаровская, А. В. Ивойлова, Т. В. Демьянович (Селянина), И. А. Балин, Н. А. Малахова, А. В. Иванова, А. Н. Козицина, А. И. Матерн, В. Л. Русинов 1144

Определение радиоэкологически значимых радионуклидов углерода-14, технеция-99, йода-129 в остеклованных высокоактивных отходах, образующихся при переработке отработавшего ядерного топлива
Е. В. Чухланцева, О. В. Степанова, О. Ю. Диченко, Т. А. Зайцева, К. А. Джевелло, Е. Л. Мурашова, Ю. М. Татарникова, Е. А. Беланова, П. А. Блохин 1151

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ УРАЛА. ПРЕДИСЛОВИЕ К СПЕЦИАЛЬНОМУ ВЫПУСКУ

DOI: 10.31857/S0044450223120149, EDN: EIPKER

Урал – это удивительный край, щедро одаренный природой. Урал и примыкающие к нему Предуралье и Зауралье занимают огромную территорию, которая включает Свердловскую, Челябинскую, Курганскую, Оренбургскую области, Удмуртию, ХМАО, ЯНАО, Пермский край, Республику Коми. Уральский регион исключительно богат разнообразными природными ресурсами, в его недрах находятся запасы медных, никелевых, железных, цинковых руд, нефти, природного газа, каменного угля. Местная сырьевая база стала основой развития черной и цветной металлургии, машиностроения, химической и нефтегазовой промышленности, которые способствовали формированию науки на Урале.

Чтобы лучше понять многогранность и особенности химической науки на Урале, надо обратить взгляд на историю ее развития. В конце XIX века Урал был одним из важнейших горнодобывающих районов Российской империи с бурно развивающейся промышленностью. По мере развития региона все актуальнее становилась потребность в научных, образовательных и просветительных центрах. На тот момент на Урале не существовало ни одного научно-образовательного учреждения, хотя вопрос об открытии университета неоднократно обсуждался уральской общественностью. О необходимости открытия на Урале металлургического института, тесно связанного с нуждами промышленности, высказывался Д.И. Менделеев. Первыми высшими учебными заведениями на Урале стали Горный институт (1914), Пермский университет (1917), Уральский государственный университет (1920) и Уральский политехнический институт (1920). В вузах начали формироваться химические отделения и факультеты.

Развитие академической науки на Урале берет свое начало с 1932 года, когда были открыты первые лаборатории в тогда же созданном Уральском филиале Академии наук СССР, их научные коллективы проводили исследования в области органической химии и химического анализа. Лаборатории дали толчок развитию сети научно-исследовательских институтов химического профиля. В то время решали научно-прикладные задачи в области химии нефти и минерального сырья, проводили исследования по разделению метал-

лов с использованием амальгам, разрабатывали новые подходы к обогащению железных и марганцевых руд, извлечению ванадия из титаномагнетитовых руд, создавали стандартные образцы руд, чугунов, сталей, цветных металлов, флюсов, шлаков, кокса.

Потенциал уральской науки многократно вырос в годы Великой Отечественной войны, когда на Урал были эвакуированы научно-исследовательские институты из других городов Советского Союза. Все усилия уральской науки в годы войны были направлены на решение задач военного времени. Достижения этого сложного периода включают открытие новых месторождений полезных ископаемых, разработку эффективных способов получения моторного топлива, создание новых лекарственных препаратов, разработку методов извлечения редких элементов и др. Все эти исследования были связаны с химическим анализом. Огромной популярностью пользовался бесстружковый метод анализа, который позволял проводить определение химического состава объектов военной техники без их повреждения. Метод был разработан выдающимся ученым-аналитиком Н.А. Тананаевым, который на тот момент заведовал кафедрой аналитической химии Уральского политехнического института. Адаптация бесстружкового метода анализа к полевым условиям была осуществлена с помощью переносных лабораторий, получивших название “аптечек Тананаева”. Н.А. Тананаев создал мощную советскую аналитическую школу на Урале, заслуженными учениками которой были В.Л. Золотавин, В.Н. Подчайнова и И.И. Калиниченко. В.Л. Золотавин внес значительный вклад в развитие аналитической химии ванадия, а В.Н. Подчайнова – аналитической химии меди. Их книги “Аналитическая химия ванадия” (М.: Наука, 1981) и “Аналитическая химия меди” (М.: Наука, 1990) из серии “Аналитическая химия элементов” известны многим поколениям аналитиков. И.И. Калиниченко основал научное направление по синтезу и исследованию координационных соединений, разработанные при его участии катализаторы твердых ракетных топлив нашли широкое применение.

Во второй половине прошлого века в Уральском регионе происходило активное развитие учреждений химического профиля академического, от-

раслевого и вузовского секторов науки. Увеличилось число вузов, кафедр аналитической химии, которые готовили кадры для промышленности, научных учреждений, экологических лабораторий, санэпидемстанций, лабораторий других ведомств. Формировались научные школы, причем точки роста возникали преимущественно в высших учебных заведениях.

В Уральском индустриальном институте им. С.М. Кирова в 1949 году была организована кафедра физико-химических методов анализа (ФХМА), которой с 1950 по 1976 годы заведовал В.Л. Золотавин. В этот период был разработан способ извлечения ванадия из сточных вод, налажен выпуск новых ванадиевых реактивов. С 1976 г. заведовать кафедрой стал профессор В.Н. Музгин, под руководством которого были развернуты работы по изучению процессов испарения и атомизации в газовом разряде с полым катодом, созданию аэрозольно-искрового метода анализа, изучению характеристик высокочастотного факельного разряда и дугового плазмотрона, разработке вольфрамового спирального атомизатора и промышленного прибора на его основе. В 80–90-е годы на кафедре начинают активно развиваться новые научные направления: термодинамическое моделирование термохимических процессов в спектральных источниках под руководством А.А. Пупышева; синтез и аттестация Государственных стандартных образцов химического состава под руководством Д.Г. Лисиенко. С 1997 г. регулярно издается научный журнал “Аналитика и контроль”. За последние 20 лет под руководством А.А. Пупышева опубликована серия монографий и учебников по атомно-абсорбционному и атомно-эмиссионному спектральному анализу, масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.

Уральская электроаналитическая школа формировалась в течение последних 50 лет на базе Свердловского института народного хозяйства (теперь Уральский государственный экономический университет) и получила развитие в Уральском федеральном университете. Основателем школы является Заслуженный деятель науки РФ, профессор Х.З. Брайнина. Работы школы всегда были направлены на решение актуальных задач своего времени, связанных с анализом объектов полупроводниковой электроники, окружающей среды, мониторинга здоровья человека. Фундаментальные исследования были посвящены развитию теории инверсионной вольтамперометрии, изучению механизмов и кинетики электродных процессов на макро-, микро- и наноструктурированных электродах, созданию потенциометрического и хроноамперометрического методов оценки антиоксидантной/оксидантной активности и др. На основе результатов теоретических исследований были разработаны приборы, сенсоры и методики анализа объектов окружающей среды, растительного сырья, про-

дуктов питания, лекарственных средств, биологических жидкостей и тканей.

Под руководством профессора В.Ф. Барковского в Уральском государственном университете в 1960–1980 гг. выполнялись исследования, направленные на развитие теории спектрофотометрических методов анализа, изучение процессов комплексообразования ионов металлов с неорганическими и органическими лигандами, разделение и концентрирование редкоземельных элементов. Научные идеи В.Ф. Барковского получили развитие в работах Л.К. Неудачиной. Применение оптических методов анализа для контроля сорбционных процессов в многокомпонентных системах позволило разработать сорбционно-спектроскопические методы селективного концентрирования и последующего определения ионов благородных металлов в сложных по составу матрицах.

Неоценимый вклад в развитие пермской школы аналитиков внес Заслуженный деятель науки РСФСР С.И. Гусев, который многие годы возглавлял кафедру общей и аналитической химии Пермского медицинского института. Большую известность получили его работы по синтезу, изучению и использованию новых гетероциклических пиридил-, тиазол-, антипирил- и хинолилазосоединений для фотометрического, комплексно-нометрического, экстракционно-фотометрического определения Zn, Bi, Ga, In, Tl, Co и других элементов. С.И. Гусевым было синтезировано более пятидесяти новых гетероциклических азосоединений. Становление пермской школы химиков-аналитиков происходило при тесном сотрудничестве коллективов аналитических кафедр медицинского института и Пермского университета. Работы С.И. Гусева по изучению антипирина и амидопирина стали началом применения производных пиразолона в исследованиях В.П. Живописцева, Б.И. Петрова, М.И. Дёгтева из Пермского университета. В.П. Живописцевым были предложены трехфазные экстракционные системы для химического анализа, синтезированы антипириновые и пиразолоновые красители, издана монография “Аналитическая химия цинка” (М.: Наука, 1975 г.). М.И. Дёгтев внес вклад в изучение катионообменных реакций β-дикетонатов и дипиразолонилалканов с ионами металлов, обоснование применения октилового спирта для извлечения однозарядных хлоридных комплексных ионов металлов, что в настоящее время используется в технологии получения чистых ниобия и тантала.

Неразрывно связана с историей развития аналитической химии и высшего фармацевтического образования на Западном Урале кафедра аналитической химии Пермского фармацевтического института, которая была организована в 1937 г. Кафедрой руководили профессора Н.И. Кромер, Н.Я. Хлопин, Г.И. Кудымов и др., внося свой

вклад в развитие химического и инструментального анализа лекарственных средств. С 2009 г. кафедре возглавляет профессор Е.В. Вихарева. Под ее руководством коллектив кафедры добился значительных успехов в разработке новых методик анализа лекарственных средств и способов переработки фармацевтических отходов с целью получения биологически активных веществ.

В институтах академического профиля исследования в области аналитической химии проводились в меньших масштабах, чем в вузах, тем не менее можно отметить ряд известных аналитических лабораторий в институтах Уральского отделения Российской академии наук. Основным направлением исследований аналитической лаборатории Института высокотемпературной электрохимии, многие годы руководителем которой был к.т.н. В.Н. Стрекаловский, стало изучение элементного, фазового и молекулярного состава, распределения элементов и веществ по поверхности и глубине твердых образцов. В результате высокотемпературных рентгенографических исследований были установлены структура расплавленных галогенидов щелочных металлов и механизмы взаимодействия в сложных оксидных и галогенидных системах, состав продуктов электрокристаллизации и коррозии.

В лаборатории физико-химических методов анализа Института химии твердого тела УрО РАН, руководителями которой были к.х.н. Н.В. Баусова, д.х.н. Д.И. Курбатов, д.х.н. Р.Н. Плетнев и (в настоящее время) д.х.н. Е.В. Поляков, развивались полярографические методы, структурный анализ неорганических веществ, методы исследования тугоплавких соединений, методы концентрирования и разделения, включающие создание многофункциональных композитных фильтрующих материалов. Накоплен большой эмпирический материал по фотокаталитической активности наноразмерных оксидов титана, цинка, карбидов вольфрама и других переходных металлов.

Основные направления работ лаборатории физических и химических методов исследования Института геологии и геохимии УрО РАН включают комплексные исследования состава, структуры и свойств природных, синтетических, био- и техногенных минералов, изотопно-геохронологические исследования эволюции литосферы, развитие и усовершенствование методик анализа минералов и пород. Под руководством академика С.Л. Вотякова в институте создан современный аналитический центр “Геоаналитик”, в котором выполняются широко востребованные изотопные и геохимические исследования.

Научная история Урала неразрывно связана с атомной промышленностью. В период с 1946 по 1953 г. на территории Урала начали появляться закрытые города, основной задачей которых бы-

ло создание ядерного оружия. В этот период на Урал были направлены сотни молодых и перспективных ученых. Первенцем среди комплекса предприятий по переработке и производству ядерного топлива стал завод № 817 (в настоящее время ФГУП “ПО “Маяк”, г. Озерск, Челябинская область), который решал важнейшую задачу получения особо чистого плутония с содержанием не более 0.0001% продуктов деления. Под руководством известных ученых А.П. Виноградова, В.К. Маркова, П.Н. Палея были проведены фундаментальные исследования химических и физических свойств плутония, разработаны нейтронметрический метод анализа без отбора проб и методики определения плутония в различных технологических растворах, развит спектральный анализ плутония в сочетании с фракционной термической дистилляцией. В этих работах принимал участие известный электроаналитик, главный научный сотрудник Института твердого тела УрО РАН Д.И. Курбатов. Многие аналитические подходы, развитые ранее, до сих пор актуальны и применяются в лабораториях атомной промышленности. Сегодня лаборатории ФГУП “ПО “Маяк” являются одними из самых оснащенных и широкопрофильных лабораторий Госкорпорации “Росатом”.

Другими крупнейшими предприятиями на Урале оборонно-промышленного комплекса стали завод № 813 (в настоящее время Уральский электрохимический комбинат, г. Новоуральск) и завод № 814 (в настоящее время “Комбинат Электрохимприбор”, г. Лесной Свердловской области). История этих предприятий началась с 1946 и 1947 гг. соответственно. Для решения научно-исследовательских задач по получению высокообогащенного гексафторида урана и аналитического обеспечения технологического процесса при заводе № 813 была создана Центральная заводская лаборатория (ЦЗЛ), в которую из Свердловска были направлены Ю.В. Карякин, М.В. Якутович, С.В. Карпачев. Научными сотрудниками лаборатории был разработан комплекс методик определения изотопного состава урана, создан ряд приборов, ставших прототипами современных промышленных масс-спектрометров. В 90-х годах при реализации российско-американского проекта ВОУ-НОУ (высокообогащенный оружейный уран в низкообогащенный уран для атомных электростанций) ЦЗЛ перешла на международные стандарты ASTM при сдаче продукции. В настоящее время аналитический центр ЦЗЛ обеспечивает контроль изотопного состава урана и применяет в технологических потоках гексафторида урана, экоаналитический мониторинг объектов окружающей среды.

Завод № 814 был создан как предприятие по разделению изотопов урана электромагнитным способом. “Комбинат Электрохимприбор” – единственное в мире предприятие, выпускающее в промышленных масштабах некоторые виды изото-

пов для международного и внутреннего рынка, обладатель уникальных запатентованных технологий получения практически всех изотопов большинства элементов Периодической системы. Аналитики комбината большое внимание уделяют технологическому контролю и аттестации продукции производства, разработке и внедрению методик определения содержания примесных элементов в твердых изотопно-обогащенных веществах с использованием масс-спектрометрического метода. Стабильные изотопы, производимые на комбинате, широко применяют в электронике, ядерной медицине, радиофармокологии, фундаментальных научных исследованиях.

Задача обогащения минерального сырья и техногенных отходов всегда была в приоритете для Уральского региона. АО “Уралмеханобр” более 90 лет проводит научные исследования по обогащению и механической обработке полезных ископаемых. Разработку и аттестацию новых методик анализа продуктов черной и цветной металлургии, решение сложных аналитических задач по установлению химического состава минерального сырья и техногенных отходов горнорудного производства на всех этапах переработки обеспечивает аналитическая лаборатория, которую в течение многих лет возглавляла к.х.н. Н.И. Стенина. В зависимости от поставленных задач, природы и содержания элементов в лаборатории используются разные методы анализа, но наиболее широко применяются спектроскопические методы для определения цветных, породообразующих, редких, благородных и др. металлов.

В аналитической лаборатории АО “Уралредмед” (г. Верхняя Пышма, Свердловская область) проводятся научные исследования и аналитический контроль производства особо чистых оксидов всех редкоземельных элементов и многих редких элементов (Y, Sc, V, Mo, W, Nb, Ta, Zr, Hf) с использованием атомно-эмиссионной спектроскопии. Разработанные методики атомно-эмиссионного спектрального анализа с высокой степенью избирательности позволяют определять один редкоземельный элемент на фоне других и красящих примесей. Лаборатория стала главным разработчиком ГОСТа 23862.0-79 “Редкоземельные металлы и их оксиды”.

Большой вклад в развитие спектральных методов анализа на Урале внесла Комиссия по спектроскопии, председателями которой были Г.П. Скорняков и С.Б. Шубина. Целями и задачами Комиссии были пропаганда достижений спектроскопии и содействие их внедрению, проведение совещаний, конференций, школ. С 1956 по 1992 гг. под руководством Комиссии было проведено 12 Уральских совещаний по спектроскопии. Начиная с 1997 г., проведение конференций по спектроскопии было возрождено редакцией журнала “Ана-

литика и контроль”. На этих конференциях ученые и производственники (250–300 участников на каждой) обменивались опытом работы, узнавали о новейших достижениях в области спектральных методов анализа.

Во все времена аналитики Урала большое внимание уделяли качеству аналитического контроля и точности измеряемых химических показателей. Начало развития метрологии на Урале уходит своими корнями в самое начало XX века, когда в Екатеринбурге в 1902 г. была открыта поверочная палата. В 1933 г. в Уральском институте черных металлов была организована лаборатория по созданию отечественных стандартных образцов, а спустя 30 лет на ее базе возник Всесоюзный научно-исследовательский институт стандартных образцов и спектральных эталонов, который после череды преобразований в 1993 г. стал Институтом стандартных образцов (ЗАО “ИСО”). В настоящее время ЗАО “ИСО”, возглавляемый директором к.т.н. В.В. Степановских, обеспечивает потребности аналитических лабораторий промышленных предприятий в государственных стандартных образцах (ГСО) состава металлургических материалов. Номенклатура постоянно выпускаемых для химического и спектрального анализа включает более 570 типов ГСО: железных, марганцевых, хромовых и медных руд, ферросплавов, чугунов, сталей, титана и титановых сплавов, флюсов, огнеупоров и другие. Другим метрологическим учреждением с многолетней историей является Уральский научно-исследовательский институт метрологии (УНИИМ) – филиал ФГУП “ВНИИМ им. Д.И. Менделеева”. В УНИИМ под руководством директора д.т.н. Е.П. Собины проводятся фундаментальные и прикладные исследования, направленные на создание, совершенствование и применение государственных и вторичных эталонов, стандартных образцов, разработку нормативных документов в определении химического состава вещества.

Свердловск был базой Государственной службы стандартных образцов; большой вклад в развитие этой службы внес д.т.н. А.Б. Шаевич.

Современной тенденцией в исследованиях аналитиков Урала является разработка простых портативных датчиков, сенсоров, приборов, тест-систем, способных использоваться в режиме *in situ*, *on site*, *online*, *point-of-care*. В Уральском государственном лесотехническом университете под руководством И.Н. Липунова и И.Г. Первой разрабатываются гибридные химические тест-системы для сигнального и полуквантитативного определения химической загрязненности воды, почвы, воздуха, продуктов питания металлами-токсикантами, в которых сочетаются максимальная экспрессность анализа, удобство применения, наглядность результата и достоверность.

В последнее десятилетие у аналитиков Урала наблюдается смещение акцента с решения задач в области металлургии или охраны окружающей среды на решение проблем медицинской диагностики и персонализированной медицины, что сопряжено с предстоящим переходом к высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения. Замена неорганических аналитов на аналиты биоорганической природы в сложных матричных объектах анализа поставила перед аналитиками ряд сложных задач, решение которых потребовало знания в области органической, коллоидной, физической, полимерной химии, а следовательно, и объединение знаний и усилий ученых разных научных школ. Совершенно очевидно, что будущее уральской науки состоит в развитии существующих и становлении новых научных школ, в усилении активного взаимодействия между академической, вузовской наукой и производством, отраслевыми предприятиями.

В коротком предисловии к специальному выпуску “Аналитическая химия Урала” невозможно охватить и описать все научные направления и школы, творческие коллективы и производственные лаборатории Урала, их историю и достижения в области аналитической химии. Но даже в рамках этого небольшого повествования можно представить, насколько многогранна и разнообразна аналитическая химия на Урале и насколько преданно и верно служат ей уральские химики-аналитики.

Этот специальный выпуск журнала включает работы уральских ученых, посвященные определению различных целевых аналитов в пищевых продуктах, лекарственных препаратах, биологических жидкостях, производственных отходах, почвах, осадочных и геологических породах с использованием электрохимических, спектроскопических, хроматографических, сорбционных и других методов.

Н.Ю. Стожко

УДК 543.06

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ С МИКРОЭЛЕМЕНТАМИ: МЕТОДЫ И ПОДХОДЫ

© 2023 г. И. В. Волков^а, *, Е. В. Поляков^а

^аИнститут химии твердого тела Уральского отделения Российской академии наук
ул. Первомайская, 91, Екатеринбург, 620108 Россия

*e-mail: ilyavolkov@ihim.uran.ru

Поступила в редакцию 27.03.2023 г.

После доработки 01.06.2023 г.

Принята к публикации 01.06.2023 г.

В обзоре проанализированы исследования последних 20–25 лет в области физикохимии комплексообразования гуминовых кислот с катионами, включая их радионуклиды, в водных растворах. Выявлены проблемы описания реакционной способности гуматных комплексов с учетом объективной сложности химической природы гуминовых кислот как одного из основных классов природного органического вещества. Рассмотрены основные методы моделирования комплексообразования с гуминовыми кислотами, экспериментальные методы разделения комплексов гуматов и несвязанного катиона (ультрафильтрация, диализ и др.), прямые инструментальные методы обнаружения комплексов (электрохимические, спектроскопические). Также уделено внимание практическому аспекту использования гуминовых кислот для очистки природных и сточных вод от загрязняющих веществ – тяжелых металлов и радионуклидов. Проанализированы литературные данные о сорбционной способности гуминовых кислот различного происхождения по отношению к катионам тяжелых металлов, а также количественные данные, характеризующие устойчивость гуматных комплексов.

Ключевые слова: гуминовые кислоты, комплексообразование, микроэлементы, радионуклиды, методы.

DOI: 10.31857/S0044450223120228, **EDN:** YXOLYV

Гумификация – комплекс биохимических реакций, происходящих с участием микроорганизмов, воды и кислорода, которые приводят к разложению мертвого органического материала – остатков растений и животных. В результате гумификации образуются гуминовые вещества (ГВ) – полидисперсные и гетерогенные смеси высокомолекулярных органических молекул. Для описания механизма гумификации существует несколько гипотез, наиболее значимыми из которых считаются поликонденсационная и гипотеза окислительного кислотообразования [1, 2]. В целом с химической точки зрения разложение и гумификацию можно условно отнести к процессам медленного окисления и взаимодействия между собой продуктов распада органического материала (фенольных соединений, хинонов, аминокислот) с образованием темноокрашенных веществ. В связи с этим ГВ составляют подавляющую долю (80–90%) форм органического углерода в почве, грунтовых и подземных водах. Кроме того, ГВ не являются сами по себе стабильными продуктами гумификации и подвергаются дальнейшему разложению, но со скоростями еще более низкими, чем негуминизированные органические остатки. С этим связана как сложность описания состава и

строения данных соединений, так и множество противоречий в их взаимодействиях с окружающей средой, неорганическими веществами. В гетерогенных реакциях участвуют входящие в их состав гидрофильные и гидрофобные группы, способные реагировать и с ионами металлов, и с органическими молекулами [3]. Считается, что молекулярная масса ГВ может быть распределена в довольно широком диапазоне – от 10^3 до 10^6 Да (атомных единиц массы) [1, 3, 4].

Гуминовые вещества подразделяют на гуминовые кислоты (ГК, нерастворимы в кислой среде), фульвокислоты (растворимы во всем диапазоне pH), гиматомелановые кислоты (спирторастворимая часть) и гумин (нерастворимый остаток). Гуматы (соли ГК) извлекаются в основном из торфа и каменного угля с помощью водных растворов щелочей. При подкислении полученных при этом растворов ГК образуют темноокрашенный объемистый осадок. Известно, что по своей химической структуре ГК являются высокомолекулярными конденсированными ароматическими соединениями переменного состава, в которых установлено наличие фенольных гидроксильных, карбоксильных, карбонильных и ацетогрупп, простых эфирных связей [5].

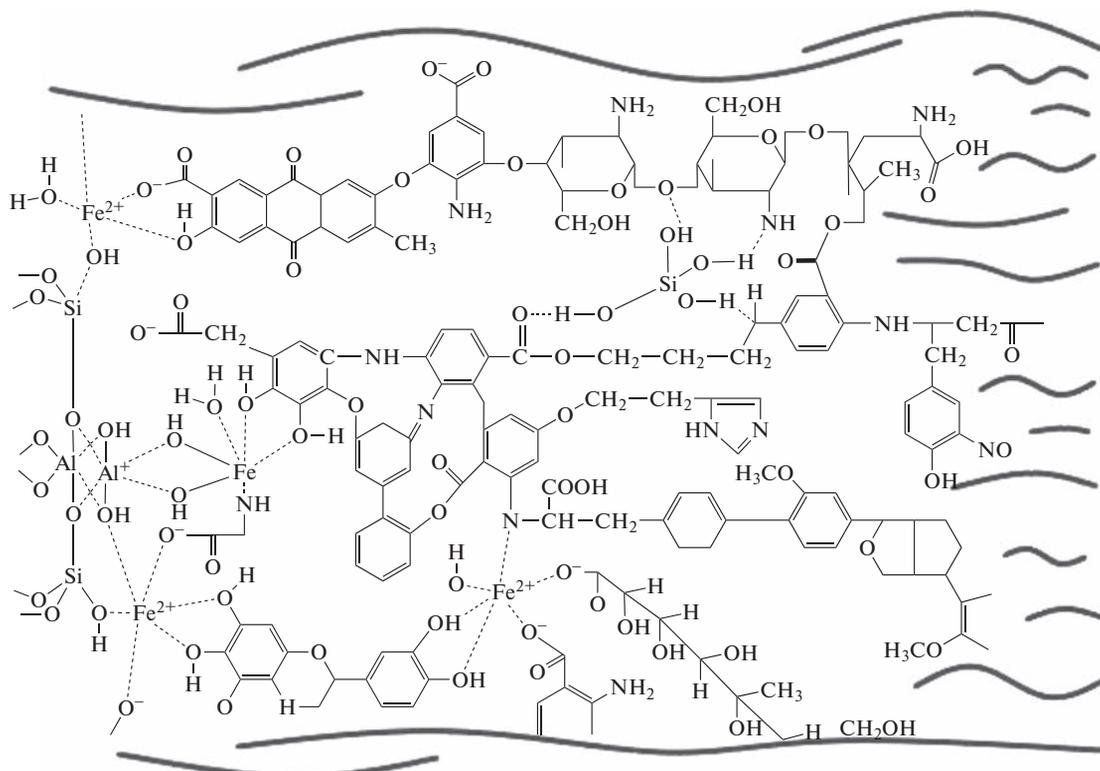


Рис. 1. Фрагмент гипотетической структуры гуминовых кислот по Клейнхемпелю [6].

Предложенные к настоящему моменту варианты интерпретации состава ГК как составной части ГВ имеют гипотетический характер, так как инструментальными методами пока невозможно точно определить расположение атомов и атомных групп в неоднородной смеси природных ГВ. Наиболее сложная и многофункциональная структура ГК изображена Клейнхемпелем [6]. Фрагмент данной структуры приведен на рис. 1. Согласно Клейнхемпелю, макромолекула ГК имеет “плоскую” основу из бензольного каркаса, обильно представленного концевыми функциональными группами. В качестве примера внутрисферного комплекса на рис. 1 можно отметить координации $O-Si-O$, $O-Fe-OH$. Главной особенностью данной схемы является показанный способ “прикрепления” макромолекулы ГК к поверхности алюмосиликатных минералов (левая часть рис. 1).

Таким образом, полифункциональный характер, сочетание гидролизующих и негидролизующих фрагментов, и, как следствие, наличие обменных и обменных протонных групп различной кислотности дают возможность ГК принимать участие в поверхностных химических взаимодействиях и быть одним из регуляторов массопереноса ионов металлов в водных и почвенных экосистемах [7–11]. Гуминовые кислоты обладают высоким сродством к большинству ионов металлов. Они связывают их в прочные гуматные ком-

плексы, обладающие собственной сорбционной активностью в водных системах и взаимодействующие с минеральными взвешьями, коллоидами, биотой [12–18]. Гуминовые кислоты могут влиять на формы состояния и подвижность ионов металлов природного и антропогенного происхождения. Последнее играет роль регулятора в снижении токсичности и радиотоксичности загрязнителей воды и почвы [19–25]. Важная роль в иммобилизации и транспорте ионов микроэлементов благодаря комплексообразованию, ионному обмену, адсорбции позволяет использовать ГК в качестве модельной группы природного органического вещества. Однако механизм этих процессов недостаточно изучен из-за трудностей, связанных, прежде всего, с чувствительностью структуры ГК к изменению pH [26].

Различные аналитические методы часто дают противоречивую информацию о составе и размере частиц гуматов. Продолжается дискуссия об истинной природе структур и молекулярно-массового распределения ГК. Классический подход, согласно которому частицы гуматов в растворе являются полноценными макромолекулами [2, 3], остается главным в науке о ГВ. Большую дискуссию вызывает интерпретация гуматов как сочетания малых макромолекул и супрамолекулярных ассоциаций, согласно которой ГВ представляют собой частицы с изначально низ-

кой молекулярной массой (10^2 Да), способные к агрегации с помощью водородных и ковалентных связей [27, 28]. При этом ГК в растворах электролитов формируют мицеллы, наружные оболочки которых состоят из гидрофильных фрагментов, а внутренние — из гидрофобных. Предложен и более обобщенный подход, в котором макромолекула рассматривается в сочетании с сорбируемыми на ней малыми органическими молекулами [29].

Считается, что кислотные функциональные группы ГК взаимодействуют с микроэлементами в основном двумя путями: ионным обменом и поверхностным комплексообразованием [30]. Ионный обмен происходит из-за электростатического притяжения между отрицательно заряженными функциональными группами (например, карбоксильными) и положительно заряженными катионами. Поверхностное комплексообразование происходит за счет химической координации катионов между функциональными группами и, в отличие от ионного обмена, является необратимым процессом. Кроме того, последний тип взаимодействия часто называют специфическим, а ионообменное взаимодействие — неспецифическим.

В связи с увеличением количества публикаций по теме комплексообразования природного органического вещества возникла необходимость систематизации модельных подходов и аналитических методов изучения взаимодействия микроэлементов с ГК. Согласно данным электронных библиотек ScienceDirect и Springer Link, за последние годы в 2–3 раза увеличилось число публикаций по химии ГК. Это вызвано накоплением большого количества данных по сорбционным процессам с участием ГК и их комплексообразованию с микроэлементами и радионуклидами (рис. 2). Повышенный интерес исследователей связан также с возможностью использовать новые физические и физико-химические инструментальные методы применительно к радиохимии, геохимии, радиоэкологии и другим пограничным дисциплинам. Несмотря на большое количество информации, доступной по тематике взаимодействия ГК с микроэлементами, в этой области все еще остается много вопросов.

МОДЕЛИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ С МИКРОЭЛЕМЕНТАМИ

Представляет интерес прогнозирование химического состава ионов в присутствии ГК. Ясно, что их влияние важно учитывать при моделировании массопереноса микроэлементов и радионуклидов в окружающей среде.

За последние 20 лет произошел значительный прогресс в понимании гетерогенной природы связи функциональных групп ГК с ионами метал-



Рис. 2. Рост числа публикаций с 2000 по 2020 год, посвященных комплексообразованию и сорбции с участием гуминовых кислот, по данным электронных библиотек ScienceDirect (белые точки) и Springer Link (черные точки).

лов (микроэлементы, радионуклиды). Накоплен большой экспериментальный опыт по изучению поглощения катионов металлов ГК спектроскопическими методами, методами ионного обмена, ультрафильтрации, экстракции, хроматографии, диализа. Разработан ряд модельных подходов, описывающих влияние ГК на миграцию и транспорт микроэлементов и радионуклидов. Неопределенности в распределении молекулярной массы и размера макромолекул ГК по-разному учитываются в этих подходах — и по аналогии с обычным низкомолекулярными лигандами [31, 32], и с учетом электростатических эффектов, характерных для полиэлектролитов [33–35]. Предложено несколько моделей взаимодействия ГК с ионами микроэлементов, в которых отражается химическая разнородность активных центров, и в некоторых из них учитываются электростатические эффекты, связанные с отрицательным зарядом макромолекул. Благодаря этим подходам улучшилось понимание структуры ГК, что помогло объяснить часто сложное поведение этих систем.

Модель 1 : 1. Рассмотрим образование комплекса ионов металла M с макромолекулой гуминовой кислоты HA , которая обладает несколькими (n) активными центрами комплексообразования. Модель задается следующим уравнением:

$$a = \frac{nK[M]}{1 + K[M]} \quad (1)$$

Уравнение (1) выражает равновесие, при котором происходит образование гуматного комплекса состава 1 : 1 и по сути представляет собой модель Ленгмюра, которая чаще используется для описания адсорбции. В данном уравнении величина a — количество связанного катиона (моль/г), n —

содержание активных центров (моль/г), K – константа комплексообразования (л/моль).

Уравнение также можно представить в виде

$$\frac{a}{[M]} = K(n - a). \quad (2)$$

Выражение (2) называется уравнением Скетчарда [31], а график, построенный в координатах $a/[M]$ – a графиком Скетчарда, который является одним из самых распространенных методов линеаризации уравнения (1). Такая модель применима, только если величины a и $[M]$ достаточно малы, поскольку она не учитывает неоднородность активных центров ГК. При соблюдении этого условия, величина n приобретает физический смысл максимальной емкости ГК по отношению к ионам M , а величина K – константы устойчивости гуматного комплекса.

Модель 1 : 2. При наличии двух и более типов активных центров, не взаимодействующих между собой, уравнение (1) преобразуется аддитивно. Например, на практике наиболее распространена модель с двумя видами активных центров (А и В):

$$a = a_A + a_B = \frac{n_A K_A [M]}{1 + K_A [M]} + \frac{n_B K_B [M]}{1 + K_B [M]}. \quad (3)$$

Как правило, в качестве двух типов активных центров ГК рассматривают карбоксильные ($-\text{COOH}$) и фенольные ($-\text{ArOH}$) группы.

Модель нейтрализации заряда. Данная модель позволяет учитывать влияние дополнительного конкурирующего катиона [32] и выражается следующим уравнением:

$$[MHA(z)] = \frac{[HA(z)]_t \alpha \beta [M^{z+}]}{1 + \beta [M^{z+}]} \quad (4)$$

$[MHA(z)]$ – концентрация металла в виде гуматного комплекса; β – константа комплексообразования; $[HA(z)]_t = [MHA(z)] + [HA(z)]$ – общая концентрация функциональных групп гумата, способных нейтрализовать заряд катионов; α – емкость ГК, равная отношению максимально возможного $[MHA(z)]$ к протонообменной емкости C_H . Полученное уравнение эквивалентно уравнению (1), если учесть, что $n = [HA(z)]_t \alpha$, а $K = \beta$. При этом величина α , как правило, определяется путем подбора экспериментальных данных, а C_H – потенциометрическим титрованием.

Данная модель предполагает, что количество функциональных групп, составляющих активный центр ГК, равно заряду катиона z , а концентрация всех функциональных групп, участвующих в комплексообразовании, зависит от степени диссоциации протонов. Таким образом, как и в простейшей модели (1), здесь также предполагается образование комплексов состава 1 : 1, однако с учетом того, что количество связанного катиона

определяется через α и C_H . При $\alpha = 1$ получим выражение для максимальной емкости: C_H/z .

Типпинг [34] указывает, что недостатком модели является предположение об эквивалентности заряда катиона и денатностью ГК, особенно с учетом того, что допускается максимальное заполнение активных центров, вплоть до $\alpha = 1$. Предполагается, что катионы не могут вытеснять протоны с их позиций, а могут лишь присоединяться только к свободным активным центрам. Однако практика показывает, что добавление катиона-конкурента вытесняет практически все протоны. Наконец, как и в случае с моделью (1), естественным ограничением является предположение об однородности активных центров, а применение модели рекомендуется при низких значениях α .

Модель средней молекулярной массы. В основу модели положена одна из характеристик ГК – средняя молекулярная масса (M_{HA}). Ввиду сложности учета неоднородности размера частиц ГК, данная модель рассматривает строение ГК как единой гипотетической макромолекулы с молекулярной массой, равной средней молекулярной массе смеси составляющих ее реальных молекул. Модель средней молекулярной массы изложена авторами работы [36], где M_{HA} принята равной $\sim 10^4$ Да, и приводятся экспериментальные значения констант кислотной диссоциации двух типов карбоксильных групп и фенольных групп. Показано, что сильнокислотные карбоксильные группы полностью диссоциируют при $\text{pH} \geq 4$, слабокислотные при $\text{pH} \geq 7$, а диссоциация фенольных гидроксильных групп незначительна и происходит при $\text{pH} < 8.5$.

Предполагается, что комплексообразование происходит только с диссоциированными карбоксильными группами. Величины их зарядов можно рассчитать следующим образом:

$$n = \frac{M_{HA} Q_S}{1 + K_S [H^+]}, \quad m = \frac{M_{HA} Q_W}{1 + K_W [H^+]}, \quad (5)$$

где n и m – заряды сильных (с более высокой степенью диссоциации) и слабых карбоксильных групп соответственно; Q_S и Q_W – общие концентрации сильно- и слабокислых карбоксильных групп (моль/кг). K_S и K_W – константы устойчивости соответствующих комплексов. Максимальные значения стехиометрических коэффициентов при катионе M^{z+} равны n/z и m/z по абсолютной величине. Таким образом, заряд ГК зависит от pH и влияет на значения стехиометрических коэффициентов. Таким модельным подходом наиболее удобно пользоваться при достаточно низких концентрациях катионов металлов (микроэлементов) по сравнению с концентрацией ГК, что можно считать недостатком. Преимуществом же является учет

среднего заряда макромолекулы ГК ($Z = m + n$), который по данным [36] может достигать $50 e^-$ /моль.

Модель V учитывает электростатическое взаимодействие между активными центрами ГК. Например, влияние такого взаимодействия на диссоциацию протонов можно понять следующим образом. Когда изначально незаряженная многопротонная кислота диссоциирует с выделением протонов, ее суммарный заряд становится все более отрицательным. Таким образом, первые выделяющиеся протоны испытывают меньшую суммарную кулоновскую силу притяжения, чем последующие, что означает, что эффективная константа диссоциации уменьшается и кислота становится слабее. Количественно такой эффект можно описать с помощью уравнения Танфорда [37]:

$$K = K_{in} e^{2wzZ}, \quad (6)$$

где Z – средний заряд макромолекулы ГК, z – заряд катиона (для протона: +1), K – константа диссоциации (при определенном значении Z), K_{in} – собственная константа диссоциации (при $Z = 0$), а w – параметр, выражение для которого можно вывести из теории Дебая–Хюккеля (зависит от природы макроиона, ионной силы и температуры). Таким образом, по мере того как Z становится все более отрицательным, экспоненциальный член уменьшается, как и величина K . При известных значениях w можно оценить влияние электростатических эффектов. Такие же принципы применимы не только к кислотной диссоциации, но и к взаимодействиям с участием катионов металлов.

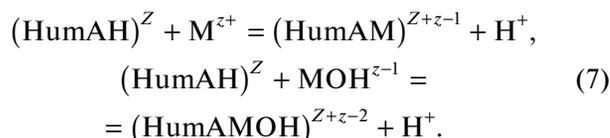
Авторы данной модели [34] определяли величину w из упрощенного эмпирического выражения $w = PlgI$, где I – ионная сила раствора, P – электростатический параметр, который учитывает притягивающие или отталкивающие взаимодействия между ионами и заряженной макромолекулой.

Распределение заряда приближенно описывается с помощью модели Доннана, когда вблизи центрального аниона макромолекулы ГК преобладают противоионы (катионы). Размер зоны, в которой происходит накопление противоионов, определяется молекулярным радиусом (R), полученным из плотности частиц, предполагаемой молекулярной массы, толщины диффузного слоя. Для ГК принято значение $R = 1.72$ нм молекулярная масса 15000 Да и плотность 1.2 г/см³. Каждому противоиону соответствует коэффициент селективности (K_{sel}).

Предполагается, что ГК состоят из жестких сфер одинакового размера. Ионообменные группы расположены случайным образом на их поверхности. Диссоциация осуществляется за счет восьми кислотных групп различной силы. Наиболее сильные кислотные группы 1–4 (группы типа А) представляют собой в основном карбоксильные группы, в то время как группы (типа В) относятся

к более слабым кислотам, например фенольным соединениям. Каждой группе типа А присваивается содержание $n_A/4$ моль/г ГК, а каждой группе типа В – содержание $n_B/8$ моль/г. Таким образом, в пределах своего типа каждая группа присутствует в равных количествах, а групп типа В всегда вдвое меньше, чем групп типа А. Установленная таким образом регулярность групп упрощает описание мультидентатных активных центров при комплексообразовании с катионами металлов.

Катионы и продукты их гидролиза конкурируют друг с другом и с протонами за функциональные группы типа А и В. Моноидентатное комплексообразование с группами типа А формулируется как обмен протона и катиона:

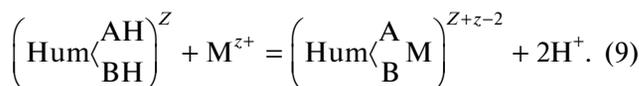


Аналогичные реакции происходят для групп типа В. Константа равновесия для активных центров типа А определяется как

$$K_{MHA} = \frac{[\text{HumAM}][H^+]}{[\text{HumAH}][M]} = \frac{[\text{HumAMOH}][H^+]}{[\text{HumAH}][\text{MOH}]}, \quad (8)$$

и существует аналогичная константа для центров типа В. Таким же образом записываются и константы комплексообразования с депротонированными группами.

Бидентатные центры образуются путем объединения ионообменных групп в пары и могут быть, например, центрами типа А–А или А–В



Константами равновесия являются произведения констант для отдельных групп:

$$K_{MH_2A_2} = K_{MHA}^2, \quad K_{MH_2AB} = K_{MHA} K_{MHB}. \quad (10)$$

Спаривание обменных центров выполняется таким образом, что все бидентатные центры представлены в равном количестве, но используются только 12 из 36 возможных комбинаций. Только обменные группы, которые находятся достаточно близко друг к другу, способны образовывать бидентатные центры. Близость оценивается статистически, предполагая, что группы расположены случайным образом на поверхности сферы. Например, пары могут образовывать бидентатные центры, если находятся на расстоянии менее 0.45 нм. Такие центры участвуют только в бидентатных реакциях с катионами и не могут образовывать моноидентатные комплексы. Долю обменных центров, способных образовывать пары, в данной модели принято обозначать f_{pr} .

Максимальное число параметров в данной модели составляет шесть для диссоциации протонов и три для каждого катиона металла. Три параметра (радиус, молекулярная масса и коэффициент близости) должны быть заданы заранее. На практике установлено, что разумные результаты могут быть получены путем установления взаимосвязи между pK_{MHA} и pK_{MNB} , а для достаточно разбавленных систем значения K_{sel} можно принять за единицу. Модель V не рассчитана на малое число сильных сорбционных центров, поэтому ее недостатком является неработоспособность при низких концентрациях катиона металла. Это учтено в Модели VI.

Модель VI является развитием модели V и отличается механизмом реакции комплексообразования [34]. Вместо констант реакций обмена “катион металла–протон” используются только константы равновесия реакций присоединения катионов депротонированными центрами, т.е. монодентатное комплексообразование происходит в соответствии с общей реакцией



а константы равновесия задаются следующими выражениями

$$\begin{aligned} \text{для } i = 1-4 \lg K(i) &= \lg K_{MA} + \frac{2i-5}{6} \Delta LK_{A1}, \\ \text{для } i = 5-8 \lg K(i) &= \lg K_{MB} + \frac{2i-13}{6} \Delta LK_{B1}, \end{aligned} \quad (12)$$

где ΔLK_{A1} и ΔLK_{B1} – соответствующие “константы распространенности”, которые можно оценить аппроксимацией данных. Таким образом, величины $\lg K(i)$ равномерно распределены вокруг среднего значения константы равновесия ($\lg K_{MA, MB}$).

Для бидентатного центра, содержащего отдельные группы j и k , константа ассоциации $K(j, k)$ задается как

$$\lg K(j, k) = \lg K(j) + \lg K(k) + x \Delta LK_2, \quad (13)$$

где ΔLK_2 – параметр, которым задается дополнительная гетерогенность активных центров. Значение коэффициента x равно 0 для 90.1% центров, 1 для 9% и 2 для 0.9%. Таким образом, задается определенная неоднородность с небольшим количеством сильных центров, большим количеством центров средней силы и большинством слабых. В модели VI катионы металлов и их продукты гидролиза могут присоединяться как к бидентатным, так и к тридентатным центрам:

$$\begin{aligned} \lg K(l, m, n) &= \lg K(l) + \lg K(m) + \\ &+ \lg K(n) + y \Delta LK_2. \end{aligned} \quad (14)$$

Здесь y равно 0, 1.5 или 3 для соответствующего содержания центров: 90.1, 9 и 0.9%. Каждый ион металла имеет свой параметр ΔLK_2 , отвечающий

за склонность к взаимодействию с азот- или серо-содержащими лигандами.

Количество бидентатных и тридентатных центров на поверхности молекулы ГК рассчитывается вероятностным методом (аналогично модели V). Доли отдельных групп, которые вносят вклад в такие центры, определяются из предположения, что они расположены случайным образом на сферической поверхности макромолекулы. Доля групп, образующих бидентатные центры, обозначается f_{prB} , а тридентатные – f_{prT} , принимающие статистически усредненные модельные значения 0.50 и 0.065 для ГК [34]. Показано также, что содержание наиболее распространенных (монодентатных центров типа A) составляет 4×10^{-4} моль/г, а самых редких (тридентатных центров, состоящих из трех групп типа B) – 9×10^{-9} моль/г. Последнее соответствует приблизительно одному центру на 7500 молекул для ГК с молекулярной массой 15000 Да.

В модели VI вклад каждого катиона металла (плюс его первый продукт гидролиза) можно оптимизировать с помощью шести (K_{MA} , K_{MB} , ΔLK_{A1} , ΔLK_{B1} , ΔLK_2 , K_{sel}) параметров. На практике это количество можно существенно уменьшить. Например, в работе [38] предлагается единое универсальное значение для ΔLK_{A1} и ΔLK_{B1} а также ΔLK_2 в виде приближения $\Delta LK_2 = 0.58 \lg K_{NH_3}$, где K_{NH_3} – константа образования аммиачного комплекса. По аналогии с моделью V K_{sel} можно принять за единицу и использовать корреляцию между K_{MA} и K_{MB} .

В итоге для моделирования экспериментальных данных достаточно лишь корректировки K_{MA} [39]. Высокие значения K_{MA} означают, что катион металла прочно связан распространенными слабыми центрами. Высокие значения ΔLK_2 означают, что металлу отдают предпочтение малораспространенные сильные центры, связанные согласно модели с атомами N или S. Если ΔLK_2 мал, сильные центры не являются предпочтительными, и комплексообразование происходит преимущественно за счет связывания O-содержащими центрами.

Модель VII. Применение модели VI к описанию комплексообразования ГК с лантаноидами, Co^{2+} , UO_2^{2+} выявило новые данные [40, 41], что потребовало изменить предполагаемый состав активных центров. Стало очевидно, что модель неправильно оценивает зависимость комплексообразования от pH при $pH > 7$, что можно объяснить предполагаемыми мультидентатными центрами с более чем одним типом слабокислотного лиганда (например, фенольного гидроксила). Отличие модели VII заключается в измененном рас-

положении мультидентатных центров и исключения некоторых параметров (ΔLK_{A1} , ΔLK_{B1}).

Типпинг [34] отметил, что соотношение между $\lg K_{MA}$ и $\lg K_{MB}$, т.е. средними константами комплексообразования с более слабыми и более сильными кислотными центрами, было примерно таким, как ожидалось из данных для простых лигандов, т.е. сродство данного металла к слабо-кислотным группам может быть сильнее, чем к карбоксильным. Возникла идея о взаимосвязи данного катиона металла с различными О-содержащими лигандами:

$$\lg K_{MB} = \lg K_{MA} \frac{pK_B}{pK_A}. \quad (15)$$

Другими словами, относительная сила связывания для данного катиона металла такая же, как и для протона. Авторы работы [39] применили эту идею также к “константам распространенности” ΔLK_{A1} и ΔLK_{B1} и обнаружили, что их можно полностью исключить. Предпочтительнее фиксировать одно и то же значение $\lg K_{MA}$ для каждого из четырех центров типа А и $\lg K_{MB}$ с тем же значением для каждого из четырех центров типа В.

Преимуществом Моделей V–VII является правильная с химической точки зрения формулировка реакций комплексообразования, основанная на законе действующих масс. Рассмотрим другой подход, также учитывающий неоднородность и электростатические эффекты ГК, но основанный на принципе распределения.

Модель неидеальной конкурентной адсорбции. Эмпирическое уравнение неидеальной конкурентной адсорбции (НИКА, [42]) выглядит следующим образом:

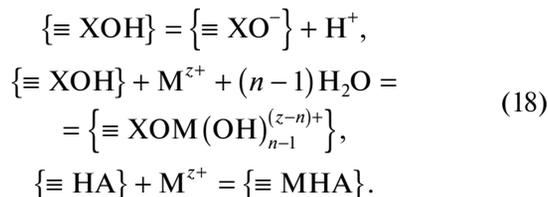
$$\theta_i = \frac{(K_i c_i)^{n_i} \left[\sum (K_i c_i)^{n_i} \right]^p}{\sum (K_i c_i)^{n_i} \left(1 + \left[\sum (K_i c_i)^{n_i} \right]^p \right)}. \quad (16)$$

Данная модель была призвана сконструировать универсальное математическое выражение, сочетающее преимущества теории Лэнгмюра для энергетически неоднородных сорбционных центров и эмпирического уравнения адсорбции Фрейндлиха, предполагающего существование экспоненциального распределения сорбционных центров по энергиям (θ – степень заполнения активных центров). В выражении (16) использованы два параметра неоднородности: n_i – показатель, относящийся к отдельному иону (H^+ или катиону металла), p – ко всем ионам. Для вычисления количества связанных ионов каждого типа (Q_i , моль/г), θ_i умножается на содержание активных центров Q_{max} : $Q_i = \theta_i Q_{max}$. Предполагается, что i -е частицы реагируют с одним центром. Позднее было представлено уточнение [43]

$$Q_i = \theta_i \frac{n_i}{n_H} Q_{max,H}, \quad (17)$$

где n_H – значение n для протонов, $Q_{max,H}$ – максимальная протонообменная емкость. Применение модели к ГК требует параметризации двух классов активных центров для протонов и ионов металлов. Таким образом, должны быть оптимизированы значения $Q_{max1,H}$ и $Q_{max2,H}$. Каждому классу соответствует значение p , а для каждого иона есть значения K_1 , K_2 , n_1 и n_2 . В работе [43] для описания электростатических взаимодействий использовалась модель Доннана. В случае протонов оптимизируются произведения $n_1 p_1$ и $n_2 p_2$. Для ионов металлов, которые всегда конкурируют с протонами, должны быть найдены универсальные значения p_1 и p_2 , а затем и специфичные для ионов значения n_1 и n_2 . Данная модель успешно обеспечивает соответствие некоторых экспериментальных данных по комплексообразованию.

Модель поверхностного комплексообразования и метод Шуберга. Данный подход основан на электростатической модели двойного диффузного слоя [44] и описывает сорбционные процессы с помощью равновесия поверхностных реакций:



Тройная черта здесь обозначает принадлежность к поверхности оксигидратного минерала X или гуминовой кислоты NA. В условиях явно конкурентной системы (например, при $pH > 7$) и при достаточно малой концентрации металла выражение для β_{NA} в данной модели имеет вид:

$$\beta_{NA} = \left((1-P) \frac{C}{\alpha_{XOH}} \sum_n \frac{1}{[H^+]^{n+1}} - P \alpha_M \right) / P [\equiv \text{NA}], \quad (19)$$

где P – отношение концентрации сорбированного катиона металла к общей концентрации в растворе, α_M – коэффициент, учитывающий формы неорганических комплексов, C – протонообменная емкость сорбента, $\alpha_{XOH} = 1/(1 + K[H^+]^{-1})$ – константа кислотности $\equiv \text{XOH}$ групп. Таким образом, величину β_{NA} можно оценить, исходя из pH , при котором не происходит сорбция ГК поверхностью минерала.

Более простым подходом к моделированию реакций поверхностного комплексообразования считается уравнение Шуберга [45]:

$$\lg \left[\alpha_M \left(\frac{K_d^0}{K_d} - 1 \right) \right] = n \lg [\equiv \text{HA}] + \lg \beta_{\text{HA}}, \quad (20)$$

где K_d^0 и K_d – коэффициенты распределения катиона металла между сорбентом и водным раствором в отсутствие и в присутствии ГК. Их определяют экспериментально, а $[\equiv \text{HA}]$ как произведение концентрации (в г/л) на протонообъемную емкость ГК. Пользуясь уравнением (20), β_{HA} определяют из графика, построенного в координатах $\lg[\alpha_M(K_d^0/K_d - 1)] - \lg[\equiv \text{HA}]$.

Таким образом, рассмотрен ряд моделей для описания взаимодействия микроэлементов с ГК. Две из них считаются наиболее успешными и нашли широкое применение. Это – модель VI (VII), которая имитирует химическую неоднородность с конечным числом дискретных активных центров, и модель неидеальной конкурентной адсорбции, основанная на подходе непрерывного распределения. С их помощью обнаружено, что связывание ионов металлов в значительной степени не зависит от происхождения гумата. Определены общие параметры, характерные для любых образцов ГК. Преимущество этих моделей также в том, что они были включены в коды геохимического программного обеспечения для определения форм состояния микроэлементов [46–49]. Помимо определения форм состояния эти модели улучшили понимание параметров комплексообразования, таких как дентатность или координационное число для гуматных комплексов.

Однако не потеряли актуальности и гораздо более упрощенные подходы. Например, многие авторы используют модель нейтрализации заряда, в которой ГК рассматривается как смесь простых лигандов, имеющих одну и ту же константу. В отличие от более сложных подходов, электростатические эффекты здесь не учитываются, поскольку модель предполагает, что большая часть гуминовых веществ состоит из относительно небольших молекул с молекулярными массами в районе 500 Да и имеющих в среднем 3–4 единицы заряда на молекулу. Значительные электростатические эффекты у таких частиц не предполагаются. Уравнение (2) также считается полезным и наглядным методом графического моделирования зависимости между количеством связанного микроэлемента a (моль/г) и его отношением к концентрации $a/[M]$. Отклонения от линейности графика Скетчарда принято относить к наличию активных центров, обладающих различным сродством к исследуемому катиону.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГУМАТНЫХ КОМПЛЕКСОВ

Рассмотрим для начала методы физического отделения гуматных комплексов от несвязанного микроэлемента. После достижения физического разделения обычно требуется инструментальное определение химического элемента. В связи с этим подходы, применяемые в экспериментах по комплексообразованию, сочетают в себе различные методы химического разделения, например экстракцию, ионный обмен, ультрафильтрацию или осаждение, с чувствительными методами детектирования элементов – спектроскопией поглощения в инфракрасной области, флуоресцентной спектроскопией, масс-спектрометрией. Диапазон исследуемых концентраций зависит от чувствительности аналитического метода. Современное оборудование позволяет определить концентрации микроэлементов на уровне 1 нМ. Очень низкие концентрации микроэлементов можно обнаружить с помощью радиоизотопных индикаторов с известной удельной активностью.

Равновесный диализ. Метод равновесного диализа заключается в измерении распределения форм микроэлементов между внутренним и внешним растворами, разделенными полупроницаемой мембраной. Данная техника основана на применении изделий из мембранного материала – диализных пакетов или трубок, которые помещают во внешний раствор. Размеры пор мембраны таковы, что препятствуют прохождению макромолекул ГК, а несвязанные катионы микроэлементов либо другие низкомолекулярные компоненты способны свободно проходить через мембрану. При исследовании комплексообразования микроэлементов с ГВ чаще всего используют вариант равновесного диализа, при котором в систему дополнительно вводят низкомолекулярный органический или неорганический лиганд с известными характеристиками. Такой метод принято называть ионообменным равновесным диализом.

На начальном этапе в диализный пакет вводят катионы металла, конкурирующий лиганд (L), инертный электролит или буфер. В качестве L используют органические хелаты, карбонат-ионы [40], ЭДТА [50]. Во внешний раствор помещают ГК и все те же компоненты (в тех же концентрациях, что и во внутреннем растворе), кроме катиона. Систему приводят к равновесному состоянию, например, с помощью лабораторного шейкера. Таким образом, растворимые формы металла представлены свободными катионами, комплексами с ГК и контрольным лигандом L во внутреннем и внешнем растворах. В равновесии L-комплексы равномерно распределяются по обе стороны от диализной мембраны, в то время как гуматные комплексы остаются снаружи, поскольку они слишком велики, чтобы диффундировать через мембрану.

Концентрации ГК во внутреннем и внешнем растворах можно определить спектрофотометрически. Концентрации гуматных комплексов определяют по разности концентраций во внутреннем (L-комплексы с катионами металла) и внешнем (общий металл) растворах:

$$Q = \frac{[MHA]}{[ML]} = \frac{[M^{z+}]_{t(\text{внеш.})} - [M^{z+}]_{t(\text{внутр.})}}{[M^{z+}]_{t(\text{внутр.})}}. \quad (21)$$

Условные константы комплексообразования определяют по формуле [40]:

$$K_{MHA} = \frac{Q\alpha_M}{[HA]_{t(\text{внеш.})} - [HA]_{t(\text{внутр.})}(Q+1)}, \quad (22)$$

где α_M – доля, отвечающая за комплексообразования с L и OH^- .

На рис. 3а приведена схема данного метода в состоянии равновесия. L-комплексы (мелкие точки) способны проникать через мембрану и диффундировать в обе стороны, однако гуматные комплексы (крупные точки) слишком велики и остаются во внешнем растворе. При диализном равновесии концентрации L-комплексов во внутреннем и внешнем растворах выравниваются.

Недостатками метода на практике является способность ГК диффундировать через мембрану и возможное образование тройных комплексов. Также макромолекула ГК может закрыть собой часть мембраны, из-за чего возникнет некомпенсированный заряд (эффект Доннана). Вероятность данного эффекта возрастает с увеличением концентрации ГК и со снижением ионной силы раствора.

Ультрафильтрация. В данном методе используются фильтрующие элементы, изготовленные из мембранного материала, которые могут удерживать ГК и гуматные комплексы, позволяя при этом проходить низкомолекулярным веществам. Как правило, диаметр пор мембраны, подходящий для этих целей, соответствует 0.01–0.1 мкм. Раствор или суспензия, содержащие известные концентрации ГК и микроэлемента в состоянии равновесия, фильтруются либо за счет приложенного давления, либо способом вакуумной фильтрации, когда разрежение создается в принимающей фильтрат емкости путем откачки воздуха (рис. 3б). Количество связанного в гуматный комплекс микроэлемента определяется разницей между его исходной концентрацией и концентрацией в фильтрате [51].

Ультрафильтрация не снижает чувствительность аналитического метода определения микроэлемента в фильтрате (атомно-эмиссионная спектрометрия, масс-спектрометрия). Уникальным преимуществом метода является возможность фракционирования гуматных комплексов

по молекулярной массе [52]. Эксперименты по ультрафильтрации часто приводят к возрастанию случайных погрешностей, поскольку определяют только концентрацию свободных катионов металла (концентрация комплексных ионов вычисляется по разности от общей концентрации), и на нее оказывают влияние эффекты адсорбции на фильтре и попадание в фильтрат гуматных комплексов малого размера. В целом недостатки мембранной фильтрации те же, что и у предыдущего метода: прохождение гуматов через поры, засорение мембраны, эффекты электрического заряда на мембране.

Жидкостная экстракция. Метод основан на распределении ГВ между двумя несмешивающимися жидкими фазами. Исходную смесь приводят в контакт с органическим экстрагентом и перемешивают в закрытом сосуде (делительная воронка, пробирка или любая другая удобная емкость). После отстаивания происходит разделение на органическую фазу, куда переходят гуматные комплексы, и водную фазу (внизу), которая отделяется путем слива через кран либо отбирается с помощью остроконечного дозатора (рис. 3в). Водная фаза содержит оставшиеся в растворе свободные катионы металла.

В качестве экстрагентов применяют как многокомпонентные системы (например, раствор смеси трибутилфосфата и теноилтрифторацетона в додекане [53]), так и однокомпонентные (например, изобутанол [54]). Для определения констант устойчивости гуматных комплексов проводят эксперименты по экстракции в присутствии и в отсутствие ГК. Коэффициент распределения микроэлемента в отсутствие (D_0) и в присутствии (D) ГК определяют по отношению концентраций микроэлемента в органической и водной фазах ($c_{орг}/c_{водн}$). Считается, что при концентрациях ГК до 10 мг/л различие между D и D_0 несущественно, и константы устойчивости гуматных комплексов удобно определять из следующего выражения [53]:

$$\lg D = \lg D_0 - \lg(1 + \beta[HA]^n). \quad (23)$$

Капиллярный электрофорез. Разделение гуматных комплексов микроэлементов и их неорганических форм методом капиллярного электрофореза основано на различии в кинетике их миграции внутри тонкого кварцевого капилляра, заполненного раствором электролита. Схематически устройство метода изображено на рис. 3г. На подвижность частиц в капилляре оказывают влияние два потока – электрофоретический и электроосмотический. Электроосмотический поток образуется при движении диффузной части двойного электрического слоя вблизи стенок капилляра и имеет направление от анода к катоду. Таким образом, нейтральные гуматы и свободные катионы металлов наиболее активно движутся в

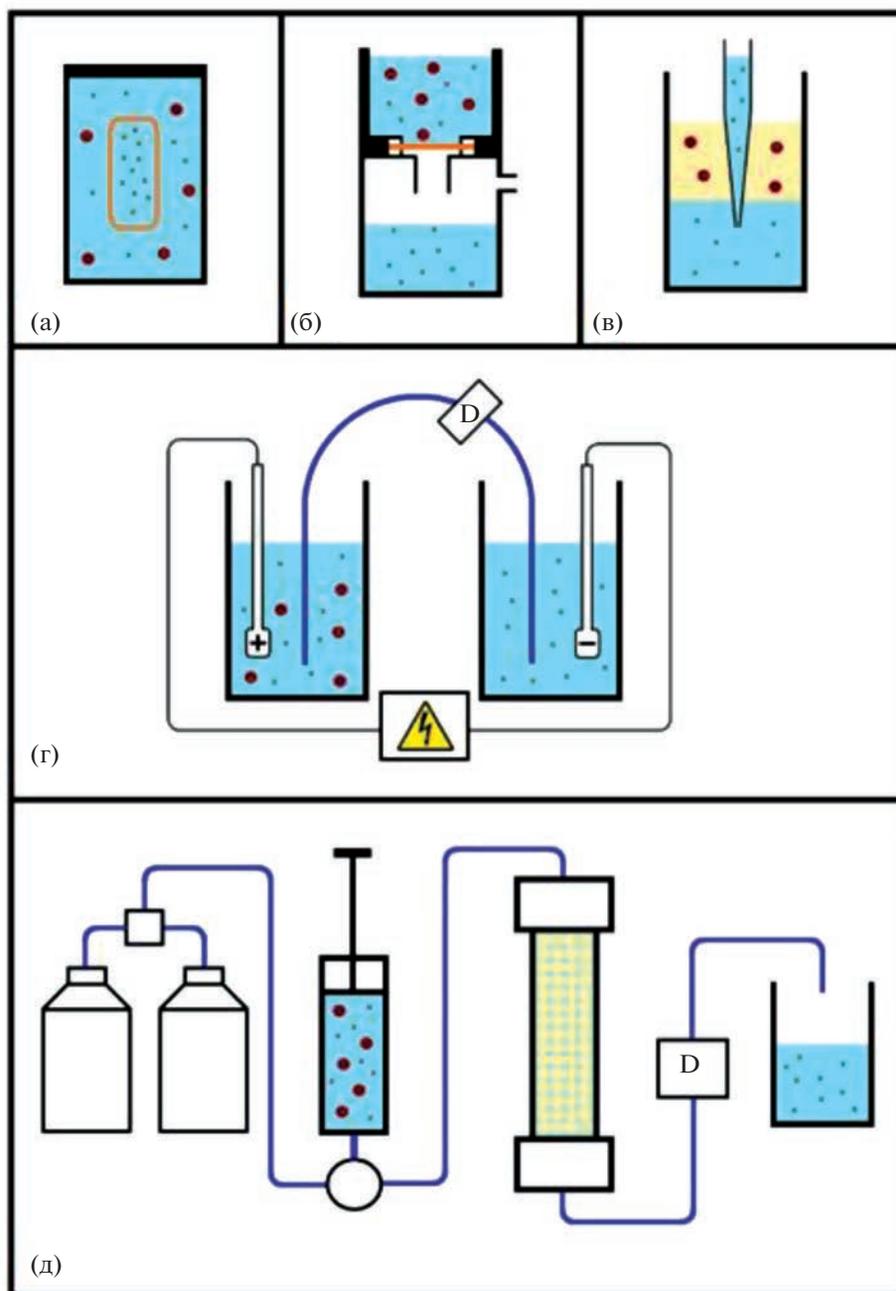


Рис. 3. Примеры методов разделения гуматных комплексов и свободных катионов микроэлементов (схематически): (а) – равновесный диализ (РД), (б) – ультрафильтрация (УФ), (в) – жидкостная экстракция (ЖЭ), (г) – капиллярный электрофорез (КЭ), (д) – высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Частицы гуматных комплексов изображены крупными точками, свободные катионы – мелкими точками. D – обозначение детектора.

сторону катода, в то время как отрицательно заряженные макромолекулы ГК (анионы) перемещаются к катодному концу гораздо медленнее за счет их собственной электрофоретической подвижности в противоположную сторону. В современных исследованиях данный метод используется в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием частиц, проходящих через капилляр. Ка-

пиллярный электрофорез и масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (КЭ-МС-ИСП) широко используется для определения форм состояния микроэлементов при изучении комплексообразования с ГК. Основные преимущества метода включают скорость анализа, малые объемы образцов и возможность контролировать несколько элементов и изотопов в режиме реально-

го времени при низких пределах обнаружения (≤ 0.1 п.п.м). Разделение методом капиллярного электрофореза обеспечивает однозначное обнаружение каждой формы элемента как в составе гуматного комплекса, так и вне его, тогда как мембранные методы разделения позволяют определять только общие концентрации элемента.

В работе [55] для масс-спектрометрического детектирования в ГК вводили стабильные изотопы ^{127}I . В результате сигнал ^{127}I показывал зону миграции отрицательно заряженных гуматных комплексов. В качестве индикатора незаряженных частиц использовали 1-бромпропан. По сигналу ^{81}Br определяли электроосмотический поток во время разделения. В работе [50] поток внутри капилляра контролировали детектированием ионов Na^+ в образцах и буферном растворе. Таким образом, сигналы от различных изотопов в спектре могут быть отнесены к соответствующим формам микроэлемента.

Значения условных констант устойчивости β находят следующим образом:

$$\beta = \frac{[\text{MHA}]}{[\text{M}^{z+}]_f([\text{HA}]_t - [\text{MHA}])}, \quad [\text{HA}]_t = \frac{c_{\text{HA}}c_{\text{H}}}{z}. \quad (24)$$

Концентрацию гуматного комплекса $[\text{MHA}]$ определяют масс-спектрометрически (по сигналу от массы элемента M). c_{HA} — концентрация ГК (г/л), c_{H} — протоннообменная емкость ГК (моль/г), $[\text{M}^{z+}]$ — концентрация свободного катиона M , z — заряд катиона.

Высокоэффективная жидкостная хроматография — современный метод колоночной хроматографии, один из наиболее часто используемых методов для анализа ГВ. С помощью ВЭЖХ гуминовые вещества можно разделить на фракции с разными структурными особенностями. Метод также может быть полезен при сравнении гуминовых фракций, полученных из разных источников. Схема метода представлена на рис. 3д. На рисунке изображены две емкости с подвижными фазами (элюенты), которые насос подает на инжектор пробы, откуда далее смесь поступает в хроматографическую колонку.

Разработаны хроматографические методы, в которых гуматные комплексы микроэлементов проходят через подходящую колонку, а свободные катионы улавливаются неподвижной фазой. Затем количество связанного элемента можно определить анализом элюата. Например, метод эксклюзионной хроматографии (ЭХ) в сочетании с масс-спектрометрией позволяет эффективно определять свободные и связанные ГК катионы микроэлементов [56, 57]. В данном методе свободные катионы и гуматные комплексы проходят через эксклюзионную колонку за различное время благодаря разнице в размерах молекул.

Разделение по молекулярной массе, как и ионообменное, основано на том, что гуматные комплексы в значительной степени не диссоциируют во время элюирования. Через хроматографическую колонку, обычно обеспечивающую разделение по размеру молекул, пропускают раствор интересующего металла с известной концентрацией, после чего вводят гуминовое соединение. Наполнителем колонки, как правило, служит макропористый SiO_2 . Определяют концентрацию металла во фракциях элюата. В результирующем профиле появляется пик связанного катиона и впадина, возникающая благодаря свободному катиону, не связанному с ГК.

Пики гуматов при этом фиксируют с помощью УФ-детектора при длине волны 254–270 нм (ЭХ-УФ-ИСП-МС). Стандарты молекулярных масс для ГВ определяются по полистиролсульфонатам (до 80000 Да). Для достоверной регистрации гуматных комплексов также используют [56, 58] метод ионообменной ВЭЖХ в сочетании с атомно-флуоресцентной спектрометрией с образованием гидридов (ВЭЖХ-АФС). Однако в работе [56] указывается, что, в отличие от ЭХ, данным методом не удалось выявить гуматные комплексы $\text{As}(\text{III})$ из-за того, что они задерживаются анионообменной колонкой.

Концентрацию связанного катиона металла определяют по площади пика гуматного комплекса и отношению концентрации данного катиона (стандарта) к площади пика. Из баланса масс между общей концентрацией катиона металла и связанной в гуматный комплекс определяют лабильную концентрацию $[\text{M}']$. Емкость ГК и константу комплексообразования можно рассчитать из уравнения (2) либо графика, построенного в координатах $([\text{M}']/[\text{MHA}]) - [\text{M}']$. Эксклюзионная хроматография обеспечивает непрерывное молекулярно-массовое распределение из-за гетерогенного состава органического вещества, представленного гуматами.

Электрохимические методы. Из электрохимических методов наиболее распространены методы вольтамперометрии, в которых ионы металлов сначала подвергаются электроосаждению и затем восстанавливаются на ртутном электроде. Таким образом, данные методы лучше всего подходят для определения катионов металлов, образующих амальгаму со ртутью, например медь, цинк, кадмий, свинец. В современных методах вольтамперометрии используется потенциостат с тремя электродами: рабочим, вспомогательным и электродом сравнения. Суть данных методов заключается в изменении потенциала рабочего электрода относительно электрода сравнения. На рабочем электроде происходит окисление аналита, в результате чего поток электронов движется в сторону вспомогательного электрода. Измеряется ток, протекаю-

щий между рабочим и вспомогательным электродами.

Дифференциальная импульсная вольтамперометрия — достаточно чувствительный метод исследования взаимодействия между ионами тяжелых металлов и ГК и оценки констант устойчивости гуматных комплексов [59, 60]. Данный метод отличается тем, что на медленно изменяющемся по линейному закону постоянное напряжение накладывают кратковременные (1–3 с) равные импульсы (20–100 мВ). Ток измеряют дважды — до подачи импульса и в конце действия импульса.

В работе [59] использовали висющую ртутную каплю в качестве рабочего электрода, хлоридсеребряный электрод сравнения, вспомогательный электрод из стеклоуглерода и буферный раствор состава $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$. На первом этапе ионы металлов предварительно концентрировали в каплю ртути путем восстановления при -1.2 и -1.0 В. Затем после периода покоя в течение 20 с подавали положительный потенциал и регистрировали токи окисления металлов. Титрование проводили прямым добавлением растворов, содержащих катионы металлов, в ячейку с фоновым электролитом, буферным раствором и ГК. Для определения констант устойчивости гуматных комплексов использовали модель 1 : 1, расчет проводили, исходя из угловых коэффициентов (k_1 и k_2) зависимости тока пика от общей концентрации добавленного катиона: $\beta = (k_2 - k_1)/k_1 n$, где комплексобразующая емкость ГК n определяется из графика как абсцисса точки излома кривой. Здесь k_1 — коэффициент, полученный в присутствии ГК. Прямые с k_1 имеют меньший наклон, чем полученные в отсутствие комплексобразования (т.е. без ГК) k_2 [59].

Разрабатываются также динамические (проточные) методы исследования комплексобразования с гуматами на основе вольтамперометрии. В работе [61] предложена процедура последовательной инъекции для определения коэффициентов диффузии и параметров комплексобразования ртути(II) с ГК. В конструкцию проточной ячейки входит золотой электрод, выполненный по технологии трафаретной печати, серебряный электрод сравнения и графитовый вспомогательный электрод. Подобные системы инъекции дают возможность варьировать объем пробы и скорость потока, что позволяет без инструментального вмешательства оптимально подстраивать систему для достижения необходимых аналитических параметров.

Недостатки методов вольтамперометрии связаны с трудностями восстановления металла из комплексов, а также их диссоциацией. Одно из главных преимуществ метода — использование недорогого и портативного оборудования, которое можно применять в полевых условиях.

Спектроскопические методы основаны на изменении спектроскопического сигнала химическим элементом или гуминовым веществом, что может быть связано с комплексобразованием. Флуоресценция и УФ- и видимая спектроскопия — классические методы, исследования спектральных свойств ГК, включая различного рода эффекты [62], а также взаимодействие с ионами металлов. Установлено, что такие параметры спектроскопических методов, как длина волны возбуждения, индекс флуоресценции, индекс гумификации и положение пиков флуоресценции значительно различаются в зависимости от молекулярной массы [63].

Одним из самых доступных спектроскопических методов — спектроскопия в УФ- и видимой областях спектра [64, 65]. Метод основан на экспериментальной регистрации полосы поглощения гуматного комплекса исследуемого элемента. В присутствии ГК наблюдается смещение характерного пика поглощения. При этом наличие устойчивой изобестической точки указывает на образование только одной новой формы микроэлемента. Условные константы комплексобразования можно рассчитать, исходя из предположения, что новый пик представляет собой гуматный комплекс состава 1 : 1. Применяя закон Бугера—Ламберта—Бера, оптическую плотность A в системе можно выразить следующим образом:

$$A = \varepsilon_0 [M] + \varepsilon [MHA], \quad (25)$$

где ε и ε_0 — молярные коэффициенты поглощения.

Значения ε_0 и ε можно определить по отношению A к общей концентрации катиона для нулевых значений $[MHA]$ и $[M]$ соответственно. Образование комплекса $[MHA]$ задается следующим выражением:

$$\beta = \frac{[MHA]}{[M](c_{\text{HA}}c_{\text{H}} - [MHA])}, \quad (26)$$

где c_{HA} — концентрация ГК (г/л) и c_{H} — ее протонообменная емкость (моль-экв/г). Для данного соотношения $[M]/[MHA]$ и известного значения c_{H} соответствующее значение c_{HA} может быть вычислено как функция β .

Широко применяют метод гашения флуоресценции (флуоресцентного титрования) [66–68]. Обнаружены заметные эффекты тушения флуоресценции при связывании ионов тяжелых металлов различными фракциями ГК. Однако в некоторых случаях установлен противоречивый характер таких эффектов. Для некоторых тяжелых металлов корреляция между их комплексобразующей способностью и флуоресценцией гуматов не подтверждается [69]. В случае возникновения таких противоречий возможно применение комбинации метода тушения флуоресценции и моде-

лирования, например, с помощью модели неидеальной конкурентной адсорбции. Такой подход дает лучшее понимание механизма связывания катионов ГК различных по молекулярной массе фракций [70].

Эксперименты по титрованию проводят, как правило, для серии растворов ГК с предустановленным рН, к которым добавляют небольшой (1 мл) объем раствора титранта — соли исследуемого металла. Затем в растворах создают равновесные условия, например, путем встряхивания в шейкере в течение до 24 ч [70]. Для измерений обычно используются многоканальные люминесцентные спектрометры. Происхождение контура флуоресценции водных растворов ГК обусловлено вкладом от флуорофоров, имеющих различную химическую природу и входящих в состав разных макромолекул и, соответственно, флуоресцирующих при разных длинах волн. Современные системы обеспечивают измерение спектров флуоресцентной эмиссии при различных длинах волн, что позволяет строить трехмерный спектр возбуждения—эмиссии флуоресценции (excitation-emission matrix, EEM) [71–73], используемый для идентификации флуорофоров и выбора оптимальных условий их регистрации. Для обработки данных используют следующие модельные подходы:

Уравнение Штерна—Фольмера [74, 75] учитывает две фракции флуорофоров — подверженных воздействию добавляемого катиона и недоступных:

$$\frac{\Phi_0}{\Phi_0 - \Phi} = \frac{1}{f_M \beta} + \frac{1}{f_M}, \quad (27)$$

где Φ_0 и Φ — интегральные интенсивности флуоресценции ГК в отсутствие и в присутствии катиона металла-тушителя, f_M — доля доступных к тушению катионами металла флуорофоров,

Модель Райана—Вебера [66]:

$$a = \frac{\beta(c_M - ac_{HA})}{1 + \beta(c_M - ac_{HA})}, \quad a = \frac{\Phi_0 - \Phi}{\Phi_0 - \Phi_{MHA}}, \quad (28)$$

где $c_M = [M] + [MHA]$, $c_{HA} = [HA] + [MHA]$ — общие концентрации ионов металла и гумата, a — количество связанного металла, Φ_{MHA} — значение предельной интенсивности (при котором флуоресценция ГК прекращает уменьшаться при добавлении катиона металла-тушителя). Решение первого выражения относительно a и его комбинирование со вторым дает возможность определить константу комплексообразования a также емкость ГК ($c_L/[HA]$).

Для определения гуматных комплексов также широко распространен метод лазерной флуоресцентной спектроскопии с разрешением во времени (ЛФС-РВ). В основе метода лежит лазерная установка с неодимовым твердотельным лазером [76–79]. Метод позволяет без использования разделения оценить количество иона, связанного с

ГК, и дифференцировать его окружение. Например, для возбуждения флуоресценции ионов Eu^{3+} выбирают длины волн в диапазоне 250–400 нм. Установлено, что при взаимодействии ионов Eu^{3+} с ГК тушение флуоресценции происходит по статическому механизму, т.е. с образованием нефлуоресцирующего комплекса [77]. Спектры возбуждения—эмиссии обрабатывают путем разложения на составляющие с помощью алгоритмов параллельного факторного анализа (PARAFAC) [80]. Так, для европия обнаружены вклады трех различных факторов, характеризующих три формы: катион Eu^{3+} и два типа гуматных комплексов [81].

Спектроскопические методы не вызывают возмущения исследуемой системы. Основными недостатками являются невысокая чувствительность и небольшой диапазон определяемых концентраций. Как и в методах вольтамперометрии, необходима интерпретация сигналов, и для получения количественных данных необходимо сделать некоторые предположения. Например, тушение гуминовой флуоресценции катионом металла часто принимают пропорциональным количеству связанного металла.

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Полифункциональность и структурное многообразие позволяет ГК принимать участие в гомо- и гетерогенных ионных, молекулярных и окислительно-восстановительных процессах. Растворы ГК различные авторы относят и к молекулярным, и к коллоидным растворам, однако существует третий подход, в котором свойства гуматной системы определяются степенью протонирования функциональных групп. Кислотность среды и взаимодействие с катионами элементов влияют на формирование мицелл или истинно растворенных молекул [82, 83]. Таким образом, образование комплексных соединений ГК с ионами микроэлементов и радионуклидов может существенно влиять на их концентрацию в водах, выполняя роль химического регулятора. Рассмотрим данные исследования более подробно с разделением химических элементов по семействам.

Ионы d-элементов. Наибольшее количество данных по комплексообразованию с ГК накоплено для переходных металлов (d-металлов). В частности, определены параметры связывания ионов меди(II) различными фракциями ГК, выделенных из донных отложений [72]. С помощью двухсортной модели Ленгмюра установлены величины констант устойчивости, соответствующие сильным и слабым активным центрам, равные 3283 и 0.87. Работа традиционно подтверждает влияние карбоксильных и фенольных групп, содержание которых во фракциях ГК играет определяющую роль в

комплексобразовании. Взаимодействие ионов меди с ГК глубинных подземных вод изучали методом калориметрического титрования, т.е. путем прямого измерения теплоты реакции [84]. Отмечена особенность комплексообразующих свойств данного типа ГК, которая заключается в слабом полиэлектролитном эффекте и низкой гетерогенности. Благодаря этому комплексообразование с ГК глубинных подземных вод полностью отличается от типичных ГК почв, торфов, например, практически не зависит от pH. Авторы предполагают, что отрицательный заряд на поверхности молекулы, возникающий в результате диссоциации функциональных групп, невелик из-за более простой структуры, характерной для ГК с молекулярной массой <math>< 1000</math> Да. Установленное в этом исследовании значение $\lg\beta$ для ГК подземных вод оказалось равным 2.9, а для почвенной ГК 4.5, что в целом согласуется с константами, определенными ранее [85–88]. Известно также, что в условиях конкуренции с ионами железа(III) значение константы устойчивости гуматного комплекса меди оказалось равным $\lg\beta = 1.82$ (pH 4) [89].

Модель неидеальной конкурентной адсорбции и Модель VII применяли для обработки экспериментальных данных по взаимодействию ГК с ионами Ni(II) и Co(II), полученных в условиях высокого солевого фона ($\text{NaCl} + \text{NaClO}_4$) и при pH 6 [90]. Наблюдаемая тенденция уменьшения констант комплексообразования с ростом ионной силы до 4 моль/кг согласуется с экспериментальными результатами как при низкой, так и при высокой исходной концентрации катиона. Модель VII переоценивает комплексообразование Co и Ni максимум на одну логарифмическую единицу и последовательно предсказывает уменьшение констант с ростом ионной силы от 0.3 до 1 моль/кг, а при $I > 1$ моль/кг предсказанные константы для Co и Ni расходятся. Тем не менее, несмотря на потенциальную неопределенность в базах данных, в целом прогнозируемый эффект I относительно невелик при значениях выше 1 моль/кг как для Ni, так и для Co, что согласуется с экспериментальными результатами.

Сравнение констант устойчивости с приведенных в других источниках показывает некоторое несоответствие полученным ранее величинами $\lg\beta = 2.8$ для кобальта при $I = 0.1$ М [40, 86]. В указанных работах приводятся также значения констант устойчивости гуматных комплексов никеля(II) при pH 6 ($\lg\beta = 4.0$) [40] и pH 3.5 ($\lg\beta = 3.20$) [86].

Методами эксклюзионной хроматографии в сочетании со спектроскопией в ультрафиолетовой области оценили условия комплексообразования ионов железа(III) с ГК в водной среде [91]. Сильное влияние pH на комплексообразование вызвано депротонированием ГК и гидролизом железа(III). Комплексообразование железа(II) с

ГК при 25°C и pH 6 достигает максимума. Сделано предположение, что гуматные комплексы железа в природе образуются в основном в пресноводных водоемах, их максимальные концентрации достигаются в летнее время года при умеренной солнечной радиации. Приведены данные о составе комплекса железа(III) в пресных водах Великобритании, полученные с помощью Модели VI [89]. Также в результате обработки ряда данных по Модели VI установлены наилучшие значения параметров связывания Fe(III) и Fe(II) [89, 92].

Механизм комплексообразования ионов железа(II) с ГК изучали методами флуоресцентной и ИК-спектроскопии, а также методом коагуляции [73]. Обнаружено, что при pH 5 преобладает бидентатный (хелатный) режим координации, тогда как при pH 7 преобладает мостиковый режим. Константы устойчивости гуматных комплексов железа, определенные с помощью модели флуоресценции Райана – Вебера, принимали близкие значения и находились в пределах $\lg\beta$ 5.01–5.35 (pH 5 и 7). При pH 5 гуматные комплексы железа полностью растворимы при концентрации железа, которая положительно коррелировала с содержанием COOH и OH-групп в ГК, что свидетельствует о защитном влиянии отрицательно заряженных функциональных групп на стабильность раствора. При pH 5 дестабилизация системы происходит при нейтрализации заряженных структур ГК катионами железа и сжатием двойного электрического слоя. Установлено, что при pH 5 большая часть железа остается в виде растворимых гуматных комплексов, а при pH 7 образующийся гидроксид действует как флокулянт и дестабилизирует раствор за счет соосаждения с ним гуматных комплексов железа.

Такой химический элемент, как кадмий токсичен даже при весьма низких концентрациях, склонен к замещению цинка и накоплению в живых организмах. Для более глубокого понимания подвижности различных форм кадмия в окружающей среде исследуют его взаимодействие с ГК. Так, методом дифференциальной импульсной вольтамперометрии изучали комплексообразование Zn(II) и Cd(II) с ГК почв Алжира [59]. В одном из экспериментов полученные при pH 7 и $I = 0.1$ М (KNO_3) значения $\lg\beta$ для цинка и кадмия оказались равными (5.08). В случае второго образца ГК данные величины также достаточно близки. Эти данные согласуются с полученными ранее для кадмия(II) при pH 8, $\lg\beta = 5.04$ [85]. Сходство комплексообразования Zn(II) и Cd(II) подтверждается также при pH 3.5: полученные в работе [86] величины $\lg\beta$ равны 2.74 и 2.78 соответственно.

Методом флуоресцентного титрования изучали связывание ионов кадмия ГК лесных почв Китая [70]. Экспериментальные константы комплек-

сообразования определяли с помощью модели Штерна–Фольмера и сравнивали их с данными моделирования (модели Ленгмюра и неидеальной конкурентной адсорбции). Установлено, что среди фракций ГК с ростом молекулярной массы емкость по отношению к ионам кадмия (доля флуорофоров, участвующих в комплексообразовании) снижается из-за возможного уменьшения количества фенольных групп. Однако сродство (величины констант комплексообразования) к ионам кадмия в этом ряду увеличивается, достигая значения $\lg\beta = 3.47$ для фракции >30 кДа (рН 6, $I = 0.01$ М (KNO_3)). Методами вольтамперометрии и высокоэффективной эксклюзионной хроматографии получены гораздо более высокие значения ($\lg\beta_{1,1} = 8.31$ и 8.02 , $\lg\beta_{1,2} = 6.97$ и 6.18) для почвенной ГК, состоящей из фракций 52, 4.5 и 0.9 кДа [57].

В связи с проблемой попадания ртути на полигоны твердых бытовых отходов и ее дальнейшей миграции в почву и подземные воды методом флуоресцентной спектроскопии изучали комплексообразование ионов ртути(II) с гуминовыми веществами [93]. Для различных образцов ГК, экстрагированных из почв полигонов, установлены значения констант устойчивости гуматных комплексов ртути в пределах $\lg\beta$ 4.7–5.17 (рН ~ 6, $I = 0.01$ М (KNO_3)). С этими значениями хорошо согласуется полученная вольтамперометрическим методом в аналогичных условиях $\lg\beta = 4.2$ [61].

Описан экспериментальный метод определения форм состояния Hf и Zr в водных растворах, основанный на совместном действии двух конкурирующих лигандов – гумата и этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) [50]. Для определения содержания гуматных и ЭДТА-комплексов использовали метод капиллярного электрофореза. Результаты проверяли методом равновесного диализа с использованием эксклюзионной мембраны с размером пор 1 кДа. Эксперименты выполнены при рН 3.5–7 с растворами, содержащими один катион металла, ГК и ЭДТА. Оба метода дали почти идентичные константы для гуматных комплексов металлов при рН < 7. Данная работа подтверждает образование гуматных комплексов с четырехвалентными катионами, константы устойчивости которых на несколько порядков выше констант комплексов с редкоземельными элементами (РЗЭ).

Ионы s-элементов. Присутствие в природных водах одновременно большого числа ионов металлов порождает конкурентные реакции при формировании равновесного состояния. Конкурентное комплексообразование катионов кальция, никеля и алюминия с ГК проанализировано в рамках модели поверхностного комплексообразования [94]. Отмечена сильная конкуренция Ni(II) и Ca(II) в реакциях с ГК: константы поверхностного комплексообразования, определенные для системы с одним катионом, показали отличие

от данных для смеси. Показано, что высокие концентрации ионов кальция в загрязненных подземных водах могут подавлять комплексообразование других элементов, а увеличение рН и концентрации ГК способно ослабить такие конкурентные взаимодействия. Необходимо учитывать подбные конкурентные взаимодействия с основными растворенными компонентами в водах показана также в работах по комплексообразованию ионов кальция с ГК [40, 95–97]. Например, методом ультрафильтрации изучали связывание стронция и кальция в системах, предназначенных для моделирования условий выщелачивания этих катионов из почвы [98]. Эксперименты проводили в широком диапазоне концентраций NaCl и CaCl_2 при рН 4–7. Обнаружено, что в нейтральных и слабодиссоцированных растворах увеличение степени ионизации карбоксильных групп увеличивает связывание ими стронция (~60% при рН 7). Комплексообразование стронция в присутствии кальция изучали в условиях изменения концентраций металлов при рН 5 и $I = 0.1$ М (NaCl), применив модель нейтрализации заряда. Определены емкость (около 40%) и константы $\lg\beta$ для ионов стронция (3.51) и кальция (3.10). Линейный характер зависимости концентрации свободного металла от мольной доли функциональных групп подтверждает обоснованность модели (12).

Данные для кальция [98] согласуются со значениями, полученными в других исследованиях: 2.94 при рН 4.70 и $I = 0.1$ моль/л (NaCl) [96]; 3.32 при рН 5.0 и $I = 0.1$ М (NaClO_4) [95]. При этом некоторые источники приводят более низкую по сравнению с указанными выше величину $\lg\beta$, равную 0.8–1.5 [40]. Известна также единственная оценка константы устойчивости гуматного комплекса магния, определенная ионообменным методом: $\lg\beta = 2.35$ (рН 3.5) [86].

Ионы p-элементов. Комплексообразование свинца(II) с ГК, полученной из торфа сельского поселения Церова (Словакия) при рН 4–5 и ионной силе $I = 0.1$ М (NaClO_4), исследовано в работе [99] методом ультрафильтрации. Авторы выбрали модель нейтрализации заряда (12). Полученное значение константы устойчивости $\lg\beta$ составило 5.20; предполагается, что взаимодействие с ГК может подавлять гидролиз катиона. Данная оценка не согласуется с величиной $\lg\beta = 3.66$, полученной при рН 3.5 для почвенной ГК [86].

Установлено, что связывание ионов алюминия ГК происходит наиболее активно при рН 4–6 [100]. На основе совокупности имеющихся в литературе экспериментальных данных о формах состояния ионов алюминия в природных водах получена оценка константы комплексообразования гуматного комплекса алюминия, равная $\log K_{\text{MA}} = 2.6$ [89]. С помощью Модели VI подтвер-

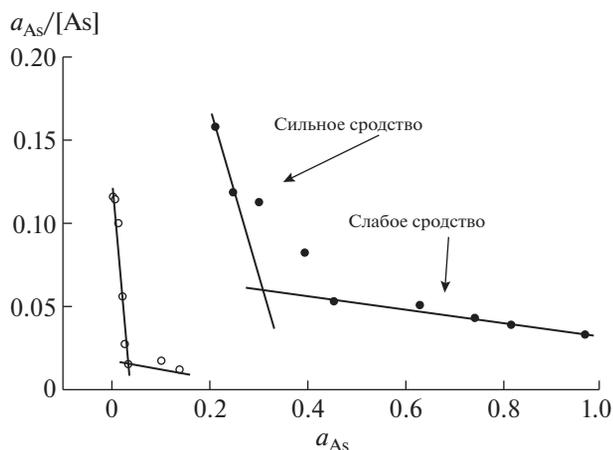


Рис. 4. Графики Скетчарда (уравнение (6)) для комплексообразования мышьяка(III) с гуминовой кислотой (Aldrich, США) по данным [58] (черные точки) и [56] (белые точки), линейно обработанные по двухсортовой модели. Пересечения прямых и их угловые коэффициенты соответствуют двум типам (для “сильных” и “слабых” активных центров) констант устойчивости гуматных комплексов мышьяка(III) и максимальной емкости гуминовой кислоты.

ждено, что при pH 4–9 алюминий, наряду с железом(III), являются конкурентами при комплексообразовании микроэлементов, обладающих более высоким сродством к ГВ (Cu, Zn), так как заполняют преимущественно “сильные” активные центры. При этом в других исследованиях отмечается, что уже при pH 5 вследствие гидролиза и осаждения алюминий слабо влияет на комплексообразование никеля(II) с ГК [94].

Ионы мышьяка As(III) и As(V) образуют гуматные комплексы в водных растворах [58]. Экспериментальные данные по комплексообразованию показывают наличие двух основных типов активных центров ГК, участвующих в комплексообразовании с мышьяком(III, V). Константы устойчивости комплексов, рассчитанные из графика Скетчарда по двухсортовой модели (рис. 4), составили 2.5 для As(III) и 3.8 для As(V) для “сильных” центров, а для центров слабого комплексообразования – 0.02 и 0.03 соответственно. Однако в работе [56] методом эксклюзионной хроматографии с УФ-детектированием получены значения $\lg\beta$ для “сильных” и “слабых” активных центров, равные 7.1 и 4.7. Таким образом, на примере ионов мышьяка(III) можно показать высокую степень несоответствия результатов различных исследований, что можно объяснить высокими начальными концентрациями мышьяка в работе [58]. Снижение константы устойчивости вызвано обильным заполнением “слабых” центров основным количеством мышьяка при увеличении его концентрации. Характеристики ГК одного типа (Sigma-Aldrich) по отношению к ионам

мышьяка(III) в схожих условиях (pH 7–7.5) могут противоречить друг другу. Полученные в данных работах значения максимальной емкости ГК по отношению к ионам мышьяка(III) для “сильных” и “слабых” центров составили соответственно 0.012–0.27 и 0.18–2.51 мкмоль/л. На примере ГК, полученных из речных и озерных вод Бразилии, показано, что их емкость по отношению к мышьяку(III) составляет 0.32 ммоль/г при pH 4.5 и снижается до нуля с ростом pH до 9 [101].

Ионы f-элементов. Actиниды. Известно, что взаимодействие ГК с радионуклидами вовлекает последние в круговорот органического углерода [102]. Ряд исследований посвящен определению констант устойчивости гуматных комплексов актинидов различными экспериментальными методами. Ионнообменным методом определены константы устойчивости комплексов урана(VI) с ГК при pH от 4.0 до 5.0 в 0.10 М NaClO₄ [103]. Установлено, что модель Шуберта дает дробное число лигандов, связывающих ион уранила, что указывает на более сложную по сравнению с низкомолекулярными органическими кислотами стехиометрию комплексообразования. Сделано предположение, что ионообменная смола может сорбировать смесь комплексов уранил–лиганд 1 : 1 и 1 : 2. Указано на необходимость учета ограниченного числа сорбционных центров с высоким сродством к уранил-иону, образующих комплекс состава 1 : 1. Авторы работ [53, 104] исследовали комплексообразование америция(III) при различных pH в 0.1 М растворе NaClO₄. Константы устойчивости гуматных комплексов америция также определяли методом Шуберта. Показано, что величины $\lg\beta_{1:1}$ и $\lg\beta_{1:2}$ незначительно повышаются с увеличением pH с 4 до 6 и составляют соответственно 6.9 и 11.6 при pH 5. Значительно более высокие значения констант найдены методом жидкостной экстракции. Возможно, это вызвано взаимной растворимостью фаз и взаимодействиями на границе раздела. Эти результаты не противоречат данным [105, 106] по изучению связывания америция(III) ГК в речной воде на основе анализа молекулярно-массового распределения молекул по размеру. Гуминовую кислоту выделяли из речных вод различного качества (pH 3.9–8.0, концентрация растворенного органического углерода 2–40 мг/л) и использовали для сравнения их влияния на связывание америция(III). В присутствии ГК количество растворенного америция(III) увеличивается за счет образования комплексов. Среди гуматных комплексов америция(III) преобладали молекулярные фракции размером 450 нм (10–100 кДа). Авторы сделали вывод, что свойства гуматных комплексов америция(III) в водах зависят от содержания в растворе ГК и углеводов, протоннообменной емкости ГК. Присутствие ГК влияет на формы состояния микроколичеств тория(IV) в природных водах

[107, 108]. Определение констант комплексообразования для гуматных комплексов тория(IV) представляет сложную экспериментальную задачу в связи с низкой растворимостью оксида тория и сорбцией ионов тория(IV) стенками сосудов [109].

Доказано, что ГВ влияют на окислительно-восстановительное поведение радионуклидов [107]. ГК являются не только эффективными восстановителями для шестивалентных Np(VI) и Pu(VI), но также образуют устойчивые комплексы этих элементов со степенями окисления IV и V, что препятствует образованию ими карбонатных комплексов [40, 110–113]. Комплексы NpO_2^+ с ГК существуют в нейтральной и щелочной средах, где подвижность гуматных комплексов актинидов со степенями окисления IV, V и VI определяется подвижностью самих ГК. В исследовании [114] форм состояния нептуния в различных степенях окисления Np(IV, V и VI) и их миграционного поведения показано, что поглощение радионуклида почвой сильно зависит от pH, а коэффициент распределения уменьшается в присутствии органических лигандов. Формы нептуния(V) являются наиболее подвижными, и их перенос возрастает в присутствии ГК. Окислительно-восстановительные эффекты также могут иметь решающее значение для многих радионуклидов, включая актиниды. Механизмы таких взаимодействий до конца не изучены, хотя были достигнуты некоторые успехи [115].

В целом имеется достаточное количество данных по комплексообразованию актинидов в разных степенях окисления с ГК: Am(III), Th(IV) и U(VI). Имеются некоторые расхождения в данных, полученных в одном и том же диапазоне pH, (до трех порядков величины), которые до сих пор остаются предметом обсуждений [116]. Причиной несоответствий могут быть различия в аналитических методах и условиях экспериментов (разные концентрации катионов) [99]. Для четырехвалентных элементов данных значительно меньше, и выглядят они довольно разрозненно [50, 108, 111, 117, 118]. Так, для комплексообразования ионов тория(IV) характерно стабильное совпадение величин $\lg\beta$ [50, 108], а для ионов плутония(IV) – значительное расхождение: от 3.9 [111] до 6.4–8.4 [110] (оба исследования проводили в кислой среде при $\text{pH} < 3$). Установленное ранее [119] отсутствие различий между константами для уранил-иона сегодня также не подтверждается. Например, среди выборки данных по комплексообразованию урана(VI) с ГК [40, 78, 103, 117, 119], встречаются такие значения $\lg\beta$, как 5.49, 8.2, 14.89, полученные при одном и том же значении pH 7. Таким образом, прямое сравнение данных для всех актинидов по-прежнему нецелесообразно.

Лантаниды. Широкое применение редкоземельных металлов в технике привело к нарушению их биогеохимических циклов. Микроколичества РЗЭ регулярно обнаруживают в сточных водах и водных экосистемах. При смешении с почвой часть редкоземельных элементов может оставаться в растворимой форме и продолжать мигрировать [120]. Ионы РЗЭ в природных водах распределены между растворенным и коллоидным органическим веществом, гидроксидами, глинистыми минералами и неорганическими лигандами. Коллоидная фракция (до 0.45 мкм) воды рек и ручьев преобладает среди форм состояния РЗЭ [121]. Гуматные комплексы являются основной формой нахождения РЗЭ в торфах и бурых углях [122]. Также редкоземельные катионы представляют собой аналоги трехвалентных актинидов, что позволяет по их поведению судить о Am(III), Cm(III) и некоторых других радионуклидов [123].

В работе [36] исследовано комплексообразование европия(III) с ГК ионообменным методом с использованием смолы Амберлит IR-120 в широком интервале соотношений Eu(III)/ГК при pH 4 и 7. Эксперименты проводили для проверки предложенных авторами уравнений (17). Взаимодействие редкоземельных катионов Sc(III) и Y(III) с ГК изучали с помощью конкурентного комплексообразования с ЭДТА, при этом комплексы разделяли методом капиллярного электрофореза [124]. Для ГК речного и почвенного происхождения определены константы комплексообразования в следующих условиях: pH 6–9, $I = 0.001\text{--}0.1\text{ M}$ (NaNO_3), концентрация исследуемого катиона 1–1000 нМ, а концентрация ГК – 10–20 мг/л. Установлено, что константы варьируются в пределах 8.9–16.5 в зависимости от типа ГК. Изменение констант устойчивости в ряду катионов согласуется с эффектом лантанидного сжатия – наблюдается их увеличение от La к Lu, т.е. с уменьшением ионного радиуса катиона. На основе корреляции между значениями констант комплексообразования и дентатностью органических кислот авторы предположили, что ГК образуют три- и тетрадентатные комплексы в природных условиях. Сильное координационное взаимодействие редкоземельных катионов с гуминовыми кислотами показывает, что последние, наряду с такими неорганическими лигандами, как гидроксильные и карбонат-ионы, являются основными комплексообразователями в природной воде [125]. Гуматные комплексы являются основной формой состояния ионов РЗЭ в “среднемировой речной воде” (5 мг/л растворенного органического углерода, из которого 80% – это фульвокислоты и 20% – ГК) при pH от 5 до 8 [34, 126], что находит экспериментальное подтверждение [41].

Константы комплексообразования ГК коррелируют с аналогичными константами для молочной кислоты по принципу линейного соотноше-

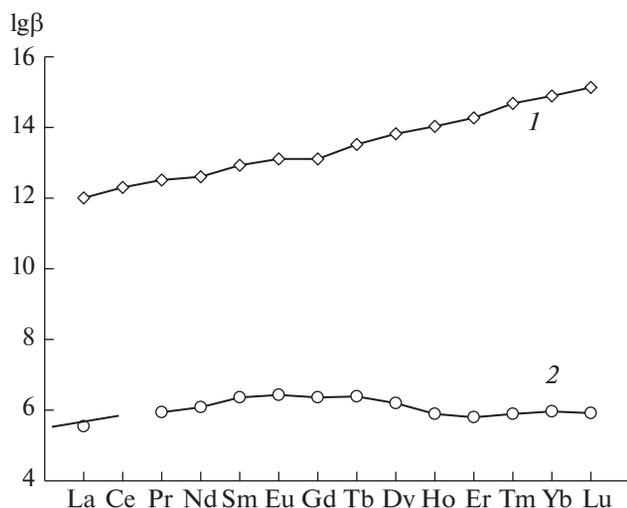


Рис. 5. Два вида диаграмм констант устойчивости гуматных комплексов редкоземельных элементов. 1 – монотонный рост от La к Lu (эффект лантанидного сжатия) [124]; 2 – с вогнутостью в середине [131].

ния свободной энергии [127], что может быть полезно для их оценки при отсутствии достаточного количества экспериментальных данных. Применение этого подхода для оценки параметров взаимодействия ионов Eu(III), Tb(III) и Dy(III) с ГК [126] подтверждает, что гуматные комплексы преобладают среди форм состояния РЗЭ в речных водах с нейтральной реакцией среды, но при этом в грунтовых водах преобладают неорганические формы. Экспериментальные условия взаимодействия коллоидных фракций ГК, ответственных за образование комплексов с редкоземельными катионами, до сих пор не определены. В работе [128] в развитие данных, полученных ранее [124], выполнены эксперименты по комплексообразованию ГК с 14 редкоземельными катионами одновременно. Использован метод ультрафильтрации и моделирование с помощью Моделей V–VI. Эксперименты по комплексообразованию выполнены при pH от 2 до 10.5 методом ограниченного объема. Показано, что количество связанных катионов сильно возрастает с увеличением pH. Экспериментальные значения констант комплексообразования ($\lg K_{\text{MHA}}$) находятся в пределах от 2.40 до 2.80 и значительно отличаются от ранее опубликованных [124]. Установлено, что изменение констант гуматных комплексов в данном случае аналогично изменению констант комплексов с уксусной кислотой, что подтверждает основную роль карбоксильных групп в связывании ионов РЗЭ. Полученные значения констант комплексообразования не коррелируют с рядом лантанидного сжатия.

Проведено сравнение [129] экспериментально найденных [128, 130] условных констант ком-

плексообразования ионов РЗЭ с ГК и рассчитанных по модели 1 : 1 [124]. Для измерения распределения катионов между ГК и конкурирующим лигандом (ЭДТА) в условиях, приближенных к природным (pH 6–10, $I = 0.1$ M (NaNO_3), концентрация катиона 100 нМ, концентрация ГК 10 мг/л) использовали метод капиллярного электрофореза. Результаты подтверждают эффект лантанидного сжатия для гуматных комплексов. Полученные величины констант находились в пределах от 9 до 16, что указывает на сильное связывание редкоземельных катионов вне зависимости от происхождения ГК. Установлено, что в данных условиях преобладают сильно связывающие центры ГК, такие как фенольные, амино-карбоксильные, карбоксилатные.

Особенности изменения констант устойчивости от La к Lu показаны на рис. 5. Выделяют два типа структур гуматных комплексов. Одна из них имеет тенденцию к монотонному росту от La к Lu [124, 129], другая – имеет характерную вогнутость [128, 131]. Отмечается, что данные эксперименты выполнены при различном соотношении количества редкоземельного элемента к ГК: в первом случае это соотношение было высоким и составляло 1–15 моль катиона на 1000 моль органического углерода, во втором – намного меньше (1 : 10000) [132]. Другие причины расхождения данных по константам устойчивости гуматных комплексов редкоземельных катионов у различных авторов до сих пор не выяснены.

Данные об условных константах комплексообразования различных катионов с ГК приведены в табл. 1. Большинство результатов интерпретировано как образование комплексов 1 : 1 и 1 : 2, где органический лиганд представляет собой активный центр-комплексообразователь. Одним из распространенных способов определения констант комплексообразования остается графический метод по уравнению (2), в котором различаются “слабые” и “сильные” центры. При этом возможны разные предположения об их химической природе: например, слабыми считаются карбоксильные группы, а сильными – фенольные [128, 133], а иногда карбоксильные и фенольные группы относят к категории слабых [58]. Фактор множественности таких активных центров, как правило, не учитывается и определяется общая константа комплексообразования для гуматного комплекса.

По-прежнему остается много противоречий, касающихся влияния pH на константы комплексообразования. Наблюдаемые ранее [102] расхождения в их чувствительности к изменению pH объясняли в основном влиянием различных экспериментальных методов. Сегодня же доказана ключевая роль pH в распределении ГВ по размерам молекул, при этом считается, что снижение pH отрицательно сказывается на ассоциации гу-

Таблица 1. Условные константы устойчивости комплексов микроэлементов и радионуклидов с гуминовыми кислотами

Происхождение ГК	Кислотность, ммоль/г/рK _a	Элемент	lgβ	Метод	Модель	pH	I, M	Литература
Торф	pK _a = 6.1	Au	4.4	ИО	1 : 1	5	—	[134]
		Pd	4.7					
		Rh	3.4					
	Σ 8.5 COOH 4.0	Cu	5.73	Т	1 : 1 (1)	—	—	[88]
pK _{COOH} = 4.1 pK _{ArOH} = 8.8	Al	⁽¹⁾ 2.5 ⁽²⁾ 0.46	РД	Модель VI	4	0.1 NaNO ₃	[89]	
	Fe(III)	⁽¹⁾ 2.8 ⁽²⁾ 2.20						
Σ 6.12	Y	5.27	ИО, УФ	МНЗ	5	0.1 NaClO ₄	[99]	
	Am	5.93						
Почва	Σ 4.07 COOH 2.96 ArOH 1.18	Cd	3.47	Т; ФС	1 : 1; НИКА	6	0.01 KNO ₃	[70]
		Fe(II)	5.32	ФС	1 : 1	7	—	[73]
		Σ 9.25 COOH 4.10 ArOH 5.15	Zn Cd	4.83 4.98	Т; ВА	1 : 1	7	0.1 KNO ₃
	pK _a = 9	Th	18.72	КЭ	1 : 1	5.9	0.1 NaNO ₃	[50]
		Hf	23.66					
		Zr	22.71					
		Th	19.78					
Σ 5.78	Hf	25.96	РД	1 : 1; 1 : 2	6.9	0.1	[135]	
	Zr	24.47			6.8			
	Tb	⁽¹⁾ 10.8 ⁽²⁾ 14.2			9.06			
Σ 5.26	Gd	⁽¹⁾ 10.2 ⁽²⁾ 12.4	ИО, УФ	МНЗ	8.99	0.1 NaClO ₄	[99]	
	Yb	⁽¹⁾ 10.2 ⁽²⁾ 11.8			8.98			
	Y	5.53			5			
Грунтовые воды	COOH 4.71 ArOH 1.5	Cu	4.5	Т	1 : 1	4	0.01 NaClO ₄	[84]
		U(VI)	4.2					
—	—	Cd	5.04	Т	1 : 1	8	—	[85]
		Pb	5.20			6		
		Cu	5.47					

Таблица 1. Продолжение

Происхождение ГК	Кислотность, ммоль/г/ pK_a	Элемент	$\lg\beta$	Метод	Модель	pH	I, M	Литература
Фирма "Sigma – Aldrich" (США)	$\Sigma 5.0$	Eu Gd	6.33 6.33	КЭ	1 : 1	5	0.01 NaClO ₄	[55]
	$\Sigma 2.9$ COOH _{2.0}	Hg	4.2	ВА	1 : 1	6	0.02 NaNO ₃	[61]
	–	As(III) As(V)	⁽¹⁾ 2.61 ⁽²⁾ 0.02 ⁽¹⁾ 3.96 ⁽²⁾ 0.03	ВЭЖХ ФС	1 : 2	7.5	–	[58]
	–	Ca Np(V) Co Ni U(VI) Eu	0.8 1.4 3.2 4.3 8.2 8.0	РД	1 : 1	7	0.1 NaClO ₄	[40]
	$pK_a = 4.52$ $\Sigma 5.4$ COOH _{4.8} ArOH _{2.26}	Th	19.3	ИО	МПК	7.9	0.1 NaClO ₄	[90]
	COOH 4.7	Am	⁽¹⁾ 6.9 ⁽²⁾ 11.6 10.7	ИО ЖЭ	1 : 1; 1 : 2 1 : 1	5 4	0.1 NaClO ₄	[53]
	⁽¹⁾ COOH _{3.03} ⁽²⁾ COOH _{2.22} ArOH _{2.26}	Eu	⁽¹⁾ 7.53 ⁽²⁾ 9.34	ИО	МСММ	7	0.1 NaClO ₄	[36]
	$\Sigma 5.6$	Ca Sr Am	3.10 3.51 5.27	ИО, УФ	МНЗ	5	0.1 NaCl	[98] [99]
Речная вода	COOH _{4.9}	U(VI)	7.57 ⁽¹⁾ 5.38 ⁽²⁾ 9.59 7.64	ИО	1 : n 1 : 1; 1 : 2 1 : 1	5	0.1 NaClO ₄	[85]
Ископаемый уголь	$pK_{\text{COOH}} = 4.1$ $pK_{\text{ArOH}} = 8.8$	Fe(II)	⁽¹⁾ 2.19 ⁽²⁾ 4.46	ИО, УФ	Модель VI	5.9	–	[92]
Донные отложения	$\Sigma 6.06$ COOH _{1.6} ArOH _{4.46}	Cu	⁽¹⁾ 3.51 ⁽²⁾ –0.06	ИО	1 : 1; 1 : 2	5	0.01 KNO ₃	[136]
	$pK_a = 7.0$	Au Pd Rh	6.0 5.0 3.2	ИО	1 : 1	5	–	[134]

Используемые сокращения: ИО – ионный обмен; УФ – ультрафильтрация; ФС – флуоресцентная спектроскопия; Т – потенциометрическое титрование; ВА – вольтамперометрия; КЭ – капиллярный электрофорез; РД – равновесный диализ; ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; ЖЭ – жидкостная экстракция. МНЗ – модель нейтрализации заряда, НИКА – модель неидеальной конкурентной адсорбции, МПК – модель поверхностного комплексообразования, МСММ – модель средней молекулярной массы.

Обозначения: pK_a – отрицательный логарифм константы кислотности; COOH – кислотность по карбоксильным группам; ArOH – кислотность по фенольным гидроксилам; Σ – суммарная кислотность; (1), (2) – константы для двух типов сорбционных центров.

Таблица 2. Предельно допустимые концентрации тяжелых металлов в питьевой воде (мг/л) и в воде водоемов рыбохозяйственного пользования

Норматив	Медь	Свинец	Кадмий
Всемирная организация здравоохранения [137]	2.0	0.01	0.003
СанПиН 2.1.3684-21 [138]	1.0	0.03	0.001
Для водоемов рыбохозяйственного пользования [139]	0.001	—	—

матов, дестабилизирует их структуру и приводит к обогащению молекулами с относительно малой молекулярной массой [132]. Противоречия, связанные с различным влиянием ионной силы раствора, объясняются, по-видимому, содержанием микроэлементов в самих ГК. Другой серьезной проблемой, возникающей при определении констант устойчивости комплексов, является оценка концентрации лиганда, которая может быть выражена в виде массовой концентрации ГК, молярности или в виде содержания функциональных групп (моль-экв/л). Последняя может быть получена из протонообменной емкости или из сорбционной емкости — максимального количества связанных катионов (моль/г или мг/г гуминового вещества).

ПРИРОДА СОРБЦИОННОЙ ЕМКОСТИ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ

Загрязнение воды ионами тяжелых металлов продолжает оставаться острой проблемой для окружающей среды. Медь, кадмий, свинец, цинк и многие другие элементы при повышенных концентрациях могут быть чрезвычайно токсичными и имеют тенденцию накапливаться в живых организмах. В табл. 2 приведены рекомендуемые Всемирной организацией здравоохранения и Минздравом России требования к содержанию меди, кадмия и свинца в питьевой воде [137, 138]. Еще более строгие требования предъявляются к российским рыбохозяйственным водоемам. Предельно допустимая концентрация ионов меди в таких водах установлена на уровне 0.001 мг/л [139].

В связи с ростом загрязненности тяжелыми металлами природных вод и постоянным ужесточением требований к их качеству технологии возобновления питьевых ресурсов вынуждены применять недорогие и эффективные методы удаления ионов-загрязнителей, такие как адсорбция и ионный обмен [140, 141]. Данные методы имеют преимущество при работе с низкими остаточными концентрациями тяжелых металлов [142–145]. Как показано выше, ГК имеют высокую способность к комплексообразованию с ионами многих элементов. В связи с этим ГК и материалы на их основе рассматриваются как перспективные адсорбенты и привлекают все большее внимание. Активно изучается сорбция ионов тяжелых ме-

таллов гуминовыми кислотами. Тем не менее встречаются некоторые трудности при использовании ГК в качестве сорбента из-за их достаточно высокой растворимости в воде при $\text{pH} > 4-5$ [146–149]. Установлено, что сорбционная способность ГК в отношении ионов микроэлементов-загрязнителей зависит от химического состава, функциональных групп, особенно карбоксильных, и внешних условий (температура, pH, ионная сила) [150, 151]. Большинство ГК, используемых в сорбционных исследованиях, представляют собой природные ГК, извлеченные из почвы, бурых углей (лигнита) или донных отложений [152–168]. В табл. 3 приведена подборка данных по сорбционной емкости ГК различного происхождения по отношению к микроэлементам и радионуклидам.

Почвенные и торфяные коллоидные частицы ГК имеют высокое сродство к катионам микроэлементов и являются важными поглотителями тяжелых металлов и радионуклидов в водах и почвах. Установлено, что при сорбции хрома(III) фракциями торфяных ГК самая мелкая фракция, наиболее богатая карбоксильными группами, практически не участвовала в процессе, а ионы хрома оказались преимущественно связанными с негидролизуемой органической частью [154]. На примере рисовой соломки показано сорбционное поведение ГК, образующихся при разложении растительного сырья [163]. Их сорбционная емкость по отношению к ионам меди(II) и скорость сорбции возрастают с увеличением продолжительности разложения сорбента с 1 до 12 месяцев. Исследована термодинамика процесса. Установлено, что сорбция меди является эндотермическим и самопроизвольным процессом. Ввиду низкой величины десорбции сделано предположение о преимущественном образовании внутрисферных комплексов в результате сорбции. Концентрирование благородных металлов с помощью ГК изучается для понимания механизмов формирования месторождений на ранних стадиях. Показано, что ГК торфа обладают высокой сорбционной емкостью по отношению к ионам золота(III) и некоторых металлов платиновой группы [152]. В процессах массопереноса форм золота вблизи сульфидных минералов вызывает интерес поведение таких комплексов, как $\text{Au}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-}$. В связи с этим изучена сорбция ионов золота(I) почвен-

Таблица 3. Сорбционная емкость гуминовых кислот

Происхождение ГК	Кислотность, ммоль/г / pK_a	Элемент	Емкость, мг/г	pH	I, M	Литература	
Торф	$pK_a = 6.1$	Au	320	5.0	–	[152]	
		Pd(II)	100				
		Rh	11				
		Ru(IV)	16–19	2.2			
		Pt	100	2.9			
		Os	23	4.0			
		Cr(III)	299				
Почва	–	Au (I, III)	0.17	4.0	0.01 NaNO ₃	[153]	
	$\Sigma 4.39$ COOH 2.49 ArOH 1.9	Cs	3912	6–8	–	[155]	
	$pK_{COOH} = 5.74$ $pK_{ArOH} = 9.08$	Ba	19400				
	–	Cu	18.7	5.0	0.01 NaNO ₃	[163]	
	$pK_a = 5.5$	Zn	18.0	3.0–3.1	HNO ₃ 0.001	[166]	
		Nd	10.2				
		Dy	753.75	2	–	[161]	
	–	Th(IV)	17.63	3.0	0.1 NaClO ₄	[162]	
		U(VI)	16.44				
	Коммерческие препараты	$pK_{COOH} = 5.1$ $pK_{ArOH} = 8.4$	B	2.0	9	0.15 NaCl	[169]
–		Cr(VI)	133.12	1	0.01 NaCl	[170]	
		Sb(III)	2.8–6.45	4.0	–	[171]	
		Se	0.014	5–6	–	[172]	
		V(V)	861	7	0.01 NaNO ₃	[173]	
Ископаемый уголь	$pK_{COOH} = 5$ $pK_{ArOH} = 8.4$	Co	6.5–36.5	4.65	–	[174]	
	–	Cr(VI)	20.8–33.3	3.2	0.1 NaNO ₃	[156]	
				3.07	3.0	–	[151]
				0.73	1.55	–	[159]
	$\Sigma 5.5$	Cu		2.62	2.89	–	[160]
				0.3–1.05	4.48	–	[155]
			186	4.5	–		
			37.5				
	–	Pb	352	1–4	–	[152]	
		Zn	28.1				
Cd		62.9					
	Mn	8.2–25.3	4.61	–	[164]		

Таблица 3. Окончание

Происхождение ГК	Кислотность, ммоль/г / pK_a	Элемент	Емкость, мг/г	pH	I, M	Литература	
Донные отложения	$\Sigma 7.59$ COOH _{4.23} ArOH _{3.36}	Cu	89.5	4.0	0.1 NaNO ₃	[158]	
	–	Zn	2013.5	5.5	–	[165]	
		Cd	2597.9				
		Au	1633.5				
		$pK_{COOH} = 7.0$	Pd	351	5	–	[152]
			Rh	110			
			11.6				

Обозначения: pK_a – отрицательный логарифм константы кислотности; COOH – кислотность по карбоксильным группам, ArOH – кислотность по фенольным гидроксилам, Σ – суммарная кислотность.

ной ГК [153]. Рассчитанная по уравнению Ленгмюра максимальная сорбционная емкость составила 0.17 мг/г, что резко отличается от значений для трехвалентных форм золота (320 мг/г), полученных ранее [152]. Удаление Nd(III) и Dy(III) из отработанных растворов HCl с помощью почвенной ГК продемонстрировало довольно высокие значения сорбционной емкости по данным катионам: 753.75 и 667.97 мг/г соответственно.

Высокая ионная и коллоидная растворимость ГК в щелочных и нейтральных растворах препятствует их использованию в качестве дисперсных сорбентов. Для перевода в порошкообразное состояние требуется их соответствующая обработка [143, 167], после которой ГК приобретают качества нерастворимых ионообменных полимеров. Твердые ГК эффективно удаляют катионы металлов в колоночной системе. Показана возможность удаления ионов свинца, никеля и других тяжелых металлов [143, 148, 150, 167, 171] из водных растворов путем сорбции нерастворимой формой ГК при варьировании pH и температуры. Показано, что сорбция Th(IV) и U(VI) нерастворимой формой ГК сильно зависит от pH, а именно: увеличивается с ростом pH и достигает максимума при pH 3 в обоих случаях [162]. Почвенные ГК, переведенные в нерастворимую форму, могут быть использованы в качестве эффективного сорбента для удаления радионуклидов ¹³⁷Cs и ¹⁴⁰Ba из водных сред [157]. При переводе в нерастворимую форму количество сорбционных центров (карбоксильные и фенольные группы) по данным ИК- и ¹³C ЯМР-спектроскопии уменьшается. Ионы Mn(II), Co(NH₃)₆³⁺ и Hg(II) сорбировали в температурном диапазоне 10.0–50.0°C в кислой среде порошка ГК, выделенными из почвы [175]. Изотермы сорбции соответствовали уравнению (1), а термодинамические данные свидетельствовали

о сходстве сорбционных центров ГК различного происхождения. Сделан вывод о том, что десольватация катионов и сорбционных центров при их поверхностном комплексобразовании преобладают в механизме связывания ионов металлов твердыми ГК.

Данные по термодинамике сорбции ГК у разных исследователей имеют некоторые расхождения. Например, при сорбции меди(II) гуминовыми кислотами, экстрагированными из торфяного слоя тундровой почвы, получены изменения энергии Гиббса, аналогичные полученным ранее [163], однако изменение энтальпии сорбции оказалось отрицательным [166]. В других исследованиях изменение энтальпии сорбции оказалось положительным, что говорит об эндотермичности процесса. Положительное значение изменения энергии Гиббса сорбционного процесса получено в работе [162]. В большинстве исследований термодинамические параметры показывают, что процесс сорбции является благоприятным, а сорбция ионов металлов является эндотермическим процессом. Установленные параметры активации говорят о физико-сорбционном механизме.

Гуминовые вещества являются компонентами бурого угля, одного из богатейших природных ресурсов, альтернативные виды его использования изучаются в течение последних десятилетий. Продемонстрирована значительная способность ГК, полученных из угля, связывать катионы металлов. В экспериментах по статической сорбции катионов металлов гуминовыми кислотами, экстрагированными из бурых углей (как правило, выщелачиванием), величина сорбции уменьшалась с уменьшением pH [153]. Сорбционная емкость варьировались от 0.4 ммоль/г (Fe, Ni, Zn) до 1.7 ммоль/г (Pb). Из всех рассмотренных катионов свинец сорбировался лучше всего. Те же ав-

торы провели ряд экспериментов на колонках [176], которые подтвердили возможность применения данных ГК для выделения тяжелых металлов из сточных вод. Эффективность сорбции зависела от состава раствора и pH. При этом сорбированные ионы могут быть вытеснены другими катионами с большей сорбционной способностью либо протонами. Результаты экспериментов подтвердили реальную возможность практического применения ГК для удаления ионов металлов из сточных вод. Селективность сорбции свинца твердой формой ГК подтверждена также в работе [177]. Гелевые формы ГК, представляющие собой осадок после подкисления экстракта бурых углей, проявляют селективность по отношению к ионам Cr(III) и Al(III). Данные ИК-спектроскопии показывают, что с ростом pH раствора больше COOH-групп участвует в связывании ионов металлов. Исключение – Pb(II), Ag(I), Hg(II) и Cu(II), так как даже при pH < 5 эти ионы могут образовывать комплексные соединения с фенольными группами.

Гуминовые кислоты бурых углей рассматриваются в качестве недорогого барьерного материала для защиты от токсичного хрома(VI) [156]. Сорбция шестивалентного хрома такими ГК увеличивается с уменьшением pH и концентрации катиона. Установлена максимальная сорбционная емкость, равная 33.3 мг/г (достигнута при pH 3.2). Отмечается, что сорбционная емкость ГК по отношению к ионам хрома(VI) почти такая же, как у коммерческого активированного угля. При этом ГК бурых углей дешевле и более доступны. Показано, что в сорбцию катионов меди и кобальта гуминовыми кислотами, выделенными из бурых углей, значительный вклад вносит процесс ионного обмена, который сопровождается образованием комплексов с различными функциональными группами [159, 160, 174]. Изучение динамики сорбции ионов меди(II) в кислой среде гуминовой кислотой, переведенной в нерастворимую форму, позволило предложить механизм специфического связывания [151]. Установлено, что увеличение pH раствора с 1 до 3 способствует более активной сорбции ионов меди, а емкость ГК достигает своего максимального значения. Анализ графика Скотчарда выявил два типа взаимодействия: с высоким сродством и низкой сорбционной емкостью; и с низким сродством и высокой емкостью. При pH 1.0 взаимодействие носит неспецифический характер и не подчиняется модели Ленгмюра. В другом исследовании двухсортная модель предлагается с учетом выделения протонов кислотными функциональными группами во время поверхностной реакции при сорбции ионов меди(II) [155]. Вторым типом активных центров ГК могут быть, например, негидролизующиеся ароматические структуры. Такой способ описания сорбции ионов меди гуминовой кислотой (L-H-модель)

подтвержден результатами кинетических экспериментов.

Гуминовые кислоты, выделенные из морских отложений, признаны эффективными при поглощении различных ионов металлов путем комплексообразования, катионообменной и поверхностной адсорбции. При сорбции ионов меди(II) такой ГК также подтверждается присутствие двух фракций гуматного комплекса меди: ионообменной и поверхностной [158]. Обработка данных по двухсортной модели показывает, что фракция поверхностного комплексообразования обладает более высоким сорбционным сродством по отношению к ионам меди(II). Доли обеих фракций, как и сорбционная емкость в целом, возрастают в 2–3 раза с увеличением pH от 2 до 4. Отмечено, что при pH > 4.5 механизм сорбции недостаточно изучен, так как он усложняется образованием гидроксокомплексов меди, диссоциацией фенольных OH-групп и растворимостью самой ГК. Другая открытая проблема – сорбционное поведение тяжелых металлов на внеклеточных полимерных компонентах сточного ила [165]. Установлено, что ГК как один из таких компонентов обладает огромной сорбционной емкостью по отношению к ионам Cd(II), Cu(II) и Zn(II), на 1–2 порядка превышающей эту величину для других типов донных отложений. Показана различная степень увеличения ζ -потенциала ГК (до 42%) в зависимости от сорбированного катиона, что говорит о существенной роли электростатического взаимодействия.

Коммерческие ГК в качестве реагентов находят все большее применение в исследовательской практике благодаря своей доступности и удобству использования. Например, с помощью ГК фирмы “Aldrich” в лабораторных условиях смоделировано взаимодействие водного раствора бора с почвами [169]. Максимальные величины сорбции обнаружены при pH 9.5–10 (максимальный коэффициент распределения между сорбентом и водным раствором равен 40). Показано, что сорбция бора гуминовой кислотой вызывает фракционирование изотопов (обеднение по ^{11}B при pH от 5 до 9). Приводится оценка, из которой следует, что при концентрации бора в почвенных растворах от 5 до 10 мкг/л и значении коэффициента распределения, равном 10 (pH 7), поглощение бора органическим веществом должно вызывать изотопный сдвиг на 16–20% в растворе. Однако содержание органического вещества в речной воде (~10 мг/л) явно недостаточно для обеспечения такого изотопного сдвига. Авторы делают вывод, что взаимодействие происходит именно с участием почвенных гуматов. Таким образом, сделано важное предположение о миграции сорбированного органическими коллоидами бора, которое может объяснить обогащение речных вод изотопом ^{11}B .

На примере ГК фирмы “Sinopharm” подтвержден существенный эффект сдерживания миграции шестивалентного хрома в почве [170]. Обнаружено, что взаимодействие хрома(VI) с ГК происходит за счет процессов ионообменной сорбции, комплексообразования и восстановления до хрома(III). Методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии установлено, что карбоксильные группы ГК при этом не окисляются, а образуют комплекс с хромом(VI), который затем восстанавливается за счет других функциональных групп – доноров электронов. Разработана кинетическая модель взаимодействия ГК с хромат-ионами с учетом всех трех стадий, однако, поскольку эксперименты проводились в кислой среде, остается проблема проверки механизма в среде, близкой к нейтральной. Между тем увеличение pH до 7 практически не влияет на сорбционную емкость ГК по отношению к ванадат-ионам [173]. Максимальное количество сорбированных ионов ванадия(V) составляло 861.17 мг/г (концентрация ГК 200 мг/л, начальная концентрация ванадия 500 мг/л) при pH 4 и существенно снижалось при pH > 7 из-за усиления электростатического отталкивания между отрицательно заряженными коллоидными частицами ГК и анионной формой ванадия. В целом ГК могут способствовать снижению миграции сорбированного иона и его фиксации в почве, что имеет ключевое значение для понижения его биодоступности.

Гуминовые кислоты могут быть синтезированы с помощью абиотического процесса гумификации, т.е. за счет каталитического превращения таких соединений, как аминокислоты, сахара и хиноны в гуминовые вещества без участия микроорганизмов. Для этого используют катализаторы на основе оксидов металлов: MnO_2 , Fe_2O_3 и Al_2O_3 . ГК, синтезируемые таким методом, называются синтетическими или гуминоподобными [178–180]. Максимальная сорбционная емкость такой ГК по отношению к ионам меди(II) составила 46.4 мг/г (при 45°C – 58.8 мг/г) [181]. По сравнению с природными ГК преимущество синтетической заключается в возможности управления ее структурными характеристиками, изменяя соотношение прекурсоров и тип катализатора.

* * *

Фундаментальная роль химической природы взаимодействия микроэлементов с ГК в процессах их массопереноса в объектах окружающей среды, в реализации биогеохимических функций почвы вызывает растущий интерес в связи с задачами повышения плодородия почв, радиологической безопасности, в целом природопользования и защиты окружающей среды. Данный обзор является попыткой охарактеризовать современные экспериментальные и модельные представления

о таких взаимодействиях, показать текущее состояние исследований в области комплексообразования и сорбционных процессов с гуматами. Несмотря на существенную роль ГК в физикохимии гетерогенных превращений с участием микроэлементов и радионуклидов и обилие экспериментальных данных, информация по устойчивости их гуматных комплексов по-прежнему соткана из противоречий, а механизм этих процессов плохо изучен ввиду следующих структурных особенностей, перечисленных в порядке уменьшения сложности их исследования: 1) большое разнообразие атомов и функциональных групп ГК; 2) большой диапазон молекулярных масс; 3) химическая связь между гуминовыми кислотами и фульвокислотами, различная степень гумификации; 4) чувствительность структуры к pH.

Таким образом, полезные полифункциональные свойства ГК основаны на их способности образовывать молекулярные растворы, а также истинные и адсорбционные коллоиды. Структура ГК определяется их происхождением и возрастом и может различаться по молекулярно-массовому распределению, характеру углеродного скелета, типам, позициям и относительному количеству функциональных групп. Логично предположить, что такие химически разнообразные молекулы обладают также различной способностью к комплексообразованию, даже в отношении одного и того же микроэлемента [106]. Тем не менее имеются данные о близких комплексообразующих свойствах ГК независимо от их происхождения [119].

Много работ посвящено образованию адсорбционных коллоидов с неорганическими компонентами, поскольку на сорбционную способность ГК могут влиять такие компоненты почв, как глинистые минералы. Очевиден рост интереса к процессам, связанным с химическими реакциями гуматов, однако исследования в основном ведутся в направлении массопереноса водная фаза → минерал/сорбент. Процессы в обратном направлении практически не изучены. В целом можно выделить два взгляда на химию и реакционную способность ГК, которые говорят о том, что исследователей интересует прежде всего взаимодействие макромолекулы i) с ионом в растворе как комплексообразователь (традиционный подход) и ii) с твердой минеральной фазой, где она рассматривается как лиганд, координирующий поверхностные ОН-группы. При этом практически отсутствуют данные о возможности взаимодействий, при которых координированные ионы могут отрываться и переходить обратно в раствор в виде гуматного комплекса [182–185].

Перечисленные проблемы препятствуют моделированию явлений массопереноса гуматных комплексов радионуклидов и микроэлементов в сложных техногенных объектах, природной вод-

ной среде. Получение информации о составе и устойчивости гуматных комплексов составляет элемент оценки реакционной способности гуматов, которая необходима при описании их сорбционного и биосорбционного поведения по отношению к коллоидам, взвесьям неорганической и органической природы.

Для решения этих проблем на современном уровне применяются высокочувствительные аналитические методы, прежде всего, хромато-масс-спектрометрия, ЯМР-спектроскопия, методы разделения, включая сорбционные методы, методы ультрафильтрации, экстракции, электрохимии. Значительно, но мало исследовано влияние фотокаталитических превращений при воздействии потоков видимого света, других типов излучения, радиационного фона, радионуклидов в составе лигандов (^3H , ^{14}C и другие) на реакционную способность ГК и гуматных комплексов. Дальнейшее развитие теории строения, функциональных свойств, природы селективности комплексообразования позволит описать основные характеристики и химические свойства молекулярных и коллоидных форм гуматов в водных растворах.

Работа выполнена по планам фундаментальных исследований ИХТТ УрО РАН, темы НИР № АААА-А19-119031890028-0 и FUWF-2024-0012.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Орлов Д.С., Садовникова Л.К., Суханова Н.И. Химия почв. М.: Высшая школа, 2005. 558 с.
2. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. М.: Изд-во МГУ, 1990. 325 с.
3. Stevenson F.J. Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions. 2nd Ed. New York: Wiley, 1994. P. 512.
4. Перминова И.В. Анализ, классификация и прогноз свойств гумусовых кислот. Дис. ... докт. хим. наук. М.: МГУ, 2000.
5. Химическая энциклопедия. Т. 1 / Под ред Кнунянца И.Л. М.: Советская энциклопедия, 1988. 623 с.
6. Kleinhempel D. Einbeitragzurtheorie des Huminstoffzustandes // Albrecht Thaer Archiv. 1970. V. 14. P. 3.
7. Buffle J. Complexation Reactions in Aquatic Systems: An Analytical Approach. Chichester: Ellis Horwood, 1988.
8. de Melo G.V.A., Motta F.L., Santana M.H.A. Humic acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments // Mater. Sci. Eng. C. 2016. V. 62. P. 967.
9. Добровольский В.В. Роль органического вещества почв в миграции тяжелых металлов // Природа. 2004. № 7. С. 35.
10. Варшал Г.М., Кощеева И.Я., Сироткина И.С., Велюханова Т.К., Инцикирвели Л.Н., Замокина Н.С. Изучение органических веществ поверхностных вод и их взаимодействия с ионами металлов // Геохимия. 1979. № 4. С. 598.
11. Добровольский В.В. Гуминовые кислоты и водная миграция тяжелых металлов // Почвоведение. 2006. № 11. С. 1315–1321. (*Dobrovolskii V.V. Humic acids and water migration of heavy metals // Eurasian Soil Sci. 2006. V. 39. P. 1183.*)
12. Василевич Р.С., Безносиков В.А., Лодыгин Е.Д., Кондратенко Б.М. Комплексообразование ионов ртути (II) с гуминовыми кислотами тундровых почв // Почвоведение. 2014. № 3. С. 283. (*Vasilevich R.S., Beznosikov V.A., Lodygin E.D., Kondratenok B.M. Complexation of mercury(II) ions with humic acids in tundra soils // Eurasian Soil Sci. 2014. V.47. P. 162.*)
13. Ладонин Д.В., Марголина С.Е. Взаимодействие гуминовых кислот с тяжелыми металлами // Почвоведение. 1997. № 7. С. 806.
14. Feng X., Simpson A.J., Simpson M.J. Chemical and mineralogical controls on humic acid sorption to clay mineral surfaces // Org. Geochem. 2000. V. 36. P. 1553.
15. El-sayed M.E.A., Khalaf M.M.R., Gibson D., Rice J.A. Assessment of clay mineral selectivity for adsorption of aliphatic/aromatic humic acid fraction // Chem. Geol. 2019. V. 511. P. 21.
16. Тихонов В.В., Орлов Д.С., Лисовицкая О.В., Завгородняя Ю.А., Бызов Б.А., Демин В.В. Сорбция гуминовых кислот бактериями // Микробиология. 2013. № 6. С. 691. (*Tikhonov V.V., Orlov D.S., Zavgorodnyaya Y.A., Byzov B.A., Demin V.V., Lisovitskaya O.V. Sorption of humic acids by bacteria // Microbiology. 2013. V. 82. P. 707.*)
17. Millour M., Gagne J.P. Sorption between humic substances and marine microalgae in estuaries: Effects of microalgae species, pH and salinity / 16th Meeting of International Humic Substances Society (IHSS). Hangzhou, 2012. P. 823.
18. Мальцева Е.В., Юдина Н.В. Сорбция гуминовых кислот кварцевыми песками // Химия твердого топлива. 2014. № 4. С. 27. (*Maltseva E.V., Yudina N.V. Sorption of humic acids by quartz sands // Solid Fuel Chem. 2014. V. 48. P. 239.*)
19. Bryan N.D., Abrahamsen L., Evans N., Warwick P., Buckau G., Weng L., Van Riemsdijk W.H. The effects of humic substances on the transport of radionuclides: Recent improvements in the prediction of behaviour and the understanding of mechanisms // Appl. Geochem. 2012. V. 27. P. 378.
20. Boggs S. Jr., Livermore D., Seitz M.G. Humic Substances in Natural Waters and Their Complexation with Trace Metals and Radionuclides: A review. ANL-84-78. Argonne, IL: Argonne National Laboratory, 1985. P. 110.
21. Lenhart J.J., Yang Y. The effect of humic and fulvic acids on arsenic solubility in drinking water supplies: Interim report for 2003OH5B: Arsenic binding by natural organic matter. 2004.
22. Gonzalez-Raymat H., Anagnostopoulos V., Denham M., Cai Y., Katsenovich Y.P. Unrefined humic substances as a potential low-cost amendment for the management of acidic groundwater contamination // J. Environ. Manage. 2018. V. 212. P. 210.
23. Cáceres-Vélez P.R., Fascineli M.L., Sousa M.H., Grisolia C.K., Yate L., Narcizo de Souza P.E., Estrela-Lopise I., Moya S., Azevedo R.B. Humic acid attenuation of silver nanoparticle toxicity by ion complexation and the for-

- mation of a Ag³⁺ coating // *J. Hazard. Mater.* 2018. V. 353. P. 173.
24. *Klučáková M., Kalina M., Smilek J., Laštůvková M.* The transport of metal ions in hydrogels containing humic acids as active complexation agent // *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 2018. V. 557. P. 116.
 25. *Verbeeck M., Warrinnier R., Gustafsson J.P., Thiry Y., Smolders E.* Soil organic matter increases antimonate mobility in soil: An Sb(OH)₆ sorption and modelling study // *Appl. Geochem.* 2019. V. 104. P. 33.
 26. *Wang L.F., Wang L.L., Ye X.D., Li W.W., Ren X.M., Sheng G.P., Yu H.Q., Wang X.K.* Coagulation kinetics of humic aggregates in mono- and di-valent electrolyte solutions // *Environ. Sci. Technol.* 2013. V. 47. P. 5042.
 27. *Kelleher B., Simpson A.* Humic substances in soils: Are they really chemically distinct? // *Environ. Sci. Technol.* 2006. V. 40. P. 4605.
 28. *Sutton R., Sposito G.* Molecular structure in soil humic substances: The new view // *Environ. Sci. Technol.* 2005. V. 39. P. 9009.
 29. *Федотов Г.Н., Шоба С.А.* О природе гумусовых веществ // *Почвоведение.* 2015. № 12. С. 1424–1432. (*Fedotov G.N., Shoba S.A.* On the nature of humic substances // *Eurasian Soil Sci.* 2015. V. 48. P. 1292.)
 30. *Ai Yu., Zhao Ch., Sun L., Wang X., Liang L.* Coagulation mechanisms of humic acid in metal ions solution under different pH conditions: A molecular dynamics simulation // *Sci. Total Environ.* 2020. V. 702. Article 135072.
 31. *Scatchard G.* The attractions of proteins for small molecules and ions // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1949. V. 51. P. 660.
 32. *Kim K.R., Czerwinski J.I.* Complexation of metal ions with humic acid: metal ion charge neutralization model // *Radiochim. Acta.* 1996. V. 73. P. 5.
 33. *Kinniburgh D.G., Milne C.J., Benedetti M.F., Pinheiro J.P., Filius J., Koopal L., van Riemsdijk W.H.* Metal ion binding by humic acid: Application of the NICA-Donnan model // *Environ. Sci. Technol.* 1996. V. 30. № 5. P. 1687.
 34. *Tipping E.* Cation Binding by Humic Substances. Cambridge: Cambridge University Press, 2002.
 35. *Tochiyama O., Niibori Y., Tanaka K., Kubota T., Yoshino H., Kirishima A., Setiawan B.* Modeling of the complex formation of metal ions with humic acids // *Radiochim. Acta.* 2004. V. 92. P. 559.
 36. *Stamberg K., Benes P., Mizera J., Dolanský J., Vopálka D., Chalupská K.* Modeling of metal–humate complexation based on the mean molecular weight and charge of humic substances: Application to Eu(III) humate complexes using ion exchange // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2003. V. 258. № 2. P. 329.
 37. *Tanford C.* Physical Chemistry of Macromolecules. New York: Wiley, 1961.
 38. *Tipping E.* Humic ion-binding Model VI: An improved description of ion-binding by humic substances // *Aquat. Geochem.* 1998. V. 4. P. 3.
 39. *Tipping E., Lofts S., Sonke J.E.* Humic Ion-Binding Model VII: A revised parameterisation of cation-binding by humic substances // *Environ. Chem.* 2011. V. 8. P. 225.
 40. *Glaus M.A., Hummel W., Van Loon L.R.* Trace metal-humate interactions. I. Experimental determination of conditional stability constants // *Appl. Geochem.* 2000. V. 15. P. 953.
 41. *Sonke J.E.* Lanthanide–humic substances complexation. II. Calibration of humic ion-binding Model V // *Environ. Sci. Technol.* 2006. V. 40. P. 7481.
 42. *Koopal L.K., van Riemsdijk W.H., de Wit J.C.M., Benedetti M.F.* Analytical isotherm equations for multi-component adsorption to heterogeneous surfaces // *J. Coll. Int. Sci.* 1994. V. 166. P. 51.
 43. *Kinniburgh D.G., van Riemsdijk W.H., Koopal L.K., Borkovec M., Benedetti M.F., Avena M.J.* Ion binding to natural organic matter: competition, heterogeneity, stoichiometry and thermodynamic consistency // *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 1999. V. 151. P. 147.
 44. *Dzombak D.A., Morel M.M.* Surface Complexation Modelling: Hydrous Ferric Oxide. New-York: John Wiley & Sons, 1990.
 45. *Schubert J.* The use of ion exchangers of the determination of physical-chemical properties of substances, particularly radiotracers, in solution. I. Theoretical // *J. Phys. Coll. Chem.* 1948. V. 52. № 2. P. 340.
 46. *Goli E., Hiemstra T., Rahnemaie R.* Interaction of boron with humic acid and natural organic matter: Experiments and modeling // *Chem. Geol.* 2019. V. 515. P. 1.
 47. *Ruiz-Garcia M., Villalobos M., Antelo J., Martinez-Villegas N.* Ti(IV) adsorption behavior on K-illite and on humic acids // *Appl. Geochem.* 2022. V. 138. Article 105220.
 48. *Shi Z., Allen H.E., Di Toro D.M., Lee S.-Z., Flores Meza D.M., Lofts S.* Predicting cadmium adsorption on soils using WHAM VI // *Chemosphere.* 2007. V. 69. P. 605.
 49. *Wang P., Ding Y., Liu M., Liang Y., Shi Z.* Modeling kinetics of Ni dissociation from humic substances based on WHAM 7 // *Chemosphere.* 2019. V. 221. P. 254.
 50. *Stern J.C., Foustoukos D.I., Sonke J.E., Salters V.J.M.* Humic acid complexation of Th, Hf and Zr in ligand competition experiments: Metal loading and pH effects // *Chem. Geol.* 2014. V. 363. P. 241.
 51. *Nifant'eva T.I., Burba P., Fedorova O., Shkinev V.M., Spivakov B.Y.* Ultrafiltration and determination of Zn- and Cu-humic substances complexes stability constants // *Talanta.* 2001. V. 53. № 6. P. 1127.
 52. *Burba P., Aster B., Nifant'eva T., Shkinev V., Spivakov B.Ya.* Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species: A concise overview. Part 1. Analytical fractionation by means of sequential-stage ultrafiltration // *Talanta.* 1998. V. 45. № 5. P. 977.
 53. *Sakuragi T., Sawa S., Sato S., Kozaki T., Mitsugashira T., Hara M., Suzuki Y.* Complexation of americium(III) with humic acid by cation exchange and solvent extraction // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2004. V. 261. № 2. P. 309.
 54. *Волков И.В., Поляков Е.В., Денисов Е.И., Иошин А.А.* Сорбционное поведение ионов стронция в растворах гуминовой кислоты // *Радиохимия.* 2017. V. 59. № 1. С. 63–70. (*Volkov I.V., Polyakov E.V., Denisov E.I., Ioshin A.A.* Sorption behavior of strontium ions in humic acid solutions // *Radiochemistry.* 2017. V. 59. P. 70.)

55. *Kautenburger R., Heina C., Sander J.M., Beck H.P.* Influence of metal loading and humic acid functional groups on the complexation behavior of trivalent lanthanides analyzed by CE-ICP-MS // *Anal. Chim. Acta*. 2014. V. 816. P. 50.
56. *Liu G., Cai Y.* Studying arsenite–humic acid complexation using size exclusion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry // *J. Hazard. Mater.* 2013. V. 262. P. 1223.
57. *Radaelli M., Scalabrin E., Toscano G., Capodaglio G.* High performance size exclusion chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry to study the copper and cadmium complexation with humic acids // *Molecules*. 2019. V. 24. № 17. P. 3201.
58. *Fakour H., Lin T.-F.* Experimental determination and modeling of arsenic complexation with humic and fulvic acids // *J. Hazard. Mater.* 2014. V. 279. P. 569.
59. *Terbouche A., Djebbar S., Benali-Baitich O., Hauchard D.* Complexation study of humic acids extracted from forest and sahara soils with zinc (II) and cadmium (II) by differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) and conductimetric methods // *Water Air Soil Pollut.* 2011. V. 216. P. 679.
60. *Louis Y., Pernet-Coudrier B., Varrault G.* Implications of effluent organic matter and its hydrophilic fraction on zinc(II) complexation in rivers under strong urban pressure: Aromaticity as an inaccurate indicator of DOM–metal binding // *Sci. Total Environ.* 2014. V. 490. P. 830.
61. *Henrique do Nascimento F., Masini J.C.* Complexation of Hg(II) by humic acid studied by square wave stripping voltammetry at screen-printed gold electrodes // *Talanta*. 2012. V. 100. P. 57.
62. *Лаврик Н.Л., Муллоев Н.У.* Влияние кислотно-щелочного равновесия на спектры поглощения гуминовой кислоты в присутствии ионов меди // *Журн. прикл. спектроскопии*. 2014. Т. 81. № 1. С. 159. (*Lavrik N.L., Mulloev N.U.* Effect of acid–base equilibrium on absorption spectra of humic acid in the presence of copper ions // *J. Appl. Spectrosc.* 2014. V. 81. P. 158.)
63. *Richard C., Coelho C., Guyot G., Shaloiko L., Trubetskoj O., Trubetskaya O.* Fluorescence properties of the <5 kDa molecular size fractions of a soil humic acid // *Geoderma*. 2011. V. 163. № 1–2. P. 24.
64. *Gu Y.L., Yin M.X., Zhang H.M., Wang U.Q., Shi J. C.* Study on the binding interaction of chromium(VI) with humic acid using UV–Vis, fluorescence spectroscopy and molecular modeling // *Spectrochim. Acta A*. 2015. V. 136. P. 1702.
65. *Хунджиа Д.А., Южасков В.И., Корватовский Б.Н., Пащенко В.З., Кулябко Л.С., Кыдралиева Л.А., Пачаева С.В.* Спектроскопическое проявление взаимодействия гуминовых кислот с ионами трехвалентного железа в водном растворе // *Вестник МГУ. Сер. 3. Физ. Астрон.* 2018. № 6. С. 55–60. (*Khundzhua D.A., Yuzhakov V.I., Patsaeva S.V., Korvatovskiy B.N., Paschenko V.Z., Kulyabko L.S., Kydralievva K.A.* Spectroscopic manifestation of interaction of humic acids with ferric ions in aqueous solutions // *Moscow Univ. Phys. Bull.* 2018. V. 73. P. 632.)
66. *Ryan D.K., Weber J.H.* Fluorescence quenching titration for determination of complexing capacities and stability constants of fulvic acid // *Anal. Chem.* 1982. V. 54. № 6. P. 986–990.
67. *Hernández D., Plaza C., Senesi N., Polo A.* Detection of copper(II) and zinc(II) binding to humic acids from pig slurry and amended soils by fluorescence spectroscopy // *Environ. Pollut.* 2006. V. 143. № 2. P. 212.
68. *Wu J., Zhang H., He P.J., Shao L.M.* Insight into the heavy metal binding potential of dissolved organic matter in MSW leachate using EEM quenching combined with PARAFAC analysis // *Water Res.* 2011. V. 45. № 4. P. 1711.
69. *Wu J., Zhang H., Shao L.M., He P.J.* Fluorescent characteristics and metal binding properties of individual molecular weight fractions in municipal solid waste leachate // *Environ. Pollut.* 2012. V. 162. P. 63.
70. *Bai H., Jiang Zh., He M., Biying Ye B., Wei Sh.* Relating Cd²⁺ binding by humic acids to molecular weight: A modeling and spectroscopic study // *J. Environ. Sci.* 2018. V. 70. P. 154.
71. *Nakashima K., Xing S., Gong Y., Miyajima T.* Characterization of humic acids by two-dimensional correlation fluorescence spectroscopy // *J. Mol. Struct.* 2008. V. 883–884. P. 155.
72. *He X.S., Xi B.D., Li X., Pan H.W., An D., Bai S.G., Li D., Cui D.Y.* Fluorescence excitation–emission matrix spectra coupled with parallel factor and regional integration analysis to characterize organic matter humification // *Chemosphere*. 2013. V. 93. № 9. P. 2208.
73. *Boguta P., D’Orazio V., Senesi N., Sokołowska Z., Szezewczuk-Karpisz K.* Insight into the interaction mechanism of iron ions with soil humic acids. The effect of the pH and chemical properties of humic acids // *J. Environ. Manag.* 2019. V. 245. P. 367.
74. *Stern O., Volmer M.* Über die Abklingungszeit der Fluoreszenz // *Z. Phys.* 1919. Bd. 20. S. 183.
75. *Hays M.D., Ryan D.K., Pennell S.* Modified multisite Stern–Volmer equation for the determination of conditional stability constants and ligand concentrations of soil fulvic acid with metal ions // *Anal. Chem.* 2004. V. 76. P. 848.
76. *Pompe S., Schmeide K., Bubner M., Geipel G., Heise K.H., Bernhard G., Nitsche H.* Investigation of humic acid complexation behavior with uranyl ions using modified synthetic and natural humic acids // *Radiochim. Acta*. 2000. V. 88. P. 553.
77. *Nouhi A., Hajjoul H., Redon R., Gagne J.P., Mounier S.* Time-resolved laser fluorescence spectroscopy of organic ligands by europium: Fluorescence quenching and lifetime properties // *Spectrochim. Acta A*. 2018. V. 193. P. 219.
78. *Sachs S., Brendler V., Geipel G.* Uranium(VI) complexation by humic acid under neutral pH conditions studied by laser-induced fluorescence spectroscopy // *Radiochim. Acta*. 2007. V. 95. P. 103.
79. *Jain A., Yadav K., Mohapatra M., Godbole S.V., Tomar B.S.* Spectroscopic investigation on europium complexation with humic acid and its model compounds // *Spectrochim. Acta A*. 2009. V. 72. P. 1122.
80. *Lukman S., Saito T., Aoyagi N., Kimura T., Nagasaki S.* Speciation of Eu³⁺ bound to humic substances by time-resolved laser fluorescence spectroscopy

- (TRLFS) and parallel factor analysis (PARAFAC) // *Geochim. Cosmochim. Acta*. 2012. V. 88. P. 199.
81. *Saito T., Aoyagi N., Terashima M.* Europium binding to humic substances extracted from deep underground sedimentary groundwater studied by time-resolved laser fluorescence spectroscopy // *J. Nucl. Sci. Technol.* 2017. V. 54. № 4. P. 444.
 82. *Бамбалов Н.Н.* Осаждение гуминовых веществ из водных и щелочных растворов под воздействием электролитов (обзор) // *Химия твердого топлива*. 2016. Т. 1. № 1. С. 53. (*Bambalov N.N.* Precipitation of humic substances from aqueous and alkaline solutions under the action of electrolytes: A review // *Solid Fuel Chem.* 2016. V. 50. P. 51.)
 83. *Дину М.И., Шкинев В.М.* Комплексообразование ионов металлов с органическими веществами гумусовой природы: методы исследования и структурные особенности лигандов, распределение элементов по формам // *Геохимия*. 2020. Т. 65. № 2. С. 165–177. (*Dinu M.I., Shkinev V.M.* Complexation of metal ions with organic substances of humus nature: Methods of study and structural features of ligands, and distribution of elements between species // *Geochem Int.* 2020. V. 58. № 2. P. 200–211.)
 84. *Kimuro Sh., Kirishima A., Kitatsuji Y., Miyakawa K.* Thermodynamic study of the complexation of humic acid by calorimetry // *J. Chem. Thermodynamics*. 2019. V. 132. P. 352.
 85. *Cao Yi, Conklin M., Betterton E.* Competitive complexation of trace metals with dissolved humic acid // *Environ. Health Perspect.* 1995. V. 103 (Suppl. 1). P. 29.
 86. *Pandey A.K., Pandey S.D., Misra V.* Stability constants of metal–humic acid complexes and its role in environmental detoxification // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2000. V. 47. № 2. P. 195.
 87. *Dudare D., Klavins M.* Complex-forming properties of peat humic acids from a raised bog profiles // *J. Geochem. Explor.* 2013. V. 129. P. 18.
 88. *Garcia-Mina J.M.* Stability, solubility and maximum metal binding capacity in metal–humic complexes involving humic substances extracted from peat and organic compost // *Org. Geochem.* 2006. V. 37. P. 1960.
 89. *Tipping E., Rey-Castro C., Bryan S.E., Hamilton-Taylor J.* Al(III) and Fe(III) binding by humic substances in freshwaters, and implications for trace metal speciation // *Geochim. Cosmochim. Acta*. 2002. V. 66. № 18. P. 3211.
 90. *Marsac R., Banik N.L., Lützenkirchen J., Catrouillet C., Marquardt C.M., Johannesson K.H.* Modeling metal ion–humic substances complexation in highly saline conditions // *Appl. Geochem.* 2017. V. 79. P. 52.
 91. *Fang K., Yuan D., Zhang L., Feng L., Chen Y., Wang Y.* Effect of environmental factors on the complexation of iron and humic acid // *J. Environ. Sci.* 2015. V. 27. P. 188.
 92. *Catrouillet C., Davranche M., Dia A., Bouhnik-Le Coz M., Marsac R., Pourret O., Gruau G.* Geochemical modeling of Fe(II) binding to humic and fulvic acids // *Chem. Geol.* 2014. V. 372. P. 109.
 93. *Xiaoli Ch., Guixiang L., Xin Zh., Yongxia H., Youcai Zh.* Complexion between mercury and humic substances from different landfill stabilization processes and its implication for the environment // *J. Hazard. Mater.* 2012. V. 209–210. P. 59.
 94. *Zhou P., Yan H., Gu B.* Competitive complexation of metal ions with humic substances // *Chemosphere*. 2005. V. 58. P. 1327.
 95. *Choppin G.R., Shanbhag P.M.* Binding of calcium by humic acid // *J. Inorg. Nucl. Chem.* 1981. V. 43. № 5. P. 921.
 96. *Laszak I., Choppin G.R.* Interaction study between Ca²⁺ and humic acids in brine media // *Radiochim. Acta*. 2001. V. 89. P. 653.
 97. *Kirishima A., Tanaka K., Niibori Y., Tochiyama O.* Complex formation of calcium with humic acid and polyacrylic acid // *Radiochim. Acta*. 2002. V. 90. P. 555.
 98. *Paulenová A., Rajec P., Zemberyová M., Sasköiová G., Visacký V.* Strontium and calcium complexation by humic acid // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2000. V. 246. № 3. P. 623.
 99. *Paulenová A., Rajec P., Kandrác J., Sasköiová G., Tóthová E., Bartos P. Svec V., Góra R.* The study of americium, yttrium and lead complexation by humic acids of different origin // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2000. V. 246. № 3. P. 617.
 100. *Линник П.Н., Жежеря В.А., Линник Р.П.* О некоторых особенностях комплексообразования Al(III) с гуминовыми веществами // *Методы и объекты химического анализа*. 2009. Т. 4. № 1. С. 73.
 101. *González Guadarrama M.J., Armenta Hernández M.A., Rosa A.H.* Aquatic humic substances: Relationship between origin and complexing capacity // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2018. V. 100. P. 627.
 102. *Swift R.S.* Sequestration of carbon by soil // *Soil Sci.* 2001. V. 166. P. 858.
 103. *Lenhart J.J., Cabaniss S.E., MacCarthy P., Honeyman B.D.* Uranium(VI) complexation with citric, humic and fulvic acids // *Radiochim. Acta*. 2000. V. 88. P. 345.
 104. *Sakuragi T., Sawa S., Sato S., Kozaki T., Hara M., Suzuki Y.* Interaction of americium(III) with humic acid over wide pH region // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2005. V. 265. P. 349.
 105. *Nagao S., Fujitake N., Kodama H., Matsunaga T.* Association of Am with humic substances isolated from river waters with different water quality // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2003. V. 255. P. 459.
 106. *Nagao S., Aoyama M., Watanabe A., Tanaka T.* Complexation of Am with size-fractionated soil humic acids // *Colloids Surf. A*. 2009. V. 347. P. 239.
 107. *Choppin G.R.* Actinide speciation in aquatic systems // *Mar. Chem.* 2006. V. 99. P. 83.
 108. *Reiller P., Moulin V., Casanova F., Dautel C.* On the study of Th(IV)-humic acid interactions by competition sorption studies with silica and determination of global interaction constants // *Radiochim. Acta*. 2003. V. 91. P. 513.
 109. *Neck V., Kim J.I.* Solubility and hydrolysis of tetravalent actinides // *Radiochim. Acta*. 2001. V. 89. P. 1.
 110. *Banik N.L., Buda R.A., Burger S., Kratz J.V., Trautmann N.* Speciation and interactions of plutonium with humic substances and kaolinite in aquifer systems // *J. Alloys Compd.* 2007. V. 444–445. P. 522.

111. Marsac R., Banik N.L., Marquardt C.M., Kratz J.V. Stabilization of polynuclear plutonium(IV) species by humic acid // *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2014. V. 131. P. 290.
112. Bürger S., Banik N.L., R. Buda R.A., Kratz J.V., Kuczewski B., Trautmann N. Speciation of the oxidation states of plutonium in aqueous solutions by UV/Vis spectroscopy, CE-ICP-MS and CE-RIMS // *Radiochim. Acta.* 2007. V. 95. P. 433.
113. Shcherbina N.S., Perminova I.V., Kalmykov S.N., Kovalenko A.N., Haire R.G., Novikov A.P. Redox and complexation interactions of neptunium(V) with quinonoid-enriched humic derivatives // *Environ. Sci. Technol.* 2007. V. 41. № 20. P. 7010.
114. El-Naggar H.A., Ezz El-Din M.R., Sheha R.R. Speciation of neptunium migration in under groundwater // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2000. V. 246. P. 493.
115. Sachs S., Bernhard G. Influence of humic acids on the actinide migration in the environment: Suitable humic acid model substances and their application in studies with uranium — A review // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2011. V. 290. P. 17.
116. Filella M., Hummel W. Trace element complexation by humic substances: issues related to quality assurance // *Accred. Qual. Assur.* 2011. V. 16. P. 215.
117. Reiller P.E., Evans N., Szabo G. Complexation parameters for the actinides(IV)-humic acid system: A search for consistency and application to laboratory and field observations // *Radiochim. Acta.* 2008. V. 96. P. 345.
118. Warwick P., Evans N., Hall A., Walker G., Steigleder E. Stability constants of U(VI) and U(IV)-humic acid complexes // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2005. V. 266. № 2. P. 179.
119. Moulin V., Tits J., Ouzounian G. Actinide speciation in the presence of humic substances in natural water conditions // *Radiochim. Acta.* 1992. V. 58–59. P. 179.
120. Pang X.D., Peng A. Application of rare-earth elements in the agriculture of china and its environmental behavior in soil // *J. Soils Sediments.* 2001. V. 1. № 2. P. 124.
121. Dupré B., Viers J., Dandurand J.-L., Polve M., Bénézeth P., Vervier Ph., Braun J.-J. Major and trace elements associated with colloids in organic-rich river waters: Ultrafiltration of natural and spiked solutions // *Chem. Geol.* 1999. V. 160. № 1–2. P. 63.
122. Арбузов С.И., Финкельман Р.Б., Ильенко С.С., Маслов С.Г., Межибор А.М., Блохин М.Г. Формы нахождения редкоземельных элементов (La, Ce, Sm, Eu, Tb, Yb, Lu) в углях Северной Азии (обзор) // *Химия твердого топлива.* 2019. V. 1. P. 3. (Arbuzov S.I., Finkelman R.B., Ilenok S.S., Maslov S.G., Mezhibor A.M., Blokhin M.G. Modes of occurrence of rare-earth elements (La, Ce, Sm, Eu, Tb, Yb, Lu) in coals of Northern Asia (review) // *Solid Fuel Chem.* 2019. V. 53. P. 1.)
123. Wenming D., Hongxia Zh., Meide H., Zuyi T. Use of the ion exchange method for the determination of stability constants of trivalent metal complexes with humic and fulvic acids — Part I: Eu^{3+} and Am^{3+} complexes in weakly acidic conditions // *Appl. Radiat. Isot.* 2002. V. 56. № 6. P. 959.
124. Sonke J.E., Salters V.J.M. Lanthanide–humic substances complexation. I. Experimental evidence for a lanthanide contraction effect // *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2006. V. 70. P. 1495.
125. Luo Y.-R., Byrne R.H. Carbonate complexation of yttrium and the rare earth elements in natural waters // *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2004. V. 68. № 4. P. 691.
126. Tang J., Johannesson K.H. Speciation of rare earth elements in natural terrestrial waters: Assessing the role of dissolved organic matter from the modeling approach // *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2003. V. 67. № 13. P. 2321.
127. Бек М. Химия равновесий реакций комплексообразования. М.: Мир, 1973. 360 с.
128. Pourret O., Davranche M., Gruau G., Dia A. Rare earth elements complexation with humic acid // *Chem. Geol.* 2007. V. 243. P. 128.
129. Stern J.C., Sonke J.E., Salters V.J.M. A capillary electrophoresis-ICP-MS study of rare earth element complexation by humic acids // *Chem. Geol.* V. 246. P. 170.
130. Takahashi Y., Minai Y., Ambe Sh., Makide Y., Ambe F., Tominaga T. Simultaneous determination of stability constants of humate complexes with various metal ions using multitracer technique // *Sci. Total Environ.* 1997. V. 198. № 1. P. 61.
131. Yamamoto Y., Takahashi Y., Shimizu H. Interpretation of REE patterns in natural water based on the stability constants // *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2006. V. 70. (18 Suppl. 1). P. A717.
132. Pedrot M., Dia A., Davranche M. Dynamic structure of humic substances: Rare earth elements as a fingerprint // *J. Colloid Interface Sci.* 2010. V. 345. P. 206.
133. Pourret O., Martinez R.E. Modeling lanthanide series binding sites on humic acid // *J. Colloid Interface Sci.* 2009. V. 330. № 1. P. 45.
134. Варшал В.А., Велюханова Т.К., Чхетия Д.Н., Холлин Ю.В., Шумская Т.В., Тютюнник О.А., Кошечева И.Я., Корочанцев А.В. Сорбция на гуминовых кислотах как основа механизма первичного накопления золота и элементов группы платины в черных сланцах // *Литология и полезные ископаемые.* 2000. № 6. С. 605. (Varshal G.M., Velyukhanova T.K., Chkhetiya D.N., Kholin Yu.V., Shumskaya T.V., Tyutyunnik O.A., Koshcheeva I.Ya., Korochantsev A.V. Sorption on humic acids as a basis for the mechanism of primary accumulation of gold and platinum group elements in black shales // *Lithol. Miner. Resour.* 2000. V. 35. P. 538.)
135. Dong W., Li W., Tao Z. Use of the ion exchange method for the determination of stability constants of trivalent metal complexes with humic and fulvic acids II. Tb^{3+} , Yb^{3+} and Gd^{3+} complexes in weakly alkaline conditions // *Appl. Radiat. Isot.* 2002. V. 56. P. 967.
136. He E., Lü Ch., He J., Zhao B., Wang J. Binding characteristics of Cu^{2+} to natural humic acid fractions sequentially extracted from the lake sediments // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2016. V. 23. Article 22667.
137. World Health Organization, Guidelines for Drinking-water Quality. 4th edition incorporating the 1st addendum. Geneva: WHO, 2017. 542 p.
138. СанПиН 2.1.3684–21. Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению,

- атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2021. 75 с.
139. РД 52.24.643-2002. Методические указания. Метод комплексной оценки степени загрязненности поверхностных вод по гидрохимическим показателям. СПб.: Гидрометеоиздат, 2003. 55 с.
 140. *Lister S.K., Line M.A.* Potential utilisation of sewage sludge and paper mill waste for biosorption of metals from polluted waterways // *Bioresour. Technol.* 2001. V. 79. P. 35.
 141. *Lai C.-H., Chen C.-Y., Wei B.-L., Yeh S.-H.* Cadmium adsorption on goethite-coated sand in the presence of humic acid // *Water Res.* 2002. V. 36. P. 4943.
 142. *Koopal L.K., van Riemsdijk W.H., Kinniburgh D.G.* Humic matter and contaminants. General aspects and modeling metal ion binding // *Pure Appl. Chem.* 2001. V. 73. P. 2005.
 143. *Seki S., Suzuki A.* Adsorption of heavy metal ions onto insolubilized humic acid // *J. Colloid Interface Sci.* 1995. V. 171. P. 490.
 144. *Abollino O., Aceto M., Malandrino M., Sarzanini C., Mentasti E.* Adsorption of heavy metals on Na-montmorillonite. Effect of pH and organic substances // *Water Res.* 2003. V. 37. P. 1619.
 145. *Pesavento M., Profuma A., Alberti G., Conti F.* Adsorption of lead(II) and copper(II) on activated carbon by complexation with surface functional groups // *Anal. Chim. Acta.* 2003. V. 480. P. 171.
 146. *Liu A., Gonzalez R.D.* Modeling adsorption of copper(II), cadmium(II) and lead(II) on purified humic acid // *Langmuir.* 2000. V. 16. P. 3902.
 147. *Guthrie J.W., Mandal R., Salam M.S.A., Hassan M.N., Murimboh J., Chakrabati C.L., Back M.H., Gregoire D.C.* Kinetic studies of nickel speciation in model solutions of a well-characterized humic acid using the competing ligand exchange method // *Anal. Chim. Acta.* 2003. V. 480. P. 157.
 148. *Baker H., Khalili F.* Comparative study of binding strengths and thermodynamic aspects of Cu(II) and Ni(II) with humic acid by Schubert's ion-exchange method // *Anal. Chim. Acta.* 2003. V. 497. P. 235.
 149. *Naceur W.M., Ait Messaoudene N., Aggoun A.* Microfiltration reinforced adsorption of humic acids onto modified Algerian clay // *Desalination.* 2003. V. 158. P. 271.
 150. *Baker H., Khalili F.* Analysis of the removal of lead(II) from aqueous solutions by adsorption onto insolubilized humic acid: temperature and pH dependence // *Anal. Chim. Acta.* 2004. V. 516. P. 179.
 151. *Gezici O., Kara H., Ayar A., Topkafa M.* Sorption behavior of Cu(II) ions on insolubilized humic acid under acidic conditions: An application of Scatchard plot analysis in evaluating the pH dependence of specific and nonspecific bindings // *Sep. Purif. Technol.* 2007. V. 55. P. 132.
 152. *Cezikova J., Kozler J., Madronova L., Novak J., Janos P.* Humic acid from coals of the North-Bohemian coal field II. Metal-binding capacity under static conditions // *React. Funct. Polym.* 2001. V. 47. P. 111.
 153. *Ran Y., Fu J., Rate A.W., Gilkes R.J.* Adsorption of Au(I, III) complexes on Fe, Mn oxides and humic acid // *Chem. Geol.* 2002. V. 185. P. 33-49.
 154. *Kyziol J., Twardowska I., Schmitt-Kopplin Ph.* The role of humic substances in chromium sorption onto natural organic matter (peat) // *Chemosphere.* 2006. V. 63. P. 1974.
 155. *Klucakova M., Pekar M.* New model for equilibrium sorption of metal ions on solid humic acids // *Colloids Surf. A.* 2006. V. 286. P. 126.
 156. *Arslan G., Edeballi S., Pehlivan E.* Physical and chemical factors affecting the adsorption of Cr(VI) via humic acids extracted from brown coals // *Desalination.* 2010. V. 255. P. 117.
 157. *Çelebi O., Erten H.N.* Adsorption behavior of radionuclides, ¹³⁷Cs and ¹⁴⁰Ba, onto solid humic acid / *Survival and Sustainability. Environmental Earth Sciences s.l.* / Eds. Gökçek H., Türker U., LaMoreaux J.W. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2011. P. 1065.
 158. *Yang K., Miao G., Wu W., Lin D., Pan B., Wu F., Xing B.* Sorption of Cu²⁺ on humic acids sequentially extracted from a sediment // *Chemosphere.* 2015. V. 138. P. 657.
 159. *Жеребцов С.И., Малышенко Н.В., Брюховецкая Л.В., Лыршиков С.Ю., Исмагилов З.Р.* Сорбция катионов меди из водных растворов бурыми углями и гуминовыми кислотами // *Химия твердого топлива.* 2015. № 5. С. 30. (*Zherebtsov S.I., Malysenko N.V., Bryukhovetskaya L.V., Lyrshchikov S.Yu., Ismagilov Z.R.* Sorption of copper cations from aqueous solutions by brown coals and humic acids // *Solid Fuel Chem.* 2015. V. 49. № 5. P. 294.)
 160. *Брюховецкая Л.В., Жеребцов С.И., Малышенко Н.В., Исмагилов З.Р.* Изучение методом ЭПР сорбции катионов меди нативными и модифицированными гуминовыми кислотами // *Кокс и химия.* 2016. № 11. С. 26. (*Bryukhovetskaya L.V., Zherebtsov S.I., Malysenko N.V., Ismagilov Z.R.* Sorption of copper cations by native and modified humic acids // *Coke and Chemistry.* 2016. V. 59. № 11. P. 420.)
 161. *Zaki A.A., Ahmad M.I.* Batch and chromatographic removal of Nd³⁺ and Dy³⁺ ions from waste solutions using humic acid // *J. Environ. Chem. Eng.* 2016. V. 4. P. 4310.
 162. *Khalili F.I., Khalifa A., Al-Banna G.* Removal of uranium(VI) and thorium(IV) by insolubilized humic acid originated from Azraq soil in Jordan // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2017. V. 311. P. 1375.
 163. *Qi Y., Zhu J., Fu Q., Hu H., Rong X., Huang Q.* Characterization and Cu sorption properties of humic acid from the decomposition of rice straw // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2017. V. 24. P. 23744.
 164. *Жеребцов С.И., Малышенко Н.В., Брюховецкая Л.В., Исмагилов З.Р.* Изучение сорбции катионов марганца модифицированными гуминовыми кислотами бурых углей // *Кокс и химия.* 2017. № 11. С. 43. (*Zherebtsov S.I., Malysenko N.V., Bryukhovetskaya L.V., Ismagilov Z.R.* Sorption of manganese cations by modified humic acids from lignite // *Coke and Chemistry.* 2017. V. 60. № 11. P. 433.)

165. *Wei L., Li J., Xue M., Wang Sh., Li Q., Qin K., Jiang J., Ding J., Zhao Q.* Adsorption behaviors of Cu^{2+} , Zn^{2+} and Cd^{2+} onto proteins, humic acid, and polysaccharides extracted from sludge EPS: Sorption properties and mechanisms // *Bioresour. Technol.* 2019. V. 291. Article 121868.
166. *Лодыгин Е.Д.* Сорбция ионов Cu^{2+} и Zn^{2+} гуминовыми кислотами тундровой торфяно-глеевой почвы // *Почвоведение.* 2019. № 7. С.817. (*Lodygin E.D.* Sorption of Cu^{2+} and Zn^{2+} ions by humic acids of tundra peat gley soils (histic reductaquic cryosols) // *Eurasian Soil Sci.* 2019. V. 52. № 7. P. 769.)
167. *Gezici O., Kara H., Ersoz M., Abali Y.* The sorption behavior of a nickel-insolubilized humic acid system in a column arrangement // *J. Colloid Interface Sci.* 2005. V. 292. P. 381.
168. *El-Eswed B., Khalili F.* Adsorption of $\text{Cu}(\text{II})$ and $\text{Ni}(\text{II})$ on solid humic acid from the Azraq area, Jordan // *J. Colloid Interface Sci.* 2006. V. 299. № 2. P. 497.
169. *Lemarchand E., Schott J., Gaillardet J.* Boron isotopic fractionation related to boron sorption on humic acid and the structure of surface complexes formed // *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2005. V. 69. № 14. P. 3519.
170. *Zhang J., Yin H., Chen L., Liu F., Chen H.* The role of different functional groups in a novel adsorption-complexation-reduction multi-step kinetic model for hexavalent chromium retention by undissolved humic acid // *Environ. Pollut.* 2018. V. 237. P. 740.
171. *Pilarski J., Waller P., Pickering W.* Sorption of antimony species by humic acid // *Water Air Soil Pollut.* 1995. V. 84. P. 51.
172. *Kamei-Ishikawa N., Tagami K., Uchida S.* Sorption kinetics of selenium on humic acid // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2007. V. 274. № 3. P. 555.
173. *Chen L., Zhu Y., Luo H., Yang J.* Characteristic of adsorption, desorption, and co-transport of vanadium on humic acid colloid // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2020. V. 190. Article 110087.
174. *Жеребцов С.И., Малышенко Н.В., Брюховецкая Л.В., Лыршиков С.Ю., Исмагилов З.Р.* Сорбция катионов кобальта гуминовыми кислотами // *Кокс и химия.* 2018. № 7. С.35. (*Zherebtsov S.I., Malyshenko N.V., Bryukhovetskaya L.V., Lyrshchikov S.Yu., Ismagilov Z.R.* Sorption of cobalt cations by humic acids // *Coke and Chemistry.* 2018. V. 61. № 7. P. 35.)
175. *Ghabbour E.A., Shaker M., El-Toukhy A., Abid I.M., Davies G.* Thermodynamics of metal cation binding by a solid soil derived humic acid. 2. Binding of $\text{Mn}(\text{II})$, $\text{Co}(\text{NH}_3)_3^{3+}$ and $\text{Hg}(\text{II})$ // *Chemosphere.* 2006. V. 64. P. 826.
176. *Madronová L., Kozler J., Čežíková J., Novak J., Janos P.* Humic acids from coal of the North-Bohemia coal field III. Metal-binding properties of humic acids – measurements in a column arrangement // *React. Funct. Polym.* 2001. V. 47. P. 119.
177. *Martyniuk H., Wieckowska J.* Adsorption of metal ions on humic acids extracted from brown coals // *Fuel Process. Technol.* 2003. V. 84. P. 23.
178. *Fukushima M., Miura A., Sasaki M., Izumo K.* Effect of an allophanic soil on humification reactions between catechol and glycine: Spectroscopic investigations of reaction products // *J. Mol. Struct.* 2009. V. 917. P. 142.
179. *Zhang Y., Yue D., Lu X., Zhao K., Ma H.* Role of ferric oxide in abiotic humification enhancement of organic matter // *J. Mater. Cycles Waste Manag.* 2017. V. 19. P. 585.
180. *Yang T., Hodson M.E.* Investigating the use of synthetic humic-like acid as a soil washing treatment for metal contaminated soil // *Sci. Total Environ.* 2019. V. 647. P. 290.
181. *Yang T., Hodson M.E.* Investigating the potential of synthetic humic-like acid to remove metal ions from contaminated water // *Sci. Total Environ.* 2018. V. 635. P. 1036.
182. *Liu S., Liu Y., Pan B., He Y., Li B., Zhou D., Xiao Y., Qiu H., Vijver M.G., Peijnenburg W.J.G.M.* The promoted dissolution of copper oxide nanoparticles by dissolved humic acid: Copper complexation over particle dispersion // *Chemosphere.* 2020. V. 245. Article 125612.
183. *Zhang D., Chen H., Xia J., Nie Zh., Fan X., Liu H., Zheng L., Zhang L., Yang H.* Humic acid promotes arsenopyrite bio-oxidation and arsenic immobilization // *J. Hazard. Mater.* 2020. V. 384. Article 121359.
184. *Kirishima A., Ohnishi T., Sato N., Tochiyama O.* Simplified modeling of the complexation of humic substance for equilibrium calculations // *J. Nucl. Sci. Technol.* 2010. V. 47. № 11. P. 1044.
185. *Glaus M.A., Hummel W., Van Loon L.R.* Equilibrium dialysis-ligand exchange: Adaptation of the method for determination of conditional stability constants of radionuclide-fulvic acid complexes // *Anal. Chim. Acta.* 1995. V. 303. P. 321.

СОРБЦИОННОЕ КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ КВЕРЦЕТИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНО ИМПРИНТИРОВАННЫХ ФЛОРОГЛЮЦИНО-МЕЛАМИНО-ФОРМАЛЬДЕГИДНЫХ СМОЛ

© 2023 г. Ю. Ю. Петрова^а, *, Е. В. Булатова^а, Е. В. Кухтенко^б

^аСургутский государственный университет
просп. Ленина, 1, Сургут, Ханты-Мансийский автономный округ – Югра, 628412 Россия

^бНациональный исследовательский университет ИТМО
Кронверкский просп., 49, литер А, Санкт-Петербург, 197101 Россия

*e-mail: petrova_juju@surgu.ru

Поступила в редакцию 02.06.2023 г.

После доработки 18.07.2023 г.

Принята к публикации 27.07.2023 г.

Получены гидрофильные импринтированные кверцетином флороглюцино-меламино-формальдегидные смолы. Полученные образцы исследовали методами ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье и лазерной дифракции. Оптимизировано соотношение флороглюцин–меламин (3 : 1), когда сорбционная емкость по отношению к кверцетину молекулярно импринтированной смолы (1.7 мкмоль/г) в 2.6 больше, чем неимпринтированной. Показано, что кинетика повторного связывания кверцетина как молекулярно импринтированными, так и неимпринтированными смолами подчиняется модели псевдотортого порядка, а изотермы – модели Фрейндлиха, что указывает на неоднородность поверхности смол. Импринтированная кверцетином смола продемонстрировала высокую селективность к морину (структурному аналогу кверцетина класса флавонолов) и кофеину. При этом показано, что кверцетин можно использовать в качестве псевдотемплата для разделения и концентрирования нарингенина (представителя флавононов) и рутина (представителя флавонолов).

Ключевые слова: молекулярный импринтинг, повторное связывание, морин, нарингенин, рутин, кофеин.

DOI: 10.31857/S0044450223120137, **EDN:** YWUKXG

Полимеры с молекулярными отпечатками, характеризующиеся высоким сродством и селективностью по отношению к молекулам-мишеням, широко используют в методах разделения и концентрирования [1–5]. Однако многие извлекаемые аналиты либо растворимы в воде, либо присутствуют в системах с высоким содержанием воды. Молекулы воды при образовании водородных связей являются одновременно как акцепторами, так и донорами протонов, они конкурируют за разрыв водородных связей между молекулами-темплатами и функциональными мономерами в процессе импринтинга и распознавания, что значительно снижает его эффективность. В связи с этим довольно сложно синтезировать селективные молекулярно импринтированные полимеры (МИП) в водных системах [6]. Как показали многочисленные исследования [7–10], МИП на основе фенольных смол (далее молекулярно импринтированные смолы, МИС) не только просто синтезировать, но они обладают достаточно высокой химической стабильностью и высокой механической

прочностью, а также имеют в своем составе большое количество гидрофильных функциональных групп, что позволяет использовать их для сорбционного извлечения следовых количеств загрязнителей непосредственно из водных сред [7] в анализе объектов окружающей среды, а также в анализе биологических объектов [8–10] в медицине, пищевой и фармацевтической промышленности.

Так, МИС [8], полученную гидротермальным способом из меркаптофенола и глутарового альдегида, использовали в качестве сорбента для твердофазной экстракции с последующим определением методом жидкостной хроматографии-танDEMной масс-спектрометрии (ЖХ-МС/МС) длинноцепочечных перфторкарбоновых кислот (ПФК), включая перфтороктановую, перфторнонановую и перфтордекановую кислоты, в образцах свиных. Этот метод прост в использовании, не требует длительной экстракции (6–8 мин) и большой массы сорбента (2 мг), а также обеспечивает эффективное извлечение аналитов. В сочетании с ЖХ-МС/МС метод позволяет определять длин-

ноцепочечные ПФК в широком диапазоне (0.05–200 нг/г) с низкими пределами обнаружения (0.011–0.080 нг/г). Однако применимость МИС для сорбции короткоцепочечных и других длинноцепочечных ПФК еще предстоит изучить [8]. Гидрофильные МИС на основе глубокого эвтектического растворителя, полученные из 3-аминофенола и формальдегида, продемонстрировали высокую селективность к распознаванию в воде 4,4'-дихлорбензгидрола и его структурных аналогов [9]. Глубокий эвтектический растворитель использовали во время синтеза как пороген и одновременно растворитель темплата, что позволило улучшить импринтинг фактор (>4) и увеличить поверхность, а также сорбционную емкость МИС. Авторы отмечают легкость регенерации МИС малым объемом (0.1 мл) смеси ацетонитрил–вода (1 : 1) при комнатной температуре и возможность их повторного использования в нейтральной среде (не менее 26 раз).

Другие авторы предложили поверхностный молекулярный импринтинг с использованием магнитных наночастиц Fe_3O_4 [11, 12] и оксида графена [13], что позволило эффективно отделять сорбенты на основе МИС из раствора в магнитном поле. Например, молекулярно-импринтированные резорцинформальдегидные смолы на поверхности наночастиц Fe_3O_4 продемонстрировали не только хорошие магнитные свойства для быстрого отделения из раствора и способность к регенерации, но и высокую сорбционную емкость (36 мг/г) и достаточную селективность (импринтинг фактор 4.36) по отношению к темплату [11]. А в сочетании с ВЭЖХ метод твердофазной экстракции с использованием магнитных МИС позволяет селективно разделять и определять негормональный противовоспалительный препарат сулидак в сточных водах с пределом обнаружения 2 нг/мл. Однако величина импринтинг фактора, который характеризует эффективность распознавания молекул, в некоторых случаях, например с красителем родамином Б [12], не превышает 1.4.

В данной работе получали молекулярно импринтированную флороглюцино-меламино-формальдегидную смолу подобно тому, как описано в работе [14]. Флороглюцин и меламин использовали в качестве функциональных мономеров, которые обогащают смолу гидроксильными и иминогруппами, а также эфирными связями, делая ее более гидрофильной. В качестве сшивающего агента использовали формальдегид, а темплата – представитель класса флавонолов кверцетин (Qu), являющийся биологически активным веществом растительного происхождения, которое широко используют в биологических добавках и препаратах, в том числе при лечении целого ряда заболеваний. Цель работы – создание селективного сорбента для разделения и сорбционного концен-

трирования кверцетина из водных сред, например экстрактов из растений. Для увеличения сорбционной емкости смол использовали в качестве порогена полиэтиленгликоль, а для повышения эффективности молекулярного импринтинга (импринтинг фактора) варьировали соотношение мономеров меламина и флороглюцина.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы. Использовали флороглюцин ($\geq 99.0\%$, Sigma-Aldrich, Китай); меламин (99%, Acros Organics, Великобритания); формалин (37.6%, Merck, Германия); полиэтиленгликоль (средняя молекулярная масса 6000, Panreac, Германия); кверцетин (99.3%, Sigma-Aldrich, США); нарингенин ($\geq 95\%$, Sigma-Aldrich, Великобритания); рутин (Ташкентский химико-фармацевтический завод, Узбекистан); морина гидрат (Acros Organics, Германия); кофеин х. ч. (АО “Сибтехнология”, Россия); уксусную кислоту х. ч. (НПО “ЭКРОС”, Россия); ацетонитрил для ВЭЖХ ос. ч. (НПК “Криохром”, Россия); этиловый спирт (95%, ЗАО “РФК”, Россия) и др.

Стандартный 5.00×10^{-4} М раствор кверцетина для УФ-спектрофотометрии готовили растворением навески в 95%-ном этаноле; градуировочные 1.00×10^{-6} – 7.50×10^{-5} М растворы готовили разбавлением стандартного раствора ультрачистой водой (18 МОм см, система очистки воды “Аквалаб” УВОИ-“МФ”-1812, АО “НПК МЕДИА-НА-ФИЛЬТР”, Россия). Стандартные 1.65×10^{-3} М растворы кверцетина, нарингенина, морина и рутин для ВЭЖХ готовили растворением навесок в 70%-ном этаноле; 3.30×10^{-3} М раствор – в ультрачистой воде; 8.25×10^{-6} – 1.65×10^{-4} М градуировочные смеси готовили разбавлением стандартных растворов 70%-ным этанолом.

Оборудование. Распределение частиц смол по размерам исследовали методом лазерной дифракции (анализатор размера частиц SALD-2300 с емкостной ячейкой SALD-BC23, Shimadzu, Япония). Для регистрации ИК-спектров в режиме однократно нарушенного полного внутреннего отражения (ОНПВО) использовали ИК-спектрометр с преобразованием Фурье Spectrum 100 Series (Perkin Elmer, США) с алмазной приставкой Quest ATR (Spexac, Великобритания). Изображения поверхности образцов получали с помощью объектива Кассегрейна (15×) ИК-микроскопа AIM-9000 (Shimadzu, Япония). Величину общей удельной поверхности определяли методом тепловой десорбции газа-адсорбата (методом БЭТ) с использованием анализатора удельной поверхности дисперсных и пористых материалов ТермоСорб TPD 1200 (Катокон, Россия). Концентрацию веществ в растворах контролировали методом спектрофотомет-

рии в УФ- и видимом диапазонах (спектрофотометр UV-2600, Shimadzu, Япония).

Для изучения селективности повторного связывания использовали хроматограф жидкостный микроколоночный Милихром А-02 с УФ-детектированием (ЭкоНова, Россия). Хроматограммы регистрировали методом градиентной ВЭЖХ при длине волны детектора 260 нм: хроматографическая колонка 75 × 2 мм ProntoSIL 120-5C18 AQ (Bishoff, Германия) при температуре термостата колонки 40°C, расход элюента — 100 мкл/мин, объем пробы — 4 мкл. Состав подвижной фазы: А — смесь (4 М LiClO₄ + 0.1 М HClO₄)—вода (1 : 19, по объему), Б — ацетонитрил (градиент: 5–48% элюента Б). Хроматограммы обрабатывали, используя программное обеспечение АльфаСпектр 1.2.

Синтез флороглуцино–меламина–формальдегидных (ФМФ) смол. Молекулярно импринтированные смолы получали путем поликонденсации мономеров в смеси этанол–вода (5 : 4, по объему), используя методику [14]. Для этого флороглуцин (3 ммоль) и формальдегид (12 ммоль) растворяли в 4.5 мл водно-этанольной смеси при комнатной температуре под действием ультразвука и при перемешивании магнитной мешалкой в течение 30 мин (раствор I). Меламин (1 ммоль) и формальдегид (2 ммоль) растворяли в 1.5 мл водно-этанольной смеси при нагревании до 80°C и постоянном перемешивании до полного растворения (раствор II). После охлаждения раствора II до комнатной температуры его смешивали с раствором I. К полученной предполимеризационной смеси затем добавляли полиэтиленгликоль (0.025 ммоль) в качестве порогена и кверцетин (0.16 ммоль) в качестве темплата. Смесь перемешивали при нагревании (40°C) в течение 30 мин и выдерживали в воздушном термостате при 60°C в течение 2 ч, далее при 80°C в течение 24 ч. В контрольный неимпринтированный образец (НИС) кверцетин не добавляли. Меламинформальдегидные (МФ) и флороглуциноформальдегидные (ФФ) смолы получали, как описано выше, но без добавления флороглуцина или меламина соответственно.

После высушивания образцы МФ, ФФ и ФМФ измельчали либо в течение 1 мин в лабораторной шаровой мельнице МЛ-1 (ООО “НПЭФ ЭКОН”, Россия), либо в агатовой ступке.

Для удаления темплата после синтеза образцы элюировали смесью этанол–уксусная кислота (9 : 1, по объему) двумя способами: 1) способом последовательных отмывок (навеска 105–110 мг, по 4 мл, 5–10 мин с последующим центрифугированием 14000 об/мин) и 2) экстракцией по Сокслету (навеска 400 мг, 100 мл, 36 ч), далее 5-кратно промывали водой и высушивали при 60°C. Концентрацию кверцетина в растворе контролировали спектрофотометрическим методом ($\lambda = 373.6$ нм) и рассчитывали кажущуюся степень отмывки как долю

количества кверцетина, элюированного из образцов ФМФ МИС, по отношению к количеству, введенному при синтезе МИС.

Изучение сорбционных свойств флороглуцино–меламина–формальдегидных смол. Кинетику повторного связывания кверцетина (темплата) изучали в условиях статической сорбции из водных 10 мкМ растворов кверцетина. 50 мг образца МИС или НИС помещали в исследуемый раствор кверцетина (~50 мл), далее каждые 5–15 мин отбирали аликвоты (3.0 мл) этого раствора для определения концентрации кверцетина спектрофотометрическим методом при длине волны 367.6 нм. Для изучения изотерм повторного связывания проводили сорбционный эксперимент из 5–70 мкМ растворов кверцетина при 27°C (термостат суховоздушный ТС-1/80 СПУ, ОАО “Смоленское СКТБ СПУ”, Россия): 10 мг образца МИС или НИС помещали в 10 мл раствора кверцетина и при периодическом перемешивании выдерживали в течение 1 сут до достижения равновесия.

Для изучения селективности повторного связывания использовали отдельные растворы рутина, морина, нарингенина и кофеина: 10 мг образца МИС или НИС помещали в 10 мл 50 мкМ раствора исследуемого соединения, далее отбирали аликвоты по 250 мкл в течение 2 ч для определения концентрации методом градиентной ВЭЖХ.

Сорбционные свойства МИС и НИС, а также эффективность молекулярного импринтинга характеризовали, рассчитывая степень извлечения (R , %), сорбционную емкость (q , мкмоль/г) и импринтинг фактор (ИФ) как отношение сорбционной емкости МИС к сорбционной емкости НИС в текущий момент времени t . Селективность повторного связывания оценивали как отношение импринтинг факторов при связывании темплата и исследуемого вещества (коэффициент селективности α). Кинетику повторного связывания кверцетина в МИС и НИС изучали, используя модели псевдопервого и псевдovторого порядков [9, 10, 13]. Для описания механизмов повторного связывания использовали модели Ленгмюра и Фрейндлиха [9–11, 13, 15]. Для проверки подчиненности моделям применяли линеаризованные зависимости: уравнение Скэтчарда и логарифмированное выражение уравнения Фрейндлиха. В первом случае адсорбционный процесс характеризовали, рассчитывая эффективную константу связывания K_a и максимальную сорбционную емкость q_{\max} , а во втором — коэффициент адсорбции β и эмпирическую константу n как меру гетерогенности сайтов связывания.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Флороглуцино–меламина–формальдегидные МИС получали смешиванием отдельно приго-

Таблица 1. Количество и соотношение флороглюцина (Ф) и меламина (М) при синтезе флороглюцино-меламино-формальдегидных (ФМФ) молекулярно импринтированных смол

Количество и соотношение Ф и М	ФМФ (3 : 1)	ФМФ (1 : 3)	ФМФ (1 : 1)	ФФ	МФ
Флороглюцин (Ф), ммоль	3	1	2	4	—
Меламин (М), ммоль	1	3	2	—	4
Соотношение флороглюцин–меламин	3 : 1	1 : 3	1 : 1	—	—
Соотношение флороглюцин–формальдегид	1 : 4	1 : 3	1 : 3	1 : 3	—
Соотношение меламин–формальдегид	1 : 2	1 : 3	1 : 3	—	1 : 3

товленных растворов мономеров (флороглюцина и меламина) в присутствии сшивателя (формальдегида) с последующим добавлением порогена (полиэтиленгликоля) и кверцетина. Реакцию сополимеризации проводили при длительном нагревании. Варьировали соотношение мономеров меламина (М) и флороглюцина (Ф): 1 : 3, 1 : 1 и 3 : 1, получили три образца ФМФ МИС, а также отдельно меламинформальдегидную и флороглюцинформальдегидную смолы (табл. 1).

Кажущаяся степень отмывки образцов ФМФ МИС от темплата смесью этанол–уксусная кислота (9 : 1, по объему) в аппарате Сокслета значительно больше (22–29%), чем степень отмывки способом последовательных отмывок (15–22%). При этом кажущаяся степень отмывок ФФ и МФ МИС не превысила 4%. Поэтому последующую отмывку образцов ФМФ МИС, в том числе после повторного связывания, проводили в аппарате Сокслета смесью этанол–уксусная кислота (9 : 1, по объему).

В ИК–спектрах (ОНПВО) ФМФ-, МФ- и ФФ-смол, как импринтированных кверцетином (рис. 1), так и неимпринтированных, идентифицировали полосы валентных колебаний эфирных С–О–С (1111–1081 см⁻¹) [9, 13] и С–О связей (1004–999 см⁻¹) [16, 17], С–N связей триазинового кольца меламина (1550–1545 см⁻¹ и 1354–1336 см⁻¹) [13, 14, 16], двойных связей С=C ароматического кольца фенола (1614–1600 см⁻¹ и 1480–1451 см⁻¹) [9, 13, 14], деформационных внеплоскостных колебаний N–H в ароматических аминах (813–810 см⁻¹) [13, 14, 16] и деформационных внеплоскостных колебаний С–N ароматического кольца (786–745 см⁻¹) [17], соответствующие функциональным группам мономеров (флороглюцина и меламина), темплата (кверцетина) и образующейся смолы.

Средний диаметр (рис. 2а) и распределение по размерам (рис. 2б) частиц мало зависит от способа измельчения (в шаровой мельнице или агатовый ступке), но в большей степени – от плотности сшивки образующейся смолы в разных условиях. Наиболее твердый образец со средним размером частиц ~100–130 мкм получен в случае меламинформальдегидной смолы (рис. 2а), а с увеличением доли флороглюцина в ФМФ МИС наблюдали увеличение размера частиц. В случае ФМФ (3 : 1)

смол получена широкая фракция частиц размером от 10 до 500 мкм (рис. 2б).

На снимках поверхности образцов ФМФ (3 : 1) МИС и НИС (рис. 3а и 3б), полученных в присутствии порогена (полиэтиленгликоль), хорошо видна пористая структура по сравнению с образцами МИС и НИС (рис. 3в и 3г), полученными в отсутствие порогена. Удельная поверхность ФМФ (3 : 1) МИС с порогеном составила 46.26 м²/г, а размер пор – 0.151 нм.

При изучении повторного связывания кверцетина показано (табл. 2), что с увеличением содержания меламина в ФМФ-смолах наблюдали увеличение сорбционной емкости и степени извлечения кверцетина как для МИС, так и для НИС до 67.6 и 45.6% соответственно. Однако импринтинг фактор в этом случае снижается практически в два раза. Видно, что в качестве оптимального соотношения флороглюцин–меламин можно считать отношение 3 : 1, когда импринтинг фактор достигает максимального значения 2.6. Следует отметить при этом, что результаты параллельных измерений ($n = 5$, $P = 0.95$) хорошо воспроизводимы. Меламинформальдегидные МИС- и НИС-образцы показали хорошую степень извлечения (54.8 и 66.9% соответственно) и сорбционную емкость (более 4 мкмоль/г), однако импринтинг фактор составил менее 1. По-видимому, это можно объяснить высокой степенью сшивки МФ-смол, что согласуется с результатами лазерной дифракции (рис. 2).

Кинетику повторного связывания кверцетина ФФ-, ФМФ- и МФ-смолами (как МИС, так и НИС) хорошо описывает модель псевдвторого порядка [9, 10, 13] (табл. 3, рис. 4). При этом следует отметить, что при увеличении содержания меламина в смоле константа скорости псевдвторого порядка (k_2) уменьшается, а равновесная сорбционная емкость (q_e) увеличивается. Вероятно, это можно объяснить увеличением плотности сшивки смолы, и, как следствие, уменьшением размера пор и увеличением удельной поверхности образцов ФМФ (1 : 3)- и МФ-смол, по сравнению с ФМФ (3 : 1).

Для описания механизмов и типов центров связывания в молекулярно-импринтированные

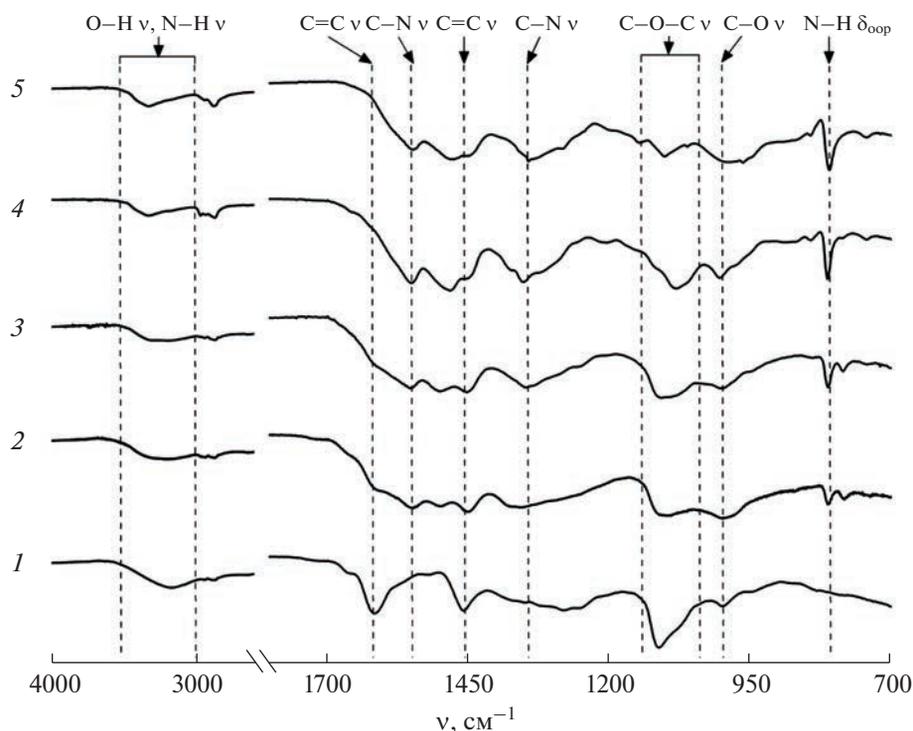


Рис. 1. ИК-спектры флороглюцино-меламино-формальдегидных (ФМФ), флороглюциноформальдегидной (ФФ) и меламинформальдегидной (МФ) молекулярно-импринтированных смол: 1 – ФФ, 2 – ФМФ (3 : 1), 3 – ФМФ (1 : 1), 4 – ФМФ (1 : 3), 5 – МФ.

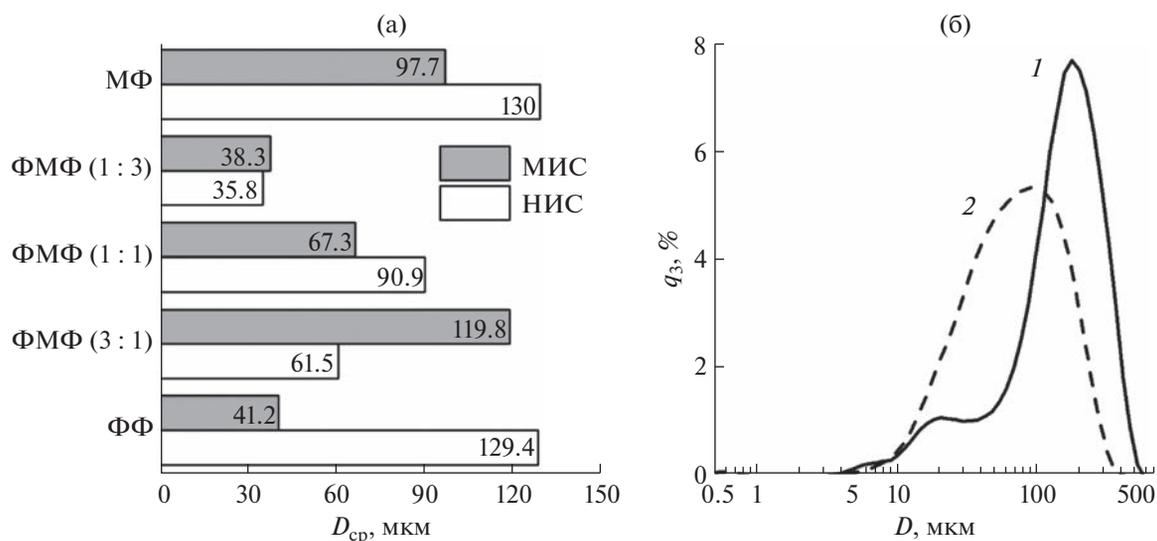


Рис. 2. Средний диаметр (D_{cp} , мкм) частиц (а) флороглюциноформальдегидных (ФФ), меламинформальдегидных (МФ) и флороглюцино-меламино-формальдегидных (ФМФ) смол и распределение частиц ФМФ (3 : 1) по размерам (б), полученное методом лазерной дифракции: 1 – молекулярно-импринтированная смола, 2 – неимпринтированная смола.

полимеры в литературе наиболее широко используют модели Лэнгмура и Фрейндлиха, либо смешанную модель [15]. Модель Лэнгмура может учитывать связывание в два или три типа центров

связывания, а модель Фрейндлиха описывает сорбционный процесс на неоднородной поверхности с большим числом функциональных групп и центров связывания. Показано, что изотермы сорб-

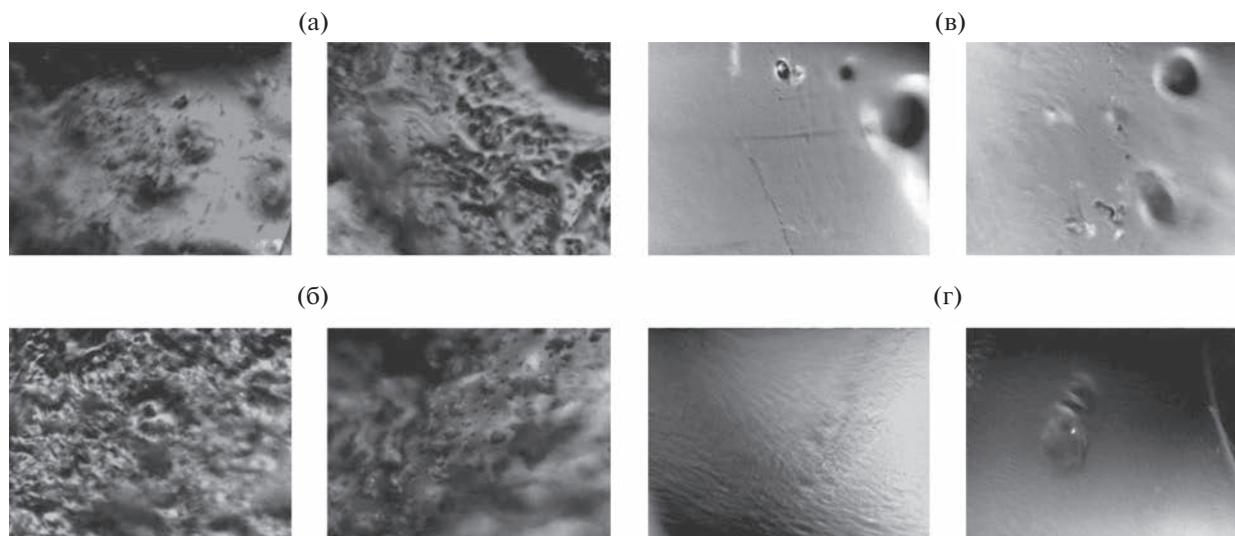


Рис. 3. Снимки поверхности флороглюцино-меламино-формальдегидных (3 : 1) молекулярно импринтированной (МИС) (а) и неимпринтированной смол (НИС) (б), полученных в присутствии полиэтиленгликоля, и МИС (в) и НИС (г) в отсутствие полиэтиленгликоля (15 \times , 400 \times 300 мкм).

ции кверцетина ФФ-, МФ- и ФМФ-смолами лучше описывает модель Фрейндлиха (табл. 4). При этом адсорбция (β) выше для МИС по сравнению с НИС только для смол ФМФ (3 : 1) и ФМФ (1 : 3), а также молекулярные сайты связывания кверцетина более гомогенны в образцах ФМФ (3 : 1) МИС ($n \sim 1$), чем в НИС.

Для изучения селективности повторного связывания ФМФ (3 : 1) импринтированных кверцетином смол в качестве модельных соединений выбрали рутин и морин как структурные аналоги темплата класса флавонолов; нарингенин, представитель класса флаванонов, и кофеин, представитель алкалоидов пуринового ряда (рис. 5).

При повторном связывании рутина и нарингенина импринтированными кверцетином смолами ФМФ (3 : 1) их максимальная сорбционная емкость (табл. 5) в 1.5 и 1.2 раза соответственно выше, чем у молекул темплата – кверцетина. Максимальная степень извлечения рутина, кверцетина и нарингенина из 50 мкМ растворов в 70%-ном этаноле составила 17.59, 14.93 и 13.31% соответственно. Важно отметить, что максимальная сорбционная емкость морина как МИС, так и НИС в 3–4 раза меньше, чем кверцетина. Импринтинг фактор, характеризующий эффективность молекулярного импринтинга (табл. 5), в начальный период повторного связывания (через 30 мин) варьировал от 1.24 (для морина) до 2.79 (для нарин-

Таблица 2. Сорбционные характеристики флороглюциноформальдегидных (ФФ), меламинформальдегидных (МФ) и флороглюцино-меламино-формальдегидных (ФМФ) смол при повторном связывании кверцетина (10 мкмоль/л кверцетина, 50 мл, 50 мг смолы)

Смола	R_{\max} , %		q_{\max} , мкмоль/г		ИФ _{max} (t , мин)
	МИС	НИС	МИС	НИС	
ФФ	27.9	22.7	2.5	2.1	1.8 (15)
ФМФ (3 : 1)	17.8 \pm 4.1	7.1 \pm 3.4	1.7 \pm 0.3	0.6 \pm 0.3	2.6 \pm 0.7** (25–55)
ФМФ (3 : 1)*	16.4	20.3	1.5	1.8	1.1 (35)
ФМФ (1 : 1)	48.7	50.6	4.0	4.0	1.5 (45)
ФМФ (1 : 3)	67.6	45.6	5.4	5.3	1.3 (45)
МФ	54.8	66.9	4.3	5.5	0.8 (сут)

* Без порогена; ** $n = 5$, $P = 0.95$.

Таблица 3. Кинетические параметры повторного связывания кверцетина флороглюцинформальдегидными (ФФ), меламинформальдегидными (МФ) и флороглюцино-меламино-формальдегидными (ФМФ) смолами

Образец		$q_{\text{сут}}$, мкмоль/г	Модель псевдвторого порядка*		
			k_2 , г/(мкмоль · мин)	q_e , мкмоль/г	R^2
ФФ:	МИС	2.5	1.5×10^4	2.7	0.918
	НИС	2.1	8.8×10^3	2.5	0.800
ФМФ (3 : 1):	МИС	2.0	14.0×10^4	0.8	0.968
	НИС	0.5	31.0×10^4	0.4	0.974
ФМФ (1 : 1):	МИС	4.0	3.4×10^4	1.7	0.998
	НИС	4.0	1.7×10^4	2.1	0.863
ФМФ (1 : 3):	МИС	5.4	1.6×10^4	4.3	0.982
	НИС	5.3	2.3×10^4	3.8	0.978
МФ:	МИС	4.3	1.3×10^4	2.8	0.941
	НИС	5.5	1.9×10^4	4.3	0.978

* Линеаризованное уравнение модели псевдо-второго порядка: $\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t$, где q_t и q_e – сорбционная емкость, мкмоль/г, в момент времени t , мин, и при достижении равновесия соответственно; k_2 – константа скорости псевдвторого порядка, г/(мкмоль · мин).

Таблица 4. Моделирование изотерм сорбции кверцетина флороглюцинформальдегидными (ФФ), меламинформальдегидными (МФ) и флороглюцино-меламино-формальдегидными (ФМФ) смолами с использованием модели Фрейндлиха*

Образец		Эмпирические коэффициенты Фрейндлиха		
		β	n	R^2
ФФ:	НИС	0.010	0.61	0.831
	МИС	0.005	0.54	0.913
ФМФ (3 : 1):	НИС	1.00×10^{-4}	0.37	0.704
	МИС	0.194	0.94	0.961
ФМФ (1 : 1):	НИС	0.013	0.62	0.841
	МИС	0.009	0.58	0.943
ФМФ (1 : 3):	НИС	0.075	0.69	0.929
	МИС	0.125	0.74	0.977
МФ:	НИС	0.062	0.70	0.973
	МИС	0.050	0.71	0.944

* $\lg q_t = \lg \beta + n \lg c$, где q_t – сорбционная емкость, мкмоль/г; c – концентрация кверцетина в растворе, М; β и n – эмпирические константы, где β – адсорбция, а n можно интерпретировать как степень гетерогенности сайтов связывания.

генина), а через 120 мин снижался в 1.3–1.8 раза и только в случае рутина увеличивался в 1.3 раза, что, по-видимому, связано с образованием дополнительных водородных связей его гликозидного остатка с функциональными группами на поверхности ФМФ-смолы. В отличие от нарингенина, рутина и морины как структурных аналогов кверцетина, импринтинг фактор при повтор-

ном связывании кофеина составил менее 1.0, т.е. сорбционные свойства МИС и НИС по отношению к кофеину неразличимы.

Наибольшую селективность ФМФ (3 : 1) МИС с отпечатками кверцетина проявляет относительно морины и кофеина (табл. 5): коэффициент селективности α , рассчитанный как отношение им-

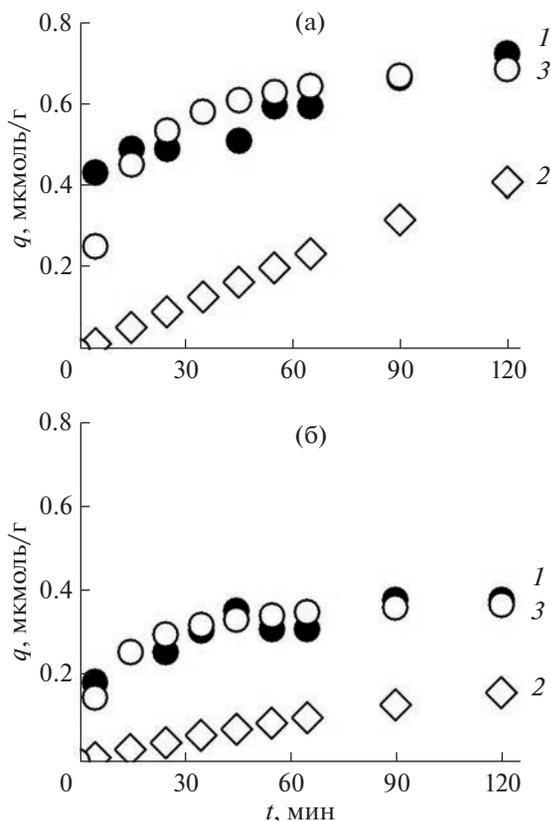


Рис. 4. Кривые зависимости сорбционной емкости от времени при повторном связывании кверцетина флороглюцино-меламино-формальдегидными молекулярно импринтированными смолами при соотношении флороглюцин–меламин 3 : 1 (а) и 1 : 3 (б): экспериментальные (1) и рассчитанные по моделям псевдопервого (2) и псевдовторого (3) порядков.

принтинг факторов темплата и исследуемого соединения, для кофеина уже через 30 мин составил 2.36, а через 2 ч – 3.15. И, наоборот, по отношению к нарингенину и рутину селективность связывания низкая ($\alpha < 1$), или, другими словами,

полученные молекулярные отпечатки кверцетина хорошо распознают нарингенин и рутин.

Кинетика повторного связывания выбранных модельных флавоноидов (нарингенина, рутина и мори́на) ФМФ (3 : 1) МИС, так же как и в случае кверцетина, подчиняется модели псевдовторого порядка (табл. 6), а НИС – смешанного (для кверцетина и нарингенина) или псевдовторого порядка (для рутина и мори́на). Интересно отметить, что в случае нарингенина и рутина равновесная сорбционная емкость (q_e) при их связывании МИС выше, чем НИС; а константа скорости k_2 при повторном связывании нарингенина и рутина выше, чем при связывании темплата – кверцетина. Это подтверждает выдвинутое ранее предположение о том, что отпечатки кверцетина в МИС хорошо распознают молекулы нарингенина и рутина.

Таким образом, методология молекулярного импринтинга позволила получить гидрофильную флороглюцино-меламино-формальдегидную смолу для сорбционного концентрирования и разделения кверцетина и его структурных аналогов (на примере рутина и нарингенина). Показано, что степень извлечения кверцетина (18–68%) и импринтинг фактор (1.3–2.6) практически не уступают подобным методикам извлечения фенольных соединений [10] и красителей [12] резорцино-меламино-формальдегидными и фенолформальдегидными смолами, а также кверцетина по поверхности импринтированными полимерами [18, 19]. Кроме того, показано, что кверцетин можно использовать в качестве псевдотемплата для получения молекулярно импринтированной флороглюцино-меламино-формальдегидной смолы, которая перспективна для сорбционного разделения и концентрирования нарингенина и рутина (максимальная сорбционная емкость 6.96 и 8.42 мкмоль/г соответственно, импринтинг фактор 1.5–2.8). При этом полученная имприн-

Таблица 5. Сорбционные характеристики и селективность повторного связывания нарингенина, рутина, мори́на и кофеина импринтированными кверцетином флороглюцино-меламино-формальдегидными (3 : 1) смолами

Сорбат	R_{\max} , %		q_{\max} , мкмоль/г		ИФ		α	
	МИС	НИС	МИС	НИС	30 мин	120 мин	30 мин	120 мин
Кверцетин	14.93	10.47	5.61	4.14	1.75	1.26	–	–
Нарингенин	13.31	7.60	6.96	3.62	2.79	1.54	0.63	0.82
Рутин	17.59	9.80	8.42	4.66	1.56	2.03	1.12	0.62
Морин	3.64	3.55	1.39	1.37	1.24	0.92	1.41	1.37
Кофеин	4.26	4.96	3.62	4.31	0.74	0.40	2.36	3.15

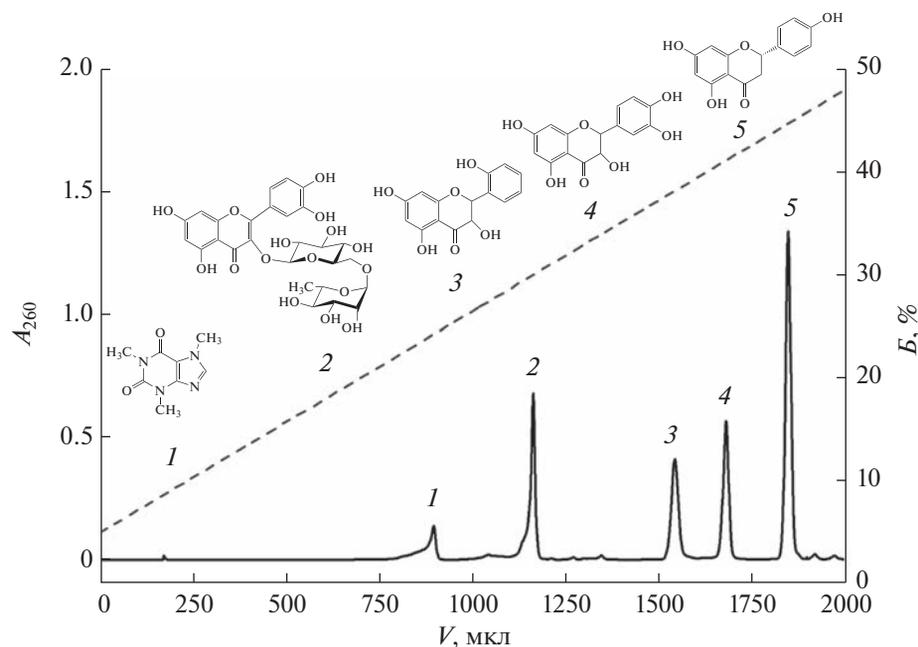


Рис. 5. Хроматограмма смеси (1 – кофеин, 2 – рутин, 3 – морин, 4 – кверцетин, 5 – нарингенин) в режиме градиентного элюирования. Условия хроматографирования: объем пробы 4 мкл; А – (4 М LiClO₄ – 0.1 М HClO₄)–H₂O (1 : 19, по объему); В – ацетонитрил; градиент: 5–48% элюента В; расход элюента 100 мкл/мин; УФ-детектирование при 260 нм.

Таблица 6. Кинетические параметры повторного связывания кверцетина, нарингенина, рутина, морина и кофеина флороглюцино-меламино-формальдегидными (3 : 1) смолами (50 мкМ, 10 мл, 10 мг смолы)

Сорбат	Образец	Модель псевдопервого порядка			Модель псевдовторого порядка		
		k_1 , мин ⁻¹	q_e , мкмоль/г	R^2	k_2 , г/(мкмоль · мин)	q_e , мкмоль/г	R^2
Кверцетин	МИС	–	–	–	0.015	5.81	0.958
	НИС	0.013	3.72	0.882	0.005	4.37	0.796
Нарингенин	МИС	–	–	–	0.057	7.04	0.968
	НИС	0.026	3.20	0.940	0.016	3.63	0.981
Рутин	МИС	–	–	–	0.076	4.03	0.893
	НИС	–	–	–	0.198	2.79	0.883
Морин	МИС	–	–	–	0.750	1.35	0.957
	НИС	–	–	–	0.355	1.41	0.891
Кофеин*	МИС	0.004	1.3	0.710	–	–	–
	НИС	0.005	2.4	0.788	–	–	–

* 100 мкМ.

тированная кверцетином смола селективна по отношению к морину и кофеину (коэффициент селективности 1.3–3.2).

Авторы выражают благодарность за финансовую поддержку Правительству Ханты-Мансийского автономного округа – Югры (приказ от 04.09.2020 № 10-П-1308).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pichon V., Delaunay N., Combès A. Sample preparation using molecularly imprinted polymers // *Anal. Chem.* 2020. V. 92. P. 16. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b04816>
2. Kaya S.I., Cetinkaya A., Ozkan S.A. Molecularly imprinted polymers as highly selective sorbents in sample preparation techniques and their applications in environmental water analysis // *Trends Environ. Anal. Chem.* 2023. V. 37. Article e00193. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2022.e00193>
3. Villa C.C., S'anchez L.T., Valencia G.A., Ahmed S., Gutierrez T.J. Molecularly imprinted polymers for food applications: A review // *Trends Food Sci. Technol.* 2021. V. 111. P. 642. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.003>
4. Zuo J., Ma P., Li Z., Zhang Y., Xiao D., Wu H., Dong A. Application of molecularly imprinted polymers in plant natural products: Current progress and future perspectives // *Macromol. Mater. Eng.* 2022. Article 2200499. <https://doi.org/10.1002/mame.202200499>
5. Zhang W., Zhang Y., Wang R., Zhang P., Zhang Y., Randell E., Zhang M., Jia Q. A review: Development and application of surface molecularly imprinted polymers toward amino acids, peptides, and proteins // *Anal. Chim. Acta.* 2022. V. 1234. Article 340319. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.340319>
6. Zhou T., Ding L., Che G., Jiang W., Sang L. Recent advances and trends of molecularly imprinted polymers for specific recognition in aqueous matrix: Preparation and application in sample pretreatment // *Trends Anal. Chem.* 2019. V. 114. P. 11. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.02.028>
7. Han Y., Wang Z., Jia J., Bai L., Liu H., Shen S., Yan H. Newly designed molecularly imprinted 3-aminophenol-glyoxal-urea resin as hydrophilic solid-phase extraction sorbent for specific simultaneous determination of three plant growth regulators in green bell peppers // *Food Chem.* 2020. V. 311. Article 125999. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125999>
8. Zou D., Li P., Yang C., Han D., Yan H. Rapid determination of perfluorinated compounds in pork samples using a molecularly imprinted phenolic resin adsorbent in dispersive solid phase extraction-liquid chromatography tandem mass spectrometry // *Anal. Chim. Acta.* 2022. V. 1226. Article 340271. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.340271>
9. Wang M., Qiao F., Yan H. A simple and benign protocol for the synthesis of a deep eutectic solvent-based hydrophilic molecularly imprinted resin in water for excellent selective molecular recognition in aqueous phase // *Green Chem.* 2021. V. 23. Article 5179. <https://doi.org/10.1039/d1gc00789k>
10. Alhawiti A.S., Monier M., Elsayed N.H. Designing of amino functionalized imprinted polymeric resin for enantio-separation of (±)-mandelic acid racemate // *React. Funct. Polym.* 2021. V. 160. Article 104828. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.104828>
11. Wang Y., Zhao W., Tian X., Song H., Gao R., Tang X., Zhang X., Hao Y., Tang Y. High-efficiency recognition and detection of sulindac in sewage using hydrophilic imprinted resorcinol-formaldehyde resin magnetic nano-spheres as SPE adsorbents combined with HPLC // *Chem. Eng. J.* 2020. V. 392. Article 123716. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123716>
12. Jahankhah S., Sabzehmeidani M.M., Ghaedi M., Dasthian K., Abbasi-Asl H. Hydrophilic magnetic molecularly imprinted resin in PVDF membrane for efficient selective removal of dye // *J. Environ. Manage.* 2021. V. 300. Article 113707. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113707>
13. Zhou T., Wang Y., Li T., Li H., Yang C., Sun D., Wang D., Liu C., Che G. Fabricating magnetic hydrophilic molecularly imprinted resin with enhanced adsorption and recognition performance for targeted detecting chlorophenols in environmental water // *Chem. Eng. J.* 2021. V. 420. Article 129904. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.129904>
14. Liang S., Yan H., Cao J., Han Y., Shen S., Bai L. Molecularly imprinted phloroglucinol-formaldehyde-melamine resin prepared in a deep eutectic solvent for selective recognition of clorprenaline and bambuterol in urine // *Anal. Chim. Acta.* 2016. V. 951. P. 68. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.11.009>
15. Ansell R.J. Characterization of the binding properties of molecularly imprinted polymers / *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology.* V. 150. *Molecularly Imprinted Polymers in Biotechnology* / Eds. Mattiasson B., Ye L. Springer, 2015. P. 51. https://doi.org/10.1007/10_2015_316
16. Liu M., Tran T.M., Elhaj A.A.A., Torsetnes S.B., Jensen O.N., Sellergren B., Irgum K. Molecularly imprinted porous monolithic materials from melamine-formaldehyde for selective trapping of phosphopeptides // *Anal. Chem.* 2017. V. 89. № 17. P. 9491. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b02470>
17. Socrates G. *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies. Table and Charts.* John Wiley & Sons, 2001. 347 p.
18. Petrova Yu. Yu., Bulatova E.V., Sevast'yanova E.V., Matyeyshina Yu.G. Quercetin-imprinted monolithic polymer // *Mater. Today Proc.* 2020. V. 31. Part 3. P. 555. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.06.213>
19. Zhi K., Li Z., Luo H., Ding Y., Chen F., Tan Y., Liu H. Selective adsorption of quercetin by the sol-gel surface molecularly imprinted polymer // *Polymers.* 2023. V. 15. № 4. Article 905. <https://doi.org/10.3390/polym15040905>

АНАЛИЗ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И СТРУКТУРЫ ПЛЕНОК СЛОЖНЫХ ОКСИДОВ МИКРОННОЙ ТОЛЩИНЫ МЕТОДАМИ ЭЛЕКТРОННО-ЗОНДОВОГО МИКРОАНАЛИЗА И КОНФОКАЛЬНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА НА ПРИМЕРЕ ПЛЕНКИ $MgAl_2O_4$ НА SiO_2

© 2023 г. В. А. Булатов^{a, *}, Ю. В. Щапова^a, Д. А. Замятин^a,
Л. Я. Сушанек^a, А. С. Каменецких^b, С. Л. Вотяков^a

^aИнститут геологии и геохимии им. А.Н. Заварицкого Уральского отделения Российской академии наук
ул. Академика Вонсовского, 15, Екатеринбург, 620110 Россия

^bИнститут электрофизики Уральского отделения Российской академии наук
ул. Амурдсена, 106, Екатеринбург, 620110 Россия

*e-mail: vladislavtatica@gmail.com

Поступила в редакцию 05.05.2023 г.

После доработки 19.06.2023 г.

Принята к публикации 19.06.2023 г.

Описаны методические приемы проведения качественного анализа структуры и количественного анализа состава прозрачных пленок сложных оксидов на диэлектрических подложках с использованием конфокального спектрометра комбинационного рассеяния света (КРС) Horiba LabRAM HR800 и электронно-зондового микроанализатора Cameca SX100. Исследования выполнены на примере пленок магний-алюминиевой шпинели толщиной 1–3 мкм на подложке кварцевого стекла, полученных методом магнетронного распыления. Процедура определения особенностей структуры пленки состояла в регистрации 3D массивов ее спектров КРС на основе z -профилирования по глубине; показано, что пленка имеет неупорядоченную структуру шпинели с частично обращенным распределением катионов Mg и Al по окта- и тетрапозициям. Представлены операционные параметры, позволяющие определять содержания в пленке по различным рентгено-эмиссионным линиям структурно-образующих элементов Mg, Al и примесей Ti, Cr, Ca, P, Fe, Ni, Gd (оптимальное значение ускоряющего напряжения и др.); определены метрологические характеристики методики; оценены ее возможности и ограничения; представлены данные химического состава пленки.

Ключевые слова: электронно-зондовый микроанализ, спектроскопия комбинационного рассеяния света, тонкие пленки, $MgAl_2O_4$.

DOI: 10.31857/S0044450223120034, EDN: EJCKSA

Модификация состава и структуры приповерхностных слоев материалов с помощью химических, ионно-лучевых, радиационных обработок, создание на их поверхности тонких пленок, гетероструктур, наноразмерных образований является одним из инструментов управления функциональными свойствами (см. например, [1]). В частности, тонкопленочные покрытия широко применяются при разработке устройств с необходимыми отражающими, барьерными, проводящими, диэлектрическими свойствами в микро- и нанoeлектронике, оптике, фотонике. Анализ и контроль состава и структуры пленок является неотъемлемой частью современного материаловедения, позволяя получать информацию о факторах, определяющих их физические и химические свойства. Отметим, что тонкие поверхностные слои при-

родных минералов также могут существенно отличаться от объема по составу, структуре и свойствам; анализ поверхности минеральных объектов может быть использован для реконструкции экологической и палеоэкологической обстановок [2].

Особое место среди оптически прозрачных материалов занимают пленки на основе сложных оксидов состава алюмомагниевого шпинели. Они обладают термической стойкостью [3], высокой отражающей способностью и пропусканием в ИК- и видимом диапазонах [4, 5], коррозионной стойкостью, высоким электрическим сопротивлением, отличными механическими и оптоэлектронными свойствами при комнатной и более высоких температурах [6]. Пленочное покрытие $MgAl_2O_4$ на субстрате SiO_2 используется в каче-

стве активного элемента в датчиках влажности, что позволяет добиться существенной миниатюризации устройств. Электропроводность пленки $MgAl_2O_4$ на подложке SiO_2 существенно зависит от ее структурного состояния и химического состава. Пленка может быть нанесена разной толщины и неоднородно по поверхности [7]. Актуальной и сегодня остается разработка локальных методов определения химического состава и структурного состояния пленок.

Для изучения состава, структуры и свойств поверхностных слоев применяются аналитические методики, основанные на физическом взаимодействии пучка электронов, ионов или рентгеновского, лазерного и др. излучения с поверхностью твердого тела и регистрации ее отклика в виде рентгеновского или оптического излучения, вторичных, отраженных или фотоэлектронов, выбитых атомов, ионов и др. В число подобных методик входит рентгеновская эмиссионная, фотоэлектронная, ультрамягкая с синхротронным возбуждением спектроскопия, вторичная масс-спектрометрия с возбуждением ионной бомбардировкой, масс-спектрометрия с лазерной абляцией и ионизацией в индуктивно связанной плазме, электронная спектроскопия и дифракция с возбуждением электронным пучком (электронно-зондовый рентгеноспектральный микроанализ (ЭЗМА), спектроскопия электронных потерь энергии, дифракция отраженных электронов, оже-электронная спектроскопия), оптическая и ИК-спектроскопия отражения и рассеяния, конфокальная оптическая микроскопия и спектроскопия [8, 9]. Выбор аналитического метода определяется физико-химическими свойствами пленки и решаемой задачей (основной—примесный состав, кристаллическая—аморфная структура, электронное строение—свойства, фоновые спектры, топология и пр.), в том числе глубиной анализа (последняя обычно ограничена глубиной проникновения возбуждения/глубиной выхода сигнала от единиц атомных слоев до единиц и десятков микрометров).

Одной из проблем при анализе структуры пленок и/или модифицированных тонких поверхностных слоев материалов на этапе их разработки часто является неприменимость дифракционных методов вследствие отсутствия дальнего порядка (аморфной структуры), низкой кристалличности или малого размера когерентности (низкой размерности). Поэтому важное значение для исследования строения пленок имеют методы, чувствительные к ближнему порядку, в частности спектроскопия комбинационного рассеяния света (КРС), характеризующая распределение фононов по энергиям. Фононные спектры зависят от межатомных расстояний, масс атомов, характеристик химической связи, эффектов порядок—беспорядок в геометрическом расположении атомов. Основной

сложностью конфокального КРС-анализа тонких пленок является малый объем вещества пленки и, как правило, низкое сечение КРС вследствие неупорядоченности, что затрудняет выделение сигнала от пленки на фоне подложки. Ранее методом КРС исследованы толстые покрытия, позволяющие получить интенсивный профиль сигнала по глубине [10, 11], материалы с достаточно высоким сечением рассеяния света [12–14], например аморфные тонкие пленки кремния, углерода [14–16] и халькогенидов [17, 18]. Также использовали специальные подложки с низким фоновым сигналом КРС (например, фторидов) [19, 20]; с целью повышения анализируемого сигнала применяли эффект поверхностно усиленного КР [21, 22]; использовали методы статистического анализа массивов спектров пленка—подложка [23]. Однако и в настоящее время определение структуры пленок остается нетривиальной аналитической задачей, требующей специальной методической проработки, для случаев: (1) тонких пленок; (2) малоинтенсивного рассеяния; (3) перекрывания по энергии спектров пленки и подложки; (4) спектров, уширенных за счет беспорядка [23–25].

Среди методов количественного определения химического состава пленок и покрытий в пределах первых единиц микрометров наиболее широко применяется метод ЭЗМА, обладающий латеральным и глубинным пространственным разрешением, сопоставимым с таковым в спектроскопии КРС; метод перспективен для анализа микронных по толщине слоев. Большое число публикаций посвящено вопросу повышения пространственного разрешения ЭЗМА (см., например, [26–29]). Отметим, что глубина анализируемого слоя определяется тремя взаимосвязанными эффектами: (1) проникновением первичных электронов в образец, (2) генерацией характеристического рентгеновского излучения, (3) выходом/поглощением характеристического излучения. Глубина проникновения электронов зависит от их энергии, плотности вещества и среднего атомного номера. Область генерации различных характеристических линий рентгеновского излучения элементов различна и определяется как материалом, так и порогом возбуждения каждой рентгеновской линии. Глубина выхода рентгеновского излучения ограничивается его поглощением в образце и задается плотностью и массовым коэффициентом поглощения. Количественный ЭЗМА химического состава поверхностных слоев, пленок и покрытий, имеющих толщину порядка 1 мкм, требует выбора ускоряющего напряжения пучка электронов, соответствующих аналитических линий определяемых элементов и учета эффектов вторичной флюоресценции. Расчетные подходы для оптимизации ускоряющего напряжения с целью достижения достаточного пространственного разрешения по глубине и сохранения максимально возможной интенсив-

ности сигнала не всегда достаточно информативны и корректны, поскольку они базируются на информации о составе и плотности материала, которые могут быть неизвестны. Представляется, что применение экспрессных экспериментальных методов является более надежным подходом.

Цель настоящей работы – отработка методических приемов и выбор операционных параметров, позволяющих проводить качественный анализ структуры и количественный анализ основного и микропримесного состава прозрачных пленок сложных оксидов на диэлектрических подложках с использованием конфокального спектрометра КРС Horiba LabRAM HR800 и электронно-зондового микроанализатора Camesa SX100. Исследования выполнены на примере тестовых пленок магний-алюминиевой шпинели микронной толщины, покрывающих фрагментарно (дискретно) подложку кварцевого стекла.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез образцов. Покрытие наносили на подложки из SiO₂ марки КУВИ методом ВЧ-магнетронного распыления. Использовали распыляемую мишень диаметром 40 мм, изготовленную из нанопорошка MgAl₂O₄, синтезированного из Mg(NO₃)₂·6H₂O (содержит примеси, не более – Ba 0.002, Fe 0.0002, (K + Na) 0.01, Ca 0.01, As 0.0005, тяжелые металлы 0.0005 мас. %) и Al(NO₃)₃·9H₂O (содержит примеси, не более – Fe 0.004, (K + Na) 0.005, тяжелые металлы 0.0005 мас. %) ч. д. а. Порошок компактировали изостатическим прессованием и спекали в вакууме (10⁻⁵ Торр) при 1200°C. Перед нанесением покрытия подложки очищали в ультразвуковой ванне последовательно в растворе ацетона и дистиллированной воды по 20 мин, затем высушивали в потоке азота. Покрытие наносили в вакуумной камере диаметром 300 мм, расстояние между образцами и плоскостью мишени магнетрона составляло 60 мм. Камеру откачивали до предельного вакуума 10⁻⁵ Торр турбомолекулярным насосом. Рабочее давление аргона составляло 1 × 10⁻³ Торр, газ напускали в вакуумную камеру со скоростью 30 см³/мин регулятором Bronkhorst El-Flow с цифровой системой контроля. Мишень MgAl₂O₄ очищали в плазме собственного разряда магнетрона мощностью 100 Вт и выводили в режим равновесного распыления, при котором соотношения элементов в потоке распыленных частиц и в объеме мишени соответствуют друг другу. В процессе очистки магнетрон был закрыт заслонкой, препятствующей осаждению распыленного материала на образцы. Покрытие наносили со скоростью ~1 мкм/ч при мощности разряда магнетрона 200 Вт. Температура подложек на всех этапах обработки не превышала

200°C. После нанесения покрытий образцы охлаждали в вакууме до комнатной температуры.

Для оценки толщины пленок использовали оптическую фокусировку в белом свете на поверхностных макродефектах (конфокальный микроскоп Olympus BX-FM с объективом 100х/NA = 0.9); толщина фрагментов покрытия на отдельных участках стекла составляет 1.0 ± 0.05 и 3.0 ± 0.13 мкм (рис. 1). Покрытия разной толщины характеризуются различным цветовым оттенком (см. рис. 1а).

Спектроскопия комбинационного рассеяния света. Спектры получали в геометрии обратного рассеяния на спектрометре Horiba LabRam HR800 Evolution, оснащенный конфокальным микроскопом Olympus BX-FM с объективами 100х/NA = 0.9 и 50х/NA = 0.7 и He-Ne- ($\lambda = 633$ нм) и Ar-лазерами ($\lambda = 514.5$ и 488 нм). Регистрацию осуществляли через монохроматор Черни–Тернера с дифракционными решетками 600 и 1800 штр/мм многоканальным кремниевым электрически охлаждаемым ПЗС-детектором. Спектральное разрешение прибора зависит от операционных параметров и составляет величину от ~0.5 см⁻¹. Пространственное латеральное d_s и осевое (по глубине) d_f разрешение (размеры фокальной области) могут варьировать в зависимости от длины волны λ , числовой апертуры объектива NA и величины конфокальной диафрагмы h . Оценки по соотношениям $d_f \sim 4\lambda/(NA)^2$ и $d_s \sim 1.22\lambda/NA$ [24] для объектива 100х/NA = 0.9 дают значения соответственно 3.13 и 0.86 мкм (для $\lambda = 633$ нм), 2.54 и 0.70 мкм ($\lambda = 514.5$ нм), 2.41 и 0.66 мкм ($\lambda = 488$ нм); указанные значения можно несколько уменьшить путем подбора величины конфокальной диафрагмы h .

Экспериментальную оценку пространственного разрешения по глубине d_f при различных значениях диафрагмы h проводили с использованием объектива 100х/NA = 0.9 с максимальной из имеющихся числовой апертурой с помощью z-сканирования образца пластины монокристаллического кремния, имеющего высокий коэффициент поглощения α в видимой области. При $\lambda = 532$ нм $\alpha \approx 11.2 \times 10^3$ см⁻¹, и толщина слоя L , оптически активного в КРС, определяется глубиной проникновения света $L \sim 1/\alpha \sim 900$ нм [30]. Сканирование по глубине z осуществлялось пошаговым (с шагом $\delta z = 0.3$ –0.5 мкм) измерением спектров КРС в области колебательной моды 520 см⁻¹ при постепенном подъеме моторизованного столика (рис. 2); для повышения точности z-сканирования перед каждым измерением проводили автофокусировку в белом свете на наибольших поверхностных макродефектах кристалла. В простой геометрической модели (рис. 3), не учитывающей сложную форму фокальной области, различие коэффициентов преломления граничащих сред, экспоненциальную форму края поглощения, в случае $L < d_f$ перекрывание фокальной области с

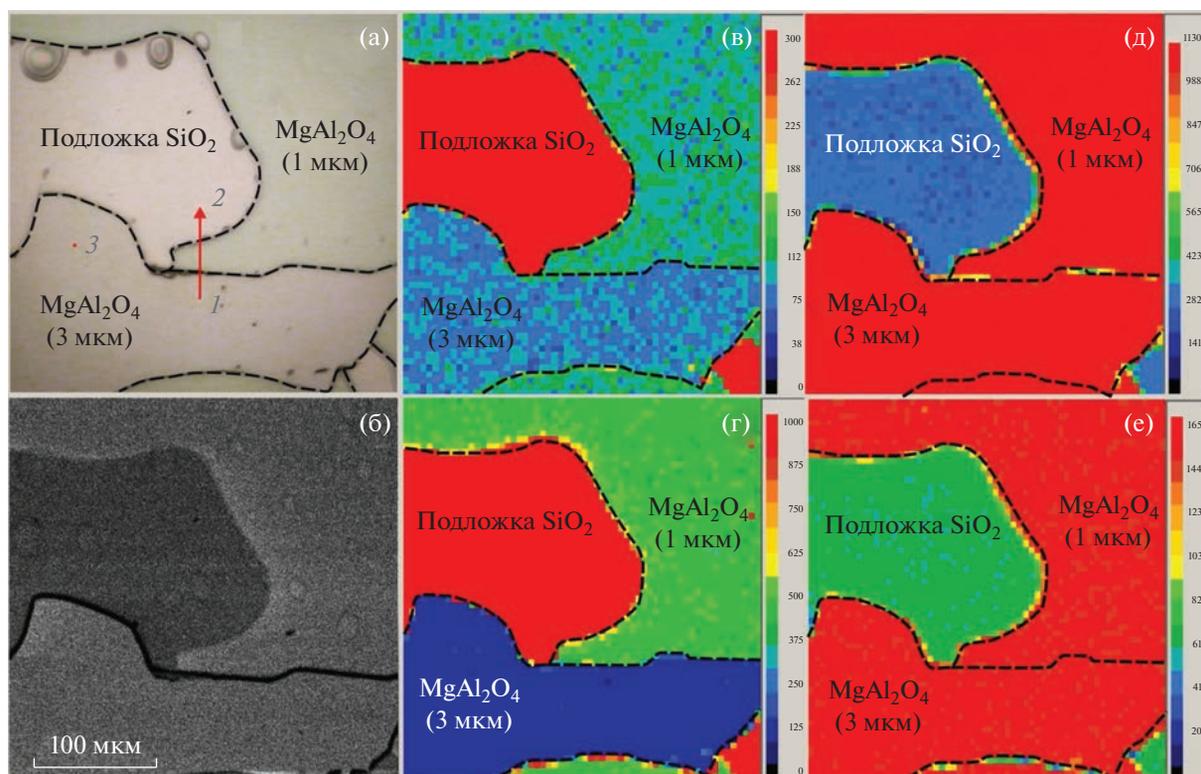


Рис. 1. Оптическое и BSE-изображения (а), (б) фрагментов пленки магний-алюминиевой шпинели на поверхности кварцевого стекла и карты распределения интенсивности линии Si $K\alpha$ при $U = 5$ и 7 кВ (в), (г), линий Al $K\alpha$ (д) и Fe $L\alpha$ (е) при 7 кВ. Линия 1–2 – сканирование электронного пучка на рис. 8 по границе раздела между пленкой толщиной 3, 1 мкм и кварцевым стеклом; 3 – точка регистрации спектров комбинационного рассеяния света.

с оптически активным слоем растет с ростом z от $z < 0$ (воздух над поверхностью), достигает максимального значения в диапазоне от $z = L - d_f/2$ до $z = d_f/2$, после чего уменьшается до нуля. При этом ширина максимума на половине высоты равна d_f , а диапазон z , соответствующий максимальной интенсивности, равен $(d_f - L)$. С учетом этих соображений, экспериментально найденные значения ширины распределения интенсивности моды 520 см^{-1} в кремнии в зависимости от z принимали за оценку пространственного разрешения d_f . При уменьшении конфокальной диафрагмы от 100 до 10 мкм значения d_f уменьшаются от 4.32 до 1.38 мкм при $\lambda = 514 \text{ нм}$ и от 3.22 до 1.89 мкм при $\lambda = 633 \text{ нм}$ (рис. 4); сильное поглощение кремния при длине волны 488 нм искажает форму зависимости интенсивности от z и не позволяет оценить d_f . Отметим, что в случае $L > d_f$, ширина максимума на половине высоты равна L , а диапазон z , соответствующий максимальной интенсивности, составляет $(L - d_f)$.

Электронно-зондовый рентгеноспектральный микроанализ. Использовали микроанализатор Cameca SX100 с пятью волновыми спектрометрами, метан-аргоновыми газо-проточными пропорциональными счетчиками с кристаллами-анализато-

рами TAP (при анализе линий Mg $K\alpha$, Al $K\alpha$, Si $K\alpha$, Fe $L\alpha$, Ni $L\alpha$, Gd $M\alpha$, Sr $L\alpha$), PET (Co $K\alpha$, P $K\alpha$, Gd $L\alpha$) и LIF (Fe $K\alpha$, Ni $K\alpha$, Cr $K\alpha$, Ti $K\alpha$, Co $K\alpha$, Mn $K\alpha$). Стандарты – минералы диопсид (при определении Ca), родонит (Mn), апатит (P), MgAl_2O_4 (Mg, Al), Fe_2O_3 (Fe), SrSO_4 (Sr), а также синтетические соединения SiO_2 (Si), Cr_2O_3 (Cr), TiO_2 (Ti), FeNi_2O_4 (Ni), FeNiCo (Co), алюмосиликатное легированное РЗЭ стекло (Gd). Ускоряющее напряжение составляло 5–20 кВ; ток зонда – 20–100 нА. Картирование выполняли с шагом 1 мкм при ускоряющем напряжении 5–15 кВ при полной фокусировке пучка; профилирование с шагом 1 мкм – при 5–15 кВ и токе зонда 20–100 нА. Состав определяли в модели массивного полированного образца (bulk polished sample) с использованием матричных корректировок PAP. BSE-изображения регистрировали при 7 и 15 кВ; обзорные рентгеновские эмиссионные спектры получали при 15 кВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Методика анализа структуры пленки. Выбор операционных параметров спектрометра KPC Horiba LabRam HR800. Пленка микронной толщины

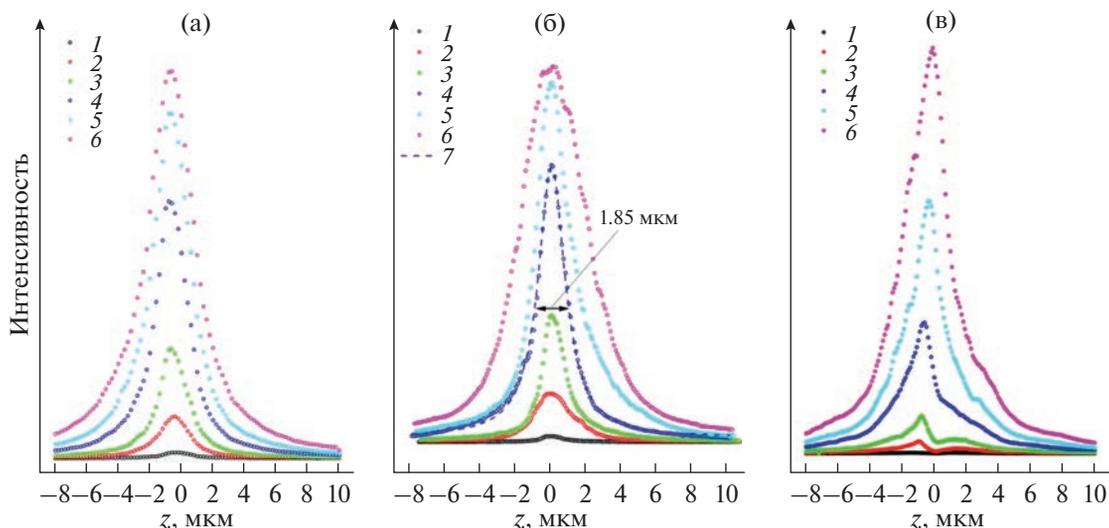


Рис. 2. Интенсивность моды $\sim 520 \text{ см}^{-1}$ в спектре комбинационного рассеяния света монокристаллического кремния в зависимости от координаты z фокуса, измеренная при подъеме моторизованного столика с образцом при возбуждении лазерным излучением 633 (а), 514 (б) и 488 нм (в) и различном значении конфокальной диафрагмы h : 10 (1), 20 (2), 30 (3), 50 (4), 70 (5), 100 (6) мкм. Зависимость интенсивности моды $\sim 520 \text{ см}^{-1}$ от z при возбуждении линией 514 нм и $h = 50$ мкм аппроксимирована распределением Фойгта с шириной 1.85 мкм на половине высоты максимума (7).

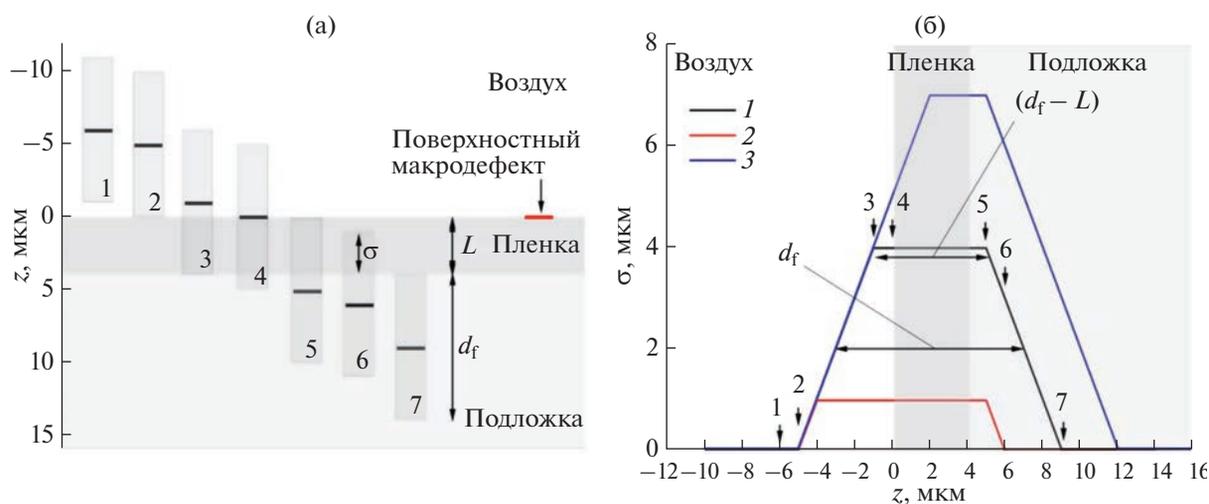


Рис. 3. Упрощенная геометрическая модель формирования отклика в процессе z -профилеирования КР-активного поверхностного слоя материала (прозрачной пленки на прозрачной подложке или ограниченного оптическим пропусканием слоя сильно поглощающей среды, например кремния): (а) — изображение величины перекрытия σ фокальной области (прямоугольники высотой d_f) с пленкой толщиной L при постепенном смещении фокуса (черные горизонтальные линии) вглубь образца из положения 1 в положение 7; красная горизонтальная линия — макродефект поверхности, используемый для фокусировки в белом свете; (б) — зависимость величины перекрытия σ от координаты z фокуса при $d_f = 10$ мкм и $L = 4$ мкм (1), 1 мкм (2) и 7 мкм (3); стрелки 1–7 — координаты z фокуса; для кривой 1 указаны ширина максимума на половине высоты, равная d_f , и диапазон z , соответствующий максимальной интенсивности и равный $(d_f - L)$.

на подложке представляет собой систему двух оптически прозрачных сред, в которой толщина пленки 1–3 мкм близка по величине к оценочному значению фокальной области $d_f = 4.32\text{--}1.38$ мкм при $\lambda = 514$ нм и $d_f = 3.22\text{--}1.89$ мкм при $\lambda = 633$ нм. Регистрируемый спектр при сканировании по

глубине является суперпозицией трех спектров, обусловленных КРС в воздухе, пленке и подложке. Выбор операционных параметров спектрометра обусловлен, с одной стороны, необходимостью снижения размеров фокальной области для повышения доли сигнала пленки в суперпозиции

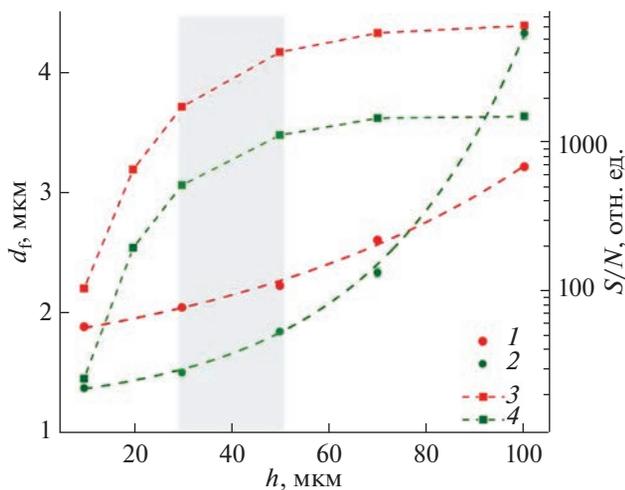


Рис. 4. Зависимость пространственного разрешения по глубине d_f (1, 2) и отношения сигнал/шум (S/N) (3, 4) от величины конфокальной диафрагмы h при возбуждении лазерным излучением с длиной волны 633 (1, 3) и 514 нм (2, 4). Серое поле — значения h , оптимальные для анализа.

онном сигнале. С другой стороны, условия измерения должны обеспечивать приемлемое отношение сигнал–шум (последнее снижается с уменьшением анализируемого объема) при разумных значениях времени сбора и накопления сигнала, а также удовлетворительное спектральное разрешение (последнее ухудшается с уменьшением длины волны). Оптимальными для определения структуры пленок следует считать значения конфокальной диафрагмы 30–50 мкм (рис. 4), обеспечивающие пространственное разрешение $d_f = 1.50$ – 1.85 и 2.05 – 2.23 мкм при длине волны возбуждения 514.5 и 633 нм соответственно, и отношение сигнал/шум в тестовом образце кремния на уровне $\sim 10^3$ при времени сбора 3 с и количестве накоплений 3. Спектральное разрешение при использовании дифракционной решетки 600 штр/мм и конфокальной диафрагмы менее 100 мкм составляет не более 2.5 и 4.0 см^{-1} при возбуждении линиями 633 и 514.5 нм соответственно [31], что удовлетворительно для анализа покрытий, для которых, как правило, нехарактерны узкие линии в спектре КРС вследствие несовершенства их кристаллической структуры.

Для анализа структуры прозрачных пленок микронной толщины состава MgAl_2O_4 на прозрачной подложке SiO_2 выбрали следующие операционные параметры: длина волны возбуждения 514 нм, дифракционная решетка 600 штр/мм, объектив 100х/ $\text{NA} = 0.9$, величина конфокальной диафрагмы 30 мкм; при этом обеспечивалось пространственное разрешение по глубине ~ 1.50 мкм и спектральное разрешение ~ 4.0 см^{-1} .

Процедура определения структуры пленки на стекле состоит в регистрации 3D массива спектров КРС системы воздух + пленка + подложка при указанных выше условиях z -сканирования по глубине в диапазоне от $z = -5$ мкм (область воздуха над поверхностью пленки) до глубоких внутренних слоев кварцевого стекла ($z = 15$ мкм) с шагом 0.3 мкм и в последующем восстановлении спектра пленки и его анализе. На рис. 5 представлены 3D массив спектров системы воздух + пленка MgAl_2O_4 ($L = 3$ мкм) + подложка SiO_2 и типичные спектры массива. В приведенном примере выполняется условие $L = 3$ мкм $>$ $d_f = 1.5$ мкм, и ширина максимума сигнала пленки на половине высоты в зависимости от z соответствует 3 мкм. Учитывая низкий коэффициент поглощения кварцевого стекла при длине волны $\lambda = 514$ нм, что проявляется в неизменности сигнала при $z > \sim 7$ мкм, восстановление спектра пленки может быть найдено как разность спектра системы пленка + подложка при $z = -1$ мкм (максимальный сигнал от пленки) и спектра подложки при $z > \sim 7$ мкм (рис. 6).

Спектр КРС, представленный на рис. 6 и отвечающий пленке, может быть описан как суперпозиция широких (~ 100 см^{-1}) максимумов в области $\sim 140, 270, 380, 410, 550, 640, 730, 785$ см^{-1} . Он соответствует частично обращенной шпинели со структурной формулой $^{\text{IV}}(\text{A}_{1-\delta}\text{B}_\delta)^{\text{VI}}(\text{A}_\delta\text{B}_{2-\delta})\text{O}_4$, в которой нарушено упорядоченное распределение по октаэдрам и тетраэдрам катионов A^{2+} и B^{3+} ($\text{A}^{2+} = \text{Mg}^{2+}, \text{Fe}^{2+}$ и др.; $\text{B}^{3+} = \text{Al}^{3+}, \text{Cr}^{3+}, \text{Fe}^{3+}$ и др.; δ — параметр степени обращения структуры, равный доле двухвалентных катионов A^{2+} в окта-позициях [33]). Пять сильно уширенных колебательных мод близки по энергии к таковым в кристаллической нормальной шпинели (пространственная группа $Fd3m$): A_{1g} (770 см^{-1}), E_g (408 см^{-1}) и F_{2g} (311, 562, 669 см^{-1}). Дополнительные максимумы, наблюдаемые в спектре КРС пленки при $\sim 140, 270, 380, 730$ см^{-1} согласно работам [34, 35] обусловлены обращением структуры шпинели (инверсией катионов). Заметим, что катионы Fe^{2+} и Fe^{3+} могут входить в структуру шпинели как в окта-, так и в тетраэдрические позиции; в соответствующих твердых растворах колебательные моды смещены относительно алюмомагниевого шпинели, как правило, в низкоэнергетическую область. Значительное уширение линий в спектрах КРС пленки может быть обусловлено, в частности, влиянием повышенного содержания примесных катионов Fe, Cr и др.

Таким образом, по данным КРС структура синтезированных пленок соответствует обращенному распределению катионов Mg и Al по окта- и тетра-позициям; дополнительный вклад в разупорядочение структуры могут вносить примесные катионы.

Методика анализа химического состава пленки.
Выбор операционных параметров микроанализато-

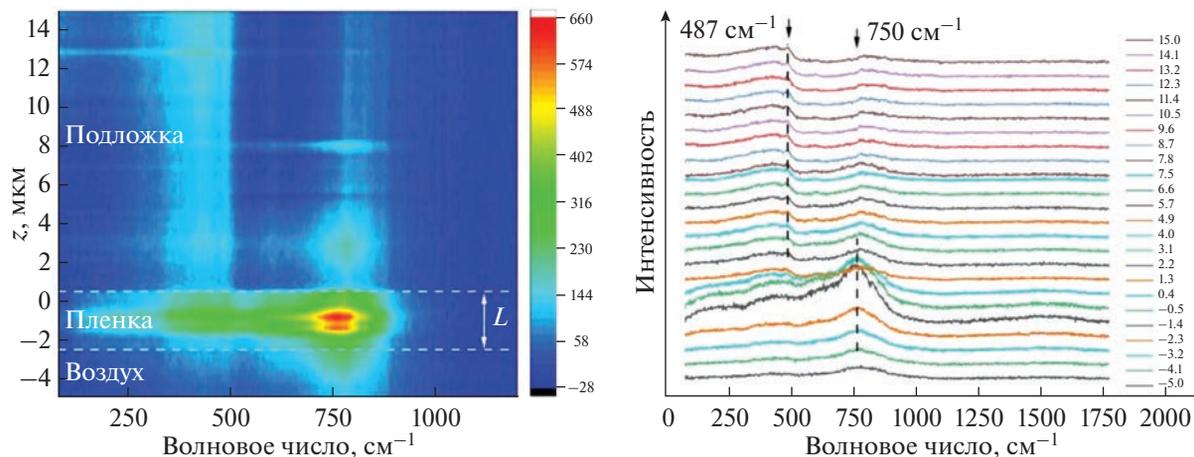


Рис. 5. 3D массив спектров комбинационного рассеяния света системы воздух + пленка ($L = 3$ мкм) + подложка, полученный z -сканированием по глубине (возбуждение 514 нм, $h = 30$ мкм) в диапазоне от $z = -5$ мкм (область воздуха над поверхностью) до глубоких внутренних слоев кварцевого стекла ($z = 15$ мкм) с шагом 0.3 мкм (а); типичные спектры массива (б). Пунктирные линии при ~ 487 и ~ 750 см^{-1} маркируют характерные сигналы подложки и пленки; числа – значения координаты z .

ра *Cameca SX100*. На BSE-изображении фрагмента пленки, полученном при ускоряющем напряжении $U = 7$ кВ (рис. 16), достаточно наглядно выделяется зона кварцевой подложки; напротив, участки пленки различной толщины практически не дискриминируются, что свидетельствует о близости их составов и об отсутствии влияния подложки вследствие малой (менее 1 мкм) глубины проникновения электронов. Отметим, что расчетные оценки глубины проникновения электронов для номинально чистой шпинели состава MgAl_2O_4 указывают на то, что при анализе пленки толщиной 3 мкм энергия электронов не должна превышать 20 кэВ, а при толщине 1 мкм – 10 кэВ.

На обзорных рентгено-эмиссионных спектрах пленки фиксируются линии структурно-образующих элементов Mg, Al и примесей Fe, Ti, Cr, Ni, Ca, P, Gd, Mn, Co, Sr; при этом в спектре также наблюдается линия $\text{Si } K\alpha$, связанная преимущественно с кварцевой подложкой (рис. 7). Необходимо отметить, что для самой низкоэнергетической линии $\text{Fe } L\alpha$ (0.67 кэВ) характерна максимальная область генерации, но она поглощается сильнее всех остальных линий: согласно данным [29] менее 10% ее излучения выходит из образца с глубины более 1 мкм. Вследствие этого при глубине проникновения электронов более чем на 1.5 мкм основным фактором, влияющим на локальность определения железа по $L\alpha$ -линии, является именно глубина выхода рентгеновского излучения.

В настоящей работе выбор оптимального ускоряющего напряжения U для участков пленки разной толщины выполнен на основе анализа карт распределения интенсивностей элементов Si, Al и Fe при различных U , а также профилей изменения интенсивностей линий этих элементов, по-

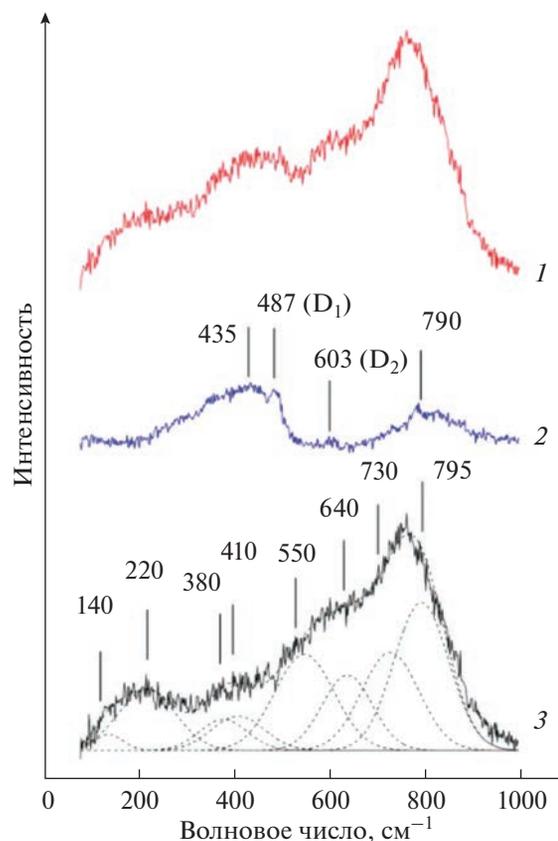


Рис. 6. Спектры координационного рассеяния света (1, 2) пленки толщиной 3 мкм, полученные при глубине фокусировки -0.5 и 8.7 мкм (1, 2), и их разностный спектр (3). Полосы спектра (2) сопоставлены колебательным модам кварцевого стекла согласно данным [32]; спектра (3) – модам MgAl_2O_4 согласно данным [33, 34].

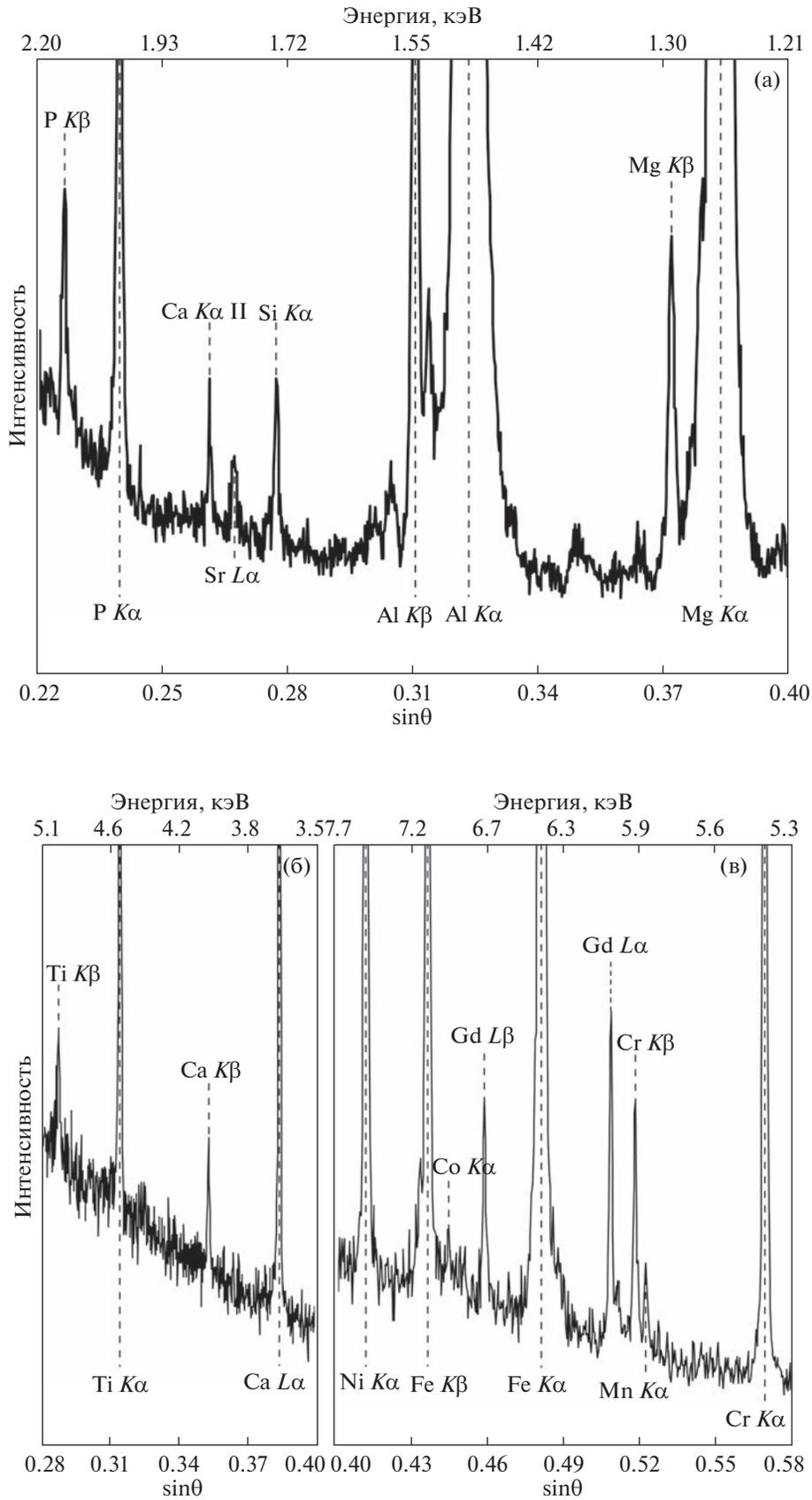


Рис. 7. Обзорные рентгено-эмиссионные спектры пленки толщиной 3 мкм, зарегистрированные на кристаллах TAP (а), PET (б) и LIF (в) при $U = 15$ кВ.

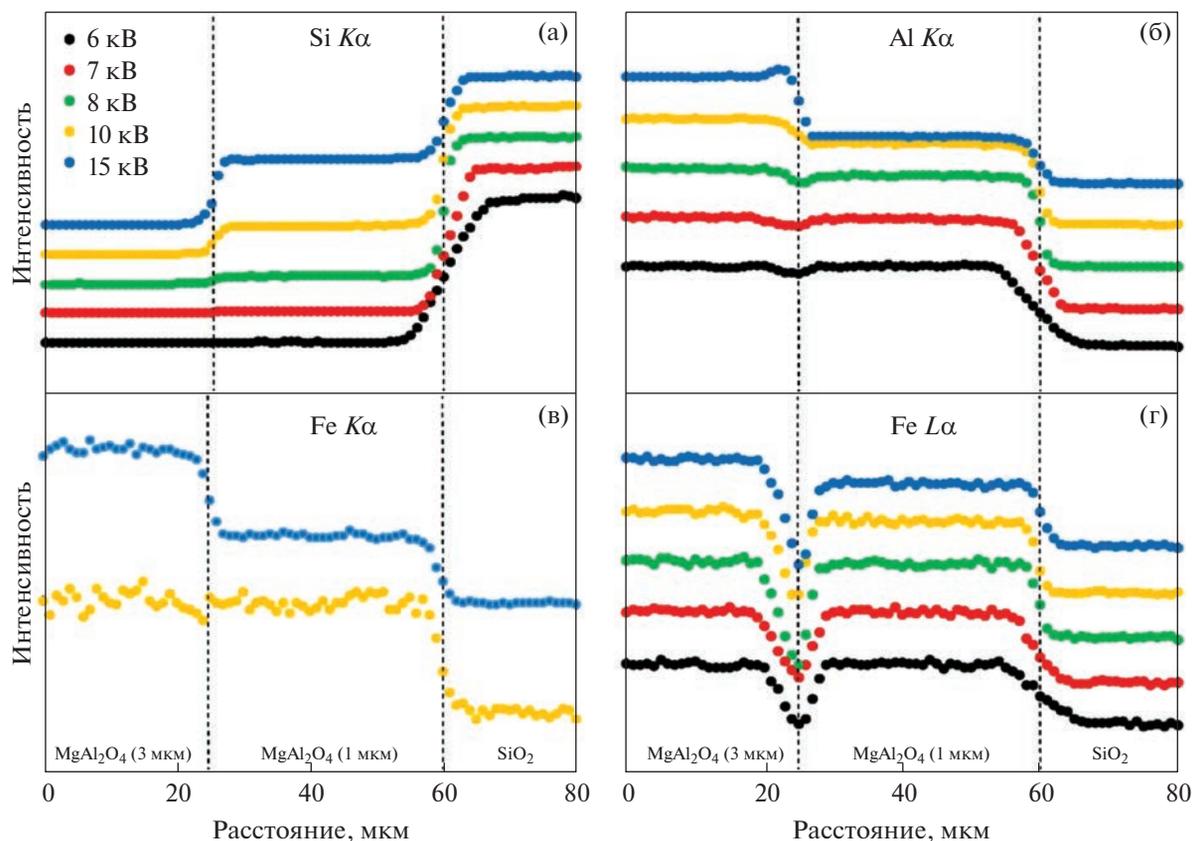


Рис. 8. Профили распределения интенсивности характеристического излучения Si $K\alpha$ (а), Al $K\alpha$ (б), Fe $K\alpha$ (в), Fe $L\alpha$ (г) при сканировании электронного пучка вдоль линии 1–2 на рис. 1а по пленке толщиной 3, 1 мкм и кварцевому стеклу при различных значениях $U = 6–15$ кВ.

лученных вдоль сечения 1–2, захватывающего как участки пленки толщиной 3 и 1 мкм, так и подложку (подобный подход возможен вследствие того, что пленка нанесена неоднородно в виде нерегулярных фрагментов различной толщины). Результаты, полученные для линий Si $K\alpha$, Al $K\alpha$, Fe $K\alpha$, Fe $L\alpha$ при $U = 5–15$ эВ, представлены на рис. 1 и 8. Из карт распределения интенсивностей видно, что при $U = 5$ и 7 кВ в пленке толщиной 1 и 3 мкм линия Si $K\alpha$, связанная преимущественно с подложкой, находится практически на уровне шума. Профили изменения интенсивности Si $K\alpha$ при $U = 6–7$ кВ (рис. 8а) также свидетельствуют о том, что выход характеристического рентгеновского излучения от подложки практически не фиксируется в связи с недостаточностью энергии электронов; повышение U до 8–15 кВ повышает глубину проникновения электронов и вызывает возбуждение в подложке рентгеновских фотонов линии Si $K\alpha$, статистически достаточное для регистрации детектором спектрометра. При $U = 6–7$ кВ интенсивности линий Al $K\alpha$, Fe $L\alpha$ практически не изменяются при переходе от пленки толщиной 1 мкм к пленке 3 мкм (рис. 1д–1е, 8б, 8г). Профиль, полученный при 8 кВ, свидетельствует

о том, что при данной энергии электронов их существенная часть проникает сквозь слой пленки толщиной 1 мкм и возбуждает в подложке линию Si $K\alpha$; при этом интенсивности линий Al $K\alpha$ и Fe $L\alpha$ уменьшаются. Учитывая изложенное, при анализе состава пленки толщиной 1 мкм использовали напряжение $U = 7$ кВ, однако при этом энергия электронов недостаточна для возбуждения $K\alpha$ -линий Fe, Ni и Gd, вследствие чего при определении содержания Fe и Ni использовали линии L -серии, а при анализе Gd – M -серии с меньшими значениями энергии возбуждения.

Для кристаллической шпинели состава $MgAl_2O_4$ расчетные оценки авторов глубины проникновения электронов меньше экспериментальных значений на 20–30%. Представляется, что это обусловлено как аморфным состоянием пленки, так и наличием в ней примесей, влияющих на плотность материала. В связи с этим профилирование по границе раздела пленка–подложка является более надежным подходом при подборе ускоряющего напряжения U . Для корректного анализа пленки толщиной 1 мкм значение U не должно быть выше 7 кВ; при этом для сохранения приемлемых значений погрешности анализа ток зонда

Таблица 1. Пределы обнаружения и погрешности определения элементов в пленке магний-алюминиевой шпинели на поверхности кварцевого стекла при различных значениях ускоряющего напряжения U для единичного определения составов, представленных в табл. 2

U , кВ	Предел обнаружения; стандартное отклонение (3σ), мас. %												
	Mg $K\alpha$	Al $K\alpha$	Si $K\alpha$	Fe		Ni		Ti $K\alpha$	Cr $K\alpha$	Ca $K\alpha$	P $K\alpha$	Gd	
				$K\alpha$	$L\alpha$	$K\alpha$	$L\alpha$					$L\alpha$	$M\alpha$
7	0.02; 0.1	0.03; 0.2	0.03; 0.04	н.о.	0.7; 1.4	н.о.	0.1; 0.2	0.1; 0.1	0.4; 0.5	0.05; 0.07	0.03; 0.06	н.о.	0.9; 0.8
10	0.02; 0.2	0.05; 0.2	0.04; 0.02	0.07; 0.2	0.7; 1.4	0.2; 0.15	0.08; 0.2	0.1; 0.1	0.2; 0.2	0.03; 0.03	0.02; 0.05	0.3; 0.2	—
15	0.03; 0.2	0.06; 0.3	0.04; 0.03	0.07; 0.2	1.2; 2.5	0.07; 0.09	0.1; 0.2	0.1; 0.1	0.1; 0.2	0.02; 0.03	0.02; 0.05	0.2; 0.1	—

Примечание: н.о. — не определено вследствие недостаточной энергии электронов для возбуждения линии.

должен составлять не менее 100 нА. С целью снижения эффекта деградации вещества под действием сильноточного пучка электронов его размер должен быть не менее 15 мкм; последнее ухудшает латеральное разрешение, но практически не влияет на разрешение по глубине. Время экспозиции при использовании K -линий составляет 10 с; для L - и M -линий — 20 с; время накопления фонового сигнала слева и справа от анализируемой линии — 5 и 10 с соответственно. При этом анализ пленки толщиной 3 мкм возможен и при пониженном значении тока зонда 20 нА, сфокусированном пучке и при значении U до 15 кВ.

Таким образом, при микрозондовом анализе состава пленки магний-алюминиевой шпинели микронной толщины рекомендуется использовать следующие параметры линий: Mg $K\alpha$ 38491 (положение центра линии $\sin\theta \times 10^5$); -900 и $+900$ (положение измерения фона слева и справа); Al $K\alpha$ 32476; -800 , $+800$; Si $K\alpha$ 27738; -950 , 950 ; Fe $K\alpha$ 48085; -500 , $+500$; Fe $L\alpha$ 68225; -2000 , $+2000$; Ni $K\alpha$ 41161; -500 , $+500$; Ni $L\alpha$ 56620; -2500 , 2000 ; Cr $K\alpha$ 56838; -500 , $+500$; Ti $K\alpha$ 68230; -500 , $+500$; P $K\alpha$ 70411; -900 , $+1100$; Ca $K\alpha$ 38387; -850 , $+850$; Gd $L\alpha$ 23393; -400 , $+900$; Gd $M\alpha$ 40894; -800 , $+800$; Sr $L\alpha$ 26726; -1100 , $+500$; Co $K\alpha$ 44425; -300 , $+300$; Mn $K\alpha$ 52189; -800 , $+350$. В табл. 1 представлены данные по пределу обнаружения и погрешности определения элементов в пленке при различных значениях U . Пределы определения элементов согласно данным [29] в 3.33 раза превышают пределы обнаружения. Таким образом, значения пределов определения при ускоряющем напряжении 7 кВ составили, мас. %: для Mg 0.05, Al 0.1, Si 0.1, Fe ($L\alpha$) 2.4, Ni ($L\alpha$) 0.4, Ti 0.4, Cr 1.2, Ca 0.2, P 0.09, Gd ($M\alpha$) 3.2; при ускоряющем напряжении 10 кВ: Mg 0.08, Al 0.2, Si 0.1, Fe ($K\alpha$) 0.2, Fe ($L\alpha$) 2.3, Ni ($K\alpha$) 0.7, Ni ($L\alpha$) 0.3, Ti 0.5, Cr 0.8, Ca 0.1, P 0.07, Gd ($L\alpha$) 0.9; при ускоряющем напряжении 15 кВ: Mg 0.1, Al 0.2, Si 0.1, Fe ($K\alpha$) 0.2, Fe ($L\alpha$) 4.1, Ni ($K\alpha$) 0.2, Ni ($L\alpha$) 0.5, Ti 0.5, Cr 0.4, Ca 0.07, P 0.07, Gd ($L\alpha$) 0.5.

При определении содержания Fe и Ni могут быть использованы линии как K -, так и L -серии. Первая предпочтительней ввиду более высокой интенсивности и меньшего поглощения в образце. Пределы и погрешности определения Fe и Ni при использовании линий $L\alpha$ в несколько раз выше, вследствие этого их применение оправдано лишь для увеличения пространственного разрешения при достаточно высоком содержании Fe и Ni. Подобный подход корректен и при рассмотрении $L\alpha$ - и $M\alpha$ -линий Gd. Для остальных элементов могут полноценно использоваться $K\alpha$ -линии.

Химический состав пленки толщиной 1 и 3 мкм, определенный при различных значениях U , представлен в табл. 2; результаты анализов, усредненные по трем параллельным измерениям при $U = 7$ кВ, удовлетворительно (в пределах погрешностей, обозначенных в табл. 1) согласуются между собой; совпадение составов пленок толщиной 1 и 3 мкм мы рассматривали в качестве критерия корректности использованных аналитических условий. При повышенных ускоряющих напряжениях 10–15 кВ наблюдается существенное искажение значений содержания Mg, Al, Fe, Ni и Cr, причем более значимое для пленки толщиной 1 мкм.

В спектре пленки, полученном при 15 кВ, кроме рентгено-эмиссионных линий Mg, Al, Fe, Ti, Cr, Ni, Ca, P, Gd, зафиксированы также линии Sr, Mn и Co; содержание этих элементов составляет ~ 0.13 , 0.08 и 0.07 мас. % при пределе обнаружения 550, 670 и 490 ppm соответственно; при меньших ускоряющих напряжениях пределы обнаружения указанных элементов выше их содержания, вследствие чего соответствующие данные в табл. 2 не представлены.

Из табл. 2 видно, что при определении содержания Fe и Ni в пленке по разным линиям ($K\alpha$ и $L\alpha$) фиксируется значимая разница результатов: измерение с использованием $K\alpha$ -линии приводит к занижению содержания, причем для железа более существенному вследствие меньшей энергии линии и большей области генерации по сравнению с никелем. Представляется, что при анализе мик-

Таблица 2. Содержание элементов (мас. %) в пленке магний-алюминиевой шпинели толщиной 1 и 3 мкм, определенное при различных значениях ускоряющего напряжения

<i>U</i> , кВ	Mg <i>Kα</i>	Al <i>Kα</i>	Si <i>Kα</i>	Fe		Ni		Ti <i>Kα</i>	Cr <i>Kα</i>	P <i>Kα</i>	Ca <i>Kα</i>	Gd		O*	Сумма
				<i>Kα</i>	<i>Lα</i>	<i>Kα</i>	<i>Lα</i>					<i>Lα</i>	<i>Mα</i>		
Толщина 1 мкм															
7	13.5	26.3	0.33	н.о.	13.9	н.о.	1.5	0.3	2.2	0.58	0.47	н.о.	1.2	39.38	99.66
10	11.3	20.0	9.10	7.9	—	1.2	—	0.3	1.7	0.40	0.35	0.9	—	39.97	93.12
	11.6	20.5	9.18	—	14.2	—	1.3	0.3	1.6	0.41	0.37	0.8	—	42.49	102.75
15	6.9	11.2	24.3	4.1	—	0.7	н.о.	0.2	0.9	0.21	0.19	0.5	—	44.53	93.73
	7.4	11.3	24.0	н.о.	12.9	—	1.0	0.2	0.8	0.21	0.18	0.4	—	47.14	105.53
Толщина 3 мкм															
7	13.8	26.9	0.08	н.о.	13.6	н.о.	1.5	0.3	2.4	0.62	0.50	н.о.	1.1	39.89	100.69
10	14.3	26.8	0.07	8.5	—	1.2	—	0.3	2.0	0.58	0.45	0.9	—	38.28	93.38
	14.6	26.4	0.07	—	15.2	—	1.6	0.4	2.0	0.57	0.31	0.9	—	40.15	102.20
15	14.8	27.0	0.06	8.4	—	1.4	—	0.3	2.0	0.61	0.42	1.2	—	38.88	95.07
	15.4	26.8	0.05	—	16.0	—	1.6	0.3	1.9	0.59	0.41	1.0	—	41.21	105.26

* Содержание кислорода рассчитано из стехиометрии.

ронных покрытий корректно использовать ускоряющее напряжение 7 кВ и аналитические линии с энергией не более 6 кэВ (среди использованных наибольшую энергию 5.4 кэВ имеет линия Cr *Kα*).

Существенное занижение содержания железа при использовании *Kα*-линии проявляется как в недостатке суммы элементов, так и в величине матричных корректировок содержания остальных элементов. В частности, при одинаковых ускоряющих напряжениях и толщине пленки содержания Mg и Al отличаются на величину, несколько превышающую погрешность определения элементов. Такое различие вызвано тем, что линия Mg *Kα* существенно поглощается ионами Fe, а Al *Kα* — ионами Mg и Fe, что проявляется в зависимости величины матричной корректировки интенсивностей Mg *Kα* и Al *Kα*.

В пленке толщиной 3 мкм результаты анализа при разных ускоряющих напряжениях, в том числе и при минимальном $U = 7$ кВ, свидетельствуют о присутствии кремния в пленке магний-алюминиевой шпинели в качестве изоморфной структурной примеси с содержанием 0.05–0.08 мас. %. В пленке толщиной 1 мкм содержание Si, найденное при $U = 7$ кВ, достигает 0.33 мас. %, т.е. существенно завышено за счет наложения рентгеновских фотонов Si *Kα* от подложки. Последнее может быть вызвано эффектом вторичной флуоресценции от более высокоэнергетических линий элементов P, Ca, Ti, Cr, суммарное содержание которых достигает ~3.5 мас. %. Но нельзя исключить, что часть электронов и при $U = 7$ кВ все же достигает кварцевой подложки и возбуждает линию Si *Kα*. В пользу этого может свидетельствовать снижение

найденного содержания Mg и Al по сравнению с таковым в пленке толщиной 3 мкм.

Отработаны методические приемы и определены операционные параметры, позволяющие проводить качественный анализ структуры и количественный анализ основного и микропримесного состава прозрачных пленок сложных оксидов на диэлектрических подложках с использованием конфокального спектрометра KPC Horiba LabRAM HR800 и ЭЗМА Cameca SX100. Исследования выполнены на примере тестовых пленок магний-алюминиевой шпинели микронной толщины на подложке из кварцевого стекла, полученных методом магнетронного распыления. Особенности образцов (фрагментарность покрытия подложки, различие оптических свойств, взаимоисключающий химический состав покрытия и подложки) позволили применить для анализа методические приемы конфокальной спектроскопии KPC и ЭЗМА.

Выбор операционных параметров КР-спектрометра для анализа структуры прозрачных пленок обусловлен необходимостью снижения размеров фокальной области для повышения вклада пленки в суперпозиционный сигнал пленка + подложка при сохранении приемлемых значений отношения сигнал/шум и времени накопления сигнала, а также удовлетворительного спектрального разрешения. Использование лазерного излучения с длиной волны 514 нм, объектива 100х/NA = 0.9, конфокальной диафрагмы 30 мкм, дифракционной решетки 600 штр./мм обеспечивает про-

странственное разрешение по глубине ~ 1.5 мкм и спектральное разрешение ~ 4.0 см $^{-1}$. В условиях малого объема анализируемого вещества использованы повышенные значения времени сбора сигнала каждого участка спектра в каждой аналитической точке (80–120 с). Процедура определения особенностей структуры пленок состояла в регистрации 3D массивов спектров образцов на основе z -профилирования по глубине с последующим восстановлением спектра пленки с учетом соотношения значений пространственного разрешения и толщины пленки. Показано, что пленки MgAl $_2$ O $_4$ на подложке SiO $_2$ имеют неупорядоченную структуру с частично обращенным распределением катионов по окта- и тетрапозициям; дополнительный вклад в разупорядочение структуры вносят примесные элементы.

На основе использования методик профилирования и картирования при электронно-зондовом микроанализе химического состава пленки различной дискретной толщины выбраны аналитические рентгено-эмиссионные линии и параметры электронного пучка микрозонда, подобраны оптимальные условия регистрации для достижения достаточной локальности и надежности анализов. Продемонстрировано, как дискретность покрытия может быть использована для оптимизации экспериментальных условий ЭЗМА, для варьирования толщины анализируемого слоя при сохранении удовлетворительных значений точности определений. Показано, что ускоряющее напряжение 7 кВ является оптимальным для анализа состава пленки магний-алюминиевой шпинели микронной толщины; рекомендовано использовать $K\alpha$ -линии для определения структурно-образующих элементов Mg, Al и примесей Ti, Cr, Ca, P, а также $L\alpha$ -линии для Fe и Ni, $M\alpha$ -линию для Gd; оценены возможности и ограничения методики. Представлены данные химического состава пленки (содержание примесей Fe, Cr, Ni и др.) толщиной 1 и 3 мкм на поверхности кварцевого стекла. Отработанные параметры аналитического оборудования могут быть применены для анализа аналогичных покрытий, в том числе однородных по толщине.

Исследования выполнены в рамках Государственного задания ИГГ УрО РАН, темы № АААА-А19-119071090011-6 и 123011800012-9 с использованием оборудования ЦКП "Геоаналитик" ИГГ УрО РАН. Дооснащение и комплексное развитие ЦКП "Геоаналитик" ИГГ УрО РАН осуществляется при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации на 2021–2023 гг., соглашение № 075-15-2021-680.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Погребняк А.Д., Лозован А.А., Кирик Г.В., Щитов Н.Н., Стадник А.Д., Братушка С.Н. Структура и свой-

ства нанокompозитных, гибридных и полимерных покрытий. М.: Либроком, 2018. 344 с.

2. Schindler M., Singer D. Mineral surface coatings: Environmental records at the Nanoscale // Elements. 2017. V. 13. P. 159.
3. Сенина М.О., Лемешев Д.О. Способы синтеза порошков алюмомагниевого шпинели для получения оптически прозрачной керамики (обзор) // Успехи в химии и химической технологии. 2016. Т. 30. № 7. С. 101.
4. Sampath S.K., Kanhere D.G., Pande R. Electronic structure of spinel oxides: Zinc aluminate and zinc gallate // J. Phys.: Condens. Matter. 1999. V. 11. № 18. P. 3635.
5. Surendran K.P., Bijumon P.V., Mohanan P., Sebastian M.T. (1-x)MgAl $_2$ O $_4$ -xTiO $_2$ dielectrics for microwave and millimeter wave applications // Appl. Phys. A. 2005. V. 81. P. 823.
6. Valanarasu S., Karunakaran M., Vijayan T. A., Kulandaisamy I., Chandramohan R., Lee K.K., Mahalingam T. Optical and microstructural properties of sol-gel spin coated MgAl $_2$ O $_4$ thin films // Digest J. Nanomater. Biostruct. 2015. V. 10. № 2. P. 643.
7. Gavrilov N.V., Ivanov V.V., Kamenetskikh A.S., Nikonov A.V. Investigations of Mn-Co-O and Mn-Co-Y-O coatings deposited by the magnetron sputtering on ferritic stainless steels // Surf. Coat. Technol. 2011. V. 206. № 6. P. 1252.
8. Фелдман Л., Майер Д. Основы анализа поверхности и тонких пленок. Пер. с англ. М.: Мир, 1989. 344 с.
9. Золотарев В.М., Никоноров Н.В., Игнатьев А.И. Современные методы исследования оптических материалов. Часть 2. Учебное пособие, курс лекций. СПб.: НИУ ИТМО, 2013. 166 с.
10. Lambert D., Muehlethaler C., Gueissaz L., Massonnet G. Raman analysis of multilayer automotive paints in forensic science: Measurement variability and depth profile: Raman analysis of multilayer automotive paints in forensic science // J. Raman Spectrosc. 2014. V. 45. P. 1285.
11. Courtecuisse F., Dietlin C., Croutx'e-Barghorn C., Van Der Ven L.G.J. Depth characterization of photopolymerized films by confocal Raman microscopy using an immersion objective // Appl. Spectrosc. 2011. V. 65. P. 1126.
12. Saoula N., Djerourou S., Yahiaoui K., Henda K., Kesri R., Erasmus R.M., Comins J. D. Study of the deposition of Ti/TiN multilayers by magnetron sputtering // Surf. Interface Anal. 2010. V. 42. P. 1176.
13. Lee S. Raman spectroscopic studies of amorphous vanadium oxide thin films // Solid State Ion. 2003. V. 165. P. 111.
14. Gaisler S.V., Semenova O.I., Sharafutdinov R.G., Kolesov B.A. Analysis of Raman spectra of amorphous-nanocrystalline silicon films // Phys. Solid State. 2004. V. 46. P. 1528.
15. Ferrari A.C., Robertson J. Interpretation of Raman spectra of disordered and amorphous carbon // Phys. Rev. B. 2001. V. 61. P. 14095.
16. Yamazaki H., Koike M., Saitoh M., Tomita M., Yokogawa R., Sawamoto N., Tomita M., Kosemura D., Ogura A. Probing spatial heterogeneity in silicon thin films by Raman spectroscopy // Sci. Rep. 2017. V. 7. P. 16549.
17. Sarseminov S.S., Prikhodko O.Y., Ryaguzov A.P., Maksimova S.Y., Ushanov V.Z. Differences in local structure

- between amorphous AsSe films prepared by different methods // *Semicond. Sci. Technol.* 2002. V. 17. P. 1072.
18. *Nemec P., Nazabal V., Moreac A., Gutwirth J., Beneš L., Frumar M.* Amorphous and crystallized Ge–Sb–Te thin films deposited by pulsed laser: Local structure using Raman scattering spectroscopy // *Mater. Chem. Phys.* 2012. V. 136. P. 935.
 19. *Gasparov L., Jegorel T., Loetgering L., Middey S., Chakhalian J.* Thin film substrates from the Raman spectroscopy point of view // *J. Raman Spectrosc.* 2014. V. 45. P. 465.
 20. *Ramoji A., Galler K., Glaser U., Henkel T., Mayer G., Dellith J., Bauer M., Popp J., Neugebauer U.* Characterization of different substrates for Raman spectroscopic imaging of eukaryotic cells // *J. Raman Spectrosc.* 2016. V. 47. P. 773.
 21. *Degioanni S., Jurdyc A.M., Cheap A., Champagnon B., Bessueille F., Coulm J., Bois L., Vouagner D.* Surface-enhanced Raman scattering of amorphous silica gel adsorbed on gold substrates for optical fiber sensors // *J. Appl. Phys.* 2015. V. 118. Article 153103.
 22. *Novikov S., Khriachtchev L.* Surface-enhanced Raman scattering of silicon nanocrystals in a silica film // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 27027.
 23. *Ben Khemis S., Burov E., Montigaud H., Skrelj D., Gouillart E., Cormier L.* Structural analysis of sputtered amorphous silica thin films: A Raman spectroscopy investigation // *Thin Solid Films.* 2021. V. 733. Article 138811.
 24. *Everall N.J.* Modeling and measuring the effect of refraction on the depth resolution of confocal Raman microscopy // *Appl. Spectrosc.* 2000. V. 54. № 6. P. 773.
 25. *Caffrey D., Zhussupbekova A., Vijayaraghavan R.K., Ainabayev A., Kaisha A., Sugurbekova G., Shvets I.V., Fleischer K.* Crystallographic characterisation of ultrathin, or amorphous transparent conducting oxides – The case for Raman spectroscopy // *Materials.* 2020. V. 13. P. 267.
 26. *Брандон Д., Каплан У.* Микроструктура материалов. Методы исследования и контроля. М.: Техносфера, 2004. 384 с.
 27. *Рид С.Дж.Б.* Электронно-зондовый микроанализ и растровая электронная микроскопия в геологии. М.: Техносфера, 2008. 232 с.
 28. *Bubert H., Jenett H.* Surface and thin film analysis: principles, instrumentation, application. N.Y.: Wiley, 2002. 336 p.
 29. *Goldstein J.I., Newbury D.E., Michael J.R., Ritchie N.W.M., Scott J.H.J., Joy D.C.* Scanning electron microscopy and X-Ray microanalysis. N.Y.: Springer, 2018. 4th Ed. 550 p.
 30. *Иго А.В.* Комбинационное рассеяние света в кремнии с нарушенной кристаллической структурой за счет имплантации ионов углерода // *Оптика и спектроскопия.* 2020. Т. 128. № 8. С. 1115.
 31. *Щапова Ю.В., Вотяков С.Л., Замятин Д.А., Червяковская М.В., Панкрушина Е.А.* Минералы-концентраторы *d*- и *f*-элементов: локальные спектроскопические и ЛА-ИСП-МС исследования состава, структуры и свойств, геохронологические приложения. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2020. 424 с.
 32. *Mishchik K.* Ultrafast laser-induced modification of optical glasses: A spectroscopy insight into the microscopic mechanisms. Dissertation. France. 2012. 185 p.
 33. *O'Neill H.S.C., Navrotsky A.* Simple spinels; crystallographic parameters, cation radii, lattice energies, and cation distribution // *Am. Mineral.* 1983. V. 68. № 1–2. P. 181.
 34. *Cynn H., Anderson O.L., Nicol M.* Effects of cation disordering in a natural MgAl₂O₄ spinel observed by rectangular parallelepiped ultrasonic resonance and Raman measurements // *Pure Appl. Geophys.* 1993. V. 141. № 2–4. P. 415.
 35. *Slotznick S.P., Shim S. H.* In situ Raman spectroscopy measurements of MgAl₂O₄ spinel up to 1400 C // *Am. Mineral.* 2008. V. 93. № 2–3. P. 470.

УДК 543.544:615.216.5

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДРОТАВЕРИНА И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА ЕГО БИОДЕСТРУКЦИИ В ПОЧВЕ

© 2023 г. Е. В. Вихарева^{a, b, *}, А. А. Селянинов^c, Е. А. Тюмина^a

^aПермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук
ул. Ленина, 13а, Пермь, 614990 Россия

^bПермская государственная фармацевтическая академия
ул. Полевая, 2, Пермь, 614900 Россия

^cПермский национальный исследовательский политехнический университет
Комсомольский просп., 29, Пермь, 614990 Россия

*e-mail: ajm@perm.ru

Поступила в редакцию 19.04.2023 г.

После доработки 10.05.2023 г.

Принята к публикации 16.05.2023 г.

Изучены закономерности процесса биодеструкции дротаверина гидрохлорида в почве актинобактериями рода *Rhodococcus* в присутствии аборигенной микрофлоры. Предложен способ определения фармацевтического поллютанта в почве, основанный на жидкостно-жидкостной экстракции хлороформом с последующим анализом методом обращенно-фазовой ВЭЖХ. Представлен прогноз уменьшения концентрации экотоксиканта в 100 раз в процессе его биодеструкции с заданной вероятностью 95%.

Ключевые слова: дротаверин, ВЭЖХ, *Rhodococcus*, биодеструкция в почве, математическое моделирование.

DOI: 10.31857/S0044450223120216, **EDN:** YXAVQB

В последние годы проводятся интенсивные исследования по биологической деструкции фармацевтических поллютантов — компонентов лекарственных средств и их метаболитов, детектируемых в окружающей среде. Интерес к данной теме вызван глобальным фармацевтическим загрязнением водных объектов: в 71 стране мира обнаружено уже более 600 веществ, относящихся к фармацевтическим препаратам [1]. При этом наиболее часто обнаруживают антибиотики, эстрогены, антидепрессанты, нестероидные противовоспалительные средства, спазмолитики и др. [2–4].

Проблема фармацевтического загрязнения приобрела планетарный характер по своим масштабам и значимости. Фармполлютанты обнаружены даже в особо охраняемых регионах, таких как Антарктика, территория которой до недавнего времени считалась неподверженной антропогенному воздействию [5]. Несмотря на относительно низкие уровни присутствия фармполлютантов, их постоянное пополнение в природных средах может привести к высоким долговременным концентрациям и стимулировать потенциально отрицательное воздействие на человека и окружающую среду [6–9].

Фундаментальный интерес к поиску эффективных методов обезвреживания и детоксикации фармполлютантов растет, в том числе к изучению степени их биодоступности и токсического воздействия на природные микроорганизмы, играющие роль системы первичного реагирования и иницирующие адаптивные реакции. Эти исследования позволяют установить потенциальные последствия и снизить риск от присутствия фармполлютантов для окружающей среды и здоровья человека. Среди микроорганизмов, участвующих в процессах самоочищения природных экосистем, важная экологическая роль в биологической детоксикации и деконтаминации почв и воды принадлежит актинобактериям рода *Rhodococcus* — устойчивым обитателям загрязненных почв, водоемов, активных илов, сточных вод, обладающим высокой активностью оксидоредуктаз и богатыми адаптивными возможностями в отношении различных токсических соединений [10–13]. Актуальность использования метаболического потенциала родококков для биодеградации лекарственных средств подтверждается все возрастающим количеством исследований по этой тематике [14–17]. Проведенные нами исследования пока-

зали способность родококков к полной биодеструкции фармацевтических препаратов группы нестероидных противовоспалительных средств, в том числе парацетамола [18], ацетилсалициловой кислоты [19], диклофенака натрия [20], ибупрофена [21], кетопрофена [22], а также препарата спазмолитического действия дротаверина гидрохлорида [23, 24].

Дротаверина гидрохлорид (ДГ, $C_{24}H_{31}NO_4$, CAS: 985-12-6, 1-(3,4-диэтоксифенил)-6,7-диэтокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин в форме гидрохлорида, *син.* Но-шпа) является одним из распространенных устойчивых фармполлютантов изохинолинового ряда (схема 1). Данное соединение является синтетическим аналогом папаверина гидрохлорида, но обладает более сильным и продолжительным действием. Ежегодное потребление ДГ в развитых странах составляет сотни тонн, что неизбежно приводит к попаданию его в окружающую среду [25]. Есть данные, указывающие на эмбрио- и общетоксическое действие дротаверина в отношении млекопитающих [26].

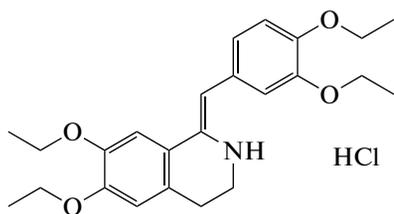


Схема 1. Структурная формула дротаверина гидрохлорида.

Ранее нами разработана методика обнаружения и определения ДГ методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в культуральной жидкости актинобактериальных штаммов, пригодная для изучения динамики разложения и оптимизации процесса биодеструкции данного вещества в водной среде [27]. Изучены основные кинетические закономерности и предложена математическая модель, позволяющая прогнозировать длительность и оптимальное время окончания процесса биодеструкции ДГ в водных средах [27]. Отмечено, что процессы биодеструкции лекарственных средств разного химического строения относятся к классу кинетически моделируемых [28]. Соответствующие математические модели основаны на кинетических уравнениях первого порядка [19, 27, 29–31]. Разработан вероятностный подход к определению времени завершения процессов биодеструкции лекарственных средств по верхней границе доверительного интервала [28].

Цель настоящей работы – изучение процесса биодеструкции ДГ в почве актинобактериями рода *Rhodococcus*, в том числе подбор метода определения остаточной концентрации ДГ в почве, а также вероятностный прогноз полной биодеструкции ДГ.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Микробиологические методы. Для исследования биологической деструкции ДГ в фармацевтически загрязненные образцы почвы с естественной почвенной микрофлорой дополнительно вносили штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 647, поддерживаемый в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, номер во Всемирной федерации коллекций культур 285, УНУ/ЦКП 73559/480868, <http://www.ieg-mcol.ru>) [32]. Для этого бактериальные клетки предварительно выращивали в течение 3 сут в мясопептонном бульоне (МПБ, Sigma-Aldrich, США) и дважды отмывали 50 мМ фосфатным буферным раствором (рН 7.0). В отдельных экспериментах культуры предварительно выращивали в МПБ в присутствии низких (2 мг/л) концентраций ДГ, получая таким образом адаптированные к ДГ клетки. Оптическая плотность (ОП₆₀₀) посевного материала составляла 0.2 ед., что соизмеримо с показателями КОЕ (колониеобразующие единицы) 2.3×10^7 клеток/мл. Показатели оптической плотности измеряли с помощью спектрофотометра Lambda EZ 201 (Perkin Elmer, США).

Выделение из почвенных образцов и учет численности микроорганизмов различных физиологических групп проводили методом предельных разведений с последующим высевом на плотные питательные среды: мясопептонный и технический агар для учета гетеротрофных и олиготрофных микроорганизмов соответственно. Для более полного высвобождения микроорганизмов из почвенных частиц и их связей друг с другом навеску почвенного образца в течение 3 мин перемешивали магнитной мешалкой в режиме максимальной скорости. Подсчет общей численности микроорганизмов и оценку их биоразнообразия проводили каждые 5 сут. Для микроскопических наблюдений использовали световой микроскоп AxioStar plus (Carl Zeiss, Германия).

Образцы почвы. В качестве модельной почвы использовали универсальный почвогрунт (ООО “Уралэкоил”, Екатеринбург, Россия) на основе верхового и низинного торфа (60%), дерновой земли (30%), песка речного (10%), извести (<1%). Согласно классификации почв по гранулометрическому составу (Н.А. Качинский) используемая модельная почва относится к легкому суглинку. Почвенная структура зернистая, размер песчаных частиц 0.05–0.25 мм. Содержание гумуса варьировало до 5–7%, общее содержание азота – 3–5%, общее содержание углерода – 10%. Количество питательных элементов составляло (мг/кг): азот – 100, фосфор – 100, калий – 140. Состав переходных элементов (по М.С. Симаковой, С.А. Санину, В.М. Фриланду, Н.И. Усову) в % на прокаленную бескарбонатную навеску: SiO₂ – 58, Al₂O₃ – 8,

Fe_2O_3 – 8, CaO – 10, MgO – 4, Na_2O – 0.9, TiO_2 – 0.4, MnO – 0.1. рН почвы составлял 5.8–6.0. Дротаверина гидрохлорид в почвенные образцы вносили из концентрированного 0.1%-ного водного раствора до конечных концентраций 0.002, 0.02 и 0.2% в объеме 5.0 мл на 50 г почвы. Влажность почвы на протяжении всего эксперимента поддерживали на уровне 25–28%.

Реагенты. Дротаверина гидрохлорид использовали в виде фармацевтической субстанции (светло-желтый кристаллический порошок без запаха, чистота – 98.5% в пересчете на сухое вещество, умеренно растворимый в воде, Ирбитский химико-фармацевтического завод, Россия).

Химические реагенты, в том числе ацетонитрил, трифторуксусная кислота, хлороводородная кислота, хлороформ, этанол имели квалификацию х. ч., ч. д. а. или ос. ч. (Криохром, Россия; Merck, Германия; Sigma-Aldrich, США). Для получения ультрачистой воды для высокоэффективной жидкостной хроматографии использовали Millipore Simplicity Personal Ultrapure Water System (Millipore, США).

Модельные смеси почвы (контрольные образцы, “контроли”). В качестве “контролей” использовали: (1) модельную почву с инактивированными бактериальными клетками, содержащую ДГ в исследуемых концентрациях (для оценки абиотических факторов деструкции фармполлютанта); (2) модельную почву с аборигенной микрофлорой (для оценки физиологической активности бактериальных клеток при отсутствии фармацевтического загрязнения); (3) модельную почву, содержащую аборигенную микрофлору и ДГ в исследуемых концентрациях (для оценки физиологической активности бактериальных клеток в условиях фармацевтического загрязнения).

Пробоподготовка и хроматографическое определение дротаверина гидрохлорида в почве. Условия извлечения ДГ из почвы выбирали с учетом физико-химических свойств аналита (растворимость, показатели pK_a и $\text{Log } P$). Исследования проводили на модельных смесях почв с содержанием ДГ 0.002, 0.02 и 0.2%. Первоначально для извлечения аналита (0.2%) апробировали настаивание образца почвы в полярных растворителях при постоянном перемешивании в течение 30 мин. В качестве растворителей использовали кислоту хлороводородную 10%-ную, этанол 96%-ный и этанол 96%-ный, подкисленный хлороводородной кислотой до рН 5.

Методика. Навеску образца почвы массой 10 г с содержанием ДГ 0.002, 0.02 или 0.2% помещали в коническую колбу емк. 200 мл, прибавляли 50 мл растворителя и перемешивали на устройстве ЛАБ-ПУ-04 в течение 30 мин. Вытяжку из почвы фильтровали через шприцевой фильтр Chromafil (0.45 мкм RC-45/15) и исследовали на содержание

ДГ методом ВЭЖХ с помощью хроматографа LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) с диодно-матричным детектором (SPD-M20A) в ранее разработанных нами условиях [27]. Хроматографические данные регистрировали и обрабатывали с помощью программы LCSolution (v.1.25 rus). Разделение проводили на хроматографической колонке с обращенно-фазовым сорбентом Luna C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм, Phenomenex, США) в режиме градиентного элюирования. В качестве подвижной фазы использовали смесь 0.1%-ного раствора трифторуксусной кислоты и ацетонитрила; линейное возрастание доли ацетонитрила в элюенте с 30 до 80 об. % в течение 20 мин; скорость потока элюента – 1.2 мл/мин; температура колонки – 40°C; объем вводимой пробы – 20 мкл. Детектирование ДГ осуществляли при длине волны 246 нм, соответствующей максимуму поглощения вещества. В описанных условиях время удерживания ДГ составляло 11.5 ± 0.02 мин [27].

Математическое моделирование процесса биодеструкции дротаверина гидрохлорида в почве. Для сравнительного анализа скорости процесса биодеструкции ДГ в почвенных образцах при различных вариантах экспериментов использовали кинетическое уравнение первого порядка, в котором параметр скорости k для процесса в целом представлял собой случайную величину. Вследствие ограниченного набора опытов для вероятностного анализа k применили математическую статистику в условиях малой выборки, а из-за медленного течения процесса с большим разбросом концентраций ДГ по реализациям для параметра скорости k использовали логнормальный закон распределения. В результате процесс биодеструкции ДГ в почве считали случайным и моделировали обычной функцией случайного параметра k . Для прогноза времени завершения использовали верхнюю границу доверительного интервала изменения концентрации ДГ с вероятностью 95%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Общая численность микроорганизмов в почве и оценка их биоразнообразия. По совокупности морфологических признаков в исследуемых посевах модельной почвы, не содержащей ДГ, выделили 10 вариантов колоний, образованных бактериями и грибами. Общая численность гетеротрофных микроорганизмов при этом составила 8.3×10^4 КОЕ, углеводородокисляющих – 5.0×10^4 КОЕ. Микроскопические исследования показали, что большая часть выявленных колоний гетеротрофных микроорганизмов относится к группе грамотрицательных бактерий, представляющих кокками, и грамположительными палочковидными бактериями с внутриклеточными спорами. Также обнаружены две желтые пигментированные колонии грибов. Для бактериальных колоний пигмента-

Таблица 1. Эффективность извлечения дротаверина гидрохлорида полярными растворителями из модельных образцов почвы ($n = 6$)

Растворитель	Введено ДГ, %	Найдено ДГ, %
Кислота хлороводородная 10%-ная	0.2 (принято за 100)	39.96 ± 4.53
Этанол 96%-ный	0.2 (принято за 100)	87.92 ± 6.95
Этанол 96%-ный, подкисленный HCl до pH 5	0.2 (принято за 100)	79.50 ± 7.16

ция была выражена слабо. Цвет колоний варьировал от грязно-белого до кремового. Углеводородокисляющие изоляты бактерий в основном были представлены бесцветными гладкими колониями (при микрокопировании – грамтрицательные прямые или искривленные палочки с закругленными концами) и единичными розовыми шероховатыми пигментированными колониями (в культуре преобладали грамположительные кокковидные клетки с палочковидными фрагментами), предположительно относящимися к актиномицетам.

При внесении в почвенные образцы ДГ в исследуемых концентрациях общая численность микроорганизмов к концу эксперимента увеличивалась до $1.8\text{--}2.3 \times 10^6$ КОЕ с преобладанием углеводородокисляющих бактерий, в то время как разнообразие вариантов колоний уменьшалось в 2.5 раза. Пигментированные колонии грибов были выявлены в образцах на протяжении всего эксперимента.

В фармацевтически чистых почвенных образцах с дополнительным внесением родококков исходная общая численность микроорганизмов составляла 3.6×10^6 КОЕ и была представлена 13 вариантами колоний, большая часть которых имела бледно-розовый, персиковый или грязно-белый цвет. Культуры были представлены как грамположительными, так и грамтрицательными клетками. На протяжении эксперимента численность бактерий варьировала от 3.6×10^6 до 4.0×10^5 КОЕ.

При внесении ДГ в почвенные образцы, содержащие родококки, наблюдалось снижение числа КОЕ до 1.2×10^5 по истечении 20 сут с последующим восстановлением исходного значения к концу эксперимента. Значительного изменения в морфологическом разнообразии выросших колоний не наблюдалось. Вероятно, внесение родококков в почву, содержащую ДГ, позволило частично преобразовать трудную деструктируемую молекулу фармполлутанта до более доступных соединений [23], которые послужили субстратом для представителей аборигенной микрофлоры.

Способ пробоподготовки почвы для хроматографического определения дротаверина гидрохлорида. Наиболее эффективное извлечение ДГ из почвенных образцов происходит с использованием 96%-ного этанола (табл. 1). Однако разбавление

почвенного образца растворителем в процессе пробоподготовки неизбежно приводит к снижению чувствительности методики хроматографического анализа, что препятствует работе с объектами, содержащими ДГ в концентрациях 0.002 и 0.02% и, соответственно, затрудняет исследование динамики изменения содержания ДГ в процессе биодеструкции.

В связи с этим разработали способ извлечения ДГ из почвы, заключающийся в первоначальном настаивании образца почвы в 96%-ном этаноле при непрерывном перемешивании с последующей экстракцией ДГ из спиртового извлечения хлороформом. Это позволило добиться концентрирования аналита и увеличить чувствительность методики определения содержания ДГ в почве. Абсолютный предел обнаружения ДГ составил 2.4×10^{-3} мкг.

Методика. Навеску образца почвы массой 10 г с содержанием ДГ 0.002, 0.02 или 0.2% помещали в коническую колбу емк. 200 мл, прибавляли 50 мл 96%-ного этанола и перемешивали на устройстве ЛАБ-ПУ-04 в течение 30 мин. Извлечение фильтровали через бумажный фильтр “синяя лента” и переносили в делительную воронку. Фильтрат подщелачивали 10%-ным раствором аммиака до pH 9–10 для перевода аналита в молекулярную форму и дважды экстрагировали хлороформом порциями по 5 мл. Хлороформные извлечения объединяли и упаривали в токе теплого воздуха. Сухой остаток растворяли в 1000 мл подвижной фазы. Полученные растворы фильтровали через шприцевой фильтр Chromafil (0.45 мкм RC-45/15) и исследовали на содержание ДГ методом ВЭЖХ (табл. 2). Потери ДГ при экстракции из почвенных образцов составили от 20 до 40% в зависимости от концентрации ДГ.

Хроматографическое определение дротаверина гидрохлорида в процессе биодеструкции в почвенных образцах. При определении содержания ДГ в исследуемых образцах почвы отметили, что в абиотическом “контроле” происходит сорбция деструктируемого вещества на почвенных частицах (до 20%). Значения ДГ, полученные в дальнейших экспериментах, корректировали с учетом поправки на сорбционную активность данного вещества.

В почвенных образцах, содержащих только аборигенную микрофлору, деструкцию ДГ через 35 сут практически не наблюдали (не более 10%).

Таблица 2. Результаты хроматографического определения дротаверина гидрохлорида в модельных образцах почвы с использованием разработанной методики пробоподготовки ($n = 6$)

Введено ДГ, %	Найдено ДГ, %
0.2 (принято за 100)	78.42 ± 6.07
0.02 (принято за 100)	75.83 ± 12.62
0.002 (принято за 100)	57.80 ± 10.18

При дополнительном внесении родококков остаточное содержание ДГ к концу 35-х суток эксперимента составляло от 36 до 70% в зависимости от начальной концентрации фармполлютанта. Наиболее интенсивные процессы деструкции отмечены в почвенных образцах с содержанием ДГ 0.02%: убыль ДГ через 35 сут эксперимента составила 58–64%. При более высоких концентрациях ДГ скорость деструкции значительно снижалась. Так, в образцах, содержащих 0.2% ДГ, через 35 сут эксперимента убыль исследуемого вещества составила только 30–33%. При низкой (0.002%) концентрации фармполлютанта скорость деструкции оставалась на среднем уровне, через 35 сут эксперимента убыль ДГ составила 37%. Использование адаптированных клеток родококков увеличивало убыль ДГ до 6%. Увеличение продолжительности опытов №№ 1–3 до 61-х суток не выявило новых закономерностей данного процесса (табл. 3).

Математическое моделирование процесса биодеструкции дротаверина гидрохлорида в почве. Концептуальная постановка задачи заключалась в составлении прогноза уменьшения концентрации ДГ в почве в 100 раз с вероятностью 95% на основе полученных экспериментальных данных. Как следует из табл. 3, все рассмотренные реализации процесса биодеструкции ДГ в почве протекали с постоянным уменьшением концентрации фармполлютанта со временем. Наиболее высокая скорость уменьшения концентрации ДГ наблюдалась при среднем значении начальных концентраций исследуемого вещества (0.02%). Процесс

биодеструкции ДГ в почве оказался более длительным по сравнению с метаболизмом ДГ в водной среде: продолжительность последнего составляла 10–20 сут [27]. Данный факт, очевидно, обусловлен медленным высвобождением ДГ из почвенных частиц. Тем не менее по терминологии авторов [19, 29–31] процесс биодеструкции ДГ в почве происходит по интенсивному типу, когда максимум скорости биодеструкции наблюдается в начальный период времени, а затем уменьшается. Поэтому изменение концентрации ДГ в каждой реализации во времени адекватно описывается кинетическим уравнением первого порядка

$$dx/dt = -kx \quad (1)$$

при концентрации вещества $x_0 = 100\%$ в качестве начального условия и постоянной константе скорости биодеструкции $k = \text{const}$.

В табл. 3 представлены значения константы k для реализаций процесса биодеструкции ДГ, определенные с применением метода наименьших квадратов, а также прогноз времени t_p достижения концентрацией ДГ величины, равной 1% от начальной, сделанный на основании уравнения (1) по каждой реализации.

Понимая ситуацию неравномерного распределения ДГ в почве в реальных условиях как случайную, для решения поставленной задачи данную случайность исключили, принимая начальные концентрации ДГ во всех реализациях за 100%. Само же изменение концентрации данного вещества при биодеструкции в почве (табл. 3) можно представить случайным процессом, причем с необходимостью анализа в условиях малой выборки. Параметр k кинетического уравнения (1) в данном случае следует воспринимать как случайную величину.

Реализации процесса биодеструкции ДГ в почве после кинетического моделирования, соответствующие данным табл. 3, приведены на рис. 1. Представленная кинетическая модель (1) показала адекватность полученным экспериментальным данным (табл. 3). Поведение кинетических

Таблица 3. Динамика изменения содержания дротаверина гидрохлорида в процессе биодеструкции в почве (x , % от начальной концентрации)

№	Условия эксперимента	Экспозиция, сут				Константа, k , сут ⁻¹	Прогноз времени, t_p , сут
		0	19	35	61		
1	Неадаптированные родококки + ДГ 0.2%	100	80.4	70.6	53.1	0.0106	434.5
2	Адаптированные родококки + ДГ 0.2%	100	78.4	66.7	46.9	0.0123	374.4
3	Неадаптированные родококки + ДГ 0.02%	100	66.0	42.0	32.0	0.0218	211.2
4	Адаптированные родококки + ДГ 0.02%	100	64.0	36.0	—	0.0263	175.4
5	Неадаптированные родококки + ДГ 0.002%	100	66.9	63.3	—	0.0171	267.9
6	Адаптированные родококки + ДГ 0.002%	100	66.7	63.1	—	0.0172	267.7

Примечание: начальную концентрацию ДГ приняли за 100%; остаточную концентрацию ДГ не определяли.

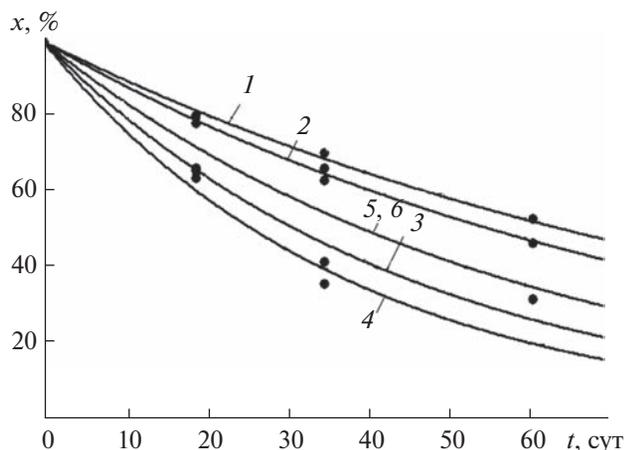


Рис. 1. Кинетические кривые реализаций процесса биодеструкции дротаверина гидрохлорида в почве: 1–6 – номер эксперимента, ● – экспериментальные данные концентрации дротаверина гидрохлорида.

кривых свидетельствует о ламинарном течении случайного процесса. Разброс относительных значений концентрации ДГ в пределах наблюдения возрастает со временем, что подтверждает необходимость прогноза поведения кинетических кривых за пределами эксперимента.

Из-за ограниченного набора реализаций и соответствующих значений констант k применили математическую статистику в условиях малой выборки [33, 34], что позволило определить для случайного параметра скорости биодеструкции ДГ выборочные аналоги математического ожидания, дисперсии и среднего квадратичного отклонения: $m_k = 0.0176 \text{ сут}^{-1}$; $D_k = 0.000034 \text{ сут}^{-2}$; $\sigma_k = 0.0060 \text{ сут}^{-1}$. Если применить для этих данных “правило трех сигм”, то в доверительный интервал со 100%-ной вероятностью войдут реализации с отрицательными значениями k , что приведет к некорректному применению нормального закона распределения. К тому же в работе [28] показано, что для случайного параметра кинетического уравнения биодеструкции ДГ в культуральной жидкости родококков достоверным является логнормальный закон распределения.

Случайный процесс изменения концентрации ДГ при биодеструкции в почве можно представить обычной функцией случайного параметра k вида

$$X(t) = x_0 e^{-kt}. \quad (2)$$

С целью установления закономерностей биодеструкции ДГ в почве согласно известным выражениям [28] определили основные числовые характеристики процесса: выборочные аналоги математического ожидания $m_x(t)$, дисперсии $D_x(t)$ и среднего квадратичного отклонения $\sigma_x(t)$.

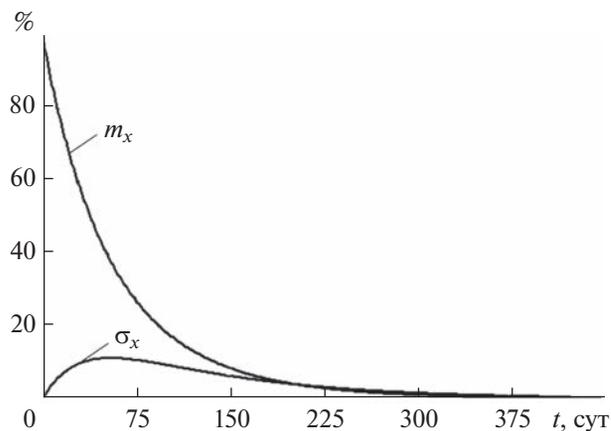


Рис. 2. Зависимость от времени выборочных аналогов процесса биодеструкции дротаверина гидрохлорида в почве.

На рис. 2 представлены зависимости от времени выборочных аналогов математического ожидания $m_x(t)$ и среднего квадратичного отклонения $\sigma_x(t)$. Выборочный аналог математического ожидания $m_x(t)$ в качестве среднего значения концентрации ДГ изменяется внутри разброса реализаций, что следует из сравнения с кривыми на рис. 1. Выборочный аналог среднего квадратичного отклонения $\sigma_x(t)$ возрастает со временем, достигает максимального значения на 50-е сутки, сравнивается по величине с выборочным аналогом математического ожидания примерно на 200-е сутки и стремится вместе с ним к нулю после 450-х суток. В результате независимо от того, что разброс течения реализаций до 50-ти суток увеличивается, процесс биодеструкции ДГ в почве является устойчивым.

Для определения времени уменьшения концентрации ДГ в 100 раз при биодеструкции в почве с заданной вероятностью 95% использовали верхнюю границу доверительного интервала с соответствующей вероятностью. Согласно методике, представленной в работе [28], получили значения $k^- = 0.1060 \text{ сут}^{-1}$ и $k^+ = 0.0103 \text{ сут}^{-1}$, определяющие нижнюю 2 и верхнюю 1 границы доверительного интервала для процесса биодеструкции ДГ в почве с вероятностью 95% (рис. 3).

Следует отметить, что доверительный интервал для изменения относительной концентрации ДГ является несимметричным относительно выборочного аналога математического ожидания (кривая 3 на рис. 3). Время t_p достижения концентрацией ДГ значения $x_p = 1\%$ с вероятностью 95% можно определить либо графически по кривой 1 на рис. 3, либо по значениям $x = x_p$ и $k = k^+$ в уравнении (1). В результате прогноз времени уменьшения концентрации ДГ в 100 раз в процессе биодеструкции в почве с использованием адапти-

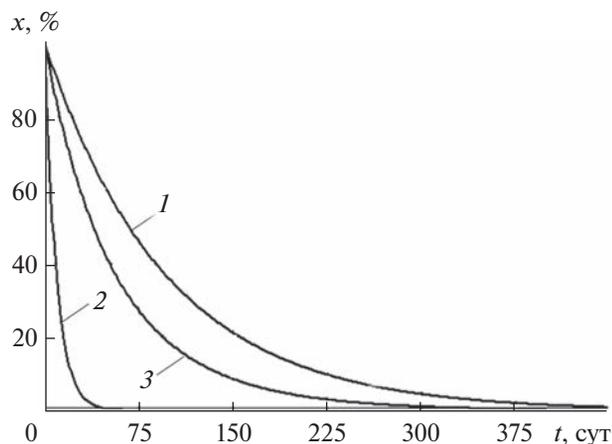


Рис. 3. Доверительный интервал для процесса биодеструкции дротаверина гидрохлорида в почве с вероятностью 95%: 1 – верхняя граница; 2 – нижняя граница; 3 – выборочный аналог математического ожидания.

рованных и неадаптированных клеток родококков с вероятностью 95% составляет $t_p = 447$ сут.

* * *

Таким образом, экспериментально установлено, что актинобактерии рода *Rhodococcus* способны к биодеструкции дротаверина гидрохлорида в почве в условиях лабораторного микрокосма. Присутствие дротаверина приводит к снижению морфологического разнообразия почвенного консорциума, в то время как наличие в почве актинобактерий рода *Rhodococcus* способствует его сохранению. Разработан способ определения фармацевтического поллютанта в почве, основанный на жидкостно-жидкостной экстракции хлороформом с последующим анализом методом обращенно-фазовой ВЭЖХ, пригодный для изучения динамики изменения содержания дротаверина в процессе биодеструкции. С использованием математического моделирования реализации процесса биодеструкции дротаверина гидрохлорида в почве и стохастического анализа установлено, что с вероятностью 95% можно прогнозировать время уменьшения концентрации данного фармполлютанта в почве в 100 раз за 447 сут.

Исследования проведены в рамках Государственного задания 122010800029-1.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *aus der Beek T., Weber F.A., Bergmann A., Hickmann S., Ebert I., Küster A.H.A.* Pharmaceuticals in the environment – Global occurrences and perspectives // *Environ. Toxicol. Chem.* 2016. V. 35. P. 823. <https://doi.org/10.1002/etc.3339>
2. *Тюмина Е.А., Бажутин Г.А., Картагена Гомез А.П., Ившина И.Б.* Нестероидные противовоспалитель-

ные средства как разновидность эмерджентных загрязнителей // *Микробиология.* 2020. Т. 89. № 2. С. 152.

Tyumina E.A., Bazhutin G.A., Cartagena Gómez A.d.P., Ivshina I.B. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as emerging contaminants // *Microbiology.* 2020. V. 89. № 2. P. 148.

<https://doi.org/10.31857/S0026365620020135>

3. *Wilkinson J.L., Boxall A.B.A., Kolpin D.W., Leung K.M.Y., Lai R.W.S., Galban-Malag C., Adell A.D., Mondon J., Metian M., Marchant R.A., Bouzas-Monroy A., Cuni-Sanchez A., Coors A., Carriquiriborde P., Rojo M., Gordon C., Cara M., Moermond M., Luarte T., Petrosyan V., Perikhanyan Y., Mahon C.S., McGurk C.J., Hofmann T., Kormoker T., Iniguez V., Guzman-Otazo J., Tavares J.L., de Figueiredo F.G., Razzolini M.T.P., Dougnon V., Gbaguidi G., Traore O., Blais J.M., Kimpe L.E., Wong M., Wong D., Nchancho R., Pizarro J., Ying G.G., Chen C.E., Paez M., Martinez-Lara J., Otamonga J.P., Pote J., Ifo S.A., Wilson P., Echeverria-Saenz S., Udikovic-Kolic N., Milakovic M., Fatta-Kassinou D., Ioannou-Ttofa L., Belusova V., Vymazal J., Cardenas-Bustamante M., Kassa B.A., Garric J., Chaumot A., Gibba P., Kunchulia I., Seidensticker S., Lyberatos G., Halldorsson H.P., Melling M., Shashidhar T., Lamba M., Nastiti A., Supriatin A., Pourang N., Abedini A., Abdullah O., Gharbia S.S., Pilla F., Chefetz B., Topaz T., Yao K.M., Aubakirova B., Beisenova R., Olaka L., Mulu J.K., Chatanga P., Ntuli V., Blama N.T., Sherif S., Aris A.Z., Looi L.J., Niang M., Traore S.T., Oldenkamp R., Ogunbanwo O., Ashfaq M., Iqbal M., Abdeen Z., O'Dea A., Morales-Saldaña J.M., Custodio M., de la Cruz H., Navarrete I., Carvalho F., Gogra A.B., Koroma B.M., Cerkvjenik-Flajs V., Gombac M., Thwala M., Choi K., Kang H., Celestino Ladu J.L., Rico A., Amerasinghe P., Sobek A., Horlitz G., Zenker A.K., King A.C., Jiang J.J., Kariuki R., Tumbo M., Tezel U., Onay T.T., Leju J.B., Vystavna Y., Vergeles Y., Heinzen H., Perez-Parada A., Sims D.B., Figy M., Good D., Teta C.* Pharmaceutical pollution of the world's rivers // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2022. V. 119. № 8. Article e2113947119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2113947119>
4. *Miettinen M., Khan S.A.* Pharmaceutical pollution: A weakly regulated global environmental risk // *Rev. Eur. Comp. Int. Environ. Law.* 2022. V. 31. № 1. P. 75. <https://doi.org/10.1111/reel.12422>
5. *González-Alonso S., Merino L.M., Esteban S., López de Alda M., Barceló D., Durán J.J., López-Martínez J., Aceña J., Pérez S., Mastroianni N., Silva A., Catalá M., Valcárcel Y.* Occurrence of pharmaceutical, recreational and psychotropic drug residues in surface water on the northern Antarctic Peninsula region // *Environ. Pollut.* 2017. V. 229. P. 241. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.060>
6. *Grabarczyk Ł., Mulkiwicz E., Stolte S., Puckowski A., Pazda M., Stepnowski P., Białk-Bielińska A.* Ecotoxicity screening evaluation of selected pharmaceuticals and their transformation products towards various organisms // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2020. V. 27. № 21. P. 26103. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08881-3>
7. *Davey C.J.E., Kraak M.H.S., Praetorius A., ter Laak T.L., van Wezel A.P.* Occurrence, hazard, and risk of psychopharmaceuticals and illicit drugs in European surface wa-

- ters // Water Res. 2022. V. 222. Article 118878. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2022.118878>
8. Ramírez-Morales D., Masís-Mora M., Beita-Sandí W., Montiel-Mora J.R., Fernández-Fernández E., Méndez-Rivera M., Arias-Mora V., Leiva-Salas A., Brenes-Alfaro L., Rodríguez-Rodríguez C.E. Pharmaceuticals in farms and surrounding surface water bodies: Hazard and ecotoxicity in a swine production area in Costa Rica // Chemosphere. 2021. V. 272. Article 129574. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129574>
 9. Alkimin G.D., Daniel D., Frankenbach S., Seródio J., Soares A.M.V.M., Barata C., Nunes B. Evaluation of pharmaceutical toxic effects of non-standard endpoints on the macrophyte species *Lemna minor* and *Lemna gibba* // Sci. Total Environ. 2019. V. 657. P. 926. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.002>
 10. Ivshina I., Bazhutin G., Tyumina E. *Rhodococcus* strains as a good biotool for neutralizing pharmaceutical pollutants and obtaining therapeutically valuable products: Through the past into the future // Front. Microbiol. 2022. V. 13. Article 3861. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.967127>
 11. Krivoruchko A., Kuyukina M., Ivshina I. Advanced *Rhodococcus* biocatalysts for environmental biotechnologies // Catalysts. 2019. V. 9. Article 236. <https://doi.org/10.3390/catal9030236>
 12. Liang Y., Yu H. Genetic toolkits for engineering *Rhodococcus* species with versatile applications // Biotechnol. Adv. 2021. V. 49. Article 107748. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107748>
 13. Cappelletti M., Presentato A., Piacenza E., Firrincieli A., Turner R.J., Zannoni D. Biotechnology of *Rhodococcus* for the production of valuable compounds // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2020. V. 104. № 20. P. 8567. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10861-z>
 14. Zhao H., Tian K., Qiu Q., Wang Y., Zhang H., Ma S., Jin S., Huo H. Genome analysis of *Rhodococcus* sp. DSSKP-R-001: A highly effective β -estradiol-degrading bacterium // Int. J. Genomics. 2018. V. 2018. Article 3505428. <https://doi.org/10.1155/2018/3505428>
 15. Zhang Y., Ji J., Xu S., Wang H., Shen B., He J., Qiu J., Chen Q. Biodegradation of picolinic acid by *Rhodococcus* sp. PA18 // Appl. Sci. 2019. V. 9. P. 1. <https://doi.org/10.3390/app9051006>
 16. Luchnikova N.A., Grishko V.V., Kostrikina N.A., Sorokin V.V., Mulyukin A.L., Ivshina I.B. Biotransformation of oleanolic acid using *Rhodococcus rhodochrous* IEGM 757 // Catalysts. 2022. V. 12. № 11. Article 1352. <https://doi.org/10.3390/CATAL12111352>
 17. Rodrigues C.J.C., de Carvalho C.C.C.R. Phenotypic adaptations help *Rhodococcus erythropolis* cells during the degradation of paraffin wax // Biotechnol. J. 2019. V. 14. № 8. Article 1800598. <https://doi.org/10.1002/biot.201800598>
 18. Ivshina I.B., Rychkova M.I., Vikhareva E.V., Chekryshkina L.A., Mishenina I.I. Catalysis of the biodegradation of unusable medicines by alkanotrophic *Rhodococcus* // Appl. Biochem. Microbiol. 2006. V. 42. № 4. P. 392. <https://doi.org/10.1134/S0003683806040090>
 19. Хренков А.Н., Вихарева Е.В., Тумилович Е.Ю., Карпенко Ю.Н., Селянинов А.А., Тюмина Е.А. Хроматографический анализ ацетилсалициловой кислоты в культуральных жидкостях родококков // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Хим. 2020. Т. 61. № 5. С. 388. (Kharpenko Yu.N., Vikhareva E.V., Tumulovich E.Yu., Karpenko Yu.N., Selyaninov A.A., Tyumina E.A. Chromatographic analysis of acetylsalicylic acid in *Rhodococcus* cultural fluids // Mosc. Univ. Chem. Bull. 2020. V. 61. № 5. P. 309.) <https://doi.org/10.3103/S0027131420050053>
 20. Ivshina I.B., Tyumina E.A., Kuzmina M.V., Vikhareva E.V. Features of diclofenac biodegradation by *Rhodococcus ruber* IEGM 346 // Sci. Rep. 2019. V. 9. № 1. Article 9159. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45732-9>
 21. Ivshina I.B., Tyumina E.A., Bazhutin G.A., Vikhareva E.V. Response of *Rhodococcus cerastii* IEGM 1278 to toxic effects of ibuprofen // PLoS One. 2021. V. 16. № 11. Article e0260032. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0260032>
 22. Bazhutin G.A., Polygalov M.A., Tyumina E.A., Tyan S.M., Ivshina I.B. Cometabolic bioconversion of ketoprofen by *Rhodococcus erythropolis* IEGM 746 // Science and Global Challenges of the 21st Century – Science and Technology. Perm Forum 2021 / Eds. Rocha A., Isaeva E. 2022. P. 404.
 23. Ivshina I.B., Vikhareva E.V., Richkova M.I., Mukhutdinova A.N., Karpenko J.N. Biodegradation of drotaverine hydrochloride by free and immobilized cells of *Rhodococcus rhodochrous* IEGM 608 // World J. Microbiol. Biotechnol. 2012. V. 28. № 10. P. 2997. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1110-6>
 24. Ivshina I.B., Mukhutdinova A.N., Tyumina H.A., Vikhareva H.V., Suzina N.E., El'-Registan G.I., Mulyukin A.L. Drotaverine hydrochloride degradation using cyst-like dormant cells of *Rhodococcus ruber* // Curr. Microbiol. 2015. V. 70. № 3. P. 307. <https://doi.org/10.1007/s00284-014-0718-1>
 25. HELCOM. BASE project 2012-2014: Pilot activity to identify sources and flow patterns of pharmaceuticals in St. Petersburg to the Baltic Sea. 2014. P. 121.
 26. Мухутдинова А.Н., Тюмина Е.А., Рычкова М.И., Вихарева Е.В. Фармацевтические соединения на основе азотсодержащих гетероциклов – новый класс загрязнителей окружающей среды. Обзор // Вестн. Перм. ун-та Сер. Биол. 2015. № 1. С. 65.
 27. Карпенко Ю.Н., Селянинов А.А., Мухутдинова А.Н., Рычкова М.И., Баранова А.А., Вихарева Е.В., Ившина И.Б. Хроматографическое определение дротаверина гидрохлорида и кинетическое моделирование процесса его биодеструкции в культуральной жидкости *R. rhodochrous* // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69. № 7. С. 750. (Karpenko Yu.N., Selyaninov A.A., Mukhutdinova A.N., Rychkova M.I., Baranova A.A., Vikhareva E.V., Ivshina I.B. Chromatographic determination of drotaverine hydrochloride and kinetic modeling of the process of its biodestruction in a *R. rhodochrous* culture liquid // J. Anal. Chem. 2014. V. 69. № 7. P. 681. <https://doi.org/10.1134/S1061934814070077> <https://doi.org/10.7868/S004445021407007X>
 28. Селянинов А.А., Осипенко М.А., Баранова А.А., Вихарева Е.В., Хренков А.Н. Числовые характеристики кинетически моделируемого простого нестационарного случайного процесса // Прикладная математика и вопросы управления. 2019. № 3. С. 65.

29. *Плотников А.Н., Карпенко Ю.Н., Вихарева Е.В., Тюмина Е.А., Рычкова М.И., Селянинов А.А.* Определение кодеина фосфата в культуральной жидкости родококков методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Вестн. Моск. ун-та Сер. Хим. 2018. Т. 59. № 1. С. 50. (*Plotnikov A.N., Karpenko Yu.N., Vikhareva E.V., Tyumina E.A., Richkova M.I., Selyaninov A.A.* Determination of codeine phosphate in the culture fluid of *Rhodococcus* by high-performance liquid chromatography // Mosc. Univ. Chem. Bull. 2017. V. 72. № 6. P. 328.) <https://doi.org/10.3103/S0027131418010054>
30. *Вихарева Е.В., Карпенко Ю.Н., Селянинов А.А., Бажутин Г.А., Тюмина Е.А.* Хроматографический анализ мелоксикама и его метаболитов в процессе бактериальной деструкции // Изв. Акад. наук. сер. хим. 2022. № 11. С. 2358. (*Vikhareva E.V., Karpenko Yu.N., Selyaninov A.A., Bazhutin G.A., Tyumina E.A.* Chromatographic analysis of meloxicam and metabolites of its biodegradation // Russ. Chem. Bull. 2022. V. 71. № 11. P. 2358.) <https://doi.org/10.1007/s11172-022-3663-3>
31. *Вихарева Е.В., Селянинов А.А., Бажутин Г.А., Тюмина Е.А.* Хроматографическое определение ибупрофена в культуральных средах родококков и кинетическое моделирование процесса его биодеструкции // Журн. аналит. химии. 2023. Т. 78. № 2. С. 187. (*Vikhareva E.V., Selyaninov A.A., Bazhutin G.A., Tyumina E.A.* Chromatographic determination of ibuprofen in *Rhodococcus* culture media and kinetic modeling of its biodegradation process // J. Anal. Chem. 2023. V. 78. № 2. P. 241. <https://doi.org/10.1134/S1061934823010136>) <https://doi.org/10.31857/S0044450223010140>
32. Catalogue of Strains of Regional Specialized Collection of Alkanotrophic Microorganisms. URL: <http://www.iegmc-col/strains/index.html> (дата обращения 17.04.2022).
33. *Селянинов А.А., Вихарева Е.В., Ившина И.Б., Баранова А.А., Карпенко Ю.Н.* Стохастический анализ повторяемости процесса биологической деструкции дротаверина гидрохлорида // Рос. журн. биомех. 2013. Т. 17. № 1 (59). С. 41.
34. *Селянинов А.А., Баранова А.А., Вихарева Е.В., Рычкова М.И.* Биодеструкция дротаверина гидрохлорида как случайный нестационарный процесс // Биофарм. журн. 2017. Т. 9. № 1. С. 26.

УДК 543.545.2;544.723.5

ИССЛЕДОВАНИЕ СОРБЦИИ ХЛОРТЕТРАЦИКЛИНА ГИДРОХЛОРИДА С ПОСЛЕДУЮЩИМ ОПРЕДЕЛЕНИЕМ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЗОННОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

© 2023 г. А. И. Гордилова^а*, Е. Л. Лебедева^а, Ю. С. Петрова^а, Л. К. Неудачина^а

^аУральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина
ул. Мира, 19, Екатеринбург, Свердловская обл., 620002 Россия

*e-mail: anastasia29gor@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.04.2023 г.

После доработки 23.05.2023 г.

Принята к публикации 24.05.2023 г.

Работа посвящена разработке подхода к определению хлортетрациклина, сочетающего предварительное концентрирование аналита с последующим его определением методом капиллярного зонного электрофореза. Определены условия, обеспечивающие наименьшее значение предела определения хлортетрациклина в водных растворах с использованием системы капиллярного электрофореза Капель-105М (ГК “Люмэкс”, Россия): температура, время и давление ввода пробы, состав фонового электролита, длина волны детектирования. Показано, что стабильность раствора хлортетрациклина максимальна при температуре хранения 0.5°C в отсутствие буферных систем либо при использовании разбавленного аммиачно-ацетатного буферного раствора. Установлено, что степень извлечения хлортетрациклина сильнокислотными катионитами КУ-1, КУ-2 выше по сравнению с КБ-4, КБ-4П2, содержащими слабокислотные функциональные группы. Определены условия, в которых степень извлечения аналита КУ-1 из фосфатного буферного раствора составляет порядка 90%.

Ключевые слова: капиллярный зонный электрофорез, хлортетрациклин, сорбция.

DOI: 10.31857/S004445022312006X, **EDN:** EIVKYH

Антибиотики группы тетрациклинов обладают широким спектром действия против патогенных микроорганизмов, характеризуются относительно низкой токсичностью и невысокой стоимостью. Антибиотики данного класса в настоящее время широко используются как в медицине, так и в ветеринарии, в том числе в качестве стимуляторов роста животных. Это приводит к неизбежному попаданию тетрациклинов в продукты питания, а также в окружающую среду, вызывая тем самым угрозу состоянию здоровья человека.

Для определения содержания тетрациклинов в различных объектах предложены иммунохимические [1], микробиологические [2], хроматографические [3], электрофоретические [4–6], спектроскопические [7, 8] и электрохимические [9] методы анализа. В связи с необходимостью предварительного разделения тетрациклинов и определения их в сложных по составу объектах наибольшее распространение получили хроматографические методы. В то же время известно, что электрофоретические методы выгодно отличаются экспрессностью, отсутствием необходимости использования токсичных органических растворителей, высокой эффективностью [4–6]. Низкая концентра-

ция тетрациклинов в продуктах питания и объектах окружающей среды предполагает использование методов разделения и концентрирования на стадии пробоподготовки, чаще всего сорбционных [10]. Таким образом, актуальной задачей является разработка новых подходов к определению тетрациклинов методом капиллярного зонного электрофореза (КЗЭ) в различных объектах после их концентрирования известными и доступными сорбентами в выбранных оптимальных условиях, а также разработка гибридных методов определения.

Цель работы заключалась в исследовании сорбции хлортетрациклина гидрохлорида (ХТЦ) синтетическими катионообменниками с последующим его определением методом капиллярного зонного электрофореза. Для решения поставленной задачи исследовали стабильность водных растворов ХТЦ; оптимизировали методику электрофоретического определения ХТЦ; исследовали сорбцию ХТЦ синтетическими катионообменниками.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты и аппаратура. Исходный раствор ХТЦ с концентрацией 0.4 г/л готовили из реагента

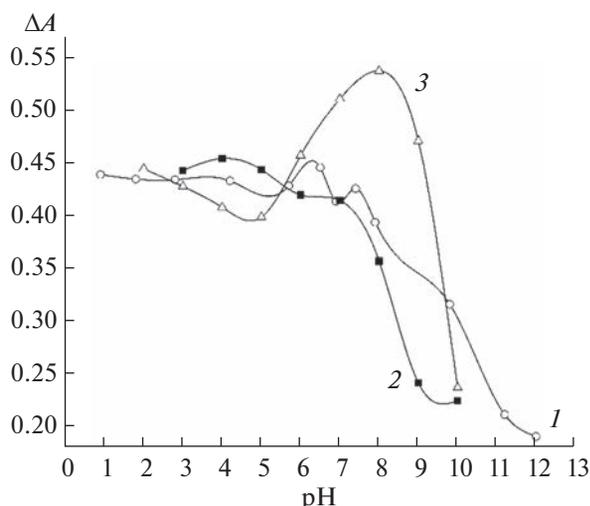


Рис. 1. Зависимость оптической плотности растворов хлортетрациклина с концентрацией 0.02 г/л от pH: 1 — без буферной системы, 2 — аммиачно-ацетатная буферная система с концентрацией ацетата 0.13 М, 3 — универсальная буферная система. UNICO 2800, $\lambda = 368$ нм.

хлортетрациклина гидрохлорида чистотой 97% (BioReagent, Израиль). Растворы с меньшей концентрацией готовили разбавлением исходного раствора. Для приготовления буферных растворов для сорбции и растворов фоновых электролитов для капиллярно-электрофоретического разделения использовали реактивы КОН, изопропиловый спирт, ЭДТА, HCl, H_3PO_4 , CH_3COOH , H_3BO_3 , NH_3 квалификации не ниже х. ч. различных производителей.

Деионизованную воду получали при помощи системы высокой очистки Milli-Q Academic (Millipore, США).

Кислотность растворов контролировали иономером И-160МИ, оснащенным стеклянным комбинированным электродом ЭСК 10601/7 (Измерительная техника, Россия).

Точные навески отбирали с использованием аналитических весов ALC-210d4 фирмы "Assulab" (Sartorius group, Германия).

Для измерения светопоглощения использовали спектрофотометр UNICO 2800 (ООО "ЮНИКО-СИС", Россия) с кварцевыми кюветами толщиной 1 см.

Электрофореграммы (ЭФГ) и спектры поглощения регистрировали с помощью системы капиллярного электрофореза Капель-105М (ГК "Люмэкс", Россия), снабженной немодифицированным кварцевым капилляром (внутренний диаметр 75 мкм, эффективная длина 50 см, общая длина 60 см), УФ-детектором и источником высокого напряжения переменной полярности. Запись и обработку электрофоретических данных осуществля-

ли с использованием программного обеспечения Эльфоран 3.2.5.

Методика эксперимента. Стабильность растворов ХТЦ в зависимости от состава и pH среды, а также температуры хранения исследовали спектрофотометрически по собственному светопоглощению ХТЦ при длине волны 368 нм. Для исследования влияния состава использовали следующие системы: аммиачно-ацетатную с концентрациями ацетата 0.13 и 5×10^{-3} М; универсальную буферную систему, содержащую по 0.01 моль/л фосфорной, уксусной и борной кислот; а также растворы хлороводородной кислоты и гидроксида натрия различных концентраций. Раствором сравнения служил раствор, содержащий все компоненты, кроме ХТЦ.

Анализ проводили при температуре водного термостатирования капилляра 20, 25 и 30°C, длине волны детектирования 190, 225 и 385 нм. В качестве фонового электролита (ФЭ) использовали фосфатный буферный раствор с добавлением ЭДТА. Непосредственно перед электрофоретическими исследованиями все растворы фильтровали через целлюлозно-ацетатные фильтры с размером пор 0.45 мкм.

Сорбцию ХТЦ в статических условиях исследовали методом ограниченного объема в интервале pH 2.0–6.0 (аммиачно-ацетатный и фосфатный буферные растворы). В качестве сорбентов исследовали катиониты КУ-1, КУ-2, КБ-4, КБ-4П2. По истечении определенного времени разделяли фазы фильтрованием, определяли концентрации ХТЦ в растворах до и после сорбции методом спектрофотометрии и КЗЭ в оптимизированных условиях. По полученным данным рассчитывали значения степени извлечения ХТЦ (R , %) и сорбции (a , мкмоль/г).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Длину волны для изучения электрофоретического поведения ХТЦ выбирали на основании анализа спектров поглощения растворов реагента в УФ-области, снятых при различных значениях pH растворов. В спектрах наблюдаются широкие полосы с максимумами при 225 и 368 нм. Эти значения длин волн выбраны для дальнейших измерений.

Изучение стабильности водных растворов хлортетрациклина. Согласно данным [11] при определенных условиях водные растворы тетрациклинов являются неустойчивыми, поэтому первым этапом исследования стало изучение стабильности водных растворов ХТЦ в зависимости от состава и кислотности раствора, а также температуры спектрофотометрическим методом. На рис. 1 представлены зависимости, характеризующие влияние состава и pH среды на оптическую плотность растворов ХТЦ. Как видно, оптическая плотность раствора ХТЦ постоянна в растворе HCl в диапа-

зоне рН 1.0–6.0. Использование буферных систем для поддержания рН приводит к получению зависимостей, на которых сложно выделить интервалы кислотности, обеспечивающие постоянство значений оптической плотности. Наблюдаемая закономерность может быть обусловлена химическими процессами, протекающими в растворе. Так, по данным [11], в щелочной среде протекает

изомеризация тетрациклинов с образованием окрашенных в желтый цвет продуктов (схема 1).

В сильноокислой среде тетрациклины превращаются в ангидротетрациклины, которые имеют темно-желтую окраску (схема 2) [11].

Тетрациклины в процессе хранения неустойчивы и могут образовывать токсичные или неактивные продукты (4-эпитетрациклины) (схема 3) [11].

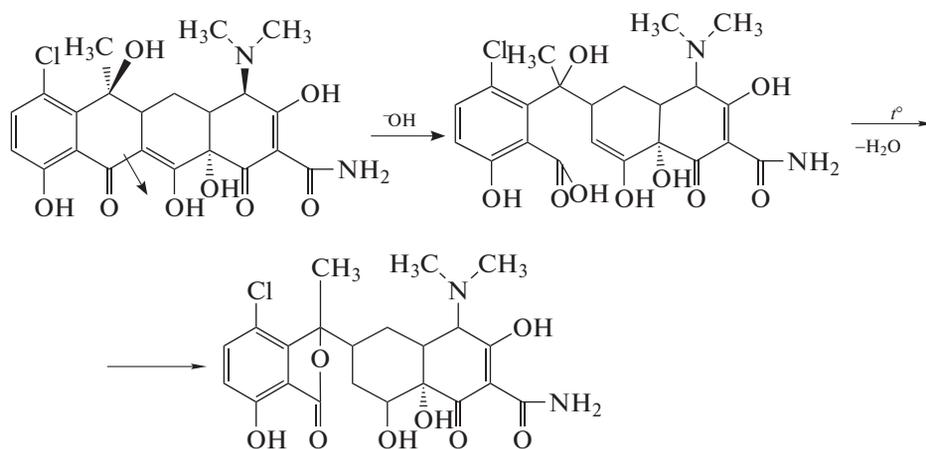


Схема 1. Реакция изомеризации тетрациклинов в щелочной среде.

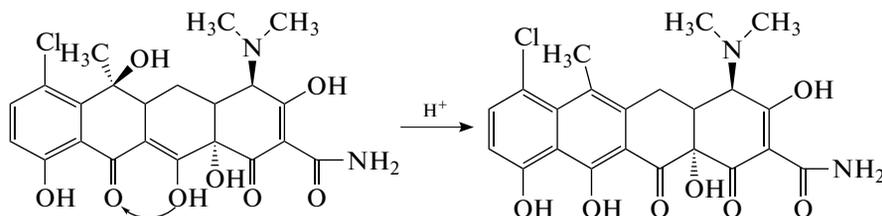


Схема 2. Реакция образования ангидротетрациклина в кислой среде.

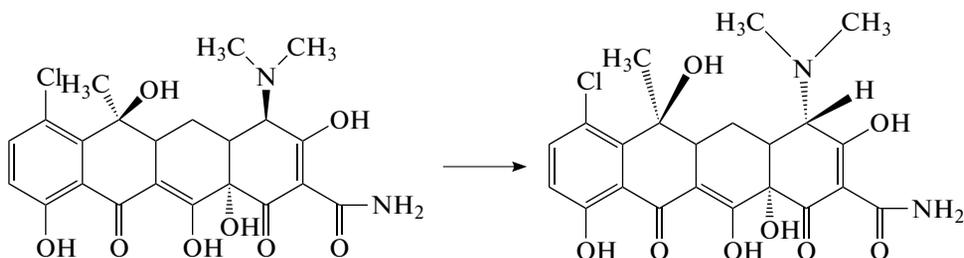


Схема 3. Химическое превращение тетрациклина в процессе хранения.

На рис. 2 приведены зависимости оптической плотности раствора ХТЦ от состава раствора, температуры и времени. Как видно, раствор ХТЦ наиболее стабилен при температуре хранения 0.5°C в отсутствие буферных систем либо при использовании разбавленного аммиачно-ацетатного буферного раствора. При комнатной температуре растворы реагента могут храниться не более двух суток.

Выбор оптимальных условий определения хлортетрациклина методом капиллярного зонного электрофореза. Значения констант ионизации функциональных групп в молекуле ХТЦ [12] свидетельствуют о том, что в водном растворе ХТЦ может существовать как в катионной (при рН < 3), так и в анионной форме (при рН > 7). Таким образом, для его электрофоретического определения может быть перспективным использование сильноокислых или щелочных ФЭ. В данной работе в

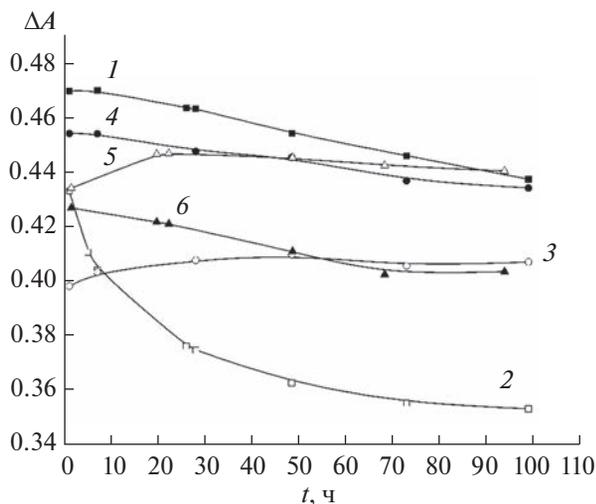


Рис. 2. Зависимость оптической плотности растворов хлортетрациклина с концентрацией 0.02 г/л (рН 4.0) от времени в аммиачно-ацетатной буферной системе с концентрацией ацетата 0.13 М (1, 2), 5×10^{-3} М (5, 6) и без буферной системы (3, 4) при температуре хранения 0.5°C (1, 3, 5) и 22°C (2, 4, 6).

качестве компонентов ФЭ исследовали фосфатный, ацетатный и аммиачно-ацетатный буферные растворы. В случае аммиачно-ацетатного буферного раствора ЭФГ не содержат четко выраженных пиков. Ацетатный буферный раствор позволяет поддерживать рН в ограниченном диапазоне (от 4 до 7), где ХТЦ находится в форме цвиттер-иона, что не способствует его определению методом КЗЭ. При использовании фосфатного буферного раствора пик ХТЦ на ЭФГ отчетливо регистрируется в широком интервале рН от 2 до 11. Кроме того, фосфатный буферный раствор практически не поглощает в УФ-области. Показана возможность электрофоретического определения ХТЦ в виде катиона при рН 2 с положительной полярностью источника напряжения, а также в виде двухзарядного аниона при рН 11 как с положительной, так и с отрицательной полярностью источника. Дальнейшие исследования проводили при рН 11 и положительном напряжении, поскольку в данных условиях высокая скорость электроосмотического потока обеспечивает быструю миграцию ХТЦ к детектору.

Имеются сведения о том, что добавление в состав ФЭ низкомолекулярных спиртов и ЭДТА улучшает разделение тетрациклинов [5]. Мы установили, что добавление в состав фосфатного ФЭ от 0.5 до 2.0 об. % изопропилового спирта не влияет на вид ЭФГ, а лишь увеличивает время миграции ХТЦ. Влияние концентрации ЭДТА на ЭФГ исследовали в диапазоне от 0.1 до 4.0 мМ. С увеличением содержания ЭДТА в ФЭ пик ХТЦ становится более симметричным и его разметка упрощается благодаря более ровной базовой линии. Такое влияние ЭДТА можно объяснить тем, что

реагент предотвращает нежелательные реакции комплексообразования ХТЦ с ионами металлов-примесей в реактивах. Для дальнейших измерений выбрали концентрацию ЭДТА, равную 4 мМ.

Увеличение концентрации фосфата в ФЭ от 0.001 до 0.04 М приводит к улучшению разрешения пиков на ЭФГ. Дальнейшее повышение концентрации фосфата нецелесообразно, так как оно приводит лишь к увеличению времени миграции ХТЦ.

Исследовали влияние количества гидродинамически введенной пробы на вид ЭФГ. Установили, что с увеличением давления и времени ввода пробы растет площадь пика ХТЦ и уменьшается время его миграции. В то же время при вводе более 500 мбар · с разрешение пиков значительно ухудшается, поэтому в дальнейшем ввод пробы осуществляли в течение 10 с при давлении 50 мбар.

С увеличением температуры термостатирования капилляра в диапазоне от 20 до 30°C время миграции ХТЦ незначительно уменьшается, при этом наилучшее разделение пиков наблюдается при 25°C.

Пример ЭФГ раствора ХТЦ, записанной в оптимизированных условиях, приведен на рис. 3.

Установили, что зависимости высоты, площади и приведенной площади пика ХТЦ от концентрации аналита являются линейными в диапазоне концентраций ХТЦ от 0.5 до 40 мг/л. Наибольшим значением коэффициента детерминации (0.9999) характеризуется градуировочный график в координатах высота пика—концентрация ХТЦ. Значения пределов обнаружения и определения ХТЦ составили 0.7 и 1.5 мг/л соответственно, что сопоставимо с данными [13].

Исследование сорбции ХТЦ промышленно выпускаемыми катионитами в статических условиях. Предварительные исследования сорбции ХТЦ катионитами КУ-1, КУ-2, КБ-4, КБ-4П2 показали, что при использовании раствора хлороводородной кислоты для создания необходимого значения рН в интервале 3.5–6.5 степень извлечения аналита составляет 50–82% (при извлечении ХТЦ из 25.0 мл раствора с концентрацией 0.04 г/л сорбентом массой 1.000 г) и слабо зависит от кислотности. Однако в этом случае достаточно сложно поддерживать постоянное значение рН, что затрудняет проведение эксперимента. При использовании аммиачно-ацетатного буферного раствора для поддержания нужного значения рН (общая концентрация ацетата 0.005 М) сорбция ХТЦ КБ-4 и КБ-4П2 значительно уменьшается: в диапазоне рН 3.0–5.0 она является незначительной и возрастает при рН 6.0 до 35–45%. Применение катионитов, содержащих в своем составе сульфогруппы, обеспечивает наибольшие значения степени извлечения ХТЦ в данных условиях: в диапазоне рН 3.0–6.0 степень извлечения практически не зависит от рН и составляет 70–85%.

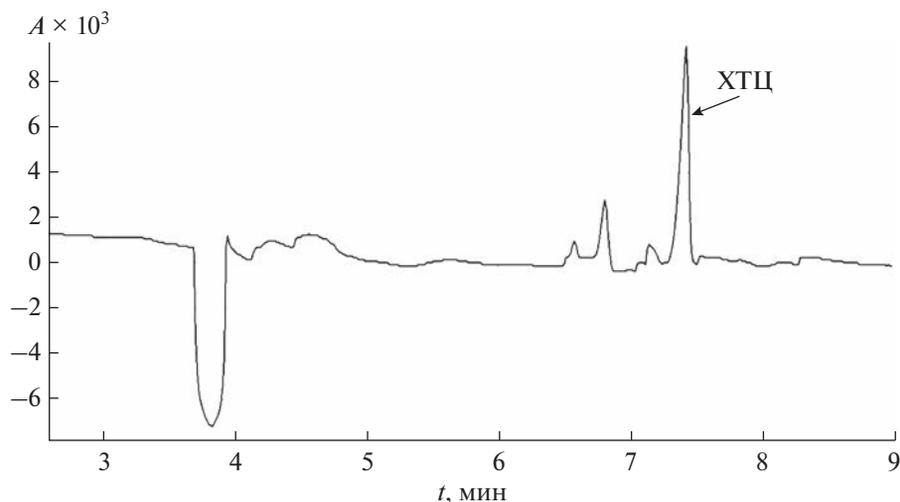


Рис. 3. Электрофореграмма водного раствора хлортетрациклина с концентрацией 0.04 г/л. Фоновый электролит – фосфатный буферный раствор с рН 11, общей концентрацией фосфата 0.04 и 0.004 М ЭДТА. Ввод пробы 500 мбар · с, напряжение +25 кВ, 25°C, длина волны детектирования 225 нм.

Для дальнейшего исследования сорбции ХТЦ при его определении методом КЗЭ в оптимизированных условиях выбрали катионит КУ-1. Зависимость степени извлечения ХТЦ от рН фосфатного буферного раствора при различных временах контакта фаз представлена на рис. 4. Как видно, сорбция ХТЦ КУ-1 уменьшается с ростом рН от 3 до 7. Наблюдаемая закономерность объясняется уменьшением степени протонирования функциональных групп ХТЦ с повышением рН раствора.

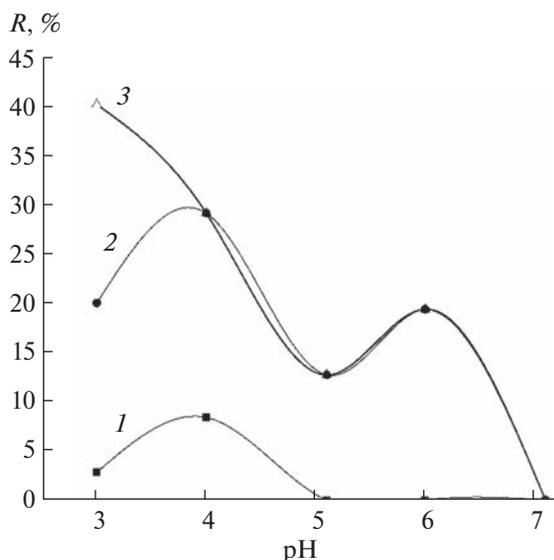


Рис. 4. Зависимость степени извлечения хлортетрациклина КУ-1 от рН при разных временах контакта фаз: 20 мин (1), 4 ч (2), 7 ч (3). Концентрация хлортетрациклина 0.01 г/л, объем раствора 25.0 мл, масса сорбента 0.100 г.

Кинетику сорбции ХТЦ КУ-1 исследовали при рН 2.0 и 3.0. Полученные зависимости представлены на рис. 5. Видно, что равновесие в исследуемой системе устанавливается в течение 10 ч контакта фаз. Степень извлечения ХТЦ в условиях эксперимента составляет 90%.

Таким образом, выбраны оптимальные условия определения ХТЦ методом КЗЭ (способ ввода пробы, состав фонового электролита, темпера-

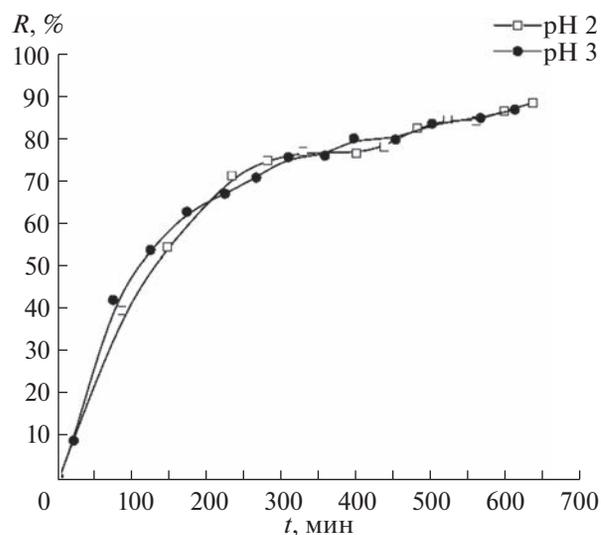


Рис. 5. Зависимость степени извлечения хлортетрациклина КУ-1 от времени контакта фаз. Концентрация хлортетрациклина 0.01 г/л, объем раствора 25.0 мл, масса навески сорбента 0.300 г.

тура и т.д.), обеспечивающие предел определения аналита 1.5 мг/л. Выбраны также условия хранения водных растворов ХТЦ (состав буферного раствора и температура), обеспечивающие их стабильность в течение как минимум двух суток. Определены значения рН аммиачно-ацетатного и фосфатного буферных растворов, при которых степень извлечения ХТЦ из растворов максимальна. Показано, что равновесие в системе раствор ХТЦ–КУ-1 при рН фосфатного буферного раствора 2 и 3 устанавливается в течение 10 ч контакта фаз. Степень извлечения ХТЦ в равновесных условиях составляет 90%. Таким образом, КУ-1 можно рекомендовать для разработки методики сорбционно-электрофоретического определения ХТЦ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Bilandzic N., Kolanović B.S., Varenina I., Scortichini G., Annunziata L., Brstilo M., Rudan N.* Veterinary drug residues determination in raw milk in Croatia // *Food Control*. 2011. V. 22. № 12. P. 1941. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.05.007>
2. *Nagel O.G., Molina M.P., Althaus R.L.* Optimization of bioassay for tetracycline detection in milk by means of chemometric techniques // *Lett. Appl. Microbiol.* 2011. V. 52. № 3. P. 245. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02990.x>
3. *Xu H., Mi H.-Y., Guan M.-M., Shan H.-Y., Fei Q., Huan Y.-F., Zhang Z.-Q., Feng G.-D.* Residue analysis of tetracyclines in milk by HPLC coupled with hollow fiber membranes-based dynamic liquid-liquid micro-extraction // *Food Chem.* 2017. V. 232. P. 198. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.021>
4. *Mu G., Liu H., Xu L., Tian L., Luan F.* Matrix solid-phase dispersion extraction and capillary electrophoresis determination of tetracycline residues in milk // *Food Anal. Methods*. 2012. V. 5. P. 148. <https://doi.org/10.1007/s12161-011-9225-1>
5. *Ibarra I.S., Rodriguez J.A., Miranda J.M., Vega M., Barrado E.* Magnetic solid phase extraction based on phenyl silica adsorbent for the determination of tetracyclines in milk samples by capillary electrophoresis // *J. Chromatogr. A*. 2011. V. 1218. № 16. P. 2196. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.046>
6. *García-Ruiz C., Crego A.L., Lavandera J.L., Marina M.L.* Rapid separation of tetracycline derivatives and their main degradation products by capillary zone electrophoresis // *Electrophoresis*. 2001. V. 22. № 13. P. 2775. [https://doi.org/10.1002/1522-2683\(200108\)22:13<2775::AID-ELPS2775>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/1522-2683(200108)22:13<2775::AID-ELPS2775>3.0.CO;2-2)
7. *Divya M.P., Rajput Y.S., Sharma R.* Synthesis and application of tetracycline imprinted polymer // *Anal. Lett.* 2010. V. 43. № 6. P. 919. <https://doi.org/10.1080/00032710903491039>
8. *Wang Y., Xu X.H., Han J., Yan Y.S.* Separation/enrichment of trace tetracycline antibiotics in water by [Bmim]BF₄–(NH₄)₂SO₄ aqueous two-phase solvent sublation // *Desalination*. 2011. V. 266. № 1–3. P. 114. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.08.010>
9. *Yakout A.A., El-Hady D.A.* A combination of β-cyclodextrin functionalized magnetic graphene oxide nanoparticles with β-cyclodextrin-based sensor for highly sensitive and selective voltametric determination of tetracycline and doxycycline in milk samples // *RSC Adv*. 2016. V. 6. № 48. P. 41675. <https://doi.org/10.1039/C6RA03787A>
10. *Удалова А.Ю.* Сорбционное концентрирование антибиотиков тетрациклиновой группы для их последующего определения. Дис. ... канд. хим. наук. М.: Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 2015. 153 с.
11. *Раменская Г.В.* Фармацевтическая химия. М.: Лаборатория знаний, 2021. 637 с.
12. *Daghrir R., Drogui P.* Tetracycline antibiotics in the environment: A review // *Environ. Chem. Lett.* 2013. V. 11. № 3. P. 209. <https://doi.org/10.1007/s10311-013-0404-8>
13. *Moreno-González D., Lupión-Enríquez I., García-Campaña A.M.* Trace determination of tetracyclines in water samples by capillary zone electrophoresis combining off-line and on-line sample preconcentration // *Electrophoresis*. 2016. V. 37. № 9. P. 1212. <https://doi.org/10.1002/elps.201500440>

УДК 543.25

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ СЕНСОР НА ОСНОВЕ УГЛЕРОДНОЙ ВУАЛИ, МОДИФИЦИРОВАННОЙ ГРАФЕНОМ И ФИТОСИНТЕЗИРОВАННЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДА КОБАЛЬТА, ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПИЩЕВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ ТАРТРАЗИНА (E102) И КРАСНОГО ОЧАРОВАТЕЛЬНОГО (E129)

© 2023 г. М. А. Бухаринова^а, Е. И. Хамзина^а, В. Ю. Колотыгина^а, Н. Ю. Стожко^а *

^аУральский государственный экономический университет
ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45, Екатеринбург, 620144 Россия

*e-mail: sny@usue.ru

Поступила в редакцию 19.04.2023 г.

После доработки 15.05.2023 г.

Принята к публикации 19.05.2023 г.

Предложен вольтамперометрический сенсор на основе углеродной вуали, модифицированной графеновыми нанопластинами и фитосинтезированными наночастицами оксида кобальта Co_3O_4 , для определения тартразина (E102) и красного очаровательного АС (E129). Использование композитного наномодификатора способствует увеличению и лучшему разделению токов окисления азокрасителей при их совместном присутствии. Процесс окисления азокрасителей является необратимым, двухэлектронным и имеет смешанную природу. Для сенсора характерен низкий предел обнаружения: 30 нМ для E102 и 27 нМ для E129, а в инверсионном режиме 16 и 3 нМ соответственно. Диапазон определяемых концентраций красителей составляет 0.1–15 мкМ. Сенсор успешно использован в анализе фруктовых желе и напитка. Достоинствами разработанного сенсора являются высокие метрологические и эксплуатационные характеристики, простота изготовления и низкая стоимость.

Ключевые слова: азокрасители, электрохимический сенсор, графен, оксидные наночастицы, фитосинтез, пищевые продукты.

DOI: 10.31857/S0044450223120022, **EDN:** EEEULI

Азокрасители – группа синтетических органических соединений, отличительной особенностью которых является наличие в молекулярной структуре хромофорной азогруппы ($-\text{N}=\text{N}-$). Более половины мирового производства красителей приходится на азокрасители [1], исходным сырьем для производства которых служит нефть. Азокрасители широко используются в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности. Благодаря своей стойкости к свету и изменениям pH, доступности и низкой стоимости синтетические красители более популярны, чем натуральные красители. Азокрасители могут вызывать аллергические реакции, астму, развитие онкологических заболеваний, проблемы с желудочно-кишечным трактом, повышенную возбудимость и гиперактивность у детей [2]. Потенциальная канцерогенность азокрасителей накладывает ограничения на их использование. Европейское агентство по безопасности пищевых продуктов (EFSA) установило допустимые суточные дозы для пищевых синтетических красителей, например для

тартразина (E102) – 7.5 мг/кг и красного очаровательного (E129) – 7 мг/кг массы тела [3, 4]. В соответствии с нормативами СанПиН 2.3.2.1293-03 “Гигиенические требования по применению пищевых добавок” [5] содержание красителей E102 и E129 в безалкогольных ароматизированных напитках, а также в твердых биологически активных добавках к пище не должно превышать 100 мг/кг, в кондитерских изделиях – 300 мг/кг.

Для придания более яркого, привлекательного и аппетитного вида в состав продуктов питания и напитков вводят несколько синтетических красителей, что обуславливает необходимость одновременного определения двух и более красителей. Наиболее часто в пищевых продуктах можно встретить пары: тартразин–солнечный закат и тартразин–красный очаровательный. Для контроля содержания азокрасителей используют различные методы, такие как хроматография (твердофазная, тонкослойная, высокоэффективная жидкостная), спектрофотометрия, капиллярный электрофорез. К недостаткам данных методов следует от-

нести длительность и высокую стоимость анализа, необходимость привлечения высококвалифицированного персонала, невозможность быстрого анализа “на месте”, а также ограничения и трудности одновременного определения нескольких красителей из-за перекрывания аналитических сигналов. Среди подходов к обнаружению азокрасителей электрохимические методы заслуживают особого внимания благодаря высокой чувствительности и избирательности, низкой стоимости и экспрессности анализа. Разделение сигналов красителей по потенциалам в разных вариантах метода вольтамперометрии делает этот метод селективным и востребованным в многокомпонентном анализе. Снизить пределы обнаружения красителей до 10^{-10} – 10^{-9} М позволяет метод инверсионной вольтамперометрии за счет концентрирования красителей на поверхности электрода [6–8].

При определении тартразина совместно с другими красителями используют электроды, модифицированные различными углеродными материалами: графитовой пудрой [9], углеродными нанотрубками [10], углеродной сажей [11], восстановленным оксидом графена [12]; наноматериалами: наностержнями MnO_2 [13], нанолитами WS_2 и наночастицами алмаза [14]. Насколько нам известно, существуют лишь несколько сенсоров для одновременного определения тартразина и красного очаровательного. К ним относятся сурьмяный пленочный электрод [15], угольный пастовый электрод, модифицированный комплексами кобальта [16], и стеклогуглеродный электрод, модифицированный композитом, включающем многостенные углеродные нанотрубки, ионную жидкость и оксид графена [6]. Несмотря на приемлемую чувствительность этих электродов, можно отметить недостаточную воспроизводимость сигналов [16], необходимость очистки и обновления рабочей поверхности через несколько измерений [15], а также сложность и ненадежность закрепления композита на гладкой электродной поверхности [6]. Для устранения этих недостатков необходимы новые сенсоры на основе современных материалов и “зеленых” технологий.

В качестве эффективной электродной платформы для прочного закрепления модификатора целесообразно использовать углеродную вуаль. В литературе встречаются и другие названия этого материала, а именно: углеродная бумага, углеволоконный материал. Углеродная вуаль представляет собой 3D материал, состоящий из коротких углеродных волокон, соединенных полимерным связующим. Этот материал имеет хорошую электропроводность, большую площадь поверхности, низкий остаточный ток и совместим с масштабируемой технологией горячего ламинирования, производящей планарные электроды [17]. В настоящее

время известны всего лишь несколько электрохимических сенсоров на основе модифицированной углеродной вуали для определения азокрасителей [9, 18], а углеволоконный сенсор для одновременного определения тартразина и красного очаровательного не описан в литературе.

Для улучшения электрического контакта между волокнами, увеличения площади активной поверхности, усиления адсорбционной способности углеродную вуаль модифицируют наноматериалами. Среди многообразия наноматериалов особое внимание привлекают двумерные углеродные наноматериалы и оксиды переходных металлов, в частности графен и оксид кобальта, которые отличаются химической стабильностью, уникальными электрическими и каталитическими свойствами. Благодаря мезопористой структуре с большим количеством активных центров наночастицы оксида кобальта имеют высокую адсорбционную способность и фотокаталитическую активность при деградации красителей [19, 20]. В последнее время для синтеза оксидных наночастиц все чаще стали использовать экологичный и дешевый “зеленый” синтез на основе растительных экстрактов вместо вредных органических реагентов и токсичных восстановителей. Фитохимические вещества, содержащиеся в растениях, выступают в роли стабилизаторов, редуцирующих и блокирующих агентов, препятствующих агрегации и способствующих стабилизации наночастиц [21]. Можно ожидать, что использование композита из электроактивных фитосинтезированных наночастиц оксида кобальта и наноразмерных листов графена обеспечит проявление синергетического и сенсibiliзирующего эффекта при определении азокрасителей.

Цель настоящего исследования – разработка высокочувствительного и селективного вольтамперометрического сенсора на основе углеродной вуали, модифицированной графеновыми наночастицами (Гр) и фитосинтезированными наночастицами оксида кобальта, для определения пищевых азокрасителей тартразина и красного очаровательного в пищевых продуктах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты и аппаратура. Графеновые нанопластины (Русграфен, Россия), ацетат кобальта (Реахим, Россия), гексацианоферрат калия (Реахим, Россия), тартразин ($\geq 85\%$, Merk, Германия), красный очаровательный АС (80%, Merk, Германия), гидрофосфат натрия (Вектон, Россия), дигидрофосфат калия (НеваРеактив, Россия), ацесульфам калия (Реаторг, Россия), циклама натрия (Foodchem, Китай), цитрат натрия (Реахим, Россия), лимонная кислота (Химреактивснаб, Россия), яблочная кислота (НеваРеактив, Россия), глюкоза (НеваРеактив, Россия), фруктоза (ЛенРеактив,

Россия). В качестве реальных объектов использовали пищевые продукты (фруктовое желе и напитки), приобретенные в магазине.

Методика эксперимента. Фитосинтез наночастиц оксида кобальта (Co_3O_4) осуществляли согласно методике, описанной в работе [22]. Водные дисперсии графеновых нанопластин получали ультразвуковым диспергированием в течение 15 мин. Аналогичным образом готовили суспензию наночастиц оксида кобальта с концентрацией 1 мг/мл. Водные дисперсии смеси графена и оксида кобальта готовили путем добавления к графеновым нанопластинам определенных объемов суспензии наночастиц оксида кобальта и дистиллированной воды до 5 мл. Полученную дисперсию обрабатывали ультразвуком в течение 15 мин. Электрод из углеродной вуали (УВЭ) ($S = 18 \text{ мм}^2$) модифицировали капельным способом, сушили под лампой до полного испарения воды, хранили при комнатной температуре.

Для электрохимических измерений использовали потенциостат/гальваностат $\mu\text{Autolab Type III}$ (Metrohm AG, Швейцария) и трехэлектродную ячейку. Немодифицированный и модифицированные УВЭ выполняли функцию рабочих электродов. В качестве электрода сравнения использовали хлоридсеребряный электрод (Metrohm AG, Швейцария) и углеродный стержень в качестве вспомогательного электрода. Использование электрохимического программного обеспечения NOVA 2.1.5 (Metrohm, Швейцария) позволило провести коррекцию базовой линии. Циклические, линейные и дифференциально-импульсные вольтамперограммы красителей регистрировали при скорости сканирования 50 мВ/с. pH фосфатного буферного раствора, используемого в качестве фонового электролита, контролировали с помощью pH/иономеров TA-Ion (Томьаналит, Россия).

Пищевые продукты анализировали без предварительных операций разделения. Фруктовое желе доводили до жидкого состояния на водяной бане при 60°C.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлены циклические вольтамперограммы электрохимического превращения красного очарователного (E129) и тартразина (E102), зарегистрированные с использованием немодифицированного и модифицированных электродов на основе углеродной вуали. Окисление красного очарователного и тартразина происходит при 0.856 и 1.037 В на УВЭ и при 0.816 и 1.057 В на Co_3O_4 -Гр/УВЭ соответственно. В результате модифицирования УВЭ величина сигналов красителей возросла практически в 3.5 раза, а разность потенциалов между пиками красителей увеличилась со 181 до 241 мВ, что обеспечивает лучшую

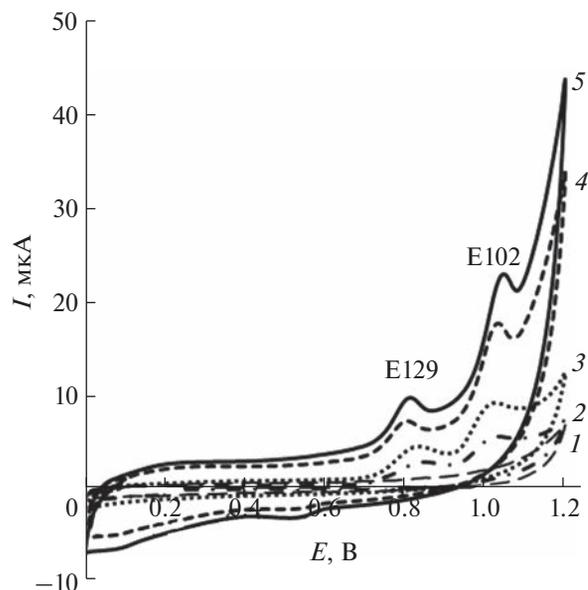


Рис. 1. Циклические вольтамперограммы, полученные с использованием УВЭ (1, 2), Co_3O_4 /УВЭ (3), Гр/УВЭ (4) и Co_3O_4 -Гр/УВЭ (5) в отсутствие красителей (1) и в присутствии 10 мкМ E102 и 5 мкМ E129 (2–5). Фон: фосфатный буферный раствор с pH 5, $\nu = 50 \text{ мВ/с}$.

разрешающую способность при их определении при совместном присутствии.

Влияние количества модификатора (графена и наночастиц оксида кобальта) на величину сигналов азокрасителей иллюстрирует рис. 2. Токи пиков (I_p) окисления красителей E102 и E129 возрастают плавно с увеличением массы графена на поверхности УВЭ. При 75 мкг графена на УВЭ токи окисления обоих красителей максимальны (рис. 2а). Как видно из рис. 2б, с увеличением массовой доли наночастиц оксида кобальта в композитном модификаторе ток окисления обоих красителей возрастает, а начиная со значения $\omega = 0.4 \text{ мас. \%}$, практически не изменяется. Далее для получения Co_3O_4 -Гр/УВЭ использовали композитный модификатор состава 75 мкг графеновых нанопластин и 0.3 мкг (0.4 мас. %) наночастиц Co_3O_4 .

Электронно-транспортные свойства немодифицированной и модифицированной разными способами углеродной вуали оценивали с использованием метода электрохимической импедансной спектроскопии. Диаграммы Найквиста для разных электродов представлены на рис. 3. Как видно из рисунка, сопротивление переносу электронов, соответствующее полукругу на диаграммах Найквиста, уменьшается в ряду электродов УВЭ > Co_3O_4 /УВЭ > Гр/УВЭ > Co_3O_4 -Гр/УВЭ. Положительное влияние нанокompозита на электронно-транспортные свойства углеродной вуали, по-видимому, обусловлено улучшением элект-

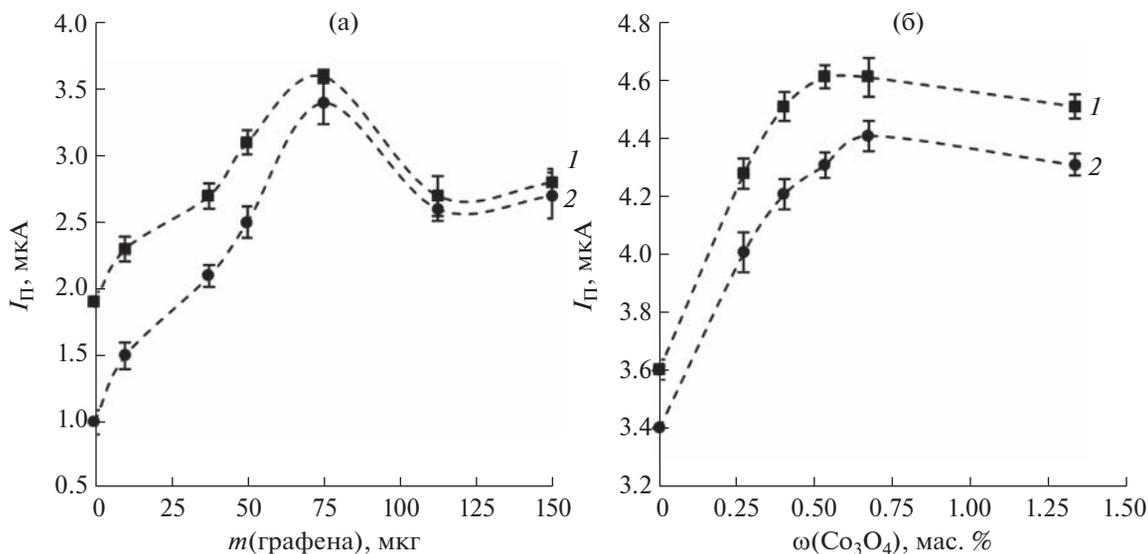


Рис. 2. Влияние количества графена и оксида кобальта в композитном модификаторе на сигнал 10 мкМ E102 (1) и 5 мкМ E129 (2).

трического контакта между углеродными волокнами, увеличением площади поверхности и количества поверхностно-активных групп, обеспечивающих быстрый перенос заряда.

Для оценки активной площади поверхности электродов получили циклические вольтамперограммы стандартного окислительно-восстановительного зонда 1.0 мМ гексацианоферрата железа(II) в 0.1 растворе М КСl (рис. 4а). Разность по-

тенциалов пиков составила 520 и 140 мВ для немодифицированного УВЭ и модифицированного Co_3O_4 -Гр/УВЭ, что свидетельствует о необратимом электроокислении $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Для оценки эффективной площади поверхности электродов применили хроноамперометрию. Используя величины наклонов графиков $I = f(t^{-1/2})$ (рис. 4б) и уравнение Коттрелла, рассчитали электроактивную площадь немодифицированного УВЭ и модифицированного Co_3O_4 -Гр/УВЭ. Для УВЭ она составляет 20.5 mm^2 , а для Co_3O_4 -Гр/УВЭ – 30.1 mm^2 , что в 1.5 раза больше, чем для УВЭ.

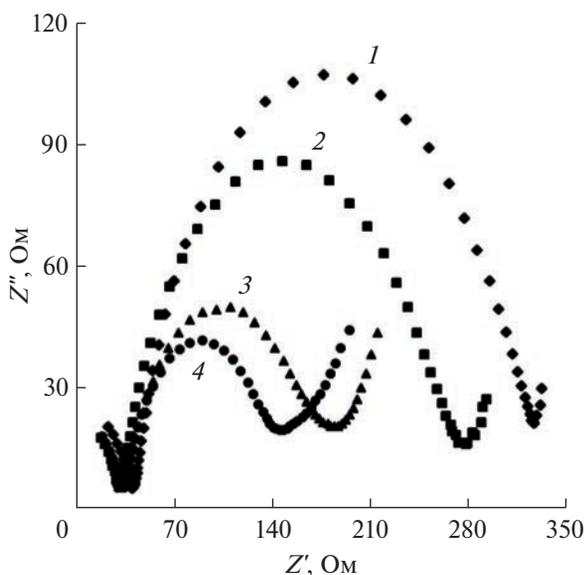


Рис. 3. Экспериментальные диаграммы Найквиста для разных электродов: УВЭ (1), Co_3O_4 /УВЭ (2), Гр/УВЭ (3), Co_3O_4 -Гр/УВЭ (4) в присутствии 5 мМ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ в 0.1 М КСl, $E = 0.2$ В.

Влияние кислотности фосфатного буферного раствора, используемого в качестве фонового электролита, на процесс электроокисления E102 и E129 изучали в диапазоне pH 4–8. Увеличение pH сопровождается смещением потенциалов пиков (E_p) тока окисления обоих красителей в катодную область (рис. 5а). Наклоны зависимостей $E_p = f(\text{pH})$ равны 0.055 и 0.054 В/pH для E102 и E129 соответственно. Полученные значения близки к теоретическому Нернстовскому наклону (0.059 В/pH) и свидетельствуют об участии одинакового количества протонов и электронов в реакции. Токи окисления азокрасителей увеличиваются при возрастании pH от 4 до 5 и достигают максимального значения при pH 5 (рис. 5б). Дальнейшее увеличение pH от 5 до 8 сопровождается снижением тока окисления красителей, поэтому все последующие исследования проводили при pH 5.

Для установления природы процесса электроокисления азокрасителей E102 и E129 изучали влияние скорости сканирования потенциала на

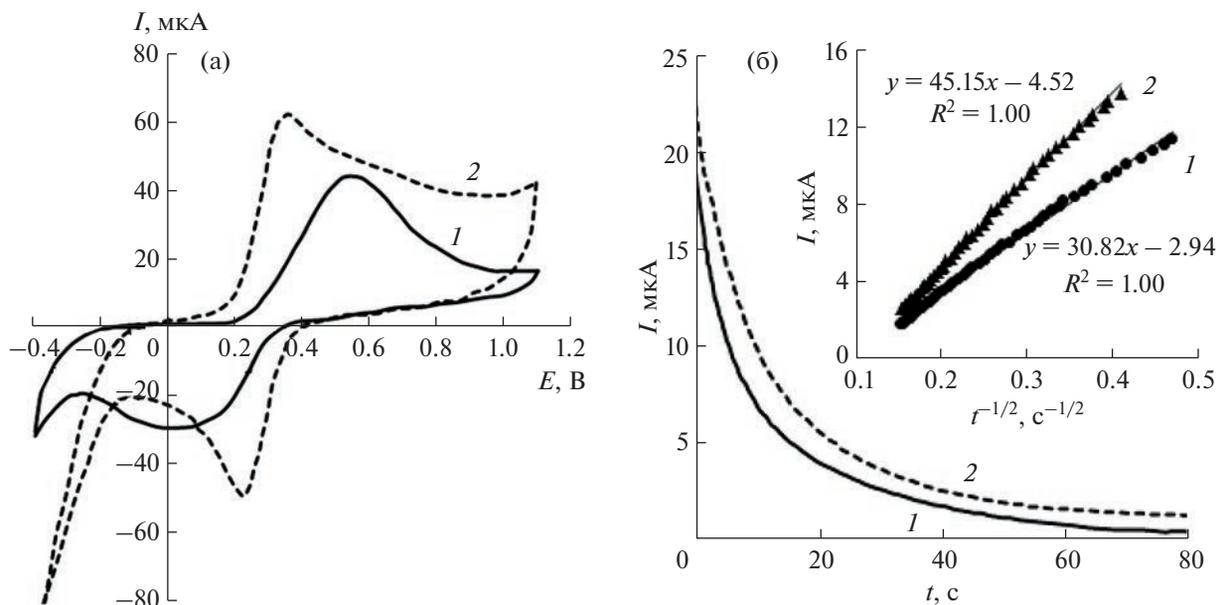


Рис. 4. Циклические вольтамперограммы 1.0 мМ $K_4[Fe(CN)_6]$ в 0.1 М KCl (а), хроноамперограммы 1.0 мМ $K_4[Fe(CN)_6]$ на немодифицированном УВЭ (1) и модифицированном Co_3O_4 -Гр/УВЭ (2). Вставка: зависимости $I = f(t^{-1/2})$, полученные из хроноамперометрических измерений (б).

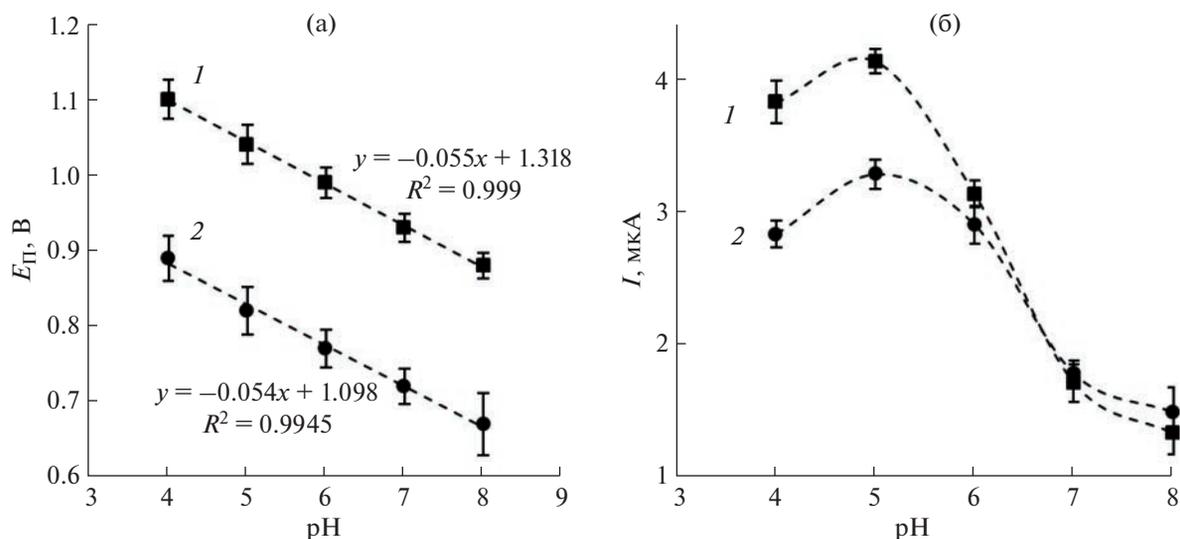


Рис. 5. Влияние pH фонового электролита на параметры сигналов электроокисления 10 мкМ E102 (1) и 5 мкМ E129 (2).

анодные токи красителей. На рис. 6 представлены анодные вольтамперограммы красителей, полученные при разной скорости сканирования потенциала от 25 до 300 мВ/с. Линейная зависимость токов окисления E102 и E129 от скорости развертки потенциала (уравнения (1) и (2)) свидетельствует об адсорбционно контролируемой природе электрохимического процесса:

$$I_p (\mu A) = 1.32 + 35.41v (\text{В/с}), \quad R^2 = 0.9731, \quad (1)$$

$$I_p (\mu A) = 0.65 + 36.42v (\text{В/с}), \quad R^2 = 0.9933. \quad (2)$$

Характер электродного процесса дополнительно оценивали с использованием критерия Семерано (наклон зависимости $\ln I_p = f(\ln v)$). Как известно, для чисто диффузионно-контролируемых процессов этот критерий равен 0.5, а для чисто адсорбционных – 1. В соответствии с уравнениями (3) и (4) значения критерия Семерано для процесса электроокисления E102 и E129 составляют 0.69 и 0.84 соответственно:

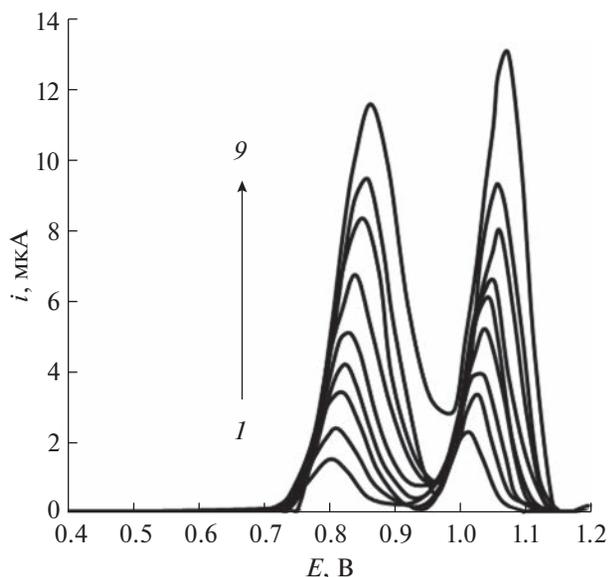


Рис. 6. Линейные вольтамперограммы 10 мкМ E102 и 5 мкМ E129 на Co₃O₄-Гр/УВЭ, зарегистрированные при различной скорости развертки потенциала: 1 – 25, 2 – 50, 3 – 75, 4 – 100, 5 – 125, 6 – 150, 7 – 200, 8 – 250, 9 – 300 мВ/с.

$$\ln I_{\text{п}} (\text{мкА}) = 0.69 \ln v (\text{В/с}) + 3.23, \quad R^2 = 0.9798, \quad (3)$$

$$\ln I_{\text{п}} (\text{мкА}) = 0.84 \ln v (\text{В/с}) + 1.49, \quad R^2 = 0.9942. \quad (4)$$

Полученные значения критерия Семерано являются промежуточными между 0.5 и 1, поэтому можно предположить, что электродный процесс имеет смешанную природу, причем в процессе окисления E129, по-видимому, превалирует адсорбция.

Наблюдается смещение потенциала окисления E102 и E129 в положительную область с возрастанием скорости развертки потенциала согласно уравнениям (5) и (6) соответственно:

$$E_{\text{п}} = 1.1057 + 0.0258 \ln v (\text{В/с}), \quad R^2 = 0.9815, \quad (5)$$

$$E_{\text{п}} = 0.8972 + 0.0282 \ln v (\text{В/с}), \quad R^2 = 0.9660, \quad (6)$$

что указывает на необратимый характер процесса.

Красители E102 и E129 определяли методом дифференциально-импульсной вольтамперометрии. В результате изучения влияния дифференциально-импульсных параметров на аналитические сигналы E102 и E129 в смеси (10 мкМ каждого красителя) установили, что значения амплитуды и длительности импульса в диапазоне 25–100 мВ (мс) практически не влияют на разделение сигналов красителей, а максимальный ток окисления E102 и E129 зарегистрировали при амплитуде импульса 75 мВ и длительности импульса 50 мс.

Вольтамперограммы E129 в различных концентрациях в присутствии 1 мкМ E102 с коррекцией базовой линии представлены на рис. 7. Зависимость величины пика тока окисления E129 от концентрации линейна в двух диапазонах 0.1–2.5 мкМ и 2.5–15 мкМ (рис. 7, вставка). Предел обнаружения, рассчитанный для первого диапазона, составил 27 нМ.

Вольтамперограммы E102 в различной концентрации в присутствии 1 мкМ E129 представлены на рис. 8. Зависимость величины пика тока окисления E102 от концентрации линейна в двух диапазонах 0.1–2.5 мкМ и 2.5–15 мкМ (рис. 8, вставка). Предел обнаружения, рассчитанный для первого диапазона, составил 30 нМ.

На рис. 9 представлены дифференциально-импульсные вольтамперограммы смеси E102 и E129 при одновременном изменении концентрации красителей. Токи пиков окисления красителей возрастают линейно при увеличении концентрации как E102, так и E129 в двух диапазонах 0.1–2.5 мкМ и 2.5–15 мкМ. Пределы обнаружения, рассчитанные для первого диапазона, составили 33 и 29 нМ для E102 и E129 соответственно. Как видно из табл. 1, чувствительность существенно не изменилась при одновременном варьировании концентрации красителей, что доказывает возможность их совместного определения.

Для снижения предела обнаружения часто используют вариант инверсионной вольтамперометрии. Установили, что накопление красителей на Co₃O₄-Гр/УВЭ в течение 180 с при +0.3 В позволяет снизить предел обнаружения до 3.3 нМ для E129 и до 16 нМ для E102, а так же повысить чув-

Таблица 1. Аналитические характеристики Co₃O₄-Гр/УВЭ при одновременном определении E102 и E129

Аналит	ЛД, мкМ	ПО, мкМ	Чувствительность, мкА/мкМ
E102 при $c(\text{E129}) = \text{const}$	0.1–2.5,	0.030	2.37
E129 при $c(\text{E102}) = \text{const}$	2.5–15		
E102 одноврем.		0.033	2.37
E129 одноврем.		0.029	2.87

Используемые сокращения: ЛД – линейный диапазон, ПО – предел обнаружения.

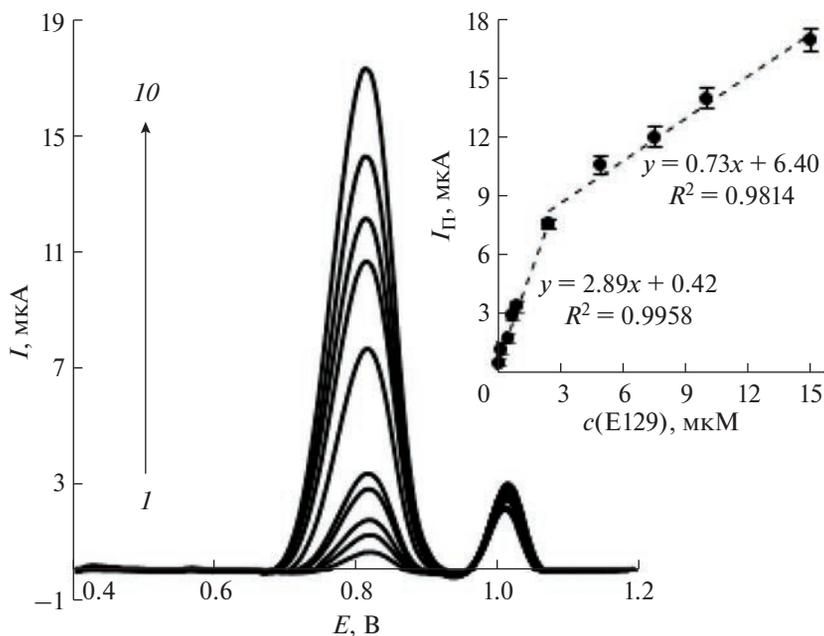


Рис. 7. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы E129 в различной концентрации (1 – 0.1, 2 – 0.25, 3 – 0.5, 4 – 0.75, 5 – 1.0, 6 – 2.5, 7 – 5.0, 8 – 7.5, 9 – 10, 10 – 15 мкМ) в присутствии 1 мкМ E102 на Co_3O_4 -Гр/УВЭ. Фон – фосфатный буферный раствор с pH 5, $\nu = 50$ мВ/с. Вставка: линейная зависимость $I_p = f(c(\text{E129}))$.

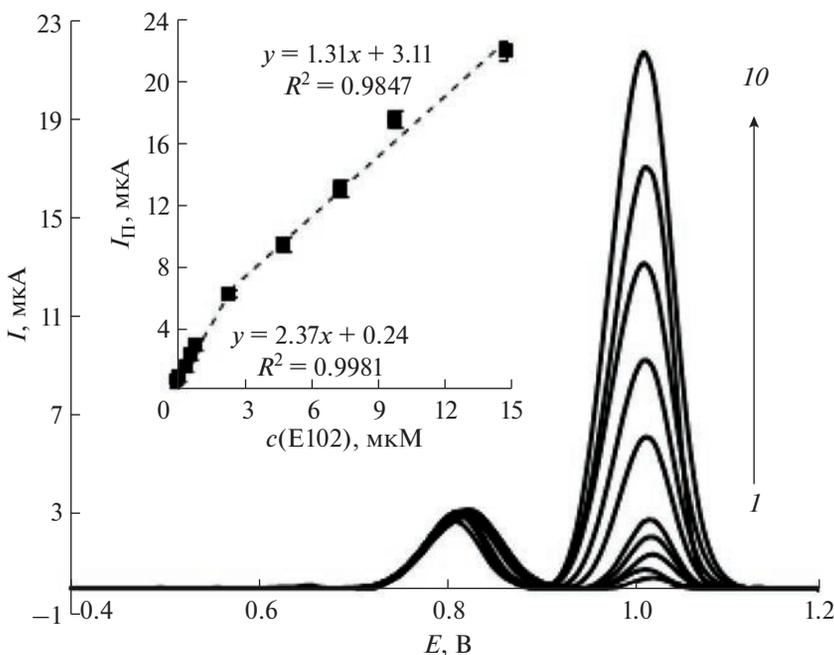


Рис. 8. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы E102 в различной концентрации (1 – 0.1, 2 – 0.25, 3 – 0.5, 4 – 0.75, 5 – 1.0, 6 – 2.5, 7 – 5.0, 8 – 7.5, 9 – 10, 10 – 15 мкМ) в присутствии 1 мкМ E129 на Co_3O_4 -Гр/УВЭ. Фон – фосфатный буферный раствор с pH 5, $\nu = 50$ мВ/с. Вставка: линейная зависимость $I_p = f(c(\text{E102}))$.

ствительность до 29.6 мкА/мкМ для E129 и до 6.2 мкА/мкМ для E102.

В табл. 2 приведены аналитические характеристики сенсоров для одновременного определения

E102 и E129. Сравнительный анализ показывает, что аналитические характеристики Co_3O_4 -Гр/УВЭ лучше других сенсоров. Разработанный сенсор характеризуется удовлетворительной повторяемо-

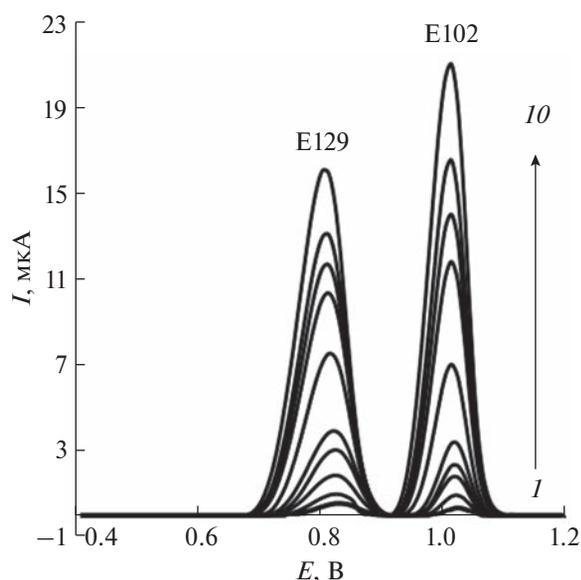


Рис. 9. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы E102 и E129 в различных концентрациях при совместном присутствии (1 – 0.1, 2 – 0.25, 3 – 0.5, 4 – 0.75, 5 – 1.0, 6 – 2.5, 7 – 5.0, 8 – 7.5, 9 – 10, 10 – 15 мкМ) на $\text{Co}_3\text{O}_4\text{-Гр/УВЭ}$. Фон – фосфатный буферный раствор с pH 5, $\nu = 50$ мВ/с.

стью ($s_r < 3.5\%$, $n = 10$) и межэлектродной воспроизводимостью ($s_r < 6.8\%$, $n = 10$) при регистрации дифференциально-импульсных вольтамперограмм в присутствии 10 мкМ E102 и 5 мкМ E129.

Мешающее влияние различных веществ, входящих в состав исследуемых фруктовых напитков и желе, оценивали по изменению аналитических сигналов 10 мкМ E102 и 5 мкМ E129, регистрируемых с помощью $\text{Co}_3\text{O}_4\text{-Гр/УВЭ}$. Установили, что 400-кратный избыток цикламата натрия, 600-кратный избыток ацесульфамата калия, 800-кратный избыток цитрата натрия, 900-кратный избыток яблочной кислоты и 1000-кратные избытки лимонной кислоты, фруктозы и глюкозы не мешают определению E102 и E129 при совместном присутствии.

Разработанный сенсор апробировали на образцах фруктового напитка и желе. Результаты определения красителей E102 и E129 представлены в табл. 3. Согласно полученным данным, содержание E102 и E129 в образцах не превышает 23 и 63 мкМ соответственно. Эти значения значительно ниже максимально допустимых уровней, рекомендованных объединенным комитетом экспертов FAO/WHO по пищевым добавкам. Результаты, полученные при анализе реальных образцов, продемонстрировали хорошую воспроизводимость ($s_r \leq 0.06$) и правильность ($R = 100\text{--}104\%$). Предложенный сенсор $\text{Co}_3\text{O}_4\text{-Гр/УВЭ}$ проявляет высокую чувствительность и обладает хорошей разрешающей способностью при совместном определении E102 и E129.

Авторы выражают благодарность ассистенту научно-образовательного и инновационного центра химико-фармацевтических технологий Уральского

Таблица 2. Сенсоры, разработанные для определения E102 и E129 при совместном присутствии

Сенсор	ПО, мкМ		ЛД, мкМ		Метод, условия	Образец	Ссылка
	E102	E129	E102	E129			
Co_C/CPE	0.3	0.08	0.4–2.6	0.4–2.0	КВВ без концентрирования	Образцы желатинового порошка разных вкусов	[15]
SbFE	0.3	0.3	1.0–5.0	1.0–5.0	ДИВ без концентрирования	Изотонический напиток, конфеты, желатиновый порошок	[14]
IL/GO/MWCNT/GCE	0.01	0.003	0.02–0.13	0.005–0.45	КВИВ $t_{\text{конц}} = 240$ с, разомкнутая цепь	Алкогольные напитки	[7]
$\text{Co}_3\text{O}_4\text{-Гр/УВЭ}$	0.030	0.027	0.1–2.5, 2.5–15	0.1–2.5, 2.5–15	ДИВ без концентрирования	Фруктовое желе, фруктовый напиток	Данная работа
	0.016	0.003	0.05–0.15	0.01–0.15	ДИВ $t_{\text{конц}} = 120$ с $E_{\text{конц}} = +0.3$ В		

Используемые сокращения: ЛД – линейный диапазон, ПО – предел обнаружения, SbFE – сурьмяный пленочный электрод, IL – ионная жидкость, GO – оксид графена, MWCNT – многостенные углеродные нанотрубки, GCE – стеклоуглеродный электрод, Co_C – комплекс кобальта, CPE – угольно-пастовый электрод, ДИВ – дифференциально-импульсная вольтамперометрия, КВИВ – квадратно-волновая инверсионная вольтамперометрия, $t_{\text{конц}}$ – время концентрирования, $E_{\text{конц}}$ – потенциал концентрирования.

Таблица 3. Результаты определения E102 и E129 в реальных образцах ($n = 5$, $P = 0.95$)

Образец	Краситель	Введено, мкМ	Найдено, мкМ	S_f	R, %
Фруктовое желе “Манго”	E102	–	24 ± 6	0.02	–
		20	45 ± 1	0.05	103
		48	74 ± 4	0.04	103
	E129	–	63 ± 2	0.01	–
		20	84 ± 1	0.04	101
		126	189 ± 9	0.06	100
Фруктовое желе “Ананас”	E102	–	23 ± 1	0.01	–
		23	46 ± 2	0.01	100
		50	75 ± 4	0.03	104
Фруктовый напиток	E129	–	25 ± 2	0.01	–
		25	50 ± 2	0.01	100
		50	75 ± 5	0.04	100

федерального университета М.В. Медведевой за помощь в проведении импедиметрических измерений.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-23-00353, <https://rscf.ru/project/23-23-00353/>.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Karimi-Maleh H., Beitollahi H., Senthil Kumar P., Tajik S., Jahani P.M., Karimi F., Karaman C., Vasseghian Y., Baghayeri M., Rouhi J., Show P.-L., Rajendran S., Fu L., Zare N. Recent advances in carbon nanomaterials-based electrochemical sensors for food azo dyes detection // Food Chem. Toxicol. 2022. V. 164. Article 112961.
- John A., Yang H.-H., Muhammad S., Khan Z.I., Yu H., Luqman M., Tofail M., Hussain M.I., Awan M.U.F. Cross talk between synthetic food colors (azo dyes), oral flora, and cardiovascular disorders // Appl. Sci. 2022. V. 12. Article 7084.
- Scientific opinion on the re-evaluation Tartrazine (E 102) // EFSA J. 2009. V. 7. № 11. Article 1331.
- European food safety authority, refined exposure assessment for Allura Red AC (E 129) // EFSA J. 2015. V. 13. Article 4007.
- СанПиН 2.3.2.1293-03 Гигиенические требования по применению пищевых добавок. М.: Минздрав России, 2003. 416 с.
- Wang M., Zhao J. Facile synthesis of Au supported on ionic liquid functionalized reduced graphene oxide for simultaneous determination of Sunset yellow and Tartrazine in drinks // Sens. Actuators B. 2015. V. 216. P. 578.
- Zhang Y., Hu L., Liu X., Liu B., Wu K. Highly-sensitive and rapid detection of ponceau 4R and tartrazine in drinks using alumina microfibers-based electrochemical sensor // Food Chem. 2015. V. 166. P. 352.
- Wang M., Zhao J. A facile method used for simultaneous determination of Ponceau 4R, Allura Red and Tartrazine in alcoholic beverages // J. Electrochem. Soc. 2015. V. 162. № 6. P. H321.
- Stozhko N.Yu., Khamzina E.I., Bukharinova M.A., Tarasov A.V. An electrochemical sensor based on carbon paper modified by graphite powder for sensitive determination of Sunset Yellow and Tartrazine in drinks // Sensors. 2022. V. 22. № 11. Article 4092.
- Ziyatdinova G., Titova M., Davletshin R. Electropolymerized 4-aminobenzoic acid based voltammetric sensor for the simultaneous determination of food azo dyes // Polymers. 2022. V. 14. № 24. Article 5429.
- Lipskikh O.I., Korotkova E.I., Barek J., Vyskocil V., Saqib M., Khristunova E.P. Simultaneous voltammetric determination of Brilliant Blue FCF and Tartrazine for food quality control // Talanta. 2020. V. 218. Article 121136.
- Wu J.-H., Lee H.-L. Determination of sunset yellow and tartrazine in drinks using screen-printed carbon electrodes modified with reduced graphene oxide and NiBTC frameworks // Microchem. J. 2020. V. 158. Article 105133.
- Gimadutdinova L., Ziyatdinova G., Davletshin R. Selective voltammetric sensor for the simultaneous quantification of Tartrazine and Brilliant Blue FCF // Sensors. 2023. V. 23. № 3. Article 1094.
- Blanco E., Arias L., Vázquez L., del Pozo M., Sanchez L., Petit-Dominguez M.D., Quintana C., Casero E. Sensor based on diamond nanoparticles and WS₂ for ponceau 4R and tartrazine determination: Influence of green solvents employed for WS₂ exfoliation // FlatChem. 2020. V. 23. Article 100185.
- Rodríguez J.A., Juárez M.G., Galán-Vidal C.A., Miranda J.M., Barrado E. Determination of Allura Red and Tartrazine in food samples by sequential injection analysis combined with voltammetric detection at antimony film electrode // Electroanalysis. 2015. V. 27. № 10. P. 2329.
- Penagos-Llanos J., García-Beltrán O., Calderón J.A., Hurtado-Murillo J.J., Nagles E., Hurtado J.J. Simultaneous determination of tartrazine, sunset yellow and allura red in foods using a new cobalt-decorated carbon paste electrode // J. Electroanal. Chem. 2019. V. 852. Article 113517.
- Brainina K.Z., Bukharinova M.A., Stozhko N.Y., Sokolov S.V., Tarasov A.V., Vidrevich M.B. Electro-

- chemical sensor based on a carbon veil modified by phytosynthesized gold nanoparticles for determination of ascorbic acid // *Sensors*. 2020. V. 20. № 6. Article 1800.
18. *Stozhko N.Y., Khamzina E.I., Bukharinova M.A.* Carbon paper modified with functionalized poly(diallyldimethylammonium chloride) graphene and gold phytonanoparticles as a promising sensing material: Characterization and electroanalysis of Ponceau 4R in food samples // *Nanomaterials*. 2022. V. 12. № 23. Article 4197.
19. *Vinayagam R., Hebbar A., Senthil Kumar P., Rangasamy G., Varadavenkatesan T., Murugesan G., Srivastava S., Concepta Goveas L., Manoj Kumar N., Selvaraj R.* Green synthesized cobalt oxide nanoparticles with photocatalytic activity towards dye removal // *Environ. Res.* 2023. V. 216. Article 114766.
20. *Vijayalakshmi S., Sharmila Lydia I., Vasudevan D.* Photocatalytic oxidation using cobalt oxide nanoparticles for dye removal // *Indian J. Adv. Chem. Sci.* 2019. V. 7. № 4. P. 122.
21. *Anuradha C.T., Raji P.* Effect of annealing temperature on antibacterial, antifungal and structural properties of bio-synthesized Co_3O_4 nanoparticles using *Hibiscus Rosa-sinensis* // *Mater. Res.* 2019. V. 6. № 9. Article 095063.
22. *Memon S.A., Hassan D., Buledi J.A., Solangi A.R., Memon S.Q., Palabiyik I.M.* Plant material protected cobalt oxide nanoparticles: Sensitive electro-catalyst for Tramadol detection // *Microchem. J.* 2020. V. 159. Article 105480.

УДК 543.552

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАТРИЕВОЙ СОЛИ 7-ЭТИЛТИО-3-НИТРО-1,2,4-ТРИАЗОЛО[5,1-*c*]-1,2,4-ТРИАЗИН-4-ОНА ДИГИДРАТА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

© 2023 г. П. Н. Можаровская^{а, *}, А. В. Ивойлова^а, Т. В. Демьянович (Селянина)^а, И. А. Балин^а, Н. А. Малахова^а, А. В. Иванова^а, А. Н. Козицина^а, А. И. Матерн^а, В. Л. Русинов^{а, б}

^аУральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина
Мира ул., 19, Екатеринбург, 620002 Россия

^бИнститут органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук
Софьи Ковалевской ул., 22, Екатеринбург, 620137 Россия

*e-mail: pntozharovskaia@urfu.ru

Поступила в редакцию 10.05.2023 г.

После доработки 19.06.2023 г.

Принята к публикации 27.06.2023 г.

Натриевая соль 7-этилтио-3-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазин-4-она дигидрата (**1**) относится к числу перспективных противовирусных соединений, проявивших выраженную биологическую активность в отношении вируса гриппа подтипа H5N1, Западного Нила и ТОРС (тяжелый острый респираторный синдром). С помощью метода циклической вольтамперометрии показано, что электрохимическая активность соединения **1** в буферном растворе Бриттона–Робинсона (ББР) с рН 2.0 на стеклоуглеродном электроде обусловлена электровосстановлением нитрогруппы, сопряженной с гетероциклической системой. Разработан способ определения соединения **1** методом прямой катодной квадратно-волновой вольтамперометрии. Область линейности градуировочного графика в растворе ББР с рН 7.0 составляет 10–300 мг/л ($R^2 = 0.999$), предел обнаружения – 1.5 мг/л, предел количественного определения – 4.5 мг/л. Правильность разработанной методики близка к 100%, относительное стандартное отклонение составило 3.6%.

Ключевые слова: количественный анализ вещества, квадратно-волновая вольтамерометрия, азолазины, нитрогруппа, стеклоуглеродный электрод, противовирусный препарат.

DOI: 10.31857/S0044450223120125, EDN: EITUWD

Пандемия коронавируса во всем мире наглядно показала постоянную изменчивость вирусов и невысокую эффективность существующих лекарственных средств по отношению к ним. Существует острая необходимость в создании новых, оригинальных лекарственных средств, обладающих более высокой биологической активностью по сравнению с имеющимися.

В настоящее время образовалась определенная фармакологическая ниша препаратов на основе нитросоединений, обладающих широким спектром биологической активности, начиная от противомикробной и заканчивая противоопухолевой. В частности, большое внимание привлекают нитросоединения ароматической и гетероциклической природы, так как они широко используются во всем мире в качестве противовирусных, противопаразитарных и радиосенсибилизирующих средств [1].

В медицинской химии растет интерес к классу азолазинов, поскольку показано, что соединения данного класса обладают биологической активностью, что, вероятно, обусловлено их сходством с нуклеиновыми основаниями [2].

Сотрудниками УрФУ и ИОС УрО РАН разработаны нитросодержащие азолазиниевые соединения. К ним относится зарегистрированный на территории РФ противовирусный препарат – Триазавирин®, который успешно применяется при лечении гриппа, ОРВИ, клещевого энцефалита. Препарат оказался эффективным и по отношению к возникшим новым штаммам вируса из семейства коронавирусов [3–5]. Натриевая соль 7-этилтио-3-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазин-4-она дигидрата (соединение **1**) является структурным аналогом Триазавирин® и обладает биологической активностью в отношении вируса гриппа подтипа H5N1, Западного Нила, в отношении вируса ТОРС (тяжелый острый респираторный синдром).

раторный синдром) [6]. В настоящее время данный препарат находится на этапе доклинических испытаний, контроль качества данного вещества необходим при его производстве. Следует отметить, что способы определения исследуемого нового синтезированного соединения **1** не описаны, поэтому разработка методики его определения является актуальной задачей.

Наличие электроактивной нитрогруппы в молекуле соединения **1** позволяет использовать электрохимические методы анализа для создания методик его определения. Один из информативных электрохимических методов анализа – вольтамперометрия, которая не уступает по чувствительности и селективности методу высокоэффективной жидкостной хроматографии в случае простых матриц, к которым можно отнести лекарственные средства. К преимуществам вольтамперометрии можно также отнести использование нетоксичных растворителей при определении водорастворимых соединений, экспрессность и простоту метода [7].

Электропревращения соединений нитроароматического ряда достаточно широко описаны в литературе [8, 9]. Однако соединения нитрогетероциклического ряда представлены слабо, и, как показывают многие авторы [10–12], на аналитический сигнал восстановления нитрогруппы зна-

чительное влияние оказывают не только pH среды и наличие растворенного кислорода, но и положение заместителей в молекуле вещества. В связи с этим для каждого вещества с оригинальными молекулами требуется индивидуальный подход при создании способа определения.

Цель данной работы – разработка методики определения потенциального лекарственного вещества – натриевой соли 7-этилтио-3-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-4-она дигидрата – методом вольтамперометрии с использованием стеклоуглеродного электрода.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы и образцы. Натриевую соль 7-этилтио-3-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-4-она дигидрата (**1**); натриевую соль 3-нитро-4-оксо-7-метилсульфанил-1,2,4-триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин дигидрата (**2**); 3-нитро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин-4(1H)-он (**3**); 3-бromo-4-оксо-1,2,4-триазоло[1,2,4]триазин (**4**) синтезировали сотрудники кафедры органической и бимолекулярной химии УрФУ (схема 1). Структуру соединений подтверждали методами ЯМР-, ИК- и УФ-спектроскопии и элементного анализа [13, 14].

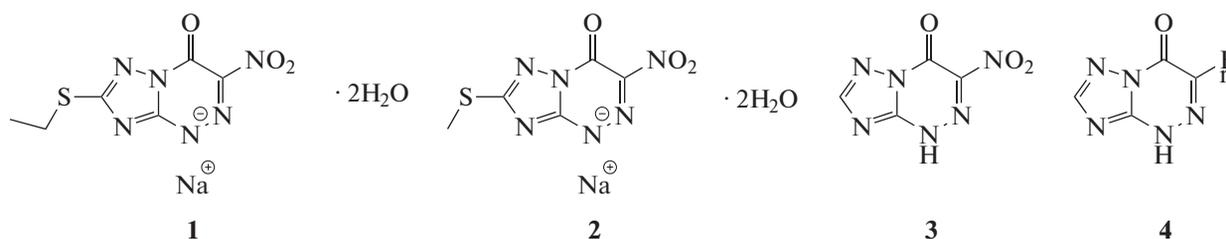


Схема 1. Структурные формулы соединений **1–4**.

Для исследования процессов электровосстановления веществ использовали водные буферные растворы Бриттона–Робинсона (ББР), которые готовили согласно рекомендациям [15]. Использовали кислоты и соли х. ч. (Химреактивснаб, Россия) без дополнительной очистки. Для приготовления растворов использовали деионизованную воду, полученную на установке ДВС-М/1НА(18)-N (Медиана фильтр, Россия). Рабочий раствор с концентрацией 5 г/л готовили растворением навески ($m = 0.005$ г) в 1 мл ББР с pH 7.0 в пробирке Эппендорфа и хранили в темноте при комнатной температуре.

Электрохимические приборы. Для регистрации циклических вольтамперограмм (ЦВА) и вольтамперограмм (ВА) использовали потенциостат/гальваностат μ Autolab Type III (Metrohm, Швейцария). Рабочим электрод служил стеклоуглеродный диск

(Metrohm, Швейцария) ($S = 0.07$ см² для регистрации ЦВА и $S = 0.0314$ см² для регистрации ВА в различных режимах). Для полировки поверхности стеклоуглеродного электрода (СУЭ) применяли набор kit 62802010 (Metrohm, Швейцария), включающий оксид алюминия с дисперсностью частиц 0.3 мкм и тканевую подложку. В качестве вспомогательного электрода использовали стержень из стеклоуглерода (Metrohm, Швейцария). Хлорид-серебряный электрод Ag/AgCl/KCl_{sat} (Metrohm, Швейцария) служил электродом сравнения.

Методика эксперимента. Перед анализом поверхность индикаторного СУЭ полировали с помощью суспензии оксида алюминия. Перед регистрацией ВА удаляли растворенный кислород двумя способами: или физически – продуванием инертным газом аргоном, или химически – добавлением в ячейку с фоновым электролитом

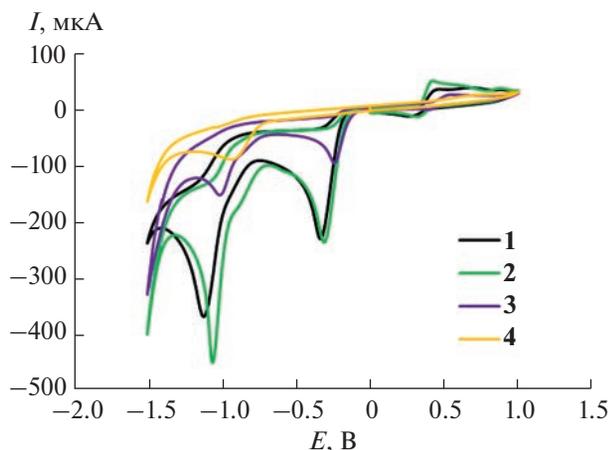


Рис. 1. Циклические вольтамперограммы 5 мМ соединений 1–4, зарегистрированные на стеклоуглеродном электроде ($S = 7.065 \text{ мм}^2$) в растворе Бриттона–Робинсона с рН 2.0 при скорости сканирования 0.1 В/с.

объемом 10 мл 0.4 мл 1 М раствора Na_2SO_3 [16, 17]. Затем опускали электроды в раствор и регистрировали ВА. Параметры регистрации ВА в дифференциально-импульсном режиме (ДИП): амплитуда 0.04 В, скорость 0.1 В/с, шаг 0.005 В; в квадратно-волновом (КВВ) режиме: частота 35 Гц, амплитуда 0.05 В, скорость 0.1 В/с. После регистрации каждой ВА СУЭ выдерживали в течение 3 мин при потенциале 0.0 В.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Электрохимическое поведение соединений 1–4. Методом циклической вольтамперометрии в ББР при рН 2 на СУЭ исследовали электрохимическое поведение соединений 1–4 (рис. 1). Как видно, соединения 1–3, содержащие в своей структуре нитрогруппы, дают два последовательных пика восстановления. Первый пик находится в диа-

пазоне потенциалов от -0.2 до -0.3 В, второй – от -1.0 до -1.1 В. При этом соединение 4, содержащее в своей структуре атом брома вместо нитрогруппы, дает один пик восстановления в диапазоне от -0.8 до -1.2 В. Таким образом, можно предположить, что пики восстановления исследуемого соединения 1 обусловлены восстановлением нитрогруппы.

Влияние рН растворов на ток и потенциал восстановления соединения 1 исследовали в диапазоне рН от 2 до 11. С увеличением рН раствора от 2 до 8 уменьшается величина тока пика восстановления нитрогруппы соединения 1 (рис. 2а), а значения потенциалов пиков сдвигаются в катодную область (рис. 2б). Известно [18], что реакция восстановления нитрогруппы сопровождается предшествующей протонизацией. С ростом рН раствора, вероятно, скорость процесса восстановления замедляется и присоединение протонов и электронов происходит труднее. В щелочной среде в диапазоне рН от 8 до 11 кислотность среды на величину тока и потенциала не влияет – ток и потенциал восстановления стабилизируются.

Стоит отметить, что растворенный кислород не влияет на величину тока восстановления соединения 1, но существенно ухудшает его повторяемость для контрольных точек при рН 2.0 и 7.0. Так, величина тока без продувки при рН 2.0 имеет значения (109.1 ± 6.4) мкА, а при рН 7.0 (72.7 ± 3.6) мкА. В случае физического удаления кислорода величина тока при рН 2.0 составляет (114.1 ± 1.8) мкА, 7.0 – (72.7 ± 2.0) мкА. Стандартные отклонения в отсутствие продувки составляют при рН 2.0 5.3%, рН 7.0 – 7.4%, а с продувкой 1.8 и 1.5% соответственно. Данные результаты показывают необходимость использования процедуры удаления кислорода.

Удаление кислорода не оказывает значительного влияния на значения потенциала пика вос-

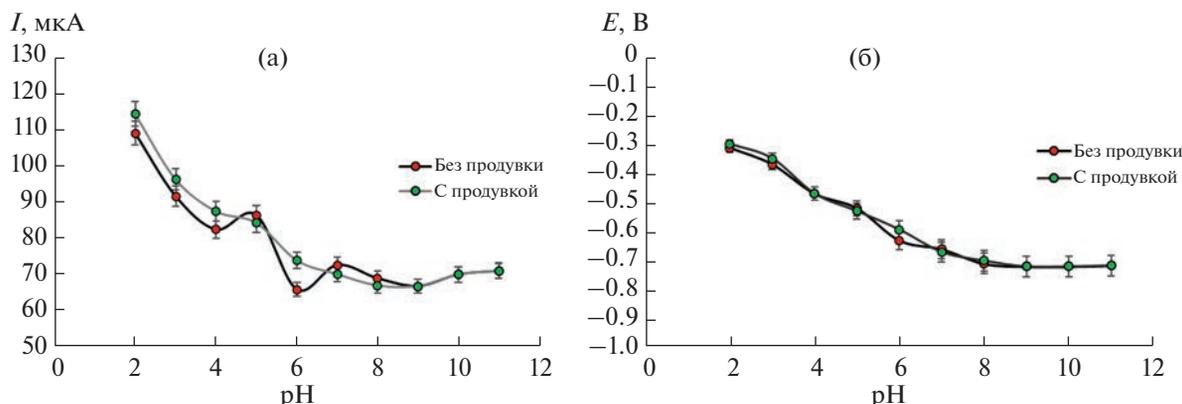


Рис. 2. Зависимость величины тока первого пика восстановления (а) и значения его потенциала (б) от рН среды для 5 мМ соединения 1. Вольтамперограммы регистрировали в линейном режиме со скоростью сканирования 0.10 В/с.

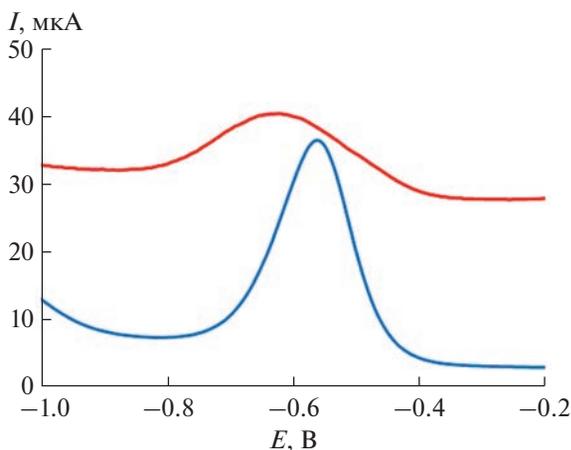


Рис. 3. Катодные вольтамперограммы соединения **1** ($c = 250$ мг/л), зарегистрированные на стеклоуглеродном электроде ($S = 3.14$ мм²) в буферном растворе Бриттона–Робинсона с рН 7.0 с химическим удалением кислорода. Красная линия – дифференциально-импульсный режим (амплитуда 0.04 В, шаг 0.005 В), синяя линия – квадратно-волновой режим (частота 35 Гц, амплитуда 0.05 В). Скорость скорости сканирования в обоих случаях 0.1 В/с.

становления исследуемого вещества, что видно из рис. 2б.

С целью экономии времени на производстве при выполнении количественного контроля лекарственного средства предложена процедура удаления кислорода посредством добавления раствора сульфита натрия при рН 7.0. Данный способ использовали авторы работ [16, 17] при определении соединения из ряда нитроазолоазинов – 5-метил-6-нитро-7-оксо-4,7-дигидро-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидинида моногидрата L-аргинина, являющегося потенциальным противовирусным препаратом и структурным аналогом Триазавирина®.

Степень близости результатов и чувствительность аналитического сигнала (как тока восстановления, так и площади под пиком) при использовании химического способа удаления кислорода выше, чем в случае дорогостоящего инертного газа, внедрение конструкции для продувания которого в электрохимическую ячейку представляет некоторые трудности. При сравнении уравнений регрессии зависимости тока от концентрации с использованием химического способа ($I = -7.50c + 122.09$, $R^2 = 0.9292$) и физического ($I = -6.25c + 113.76$, $R^2 = 0.8025$) видно, что величина R^2 и чувствительность метода выше при использовании химического способа удаления растворенного кислорода.

Описанные преимущества использования фонового электролита при рН 7.0 с химическим удалением кислорода перевешивают тот факт, что величина тока, используемая в качестве аналити-

ческого сигнала, при рН 2.0 больше. Далее в качестве рабочих условия выбрали среду ББР с рН 7.0 и химическое удаление кислорода.

Выбор режима вольтамперометрических измерений. Предварительная выдержка СУЭ в перемешиваемом ББР с добавлением 100 мг/л соединения **1** в течение 300 с в интервале потенциалов 1.0–0.1 В, в котором соединение **1** электрохимически неактивно, не приводит к увеличению величины тока/площади под пиком за счет возможной адсорбции аналита на поверхности индикаторного электрода. Это позволяет использовать метод прямой вольтамперометрии для определения соединения **1**.

На рис. 3 приведены ВА соединения **1**, зарегистрированные на СУЭ в ДИП- и КвВ-режимах. Сравнение различных вольтамперометрических режимов при одной и той же скорости сканирования позволяют заключить, что квадратно-волновой режим является предпочтительным для регистрации токов восстановления соединения **1** в ББР при рН 7.0. В случае КвВ пик более симметричный по сравнению с режимом ДИП и может быть измерен с высокой точностью. Величина тока пика восстановления в КвВ-режиме в 2.3 раза выше, чем в ДИП. Таким образом, дальнейшие исследования проводили в режиме КвВ.

Оптимизация параметров квадратно-волновой развертки потенциала. Величина тока пика восстановления/площади пика в режиме КвВ зависит от инструментальных параметров, таких как частота амплитуды, шаг импульса и амплитуда импульса.

Зависимость величины тока восстановления соединения **1** от частоты импульсов при амплитуде импульса 0.05 В и шаге импульса 0.005 В линейна в области от 5 до 50 Гц. При дальнейшем увеличении частоты величина тока не возрастает. При этом увеличение сигнала по абсолютной величине в диапазоне частот от 35 до 50 Гц незначительно (не превышает 4%), а отношение полезный сигнал/остаточный ток снижается почти в два раза, что усложняет регистрацию пика соединения **1** и ухудшает воспроизводимость полученных результатов. В связи с этим для аналитических целей выбрали частоту 35 Гц.

Величина тока восстановления соединения **1** при частоте импульса 35 Гц, шаге развертки 0.005 В и скорости сканирования 0.1 В/с линейно увеличивается при увеличении амплитуды импульса от 0.02 до 0.05 мВ. Дальнейшее увеличение амплитуды импульса приводит к уменьшению величины тока пика восстановления соединения **1** (рис. 4а).

Как видно из рис. 4б величина тока восстановления соединения **1** возрастает в интервале скоростей сканирования от 0.05 до 0.10 В/с, после чего рост замедляется. Для повышения экспрессности измерений выбрали скорость развертки 0.15 В/с.

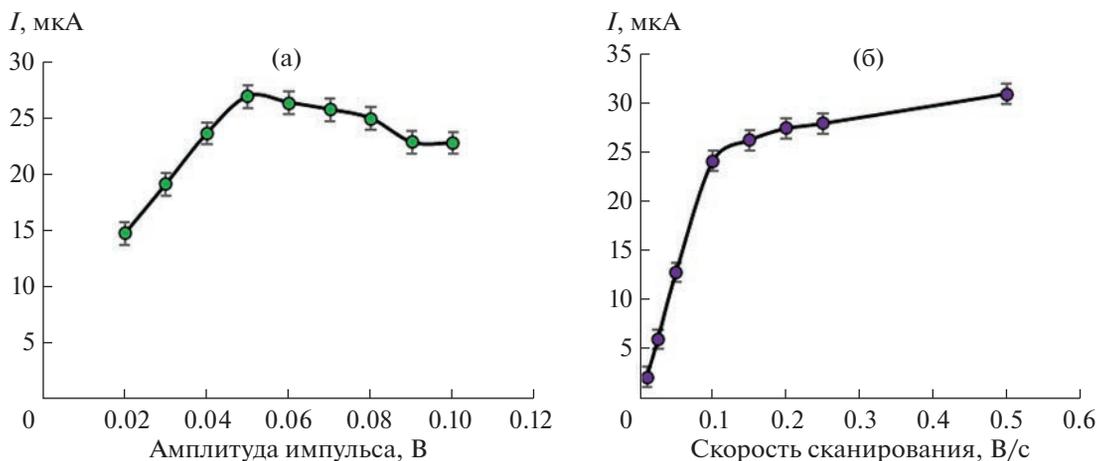


Рис. 4. Зависимости аналитического сигнала для 250 мг/л соединения **1** от амплитуды импульса (а) и от скорости сканирования потенциала (б), полученные в буферном растворе Бриттона–Робинсона с pH 7.0 + 0.04 М Na₂SO₃ с использованием квадратно-волнового режима. Условия регистрации: шаг развертки 0.005 В, амплитуда импульса 0.05 В и скорость сканирования 0.10 В/с.

Таким образом, для аналитических целей выбрали амплитуду импульса 0.05 В, частоту импульса 35 Гц, скорость сканирования 0.15 В/с.

Характеристики градуировочного графика для определения соединения **1 на стеклоуглеродном электроде.** При оптимальных условиях регистрации величина тока восстановления и площадь пика соединения **1** линейно растут в интервале 10–300 мг/л, на что указывают коэффициенты детерминации уравнений I (мкА) = $(0.110 \pm 0.003)c + (0.14 \pm 0.05)$ и $S = (0.0179 \pm 0.004)c - (0.059 \pm 0.009)$, которые в обоих случаях равны $R^2 = 0.999$. В качестве аналитического сигнала (АС) использовали величину тока восстановления, поскольку в этом случае чувствительность методики выше, чем при использовании площади под пиком (см уравнения, представленные выше). На рис. 5 приведены соответствующие КвВ-вольтамперограммы для разных концентраций соединения **1** в растворе. Как видно, пики с увеличением концентрации растут симметрично, величина тока имеет высокие значения, значение полуширины пика остается постоянным. Все это указывает на правильность выбора параметров для регистрации АС. Предел обнаружения, рассчитанный по градуировочной кривой в диапазоне концентрации от 10 до 50 мг/л, составляет 1.5 мг/л, предел количественного определения 4.5 мг/л.

Для определения повторяемости разработанной методики регистрировали 10 вольтамперограмм соединения **1** при концентрации 100 мг/л на одном и том же электроде и в растворе. Установлено, что величина тока восстановления имеет значение (11.37 ± 0.04) мкА. Стандартное отклонение составило 2.5%, что предполагает хорошую сходимость результатов.

Оценка правильности разработанной методики определения соединения **1** в стандартном образце.

Показатель правильности рассчитывали для уровней концентраций соединения **1** 50 и 250 мг/л по методу введено–найдено, каждое определение повторяли три раза (табл. 1). Показатель правильности для различных уровней концентраций близок к 100%. Среднее значение степени открытия (R) составило 96.8 ± 3.7 . Доверительный интервал среднего результата анализа включает значение 100%. Значение относительного стандартного отклонения составило 3.6%.

Разработан способ определения соединения из ряда нитроазолозинов, являющегося потенциальным противовирусным лекарственным средством. Результаты исследования превращений 3-*R*-4-оксо-7-*X*-1,2,4-триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов с использованием электрохимических ме-

Таблица 1. Метрологические характеристики, полученные при оценке правильности результатов определения соединения **1** ($n = 6$)

Метрологическая характеристика	Значение
Среднее значение R , %	96.8
Стандартное отклонение	3.7
Относительное стандартное отклонение среднего результата, %	3.6
Нижняя граница доверительного интервала среднего результата ($P = 0.95$)	93.1
Верхняя граница доверительного интервала среднего результата ($P = 0.95$)	100.6

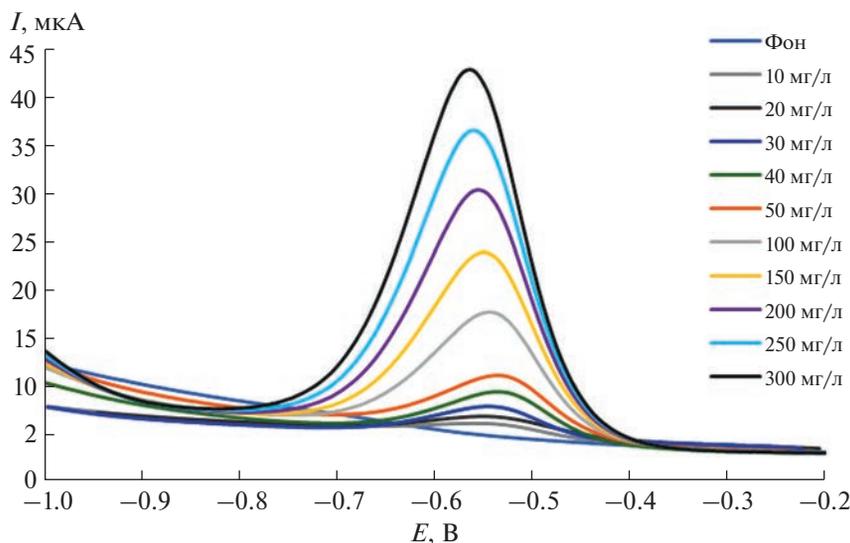


Рис. 5. Квадратно-волновые вольтамперограммы соединения **1** в буферном растворе Бриттона–Робинсона с pH 7, зарегистрированные на стеклоуглеродном электроде ($S = 3.14 \text{ мм}^2$) со скоростью сканирования потенциала 0.15 В/с, амплитудой импульса 50 мВ и частотой 35 Гц ($n = 5$, $P = 0.95$).

тодов показали, что соединения, содержащие нитрогруппу, подвергаются необратимому процессу восстановления в диапазоне потенциалов от -0.28 до -0.33 В (отн. Ag/AgCl) в буферном растворе Бриттона–Робинсона при pH 2.0 на СУЭ. Изучено влияние растворенного кислорода на ток и потенциал пика восстановления исследуемого соединения. Для сокращения продолжительности анализа использовали раствор сульфата натрия для связывания растворенного кислорода. В качестве рабочего для регистрации вольтамперограммы выбрали квадратно-волновой режим. Область линейности градуировочного графика с использованием разработанного способа для СУЭ составляет 10–300 мг/л: $I(\text{мкА}) = (0.110 \pm 0.003)c + (0.14 \pm 0.05)$ с коэффициентом линейной регрессии 0.999. Предел обнаружения, рассчитанный по градуировочному графику, составляет 1.5 мг/л, а предел количественного определения – 4.5 мг/л. Правильность разработанной методики близка к 100%, относительное стандартное отклонение составило 3.6%.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Государственный контракт № FEUZ-2023-0021 (H687.42Б.325/23).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Olender D., Żwawiak J., Zaprutko L. Multidirectional efficacy of [13]gically active nitro compounds included in medicines // *Pharmaceuticals*. 2018. V. 11. № 2. P. 54.
2. Русинов В.Л., Уломский Е.Н., Чупахин О.Н., Чарушин В.Н. Азоло[5,1-с]-1,2,4-триазины – новый класс противовирусных соединений // *Изв. АН. Сер. хим.* 2008. № 5. С. 967. (Rusinov V.L., Ulomskii E.N., Chupakhin O.N., Charushin V.N. Azolo[5,1-c]-1,2,4-triazines as a new class of antiviral compounds // *Russ. Chem. Bull. Int.* 2008. V. 57. P. 985.)
3. Токин И.И., Цветков В.В., Голобоков Г.С. Сравнительная клинко-экономическая оценка двух альтернативных схем противовирусной терапии больных гриппом // *Журнал инфектологии*. 2018. Т. 10. № 2. С. 110. (Tokin I.I., Tsvetkov V.V., Golobokov G.S. Comparative clinical and economic evaluation of two alternative antiviral therapy regimens for influenza patients // *J. Infectol.* 2018. V. 10. № 2. P. 110.)
4. Тихонова Е.П., Кузьмина Т.Ю., Андропова А.Е., Тюшевская Н.В., Елистратова О.А., Кузьмин Т.А. Изучение эффективности противовирусных препаратов (умифеновира, триазавирина) в отношении острых респираторных вирусных инфекций // *Казанский медицинский журнал*. 2018. Т. 99. № 2. С. 215.
5. Chupakhin O.N., Rusinov V.L., Varaksin M.V., Ulomskiy E.N., Savateev K.V., Butorin I.I., Du W., Sun Z., Charushin V.N. Triazavirin—A novel effective antiviral drug // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 23. P. 14537.
6. Чупахин О.Н., Русинов В.Л., Уломский Е.Н., Чарушин В.Н., Медведева Н.Р., Киселев О.И., Деева Э.Г., Логинова С.Я., Борисевич С.В., Бондарев В.П. Натриевая соль 2-этилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она дигидрат. Патент РФ № RU 2404182 С2. Заявка 2008128824/04 от 14.07.2008, опублик. 21.01.2010.
7. Малахова Н.А., Иванова А.В., Козицина А.Н., Матерн А.И. Вольтамперометрия в фармацевтическом анализе // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2014. № 2. С. 90.
8. Zuman P., Fijalek Z., Dumanovic D., Sužnjević D. Polarographic and electrochemical studies of some aromatic and heterocyclic nitro compounds, part I: Gen-

- eral mechanistic aspects // *Electroanalysis*. 1992. V. 4. № 8. P. 783.
9. *Baizer M.M., Stocker J.H.* Organic electrochemistry. An introduction and a guide // *J. Electrochem. Soc.* 1974. V. 121. № 3. P. 134С.
10. *Ivoilova A., Mikhalychenko L.V., Tsmokalyuk A., Leonova M., Lalov A., Mozharovskaia P., Kozitsina A.N., Ivanova A.V., Rusinov V.L.* Redox conversions of 5-methyl-6-nitro-7-oxo-4,7-dihydro-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidinide L-arginine monohydrate as a promising antiviral drug // *Molecules*. 2021. V. 26. № 16. P. 5087.
11. *Chua C.K., Pumera M.* Influence of methyl substituent position on redox properties of nitroaromatics related to 2, 4, 6-trinitrotoluene // *Electroanalysis*. 2011. V. 23. № 10. P. 2350.
12. *Дрокин Р.А., Фесенко Е.А., Можаровская П.Н., Медведева М.В., Свалова Т.С., Козицина А.Н., Есаулкова Я.Л., Волобуева А.С., Зарубаев В.В., Русинов В.Л.* 1,3,4-гидрокси-3-нитро-1,4-дигидротриазоло [5,1-с][1,2,4] триазины: синтез, противовирусные свойства и электрохимические характеристики // *Изв. АН. Сер. хим.* 2022. № 11. С. 2460. (*Drokin R.A., Fesenko E.A., Mozharovskaia P.N., Medvedeva M.V., Svalova T.S., Kozitsina A.N., Esaulkova Ya.L., Volobueva A.S., Zarubaev V.V., Rusinov V.L.* 4-Hydroxy-3-nitro-1,4-dihydrotriazolo[5,1-c][1,2,4]triazines: synthesis, antiviral activity, and electrochemical characteristics // *Russ. Chem. Bull.* 2022. V. 71. № 11. P. 2460.)
13. *Русинов В.Л., Чарушин В.Н., Чупахин О.Н.* Биологически активные азоло-1, 2, 4-триазины и азолопиримидины // *Изв. АН. Сер. хим.* 2018. № 4. С. 573.
14. *Чупахин О.Н., Чарушин В.Н., Русинов В.Л., Уломский Е.Н., Котовская С.К., Киселев О.И.* Натриевая соль 5-метил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидин-7-она дигидрат. Патент РФ №2330036. Заявка 2005120250/04 от 29.06.2005, опубл. 27.07.08.
15. *Britton H.T.S., Robinson R.A.* CXCVIII. — Universal buffer solutions and the dissociation constant of veronal // *J. Chem. Soc. (Resumed)*. 1931. P. 1456.
16. *Ivoilova A., Malakhova N., Mozharovskaia P., Niki-forova A., Tumashov A., Kozitsina A., Ivanova A.V., Rusinov V.L.* Study of different carbonaceous materials as modifiers of screen-printed carbon electrodes for the triazid as potential antiviral drug // *Electroanalysis*. 2022. V. 34. № 11. P. 1745.
17. *Малахова Н.А., Ивойлова А.В., Цмокалюк А.Н., Козицина А.Н., Иванова А.В., Русинов В.Л.* Способ количественного определения триазида методом вольтамперометрии. Патент РФ № 2733397. Заявка 2019104947 от 21.02.2019, опубл. 01.10.2020.
18. *Organic Electrochemistry / Eds. Hammerich O., Speiser B.* Boca Raton, FL: CRC press, 2016. P. 150.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАДИОЭКОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ РАДИОНУКЛИДОВ УГЛЕРОДА-14, ТЕХНЕЦИЯ-99, ЙОДА-129 В ОСТЕКЛОВАННЫХ ВЫСОКОАКТИВНЫХ ОТХОДАХ, ОБРАЗУЮЩИХСЯ ПРИ ПЕРЕРАБОТКЕ ОТРАБОТАВШЕГО ЯДЕРНОГО ТОПЛИВА

© 2023 г. Е. В. Чухланцева^{a, *}, О. В. Степанова^a, О. Ю. Диченко^a, Т. А. Зайцева^a, К. А. Джевелло^a, Е. Л. Мурашова^a, Ю. М. Татарникова^{a, b}, Е. А. Беланова^a, П. А. Блохин^c

^aПроизводственное объединение “Маяк”
ул. Ленина, 31, Озерск, Челябинская обл., 456784 Россия

^bСеверский технологический институт – филиал Национального исследовательского ядерного университета “МИФИ”

просп. Коммунистический, 65, Северск, Томская обл., 636036 Россия

^cИнститут проблем безопасного развития атомной энергетики Российской академии наук
ул. Большая Тульская, 52, Москва, 115191 Россия

*e-mail: cpl@po-mayak.ru

Поступила в редакцию 19.04.2023 г.

После доработки 10.07.2023 г.

Принята к публикации 14.07.2023 г.

Предложен способ измерения удельных активностей в остеклованных высокоактивных отходах радиоэкологически значимых радионуклидов: ^{14}C , ^{99}Tc , ^{129}I . Подобраны оптимальные условия выделения и очистки определяемых радионуклидов от мешающих компонентов. Установлены коэффициенты выхода и коэффициенты очистки. Определение ^{14}C заключалось в трехкратной отгонке CO_2 и последующем измерении активности ^{14}C в очищенном растворе методом жидкостной сцинтилляционной спектрометрии; определение ^{129}I – в растворении пробы в HNO_3 , пятикратной экстракции и последующем измерении активности ^{129}I в очищенном растворе методом жидкостной сцинтилляционной спектрометрии; определение ^{99}Tc – в растворении пробы в присутствии ClO_4^- , двукратном экстракционно-хроматографическом отделении ^{99}Tc импрегнированным нитратом метилтриоктиламмония сорбентом и последующем определении его активности с использованием метода масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Согласно выбранному подходу проанализирован имитатор остеклованных высокоактивных отходов с радионуклидными метками и получены удовлетворительные результаты. Разработанный подход будет применяться при анализе накопленных остеклованных высокоактивных отходов ПО “Маяк”, а полученные результаты учитываться при моделировании инженерных барьеров безопасности пункта глубинного захоронения радиоактивных отходов.

Ключевые слова: углерод-14, технеций-99, йод-129, МС-ИСП, жидкостная сцинтилляционная спектрометрия, остеклованные высокоактивные отходы.

DOI: 10.31857/S0044450223120046, **EDN:** YWSPKE

Стратегия Госкорпорации “Росатом” предполагает переход на замкнутый ядерный топливный цикл с переработкой всех видов облученного ядерного топлива атомных электростанций и выделением из отработавшего ядерного топлива (ОЯТ) U и Pu для последующего использования. Образующиеся радиоактивные отходы (РАО) в соответствии с Федеральным законом [1] должны быть направлены на долговременное хранение и захоронение. В настоящее время в Российской Федерации с целью окончательной изоляции РАО 1 и 2 класса принята концепция создания пункта глубинного захоронения радиоактивных отходов (ПГЗРО) [2].

Данная концепция подразумевает выявление основных факторов, влияющих на экологическую безопасность захоронения РАО. Одним из таких факторов является радионуклидный состав РАО, который должен быть учтен при моделировании инженерных барьеров безопасности (ИББ), оценке процессов изменения состава, строения и свойств материалов таких барьеров и миграции радионуклидов (РН) в условиях пункта захоронения радиоактивных отходов.

Среди всего спектра радионуклидов, оказывающих влияние на долговременную безопасность, выделяют группу радиоэкологически значимых

радионуклидов, к которым относят радионуклиды, имеющие периоды полураспада, сравнимые со временем жизни инженерных барьеров безопасности, высокие пределы растворимости, низкую сорбционную способность, химические формы (кроме ^{135}Cs), приводящие к эффекту “анионного исключения” или возможности присутствия в газовой фазе. К таким радионуклидам относятся ^{14}C , ^{99}Tc , ^{129}I .

Существует два основных взаимно дополняющих друг друга метода определения радионуклидного состава РАО – расчетный и инструментальный. Расчетный метод для РАО от ОЯТ основан на физических свойствах деления ядер и генетической связи радионуклидов, образующихся в ОЯТ, с помощью специализированных программ. Расчетный подход на сегодняшний день широко распространен для различных оценок при обращении с ОЯТ различных типов реакторных установок. В процессе переработки ОЯТ генетические связи между радионуклидами утрачиваются, происходит их перераспределение между различными технологическими продуктами, но тем не менее, понимая процессы радиохимических преобразований и коэффициенты распределения радионуклидов, можно количественно оценить их содержание в различных РАО, образующихся от переработки ОЯТ. Инструментальный метод заключается в проведении химического анализа (“прямое” измерение, разрушающие/неразрушающие методы анализа) самого объекта исследования. Результаты экспериментальных исследований широко применяются в качестве данных для верификации различных программ расчета нуклидного состава ОЯТ.

Следует учесть, что установление коэффициента распределения РН на стадиях технологического передела ОЯТ имеет неопределенность, поскольку зависит от множества факторов (концентрационные, температурные, временные факторы и проч.). Поэтому “прямые” методы анализа РАО являются предпочтительными по сравнению с расчетными методами.

В ПО “Маяк” в течение нескольких десятков лет, начиная с 1987 года, проводится отверждение высокоактивных РАО в алюмофосфатное стекло (ОВАО). За прошедшее время накоплено более 7.6 тыс. тонн отвержденных высокоактивных отходов. Данные кондиционированные отходы, равно как и вновь образующиеся при работе установок остекловывания, предполагается размещать глубоко под землей в геологической формации пунктов захоронения. Определение в них содержания долгоживущих РН является важной и необходимой задачей в целях дальнейшего глубинного захоронения отвержденных высокоактивных отходов.

Цель настоящей работы – разработка инструментальных методов определения содержания радионуклидов ^{14}C , ^{99}Tc , ^{129}I в ОВАО ПО “Маяк”.

Следует отметить, что данные радионуклиды никогда не контролировались в остеклованных отходах. Учитывая то, что остеклованные отходы имеют крайне сложный химический и радионуклидный состав и обладают крайне высокой радиоактивностью, определение содержания ^{14}C , ^{99}Tc , ^{129}I в них является нетривиальной аналитической задачей, не имевшей до настоящего времени практического решения.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы, растворы и сорбенты. В работе применяли реактивы (кислоты, соли, гидроксиды и проч.) квалификации не ниже ч. д. а. отечественного производства. В качестве сорбента для извлечения технеция использовали пористый сферический сополимер стирола с дивинилбензолом LPS-500 (диаметр частиц 150–250 мкм, диаметр пор 50–500 нм), импрегнированный нитратом метилтриоктиламмония (МТОАН). Массовая доля МТОАН составляла 33%. Сорбент готовили следующим образом: навеску МТОАН массой 1.5 г растворяли в ацетоне объемом 20 мл. К раствору добавляли навеску носителя LPS-500 массой 3.0 г. Смесь перемешивали и оставляли до полного испарения ацетона.

Приготовление хроматографической колонки. В носик стеклянной колонки длиной 10 см, внутренним диаметром 6 мм и диаметром выходного отверстия от 0.5 до 1.5 мм помещали тампон из лавсанового волокна. Колонку равномерно заполняли сорбентом массой 0.5 г, слой сорбента закрывали тампоном из лавсанового волокна. Колонку промывали 0.1 М HNO_3 объемом 50 мл. Скорость протекания раствора составляла в среднем 0.8 мл/мин.

Образцовые и эталонные радионуклидные источники. В работе применяли эталонные (образцовые) растворы радионуклидов (ОРР) ^{14}C , ^{129}I , ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{99}Tc с удельной активностью (УА) от 1 до 1×10^3 кБк/г и относительной погрешностью УА не более $\pm 3.0\%$.

Приготовление имитационного раствора, получаемого при растворении образца остеклованных высокоактивных отходов. Для исследований готовили имитационный раствор (ИР), состав которого близок к составу раствора, образующегося при растворении 1.5 г остеклованных высокоактивных отходов в 20 мл HNO_3 . Состав имитационного раствора приведен в табл. 1. Имитационный раствор готовили путем смешивания в определенных пропорциях концентрированных растворов соответствующих элементов.

Известно, что изотопы Am, Cm, Pu обладают высокой стоимостью, поэтому в некоторых экспериментах в имитационный раствор вводили аналоги Am/Cm и Pu – Eu(III) и Th(IV) соответственно.

Таблица 1. Состав имитационных растворов

Элемент	Соединение для приготовления ИР	Концентрация элемента, мг/л	Элемент	Соединение для приготовления ИР	Концентрация элемента, мг/л
Na	NaOH, NaCl	416	Ni	Ni(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	148
Cl	NaCl, BaCl ₂ · 2H ₂ O, FeCl ₃ · 6H ₂ O, HCl	520	Nd	Nd ₂ O ₃	56
Al	Al(NO ₃) ₃ · 9H ₂ O	5402	La	La(NO ₃) ₃ · 6H ₂ O	16
P	H ₃ PO ₄	14500	Sm	Sm(NO ₃) ₃	4.0
Pb	Pb(NO ₃) ₂	2230	Eu (аналог Am, Cm)	Eu(NO ₃) ₃	6.0
Zn	Zn(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	1930	Ce	Ce(NO ₃) ₃ · 6H ₂ O	68
Br	KBr	1868	Cd	CdSO ₄ · 8H ₂ O	5.0
Gd	Gd ₂ O ₃	492	Sn	Sn	6.0
Mn	MnSO ₄ · 5H ₂ O	300	Se	H ₂ SeO ₃	190
Mo	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	162	Ag	AgNO ₃	1.4
Cs	CsNO ₃	120	Sb	Sb	1.2
Ca	CaCO ₃	126	U	UO ₂ (NH ₄)(NO ₃) ₃	590
Ba	BaCl ₂ · 2H ₂ O	160	Th (аналог Pu)	Th(NO ₃) ₄	0.8
Pd	Pd	12.5	In	In ₂ O ₃	0.1
Pr	Pr(NO ₃) ₃ · 6H ₂ O	56	F	HF	180
Sr	SrCO ₃	50	S	SO ₄ ²⁻ (из солей)	180
Fe	FeCl ₃ · 6H ₂ O	360	Zr*	ZrSO ₄ · 4H ₂ O	160
Te	Te	26	Si*	Na ₂ SiO ₃ · 9H ₂ O	60
Y	Y(NO ₃) ₃ · 6H ₂ O	22	Co	Co(NO ₃) ₂	50
Rb	RbNO ₃	16	HNO ₃	—	4 моль/л
Cr	Cr(NO ₃) ₃ · 9H ₂ O	84			

* Вводили перед проведением эксперимента.

Eu и Th являются аналогами Am/Cm и Pu, поскольку обладают близкими физическими и химическими свойствами.

Приготовление имитатора остеклованных высокоактивных отходов с радионуклидными метками. Процедура приготовления имитатора была максимально близка к процедуре изготовления реального стекла с высокоактивными отходами и состояла из следующих этапов: 1) приготовление стеклообразующего раствора; 2) варка стекла; 3) введение в полученное, предварительно измельченное стекло радиоактивных меток; 4) повторная плавка стекла.

Рецептура приготовления стеклообразующего раствора состояла в последовательном растворении навесок солей в одной емкости, добавлении аликвот концентрированных растворов Mo, Zr, U и смеси РЗЭ и флюсовании ортофосфорной кислотой. Рецептúra приведена в табл. 2.

Полученный стеклообразующий раствор заливали в стеклоуглеродную чашу и упаривали на

песчаной бане до сухого остатка. Сухую смесь измельчали, помещали в алундовый тигель и кальцинировали в диапазоне температур от 300 до 700°C. Подъем температуры осуществляли постепенно. Стеклообразующий кальцинат плавил, начиная с 800°C, при подъеме температуры через каждые 50 до 950°C. Далее расплав стекла выливали на металлическую плиту и охлаждали до комнатной температуры.

Навеску стекла измельчали. В корундовый тигель с порошком стекла вносили порции образцового раствора радионуклида, периодически перемешивая и высушивая смесь в диапазоне температур от 50 до 450°C, постепенно поднимая температуру. Дальнейшую плавку стекла с метками проводили в диапазоне температур от 500 до 950°C с интервалом 50°C при подъеме температуры и выдержкой при каждой температуре в течение 10–20 мин. Расчетный состав полученного стекла с метками РН приведен в табл. 3.

Алгоритм исследования заключался в выборе аналитического метода, обеспечивающего изме-

Таблица 2. Рецепт приготовления стеклообразующего раствора для получения 110 г стекла

Компонент раствора	Масса навески, г (объем раствора, мл)
NaNO ₃	75.95
Al(NO ₃) ₃ · 9H ₂ O	116.58
Fe(NO ₃) ₃ · 9H ₂ O	4.75
Cr(NO ₃) ₃ · 9H ₂ O	1.22
Ni(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	1.38
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	1.35
CsNO ₃	0.27
Sr(NO ₃) ₂	0.23
NaCl	0.20
NaF	0.10
Na ₂ SO ₄	0.49
MnO ₂	0.25
HNO ₃ (c = 916 г/л)	(64)
Концентрированная смесь РЗЭ	(5.5)
Mo (c = 40.65 г/л)	(4.9)
Zr (c = 37.02 г/л)	(6.6)
U (c = 42.5 г/л)	(25.8)
H ₃ PO ₄ (c = 1498 г/л)	(56)
Конечный объем стеклообразующего раствора, мл	(440)
Объем этиленгликоля (C = 1106 г/л), мл	(25)

Примечание: MnO₂ и раствор этиленгликоля вводили на стадии упаривания (после приготовления стеклообразующего раствора).

рение активности определяемого радионуклида на уровне, соответствующем реальному содержанию в образце остеклованных высокоактивных отходов, установлении мешающих определению компонентов пробы и последующем экспериментальном поиске условий их нивелирования. Критерием устранения мешающих влияний в ходе пробоподготовки являлось достижение требуемых коэффициентов очистки (КОЧ), предварительно вычисленных, исходя из теоретического содержания мешающих и определяемых компонентов в ОВАО. Оптимальную процедуру пробоподготовки применили при анализе имитационного образца, представляющего собой алюмофосфатное стекло с введенными метками радионуклидов.

Ожидаемая удельная активность радионуклидов в остеклованных высокоактивных отходах. Состав ОВАО ПО “Маяк” обусловлен составом перерабатываемого ОЯТ (ВВЭР-440, БН-600 и др.). Преобладающим видом перерабатываемого ОЯТ является топливо водо-водяных энергетических реакторов

(примерно 80% по массе). Использовали ожидаемые содержания определяемых радионуклидов из работ [3, 4]. Значения приведены в табл. 4.

Выбор методов измерения удельной активности радионуклидов. Метод измерения содержания радионуклидов должен обеспечивать получение численного результата, поэтому для определения ¹⁴C и ¹²⁹I выбрали метод жидкостной сцинтилляционной спектрометрии (ЖСС), предел обнаружения которого составляет примерно 0.1 Бк/г остеклованных высокоактивных отходов (при минимально детектируемой активности (МДА) в счетном образце 10 мБк [5]). Для определения ⁹⁹Tc выбрали метод масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП), нижняя граница диапазона определяемых содержаний которого составляет порядка 20 нг/г остеклованных высокоактивных отходов (13 Бк/г ОВАО).

Установление мешающих примесей и вычисление требуемых коэффициентов очистки. Содержащиеся в остеклованных отходах бета-излучающие радионуклиды (⁹⁰Sr, ¹³⁷Cs, ¹³⁴Cs, ¹²⁵Sb и др.) мешают определению ¹⁴C, ¹²⁹I методом ЖСС.

Существенное влияние на результаты определения содержания ⁹⁹Tc методом МС-ИСП оказывают изобарные и полиатомные наложения с массой 99 а. е. м., такие как ⁹⁹Ru⁺, ⁶⁴Zn³⁵Cl⁺, ⁶²Ni³⁷Cl⁺, ⁵⁹Co⁴⁰Ar⁺, ⁹⁸Mo¹H⁺, ⁸⁵Rb¹⁴N⁺, ¹⁹⁸Hg²⁺ и ¹⁹⁸Pt²⁺. Наибольший вклад в сигнал оказывают ⁹⁹Ru⁺ и ⁹⁸Mo¹H⁺ (⁹⁹Ru и ⁹⁸Mo – стабильные изотопы с природной распространенностью 14 и 24.3% соответственно).

Исходя из ожидаемых активностей определяемого и мешающих радионуклидов, вычислили требуемые значения КОЧ, достижение которых обеспечит получение численного результата измерений удельной активности радионуклидов. По результатам расчета установили, что при определении ¹⁴C методом ЖСС потребуется дополнительное отделение ¹⁴C от большинства радионуклидов, за исключением ⁹³Zr, ³⁶Cl, ⁹⁸Tc, ⁹⁴Nb. Большинство радионуклидов, кроме ⁹⁸Tc и ²⁴¹Pu, будут вносить значительный вклад с энергетический спектр ¹²⁹I, что потребует проведения дополнительного выделения йода из матрицы пробы. Рассчитали, что ⁹⁹Ru будет содержаться в остеклованных высокоактивных отходах в гораздо меньших количествах и не окажет существенного влияния на результат измерения удельной активности ⁹⁹Tc методом МС-ИСП. Следует учесть, что проба остеклованных высокоактивных отходов обладает высокой радиоактивностью и содержит такие макрокомпоненты, как P и Al, поэтому для снижения дозовой нагрузки на персонал и устранения влияния матричных эффектов потребуется выделение технеция, обеспечивающее степень очистки порядка $n \times 10^2$.

Таблица 3. Расчетный химический и радионуклидный состав имитатора остеклованных высокоактивных отходов

Компонент	Массовая доля, %	Компонент	Массовая доля, %	УА, Бк/г
U ₃ O ₈	1.15	Cl*	0.46	—
Na ₂ O	26.3	F*	0.04	—
Cs ₂ O	0.18	SO ₃	0.25	—
SrO	0.10	Y ₂ O ₃	0.014	—
Al ₂ O ₃	14.10	La ₂ O ₃	0.032	—
P ₂ O ₅	54.3	CeO ₂	0.14	—
Fe ₂ O ₃	0.84	Nd ₂ O ₃	0.11	—
Cr ₂ O ₃	0.21	SeO ₂	0.45	—
NiO	0.31	¹³⁷ Cs	—	0.91 × 10 ⁴
CaO	0.29	⁹⁰ Sr	—	0.96 × 10 ⁴
MoO ₃	0.27	⁹⁹ Tc*	—	1.14 × 10 ³
ZrO ₂	0.30	¹²⁹ I*	—	6.20 × 10 ²
MnO ₂	0.23	¹⁴ C*	—	4.55 × 10 ⁴

* Расчет проведен условно, исходя из полного включения хлорид- и фторид-ионов в стекло. Аналогичный расчет проведен для ⁹⁹Tc, ¹²⁹I, ¹⁴C. Однако, очевидно, что ¹²⁹I и ¹⁴C будут содержаться в стекле в следовых количествах в силу удаления с газовой фазой в процессе варки. Доля ⁹⁹Tc, включаемого в стекло, на практике составляет от 40 до 80%.

Таблица 4. Ожидаемые содержания радионуклидов в остеклованных высокоактивных отходах ПО “Маяк”

Радионуклид	УА в ОВАО, Бк/г ОВАО	Массовая доля в ОВАО, мкг/г ОВАО	Литература
¹⁴ C	80	4.83 × 10 ⁻⁴	[3]
⁹⁹ Tc	1.4 × 10 ⁴	22.1	[4]
	2.0 × 10 ⁵	316	[3]
¹²⁹ I	20	3.06	[4]
	29	4.44	[4]

Процедура отделения и улавливания CO₂. Для отгонки и улавливания CO₂ применяли специальное устройство, состоящее из конической колбы, отводной трубки для продувки сжатым воздухом и нескольких последовательно соединенных склянок для промывания газов (уловителей), заполненных поглотительным 1 М раствором NaOH. Схема установки изображена на рис. 1. Пробу (навеска ОВАО и Na₂CO₃ в качестве “носителя” или аликвота ИР) помещали в коническую колбу, расположенную на столике для магнитной мешалки с нагревом, быстро приливали 3–4 М HNO₃, колбу закрывали и улавливали выделившейся CO₂ щелочным раствором. После отделения измеряли активность и вычисляли суммарную активность ¹⁴C в поглотительном растворе.

Процедура экстракции и реэкстракции I. К пробе добавляли 3–4 М HNO₃, 3–5 мл H₂O₂, раствор нагревали до исчезновения пузырьков газа, после охлаждения раствора до комнатной температуры

добавляли последовательно 5.0 мл CCl₄, 0.1 мл раствора KI с концентрацией 10 г/л, навеску NaNO₂ массой 0.2 г. Водная фаза приобретала красновато-коричневый цвет. Смесь перемешивали, избегая вспенивания, в течение 1 мин. При экстракции йода в органическую фазу водная фаза обесцвечивалась, в то время как органическая фаза приобретала розовую окраску. Перемешивание повторяли через каждые 5 мин в течение 20 мин. Смесь выдерживали до полного разделения фаз. Пипеткой Пастера полностью удаляли водную фазу, избегая перемешивания фаз. К органической фазе прибавляли 5 мл 0.1 М раствора Na₂SO₃. Смесь перемешивали и выдерживали до полного разделения фаз в течение 5 мин. Органическую фазу отбрасывали. Далее в водной фазе измеряли активность ¹²⁹I методом ЖСС.

Процедура сорбции и десорбции технеция. К пробе добавляли 3–4 М HNO₃, 0.2 г Ca(ClO)₂, раствор нагревали, затем охлаждали до комнат-

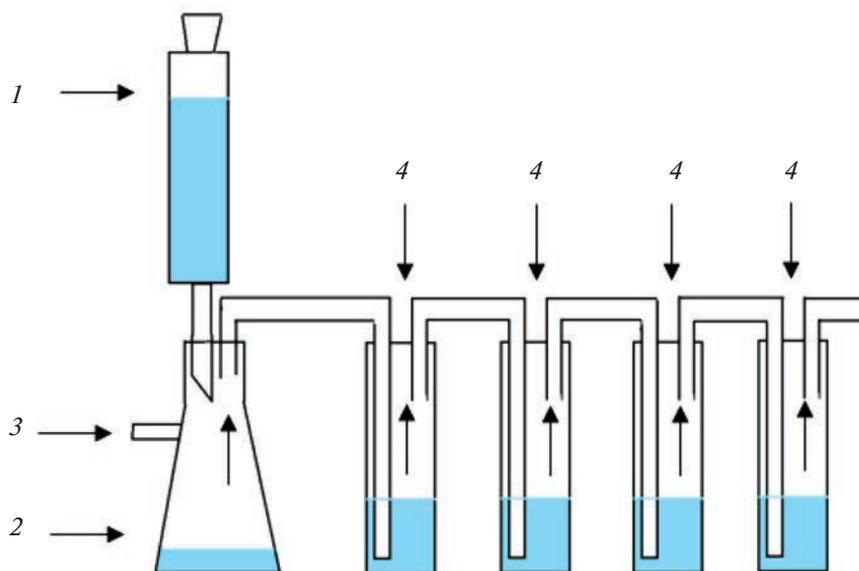


Рис. 1. Схема установки для отгонки и улавливания CO₂. 1 – емкость для подачи раствора HNO₃, 2 – колба для растворения пробы, 3 – отводная трубка для подачи сжатого воздуха, 4 – склянка для промывания газов (уловитель).

ной температуры, нейтрализовали раствором NH₃ до концентрации HNO₃ примерно 1 моль/л. Полученный раствор пропускали через подготовленную хроматографическую колонку, заполненную сорбентом с МТОАН. Колонку промывали 20 мл 1 М HNO₃ порциями по 5 мл. Фильтрат и промывной раствор отбрасывали. Десорбировали технеций несколькими порциями 6 М HNO₃ общим объемом 10 мл. Десорбат собирали и измеряли активность ⁹⁹Tc методом МС-ИСП.

Приборы и оборудование. При определении активности методом ЖСС применяли радиометр альфа-бета-излучения спектрометрический Quantulus-1220, оснащенный стандартным программным обеспечением (ПО) WinQ. Для контроля параметра гашения пробы применяли метод контроля гашения проб по внешнему стандарту (Spectrum Quench Parameter (External) – SQP(E)) с использованием радионуклида ¹⁵²Eu [6]. В качестве сцинтиллятора при определении УА ¹⁴C использовали OptiPhase Hisafe 3. Счетные образцы готовили смешиванием водной пробы со сцинтиллятором в соотношении 3 : 17 в полиэтиленовой виае емк. 20 мл. При определении активности ¹²⁹I в качестве сцинтиллятора использовали Ultima Gold AB при этом соотношение объемов пробы и сцинтиллятора составляло 2 : 10.

Применяли масс-спектрометр с индуктивно связанной плазмой NexION 350S, оснащенный ПО Syngistix, ионный хроматограф Dionex Integrion RFIC с ПО Chromeleon Console, оснащенный разделительной колонкой для супресорного определения анионов AS11-НС, защит-

ной колонкой AS17-C, электролитическим подавителем и кондуктометрическим детектором.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Отделение ¹⁴C. Наиболее предпочтительным методом выделения углерода из образца остеклованных высокоактивных отходов является его отгонка и улавливание в виде CO₂, образующегося при растворении пробы в HNO₃ [7, 8]. При отгонке большинство мешающих определению ¹⁴C нелетучих РН остаются в растворе пробы ОВАО и не переходят в газовую фазу, тем самым не оказывая мешающего влияния на определение. Наибольшим мешающим влиянием обладают бета-излучающие РН, находящиеся в макроколичествах, также легко переходящие в газовую фазу. К таким РН относятся ⁹⁰Sr, ¹³⁷Cs, ¹²⁹I и ⁹⁹Tc.

Молекулярный йод не образуется при растворении остеклованных отходов в HNO₃, так как преимущественной формой йода в стекле является йодид-ион. Азотная кислота не окисляет йодид-ионы до I₂, поэтому весь йод остается в растворе после растворения стекла и тем самым не мешает определению ¹⁴C.

При растворении стекла в HNO₃ возможен частичный унос с газовой фазой ⁹⁹Tc в виде Tc₂O₅, Tc₂O₇. В окислительных условиях технеций в растворе существует преимущественно в степени окисления +7 в виде TcO₄⁻ [9].

Исследовали влияние продолжительности и числа повторяющихся стадий отгонки и улавливания CO₂ на долю ¹⁴C, перешедшего в погло-

Таблица 5. Результаты (активность ^{14}C , Бк) определения полноты отгонки $^{14}\text{CO}_2$

Кратность отгонки	Время отгонки, мин	Введено	Найдено				Суммарный относительный выход ^{14}C в уловителях, %
			уловитель № 1	уловитель № 2	уловитель № 3	уловитель № 4	
Однократная	60	100	5	2	0	0	7
	120	100	11	4	0	0	15
	360	100	96	2	0	0	98
Двукратная	360	100	75	13	0	0	88
Трехкратная	360	100	69	11	0	0	80

тельный раствор. Эксперимент заключался в добавлении к раствору Na_2CO_3 аликвоты образцового раствора радионуклида ^{14}C , нейтрализации избытком HNO_3 и отгонке выделившегося газа при нагревании в поглотительный раствор NaOH . Для повторной отгонки растворы уловителей после предыдущей стадии объединяли, к раствору добавляли избыток HNO_3 и проводили повторную отгонку CO_2 . Результаты эксперимента приведены в табл. 5. Как видно, в уловителях № 3 и 4 присутствие ^{14}C не обнаружено, поэтому для отделения ^{14}C достаточно двух “ловушек”. Введенная добавка ^{14}C полностью обнаружена при длительности отгона не менее 360 мин (6 ч). С увеличением кратности отгонки доля найденного в уловителе ^{14}C закономерно уменьшается.

Определены коэффициенты очистки от мешающих примесей при отгонке CO_2 . В эксперименте применяли имитационный раствор остеклованных высокоактивных отходов (табл. 1), нейтрализованный раствором NH_3 до $\text{pH} \sim 4$, с добавкой Na_2CO_3 (в качестве “носителя”) и меток ^{129}I , ^{99}Tc . В раствор добавляли избыток HNO_3 , нагревали и отгоняли CO_2 в течение 6 ч. Проводили одно-, двух- и трехкратную отгонку. После завершения каждой стадии в растворе уловителей определяли содержание мешающих примесей методом МС-ИСП. ^{129}I и ^{99}Tc определяли в растворе пробы, из которого отгоняли CO_2 . Коэффициенты очистки определяли по соотношению масс (активностей) одноименных элементов, соответствующих мешающему радионуклиду, в исходном растворе и растворах уловителей, не учитывая доли нуклидов в смеси изотопов одноименного элемента, так как это значение для многих радионуклидов достоверно неизвестно. Результаты представлены в табл. 6.

Сравнивая полученные и требуемые КОЧ, можно сделать вывод, что определению ^{14}C методом ЖСС не мешают ^{241}Pu , ^{129}I , ^{63}Ni , ^{79}Se , $^{108\text{m}}\text{Ag}$, так как стадия пробоподготовки обеспечивает достижение требуемых коэффициентов очистки. Однако для остальных нуклидов требуемые КОЧ

при однократной отгонке достичь не удалось, поэтому требуется дополнительная стадия повторной отгонки.

Двукратная отгонка позволяет достичь требуемых коэффициенты очистки от ^{241}Pu , ^{63}Ni , ^{129}I , ^{60}Co , ^{79}Se , ^{126}Sn , $^{108\text{m}}\text{Ag}$, ^{152}Eu , но очистка от ^{90}Sr , ^{137}Cs , ^{99}Tc , ^{125}Sb протекает не в полной мере. Трехкратная отгонка обеспечивает отделение всех мешающих радионуклидов, однако точно определить значения коэффициентов очистки не представилось возможным ввиду ограничения предела обнаружения применяемого метода измерений.

Отделение ^{99}Tc проводили методом экстракционной хроматографии, основанной на применении импрегнированных сорбентов, состоящих из инертного гидрофобного носителя и нанесенного на его поверхность селективного экстрагента. В процессе нанесения экстрагента гидрофобная часть молекулы экстрагента адсорбируется на поверхности носителя за счет сил Ван-дер-Ваальса, тогда как гидрофильная ориентируется к водной фазе. Так происходит покрытие всей свободной внутренней и внешней поверхности пор носителя гидрофильными активными частями молекул селективного экстрагента, благодаря чему достигаются большие скорости диффузии сорбата.

Наиболее распространенными селективными экстрагентами для извлечения технеция являются третичные амины и четвертичные аммониевые основания, в частности триизооктиламин и МТОАН [10–12]. При отделении технеция от рутения данными экстрагентами весьма важно, чтобы рутений в анализируемом растворе находился в неэкстрагируемой форме Ru^{3+} , а технеций – в экстрагируемой форме TcO_4^- . Для этих целей применяют “сильный” окислитель NaClO , который окисляет все формы Ru до RuO_4 и Tc до TcO_4^- . При длительном нагревании основное количество рутения в виде высших оксидов переходит в газовую фазу, а технеций в виде TcO_4^- остается в растворе. В настоящей работе применяли в качестве сильного окислителя $\text{Ca}(\text{ClO})_2$.

Таблица 6. Коэффициенты очистки примесей при отгонке углерода в виде CO₂

Мешающий РН	Элемент (РН), по которому оценивали КОЧ	Введено, мкг (*Бк)	Найдено (суммарно в уловителях №№1 и 2), мкг (*Бк)					Полученный КОЧ			Требуемый КОЧ _{тp}
			однократная отгонка	двукратная отгонка	трехкратная отгонка	однократная отгонка	двукратная отгонка	трехкратная отгонка			
²⁴¹ Pu	Th (стаб.)	10.6	Менее 2.00 × 10 ⁻⁴	Менее 2.00 × 10 ⁻⁴	—	Более 5.32 × 10 ⁴	Более 5.32 × 10 ⁴	—	—	7.46 × 10 ⁵	
⁶³ Ni	Ni (стаб.)	1.97 × 10 ³	2.40 × 10 ⁻²	1.76 × 10 ⁻²	—	8.20 × 10 ⁴	1.12 × 10 ⁵	—	—	2.27 × 10 ⁴	
¹²⁵ Sb	Sb (стаб.)	16.0	4.22 × 10 ⁻²	8.20 × 10 ⁻³	<0.10	378	1.95 × 10 ³	>1.60 × 10 ⁵	—	3.92 × 10 ⁸	
¹²⁹ I	¹²⁹ I	110*	8.90*	4.60*	—	12.4	23.9	—	—	3.63	
⁷⁹ Se	Se (стаб.)	2.53 × 10 ³	0.90	0.46	—	2.81 × 10 ³	5.49 × 10 ³	—	—	1.75 × 10 ³	
⁹⁹ Tc	⁹⁹ Tc	100*	0.87*	0.4*	<9.3 × 10 ⁻³	115	250	>1.10 × 10 ⁴	—	4.01 × 10 ⁴	
⁶⁰ Co	Co (стаб.)	665	4.86 × 10 ⁻²	1.10 × 10 ⁻³	—	1.37 × 10 ⁴	6.05 × 10 ⁵	—	—	6.02 × 10 ⁵	
¹²⁶ Sn	Sn (стаб.)	79.8	0.96	8.60 × 10 ⁻²	—	83.1	927	—	—	883	
^{134,135,137} Cs	Cs (стаб.)	1.60 × 10 ³	3.76 × 10 ⁻²	5.80 × 10 ⁻³	<1.0 × 10 ⁻⁴	4.24 × 10 ⁴	2.75 × 10 ⁵	>1.60 × 10 ⁸	—	2.23 × 10 ⁸	
⁹⁰ Sr	Sr (стаб.)	665	8.02 × 10 ⁻²	1.93 × 10 ⁻²	<1.0 × 10 ⁻⁴	8.29 × 10 ³	3.45 × 10 ⁴	>1.60 × 10 ⁶	—	1.55 × 10 ⁸	
¹⁵² Eu	Eu (стаб.)	79.8	0.02	6.00 × 10 ⁻⁴	—	4.65 × 10 ³	1.33 × 10 ⁵	—	—	5.59 × 10 ³	
^{108m} Ag	Ag (стаб.)	18.6	0.36	4.80 × 10 ⁻²	—	52.0	388	—	—	8.00	

Таблица 7. Коэффициенты очистки примесей при экстракционно-хроматографическом отделении технеция (рения)

Мешающий элемент	Введено, мкг	Найдено в десорбате, мкг		Полученный КОЧ		Требуемый КОЧ _{тр}
		первая стадия сорбции	вторая стадия сорбции	первая стадия сорбции	вторая стадия сорбции	
Mo	539	2.43	0.11	222	4.90×10^3	450
Ni	492	0.266	7.30×10^{-2}	1.85×10^3	6.74×10^3	—
Zn	6.42×10^3	2.48	1.68	2.59×10^3	3.83×10^3	—
Cl	1.73×10^3	5.10	1.00	339	1.73×10^3	—
Co	166	7.68×10^{-2}	1.00×10^{-2}	2.16×10^3	1.66×10^4	—
Rb	53.2	2.03×10^{-2}	4.70×10^{-3}	2.62×10^3	1.13×10^4	—

Таблица 8. Результаты (активность ^{129}I , Бк) определения относительного выхода ^{129}I при однократной экстракции CCl_4 в зависимости от времени контакта фаз

Время, мин	Введено	Найдено		Доля ^{129}I , перешедшего в экстракт, %
		реэкстракт	водная фаза	
5	160	110	49	69
10	160	138	20	86
20	160	150	5	94
30	160	150	6	94

Известно, что технеций не имеет стабильных изотопов, что существенно усложняет работу по подбору оптимальных условий его отделения. В ряде экспериментов применяли аналог технеция — рений, который имеет аналогичные химические и физические свойства.

Определили КОЧ от мешающих примесей при одно- и двукратном сорбционном отделении технеция (рения). Применяли имитационный раствор ОВАО (табл. 1) с добавлением раствора рения (2.5 мг/л). После первой стадии сорбции десорбат нейтрализовали раствором NH_3 до концентрации HNO_3 1 моль/л и проводили повторное отделение технеция. В десорбатах определяли содержание мешающих примесей и рения. По результатам измерений вычисляли КОЧ от примесей. Результаты представлены в табл. 7. Относительный выход рения на первой стадии сорбции составил 99.9%, на второй — 74%. Из табл. 7 видно, что КОЧ от мешающих примесей при двукратном выделении по сравнению с однократным увеличились и составили порядка $n \times 10^3 - n \times 10^4$.

Отделение ^{129}I проводили методом экстракции. Определяли полноту отделения ^{129}I в зависимости от времени контакта органической и водной фаз. Результаты эксперимента приведены в табл. 8. Как видно, выход ^{129}I возрастает по мере увеличения времени контакта фаз и достигает максимальных значений при длительности экстракции 20 мин и более.

Далее оценили выход ^{129}I при проведении периодической экстракции, т.е. экстракции вещества из водной фазы отдельными порциями свежего экстрагента. Для этого экстрагировали йод аналогично предыдущему эксперименту при времени контакта фаз 20 мин, к водной фазе добавляли свежую порцию CCl_4 и вновь экстрагировали оставшийся в водной фазе йод. Операцию повторяли в общей сложности три раза. В полученных реэкстрактах определяли активность ^{129}I методом ЖСС. Результаты эксперимента приведены ниже (дана активность ^{129}I , Бк):

Введено	Найдено при экстракции (суммарно)			Доля ^{129}I , перешедшего в экстракт (суммарно), %		
	1 стадия	1–2 стадии	1–3 стадии	1 стадия	1–2 стадии	1–3 стадии
160	145	157	159	91	98	99

Таблица 9. Коэффициенты очистки йода от примесей при экстракции CCl_4

Мешающий РН	Элемент, по которому оценивали КОЧ	Введено, мкг (Бк*)	Найдено, мкг (Бк*)			Полученный КОЧ			Требуемый КОЧ _{тр}
			1-кратная экстракция	3-кратная экстракция	5-кратная экстракция	1-кратная экстракция	3-кратная экстракция	5-кратная экстракция	
^{241}Pu	Pu (стаб.)	10.4	0.35	6.00×10^{-2}	1.78×10^{-2}	29.7	770	4.16×10^6	2.98×10^6
^{63}Ni	Ni (стаб.)	1.92×10^3	113	0.33	7.65×10^{-2}	17.0	1.48×10^4	9.39×10^4	9.07×10^4
^{151}Sm	Sm (стаб.)	52.0	1.2	1.00×10^{-2}	1.51×10^{-3}	43.3	6.23×10^3	1.04×10^7	4.79×10^6
$^{134,135,137}Cs$	Cs (стаб.)	1.56×10^3	66.7	9.00×10^{-2}	1.51×10^{-2}	23.4	1.04×10^5	3.12×10^7	8.92×10^8
^{125}Sb	Sb (стаб.)	15.6	0.95	1.50×10^{-2}	5.00×10^{-3}	16.4	1.04×10^4	3.12×10^7	1.94×10^7
^{14}C	^{14}C	50.0*	90*	—	—	55.5	—	—	40.0
^{79}Se	Se (стаб.)	2.47×10^3	36.6	1.2	0.150	67.5	5.49×10^3	3.80×10^4	7.00×10^3
^{36}Cl	Cl (стаб.)	6.76×10^3	550	—	—	12.3	—	—	1.45
^{99}Tc	^{99}Tc	90.0*	3.0*	3.00×10^{-2} *	$<3.00 \times 10^{-2}$	30.0	3.00×10^3	$>3.00 \times 10^3$	1.60×10^5
^{60}Co	Co (стаб.)	1.30×10^3	54.0	4.35×10^{-2}	5.00×10^{-3}	24.1	4.56×10^4	5.20×10^6	2.41×10^6
^{126}Sn	Sn (стаб.)	78.0	4.9	0.15	1.50×10^{-2}	15.8 ¹	5.20×10^4	1.56×10^6	3.53×10^3
^{94}Nb	Nb (стаб.)	455	44.3	0.35	2.50×10^{-2}	10.3	4.55×10^3	9.10×10^6	1.25
^{90}Sr	Sr (стаб.)	650	37.0	0.24	0.19	17.6	1.26×10^4	1.30×10^7	6.20×10^8
^{152}Eu	Eu (стаб.)	78.0	5.0 ¹	1.50×10^{-2}	2.00×10^{-3}	15.6	7.80×10^3	2.33×10^4	2.23×10^4
^{108m}Ag	Ag (стаб.)	18.2	0.3	33.8	2.9	60.7	182	1.21×10^3	32.0
^{90}Y	Y (стаб.)	286	6.0 ¹	8.35×10^{-3}	5.00×10^{-3}	47.7	8.54×10^4	5.72×10^7	6.23×10^8

Таблица 10. Результаты определения радионуклидов в имитаторе остеклованных высокоактивных отходов

РН	Ориентировочное содержание в имитационном стекле, Бк/г ОВАО	Результат определения, Бк/г ОВАО
^{14}C	4550*	1.9
^{99}Tc	1140*	628
^{129}I	620*	2.9

* Расчет проведен условно, исходя из полного 100%-ного включения в стекло.

Как видно, выход йода закономерно возрастает при увеличении кратности обновления органической фазы и достигает 98% уже при проведении двух последовательных экстракций.

Оценили КОЧ от мешающих примесей при проведении одно-, трех- и пятикратной экстракции. В пробирку с крышкой помещали аликвоту ИР, добавляли растворы Co, Nb, KI, ОРР ^{14}C и ^{99}Tc . Далее проводили экстракцию и реэкстракцию йода. Из полученного реэкстракта вновь экстрагировали йод. Операцию экстракции/реэкстракции повторяли пять раз. После разделения фаз определяли содержание примесных элементов в водной фазе и в реэкстракте, используя метод ЖСС для определения ^{14}C , метод МС-ИСП для определения ^{99}Tc , метод ионной хроматографии для определения хлорид-ионов и метод МС-ИСП для остальных мешающих элементов. При вычислениях учитывали результаты “холостого” опыта, проведенного с использованием 2 М HNO_3 . По полученным данным вычисляли КОЧ от примесей. Результаты эксперимента представлены в табл. 9. Из таблицы видно, что однократная экстракция не позволяет достичь необходимых КОЧ от большинства мешающих элементов. Исключение составили Cl, ^{14}C и Ag. Требуемые КОЧ достигнуты только при 5-кратной экстракции для всех мешающих элементов, за исключением Y, Cs и Sr. При этом содержание этих элементов в реэкстракте после 5-кратной экстракции соизмеримо с содержанием ^{129}I , что приведет к повышению нижней границы диапазона измерений удельной активности на порядок и составит ориентировочно 1 Бк/г ОВАО, что не превышает ожидаемую удельную активность ^{129}I в пробе.

Анализ имитатора остеклованных радиоактивных отходов с радионуклидными метками. Перед анализом имитатора стекло измельчали в металлической ступке до порошкообразного состояния. Из порошка отбирали навески пробы и определяли определяемый радионуклид согласно выбранному подходу. В очищенном растворе измеряли активность радионуклида и вычисляли удельную активность радионуклида в имитаторе ОВАО. Ре-

зультаты измерений приведены в табл. 10. Как видно, удельные активности радионуклидов ^{99}Tc , ^{14}C и ^{129}I в образце стекла значительно ниже, чем введенные на стадии варки, что объясняется их уносом с газовой фазой в процессе термического воздействия. Коэффициент уноса ^{99}Tc , ^{14}C и ^{129}I составил 45, 99.9 и 99.5% соответственно. Данные коэффициенты могут быть применены для оценки их ориентировочных содержаний в остеклованных высокоактивных отходах при известном исходном содержании в ОЯТ.

Таким образом, установлены оптимальные условия определения радиоэкологически значимых РН ^{14}C , ^{99}Tc и ^{129}I для последующего их определения их УА в ОВАО ПО “Маяк”. Для эффективно-го отделения ^{14}C предложено проводить трехкратную отгонку углерода в виде CO_2 , для ^{99}Tc – двукратное экстракционно-хроматографическое отделение на полистироле, импрегнированном МТОАН, для ^{129}I – 5-кратную экстракцию CCl_4 . Выбранные способы пробоподготовки опробованы при анализе имитатора ОВАО с метками радионуклидов. Разработанные подходы предполагается использовать при анализе накопленных ОВАО ПО “Маяк”. Полученные результаты будут учтены при моделировании инженерных барьеров безопасности пункта глубинного захоронения радиоактивных отходов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Федеральный закон от 11.07.2011 № 190-ФЗ (ред. от 21.12.2021) Об обращении с радиоактивными отходами и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации. СПС Консультант Плюс.
2. <http://фцп-яр62030.рф>. Сайт федеральной целевой программы “Обеспечение ядерной и радиационной безопасности на 2016–2020 годы и период до 2030 года” (18.04.2023).
3. Богатов С.А., Блохин П.А., Козлов П.В., Ремизов М.Б. Оценочный расчёт активности некоторых долгоживущих радионуклидов в составе РАО класса 1 – остеклованных ВАО, образующихся при переработке ОЯТ реакторов ВВЭР // Вопросы радиационной безопасности. 2019. № 2. С. 39.
4. Богатов С.А., Блохин П.А. Усредненные оценки удельной активности и тепловыделения остеклованных высокоактивных отходов, накопленных на ФГУП “ПО “Маяк” // Вопросы радиационной безопасности. 2021. № 3. С. 3.
5. Suarez J.A., Espartero A.G., Rodriguez M. Radiochemical analysis of ^{129}I in radioactive waste streams // Nuclear instruments and methods in physics research. Section a: accelerators, spectrometers, detectors and associated equipment. 1996. V. 369. № 2–3. P. 407.

6. Measuring extremely low levels of alpha and beta activity. 1220 Quantulus. LKB Wallac: Prospect, 1987. 8 p.
7. *Bucur C., Fulge M., Tudose A.* ^{14}C content in CANDU spent fuel claddings and its release under alkaline conditions // *Radiocarbon*. 2018. V. 60. № 6. P. 1773.
8. *Момотов В.Н., Верин Е.А.* Определение удельной активности углерода-14 в образцах смешанного нитридного топлива уран-плутониевого облученного ядерного топлива // *Радиохимия*. 2021. № 3. С. 276.
9. *Устинов О.А., Якушин С.А.* Технеций в газовых выбросах технологии остекловывания радиоактивных отходов (обзор научно-технической информации) // *Радиохимия*. 2021. Т. 63. № 4. С. 303.
10. *Kolacinska K., Rylacinska K., Samczynski Z., Dudek J.* A comparison study on the of Dowex 1 and TEVA-resin in determination of ^{99}Tc in invironmental and nuclear cooiant samples in a SIA system with ICP-MS detection // *Talanta*. 2018. V. 184. P. 527.
11. *Tagami K., Uchida S.*, Determination of ^{99}Tc in rain and dry fallout by ICP-MS // *J. Radioanal. Nucl. Chem*. 1995. V. 197. № 2. P. 409.
12. *Villar M., Avivar J., Ferrer L.* Automatic in-syringe dispersive liquid–liquid microextraction of ^{99}Tc from biological samples and hospital residues prior to liquid scintillation counting // *Anal. Bioanal. Chem*. 2015. V. 407. № 19. P. 5571
<https://doi.org/10.1007/s00216-015-8761-8>