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

На правах рукописи

ЦЫГУЛЁВА ЭЛЬМИРА ИРШАТОВНА

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

Специальность 1.4.2 – Аналитическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор Доронин Сергей Юрьевич

Саратов 2024

Работа выполнена на кафедре аналитической химии и химической экологии Института химии ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г.Чернышевского»

ОГЛАВЛЕНИЕ

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

4.2. Факторы, влияющие на фазовое разделение системы I:	
фенолы - 4-нитрофенилдиазоний	77
4.3. Особенности фазового разделения в системе II:	
фенолы – 4-аминоантипирин – K ₃ [Fe(CN) ₆] – неионный ПАВ	84
4.3.1. Влияние температуры на характер фазового разделения	84
4.3.2. Варьирование концентрации Тритона Х-100	86
4.3.3. Изучение влияния концентрации Na ₂ SO ₄ на систему: фенол -	
4-аминоантипирин - K ₃ [Fe(CN) ₆] - Na ₂ CO ₃ - Тритон X-100	87
4.4. Фазовое разделение в системе III: фенолы - реактив Фолина-	
Чокальтеу - неионный ПАВ	89
4.4.1. Исследование характера фазового разделения от	
температуры	89
4.4.2. Влияние природы неорганических высаливателей на	
фазообразование	90
4.4.3. Варьирование концентрации неионного ПАВ	96
ГЛАВА 5. Практическое применение результатов исследований	103
5.1. Спектрофотометрическое определение фенолов с	
предварительной мицеллярной экстракцией	104
5.2. Цветометрическое определение фенолов с применением	
математической обработки окрашенных зон цветовых изображений	109
5.3. Цветометрическое и ВЭЖХ определение 1- и 2-нафтолов	
в их смесях	115
5.4. Примеры определения фенолов в модельных растворах и	
реальных объектах. Оценка правильности результатов	120
Выводы	124
Список использованных источников	127

Сокращения и обозначения

- АОА антиоксидантная активность;
- аПАВ анионное ПАВ;
- БАД биологически активные добавки;
- ВАМ вольтамперометрический метод;
- ВЭЖХ высокоэффективная жидкостная хроматография;

Генапол Х-080 - моноалкиловый эфир полиэтиленгликоля;

- ГК галловая кислота;
- ГХ газовая хроматография;
- ГХ газовая хроматография;
- ДОС диапазон определяемых содержаний;
- ИП интегральный показатель;
- ККМ критическая концентрация мицеллообразования;

кПАВ – катионное ПАВ;

- КЭ капиллярный электрофорез;
- ЛД лепестковые диаграммы;
- МС масс-спектрометрия;
- нПАВ неионное ПАВ;
- ОП-10 полиэтилированный эфир диалкилфенола;
- ПАВ поверхностно-активное вещество;
- ПДК предельно допустимая концентрации;
- ПрО предел обнаружения;
- ПЭГ 6000 полиэтиленгликоль;
- СФМ спектрофотометрический метод;
- Твин-80 полиоксиэтилен сорбитан моноолеат;
- Тритон X-100 полиэтиленгликоль *n*-(*1*, *1*, *3*, *3*-тетраметилбутил)-фениловый эфир;
- Тритон X-114 полиэтиленгликоля моно(тетраметилбутанол) фениловый эфир (n = 7-8);
- УЗ ультразвук;
- ФА фенольные антиоксиданты;
- ФЧ Фолин-Чокальтеу;
- ЦФК цифровая фотокамера;
- ЭХМ- электрохимические методы анализа;
- ЯМР-ядерный магнитный резонанс;
- 4-АА 4-аминоантипирин;
- 4-НА 4-нитроанилин;
- АСМ ацетонитрил;
- ATPS, aqueous biphasic systems, two-phase systems водная двухфазная система;

- LDH слоистые двойные гидроксиды;
- *D* коэффициент распределения;
- *Q* сорбционная емкость;

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

dw-сухой вес;

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

GAE – эквивалент галловой кислоты;

- *R*, % степень извлечения;
- Sr относительное стандартное отклонение;

 S_r , %-стандартное отклонение;

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

 τ (ч, мин) – время;

рК_а – константа диссоциации;

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

TPC – total phenolic content (общее содержание фенолов).

Введение

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

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

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

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

systems, two-phase systems, ATPS) с формированием фаз без дополнительного нагревания при температуре 20 – 25°С. Такие варианты применимы для концентрирования аналитов как неорганической, так и органической природы с коэффициентов высокими значениями извлечения, сочетаются co спектрофотометрией, ВЭЖХ. капиллярным электрофорезом, мицелярноэлектрокинетической хроматографией. Развитие и совершенствование указанных способов концентрирования фенолов системами на основе дифильных соединений (неионных ПАВ (нПАВ), их смесей с ионными ПАВ) актуально для разработки способов их *тест*-определения.

<u>Цель исследования</u> – разработка способов мицеллярно-экстракционного концентрирования окрашенных производных фенола и его некоторых замещенных для цветометрического, *mecm*- и спектрофотометрического определения.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Спектрофотометрически исследовать реакции взаимодействия фенола, резорцина, флороглюцина, тимола, *1-, 2-*нафтолов с *4-*нитрофенилдиазонием, *4-*аминоантипирином, реактивом Фолина-Чокальтеу (ФЧ) в водной среде.

2. Изучить концентрирование окрашенных производных исследуемых фенолов с применением СР-методологии и ATPS в политермическом и изотермическом режимах.

3. Установить закономерности фазообразования в водных растворах неионных и катионных ПАВ в присутствии компонентов исследованных систем при варьировании pH, концентрации реактантов, природы растворителя и высаливателей.

4. Выявить факторы для раздельного и суммарного колориметрического определения исследуемых производных фенола, сконцентрированных в жидкие мицеллярные фазы нПАВ (их комбинации с кПАВ), для разработки тест-методов их определения, основанных на математической обработке цифровых изображений окрашенных мицеллярных фаз.

5. Применить полученные закономерности мицеллярно-экстракционного концентрирования аналитических форм фенолов для их колориметрического определения в водных объектах.

Научная новизна.

- Впервые предложена СР-методология концентрирования мицеллярнонасыщенными фазами нПАВ окрашенных производных фенола и его некоторых замещенных с последующим их *mecm*-определением на уровне долей ПДК.

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

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

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

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

Предложенные экстракционные системы для предварительного концентрирования окрашенных аналитических форм фенола (его некоторых замещенных) с последующим тест-определением позволило осуществлять их экспресс-оценку на уровне сотых долей ПДК с меньшей погрешностью в природных и питьевых водах.

Разработанные способы позволяют проводить как суммарное, так и

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

Автор выносит на защиту.

Особенности реакций исследованных фенолов с
 4-нитрофенилдиазонием, 4-аминоантипирином, реактивом ФЧ в водной среде и
 в присутствии различных ПАВ (неионных и катионных), их смесях;

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

3. Результаты мицеллярно-экстракционного концентрирования фенола, резорцина, флороглюцина, тимола, *1*- и *2*-нафтолов мицеллярно-насыщенными фазами неионных и катионных ПАВ, для создания тест-методов их определения, основанных на математической обработке цифровых изображений окрашенных зон.

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

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

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

Основные результаты работы доложены на XI Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии» (Саратов, 2016), X Всероссийской

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

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

<u>Структура и объём работы.</u> Диссертация состоит из введения, пяти глав, выводов, библиографического списка, состоящего из 110 наименований. Работа изложена на 139 листах, включает 26 таблиц и 79 рисунков.

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

и установлены причины нецелесообразности их применения в отсутствие органических растворителей или организованных сред ПАВ. В четвертой главе найденных условий приведены результаты раздельного и суммарного колориметрического определения исследуемых производных фенола, сконцентрированных в жидкие мицеллярные фазы ПАВ, для разработки *тест*вариантов определения, основанных на математической обработке ИХ цифровых изображений окрашенных 30H. Приведены количественные характеристики соответствующих экстракционных процессов. Пятая глава практическому применению закономерностей посвящена установленных мицеллярно-экстракционного концентрирования аналитических форм фенолов для разработки методик спектрофотометрического и цветометрического определения в водных объектах. В заключении обсуждается соответствие полученных результатов ранее поставленным задачам, намечены перспективы дальнейших исследований.

ГЛАВА 1. Обзор литературы

1.1. Мицеллярно-экстракционное концентрирование и определение фенолов

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

В литературе представлены обзоры [2, 12-40], в которых сведены данные о безэкстракционных методах идентификации и количественного определения фенолов и их производных. Одни авторы фокусируются на подробном обсуждении результатов изучения фенолов как пищевых добавок [24] и фитохимикатов [33]. Другие авторы основываются на описании различных определения каких-либо фенолов (процедуры методов экстракции С использованием сверхкритических жидкостей, микроволн, ультразвука [34]), (экстракция сверхкритической жидкостью [36]). В работе [37] автором были описаны методы экстракции и процедуры с использованием ВЭЖХ и СФМ для определения фенольных соединений в рисе. Таким образом, можно сделать вывод о многих попытках систематизации сбора, сортировки и классификации различных методов определения фенолов и их производных (табл. 1.1).

Для определения фенолов применяют такие методы анализа как: хроматографический [1-2, 4, 6-9, 11, 14-15, 21-23, 27, 29-30, 32-33, 35-37, 39-40], спектрофотометрический (СФМ) [1, 4-5, 16, 18-19, 25, 28, 30-32, 35, 37-38, 41], электрохимические [12-13, 17], спектроскопические [1, 22], а также капиллярный электрофорез [10, 33].

Таблица 1.1. Некоторые характеристики методик безэкстракционного определения фенолов

№ п/п	Аналит	Объект	Реагент, (условия определения)	Метрологические характеристики (ДОС, ПрО, Sr)	Метод определения	Лит -ра
1	2	3	4	5	6	7
1	<i>n</i> -Нитрофенол, <i>n</i> -хлорфенол, 2,6-дихлорфенол, 2,3-дихлорфенол	Вода	MON-COOH	ПрО = 0.13-0.62 мкг/л	ВЭЖХ	2
2	Фенол	Вода	NH4VO3, H3PO4 графитовый порошок,	ПрО =30 нМ	BAM	12
3	2-Хлорфенол, 2,4-дихлорфенол, 2,4,6-трихлорфенол, 2,4-диметилфенол, 4-нитрофенол, фенол	Воды	Электрохимические и оптические сенсоры на основе фенолоксидазы	ПрО =0.86 (±0.1) мкг/л	ЭХМ	13
4	2,4- Динитрофенол, 2,4- дихлорфенол	Вода	Супрамолекулярный неионный растворитель с добавлением нПАВ, покрытого магнетитовым активированным углем	ПрО = 0.0318-0.0384 мкг/л	ВЭЖХ	14
5	Фенол, Нитро, хлорпроизводные фенола, 1-нафтол, бисфенол A, B, C	Почва, питьевая вода, фрукты	Смесь гидроксидов железа, модифицированные магитополимером	ПрО = 0.01-0.3 мкг/л	ВЭЖХ	15
6	Фенол	Вода	Гибридные тройные полимерные нанокомпозиты с многостенными углеродными нанотрубками и графеновыми нанопластинами	ПрО = 2.94 нмоль/л	ЭХМ	17
7	Фенол	Вода	Zn ₄ Al-LDH	-	СФМ	18
8	Фенол	Вода	Хитозаново-гидрогелевый каркас, модифицированный углеродными нанотрубками	$Q = 404.2 \pm 2.10$ мг/ г	СФМ	19

Продолжение таблицы 1.1

1	2	3	4	5	6	7
9	<i>о</i> -Крезол, 2-хлорфенол, резорцин, фенол	Вода	1-этил-3-метилимидазолий бис(фторсульфонил) имидазида	ПрО = 1 мг/ л	СФМ	20
10	Бисфенол А, 4-нонилфенол, 4-октилфенол	Мясо	Fe ₃ O ₄ , ACN	ПрО = 1.4-8.7 мкг/л	ВЭЖХ	21
11	Фенолокислоты, флавоноиды, фенолоспирты	Семена масличных культур	Fe ₃ O ₄ -rGO, CH ₃ OH, ACN	$\Pi pO = 0.02$ -90.00 мкг/кг	ЖХ	22
12	Фенол, нитро-, метил-, хлорпроизводные фенола	Вода	Ковалентный триозиновый каркас/Fe ₂ O ₃ ,CH ₃ OH, ACN	ПрО = 0.09-0.53 нг/мл	ВЭЖХ-УФ	23
13	Фенолы	Сточные воды оливковых мельниц	H ₂ O ₂ и соли железа	ПрО =50-100 мг/л	-	24
14	Фенолы	Бурые виды морских водорослей	Водно-этанольная смесь, реагент Фолина–Чокальтеу, Na ₂ CO ₃	ТРС(общее содержание фенола) с концентрацией до 173.65 мг экв. ГК / г экстракта	ГХ-МС	25
15	Фенол, 2-метоксифенол, 2-метокси- <i>n</i> -крезол, 4-этил-2-метоксифенол, 2,6-диметоксифенол, 1 - (4-гидрокси-3-5- диметоксифенил)-этанон	Модельное масло, каменноугольн ая смола	Этилацетат, NaOH, C ₂ H ₅ OH, <i>1</i> -октен, HClO ₂ , холин	ПрО = 0.02 мкг/л	ГХ-МС	26
16	Фенолы	Бионефти	Дикатионные ионные жидкости	ПрО= 3.9 г/дм ³ , R=97%	ΓХ	27
17	Фенолы	Яблочные выжимки	Реагент Фолина–Чокалтеу, Na ₂ CO ₃ , C ₂ H ₅ OH	АОА=5.63 ± 0.10 мг ЧАЯ/г экстракта	ВЭЖХ	28
18	Фенолы	Виноградные выжимки	Реагент Фолина–Чокалтеу, Na ₂ CO ₃ , смесь этанола и воды	Общие фенольные соединения (ТРС) 65.68 мг GAE/ г	ВЭЖХ	29
19	Фенолы	Листья оливы	Смесь этанол–вода (60:40), реагент Фолина–Чокалтеу, Na ₂ CO ₃	ПрО = 0.18 – 115 г/кг	ВЭЖХ	30

1	2	3	4	5	6	7
20	Фенол, <i>о</i> -крезол, резорцин	Вода	Неароматический (1-гексил-1- метилпирролидиний бис(трифторметилсульфонил) имидида, и ароматический (1-гексил-3- метилимидазолий бис(трифторметилсульфонил)имидный	ПрО = 100 мг/л	СФМ	31
21	Флавоноиды, гидроксибензойные кислоты	Апельсиновые корки	Смесь этанол– деионизированная вода, давление	$\Pi pO = 19.3 \pm 0.9 \text{ mg/r}$	ВЭЖХ, СФМ	32
22	Флоротаннин	Бурые водоросли	Полярные/неполярные растворители (этанол, метанол), реагенты Фолина– Чокальтеу, Фолина–Дени, берлинская лазурь	Общие фенольные соединения (ТРС) 277 мг GAE/ г	ВЭЖХ, КЭ, ЯМР	33
23	Фенолы	Агропродоволь ственные отходы	C ₂ H ₅ OH, CH ₃ OH, ацетон	0.7 – 114.7 мг GAE/ г	-	34
24	Фенолы	Кожура винограда	Смесь этанол–вода; ультразвук; реагент Фолина–Чокальтеу, Na ₂ CO ₃	ДОС = 0.0078-0.192 мг/мл	СФМ, ВЭЖХ	35
25	Фенольные кислоты и флавоноиды	Природные растительные материалы	СО ₂ , давление, температура, сорастворители (С ₂ H ₅ OH, H ₂ O, CH ₃ OH)	Общие фенольные соединения (ТРС) 27.1 мг GAE/г	ГХ, ВЭЖХ, МС	36
26	Фенольные кислоты, флавоноиды, проантоцианиды	Рис	Смесь ацетон/ вода, смесь ацетон/вода/уксусная кислота; NaOH, α-амилаза; peareнт Фолина–Чокалтеу; AlCl ₃ , ванилин	-	ВЭЖХ, СФМ	37
27	Фенолы	Листья грецкого ореха	Смесь этанол: вода	ПрО = 470.03 мг/кг	СФМ	38
28	Фенол	Нефтяные смеси	<i>1,3</i> -диметилксантин, Изоникотинамид, L-лизин	ПрО = 1.57 г/л 1.64 г/л, 1.77 г/л	ГХ- МС	39
29	Бисфенолы, <i>4-трет-</i> октилфенол	Вода и молоко	Fe ₃ O ₄ -олеиновая кислота, HCl, NaOH	ПрО = 0.09-0.17 мкг/л;	ВЭЖХ	40

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

Для определения малых содержаний фенолов в природных объектах используют различные способы выделения и концентрирования: жидкостножидкостную экстракцию (в том числе жидкостную микроэкстракцию) [5, 26, 28, 30, 32], твердофазную экстракцию [2, 21-23, 40], сорбционные методы [12, 14-15, 18-20], экстракцию в «точке помутнения» [1, 3, 6-11, 16, 41].

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



Рисунок.1.1. Схема процесса фазового разделения растворов ПАВ, содержащих аналит.

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





ниже ККМ молекулы ПАВ выше ККМ образуются присутствуют в виде мономеров мицеллы Рисунок 1.2. Схема образования мицелл ПАВ.

Образование мицелл может быть достигнуто при комнатной температуре при добавлении сильного электролита, например, Na₂SO₄, явление, называемое эффектом высаливания. После образования мицелл разделение фаз может быть достигнуто и ускорено центрифугированием. Разделение фаз происходит в основном за счет дегидратации полярных групп ПАВ при нагревании. Это уменьшает отталкивания между молекулами мицелл и, следовательно, способствует их агрегации.

Требования СР.

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

2. Поверхностно-активные вещества являются важнейшими реагентами в СР. Они необходимы для образования мицелл, которые захватывают материал, подлежащий разделению. Они представляют собой амфипатические молекулы, состоящие из неполярной цепи с заряженной или полярной неионной головкой. Неионные типы ПАВ наиболее широко применяют в CP. Они водорастворимы, их ионизация очень слабая. Примерами коммерческих ПАВ являются серии Triton X, такие как Triton X-100 (полиоксиэтилен-9,5октилфеноксиэфир) и Triton X-114 (полиоксиэтилен-7,5-октилфеноксиэфир). Они представляют собой полиоксиэтилен по своей природе с общей формулой RO(CH₂CH₂O)_nH. Неионные ПАВ являются относительно высокостабильными и не подвержены влиянию рН. Амфипатическая их природа повышает растворимость как в воде, так и в органических растворителях [1].

На характер и количественные характеристики СР-эстракции оказывают влияние различные факторы, например, температура, солевой эффект, pH, природа ПАВ [3].

В большинстве работ определение фенолов после проведения СРэстракции осуществляют спектрофотометрически или различными вариантами ВЭЖХ (табл. 1.2). Так в работе [1] автором рассмотрена СР-методология для разделения и предварительной концентрации фенолов. Представлена процедура СР для их извлечения из сточных вод оливкового завода с использованием Triton X-100 в качестве экстрагирующего растворителя. Степень извлечения составила 66.5% после применения одноэтапного СР. Приведены методики СР для извлечения фенола, 4-метилфенола и 4-нитрофенола из водных растворов с использованием оксиэтилированных метилдодеканоатов в качестве ПАВ в присутствии электролита высаливания - NaCl.

В работе [3] изучены эффективность и кинетика извлечения фенола из водных растворов с использованием нПАВ (неонолы AF9-8, AF9-9, AF9-10 и AF9-12; этоксилированные жирные спирты C12E4 и C12E5; плюроники PE6200 и 6400; и синтанол Brij 35) при температуре точки помутнения.

№ п/п	Аналит	Объект	ПАВ, (реагент)	Метрологические характеристики (ДОС, ПрО, Sr,R)	Метод опреде- ления	Лит- ра
1	2	3	4	5	6	7
1	Фенол, 4-метилфенол, 4-нитрофенол	Вода	Тритон X-100, NaCl	R = 66.5%	ВЭЖХ, СФМ	1
2	Фенол	Водные растворы	Неонолы АF9-8, AF9-9, AF9-10, AF9-12, этоликсированные жирные спирты C12E4, C12E5, плюроники PE6200, PE6400, синтанол Brij 35	R = до 80%	ЯМР	3
3	Фенол	Вода	4-ААР, К ₃ [Fe(CN) ₆], NH4OH дихлорметан, трихлорметан, CCl ₄ , гексан, гидрофосфат калия, NaOH, HCl	ДОС = 5.0-300 мкг/л; ПрО = 1.7-5.7 мкг/л	СФМ, ВЭЖХ, ГХ	4
4	Фенол, 4-хлорфенол, 2,4-дихлорфенол	Вода	4-AAP, K ₃ [Fe(CN) ₆], H ₂ O ₂ , NH ₄ OH, метанол, этанол, изопропанол, ацетон, ACN, дихлорметан, хлороформ, KCl, MgSO ₄ , Na ₂ CO ₃	ПрО = 0.10-0.22 мкг/л	СФМ	5
5	Гидрохинон, резорцин, катехол, фенол, β- нафтол, бисфенол А, α- нафтол, 4-m-бутилфенол, 4-m- октилфенол, нонилфенол, октилфенол, 4-н-нонилфенол	_	ACN, Тергитол 15-S-7, Na ₂ SO ₄ , фосфатный буфер	ПрО = 0.03-8.5 мкг/л	ВЭЖХ	6

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

Продолжение таблицы 1.2

1	2	3	4	5	6	7
6	Фенол	Сточные воды для переработки оливок	Генапол X-080, Тритон X-100, Твин-80, NaOH, HCl, pH=2, 70°C	R= 62% (Твин-80) R= 65% (Тритон X-100) R= 68% (Генапол X-080)	ВЭЖХ	7
7	Алкилфенол, 4-н-пропилфенол, 4-т- бутилфенол, 4-аминофенол, 4-гексилфенол	Вода	20 % ПЭГ 6000, 0.6 M Na2SO4, ACN	ПрО = 0.18-0.42 мг/л	ВЭЖХ	8
8	Фенол, <i>о</i> -крезол, <i>м</i> -крезол, <i>n</i> -крезол, 2,4- диметилфенол	-	Тергитол 15-S-7, <i>н</i> -пентанол, 0,2 M Na ₂ SO ₄ , буферный р-р цитрата натрия с гидрофосфатом натрия, pH = 4,0	ПрО = 0.061-0.166 мкг/л; S _r = 1.7-5.0%; ДОС = 0.25–480 мкг/л	ВЭЖХ	9
9	Фенол, <i>м</i> -нитрофенол, бисфенол А, α-нафтол, β-нафтол	Вода	Тритон X-114, NaCl, HCl, NaOH,	ПрО (фенол) = 2·10 ⁻⁶ M ПрО (м-нитрофенол) = 2.5·10 ⁻⁶ M ПрО (бисфенол A) = 0.50 мкг/л ПрО (α-нафтол) = 0.24 мкг/л ПрО (β-нафтол) = 0.20 мкг/л	КЭ	10
10	Алкилфенол, 4-н-пропилфенол, 4-т- бутилфенол, 4-аминофенол, 4-гексилфенол	Вода	ПЭГ 6000, Na ₂ SO ₄ , ACN	ПрО = 0.18-0.42 мг/л	ВЭЖХ	11
11	Фенол	Вода	β-Циклодекстрин, Тритон X-100, NaOH, Na ₂ CO ₃ ,	R = 91.9-116.1%	СФМ	16
12	Фенолы и флавоноиды	Кожура граната	Тритон X-114, NaCl, ст. р-р галловой кислоты, CH ₃ OH, реагент Фолина–Чокалтеу, Na ₂ CO ₃	тон X-114, NaCl, ст. р-р повой кислоты, CH ₃ OH, Фолина–Чокалтеу, Na ₂ CO ₃		41

1	2	3	4	5	6	7
13	Фенол, <i>2,4</i> -дихлорфенол, β-нафтол, бисфенол А	Вода	Na ₂ SO _{4,} ацетон/н-гексан (1:3)	ПрО = 0.01- 1.0 г/л	ГХ–МС	42
14	Фенол	Вода	4-ААР, K ₄ [Fe(CN) ₆], буферный раствор (хлорид аммония), хлороформ	$\Pi pO = 2$ мкг /л	-	43
15	Фенол, 3-метилфенол, 4-нитрофенол, 2-хлорфенол, <i>m</i> -бутилфенол	Вода	Уксусный ангидрид, 2,4-дибромэтан	$\Pi \mathrm{pO} = 0.1$ - 0.9 мкг л $^{-1}$	ГХ	44
16	Фенолы	Винный осадок	Лецитин, NaCl, pH 3	-	метод DPPH	45

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

В работе [4] приведены методики для определения фенола в водах с использованием колориметрической системы на базе смартфона. Они основаны на реакции фенола с 4-аминоантипирином в присутствии окислителя, образуя коричнево-оранжевого цвета продукта, который извлекался при помощи ультразвуковой дисперсионной жидкостно–жидкостной микроэкстракции с последующей регистрацией параметров цветности - значений RGB. В оптимизированных условиях достигнут рабочий диапазон от 5.0 до 300 мкг/л фенола, предел обнаружения и предел количественного определения составили 1.7 и 5.7 мкг/л соответственно.

В работе [5] предложена СР-экстракция в сочетании с дисперсионной жидкость-жидкостной микроэкстракцией для извлечения и предварительной концентрации фенола и хлорфенолов в пробах воды. При оптимальных условиях калибровочные кривые были линейными в диапазоне 1-300 мкг/л, а предел обнаружения находился в диапазоне 0.10–0.22 мкг/л. Коэффициенты извлечения и обогащения варьировались от 94.80% до 106.1% и от 78.12 до 82.53 соответственно.

В работе [6] авторами предложен чувствительный метод, основанный на СР-экстракции для разделения и концентрирования 12 фенольных соединений из вод ООС для последующего анализа методом ВЭЖХ. В качестве экстрагента применяли нПАВ - Тергитол 15-S-7. В оптимальных условиях все коэффициенты корреляции были выше 0.997, а пределы обнаружения для анализируемых фенолов варьировали от 0.03 до 8.5 мкг/л.

Реализована [7] СР-экстракция для предварительного концентрирования природных фенолов из сточных вод переработки столовых оливок с использованием трех различных неионных ПАВ: Genapol X-080, Triton X100 и Tween 80. Оптимальные условия для СР фенольных соединений были изучены в отношении различных экспериментальных параметров, концентрации ПАВ,

рН раствора, температуры. Степень извлечения для каждого из неионных ПАВ составила: 62% (Твин-80), 65% (Тритон X-100), 68% (Генапол X-080).

В работах [8,9] авторами представлены варианты предварительного концентрирования и определения фенолов и хлорфенолов в образцах воды, основанные на быстром синергетическом СР-извлечении. В качестве экстрагента применен раствор Тергитола 15-S-7. Диапазон обнаружения фенолов в работе [8] составил от 0.275 до 0.419 мг/мл. Разработанная методика была успешно применена для количественного анализа фенолов в пробах воды со степенью извлечения ≥ 90.0%. В работе [9] Диапазон относительных стандартных отклонений составил 1.7%-5.0%, a диапазон пределов обнаружения составил 0.061–0.166 мкг/л.

В работе [10] разработан двойной вариант СР для анализа фенола и м-нитрофенола. Данный метод применяется как метод обогащения образца для капиллярного электрофореза. При такой СР-экстракции извлечение фенолов проводилось два раза для одного образца. На первом этапе СР-экстракция проводилась аналогично традиционной СР. Вторым этапом водный раствор лиганда добавляли к фазе, богатой ПАВ, для образования гидрофильного комплекса анализируемым веществом, после нагревали с чего И центрифугировали раствор. В качестве экстрагента использовали Тритон Х-114. Были получены следующие данные: ПрО (фенол) = 2.10⁻⁶ моль/л, ПрО (м-нитрофенол) = $2.5 \cdot 10^{-6}$ моль/л, ПрО = (бисфенол A) = 0.50 мкг/л, ПрО $(\alpha$ -нафтол) = 0.24 мкг/л, ПрО (β -нафтол) = 0.20 мкг/л.

В работе [11] авторами разработана быстрая синергетическая экстракция на основе точки помутнения для девяти алкилфенолов в сочетании с ВЭЖХ с флуоресцентным детектором. НПАВ полиэтиленгликоль 6000 (ПЭГ 6000) выбран в качестве экстрагента. Ацетонитрил использовали в качестве восстановителя и синергического реагента с Na₂SO₄ для снижения температуры «точки помутнения» экстрагента до комнатной температуры. Эффективность извлечения девяти алкилфенолов варьировалась от 91.4% до 99.5%. Хорошая линейность (r > 0.994) была получена в диапазоне 0.6–200 мкг/л для восьми

алкилфенолов и 1.8–600 мкг/л для нонилфенола. Одновременно метод показал низкий предел обнаружения (0.17–0.39 мкг/л).

В работе [16] описан простой и недорогой способ СР-экстракции для проб воды извлечения фенола из перед его спектрофотометрическим определением. Два варианта СР были разработаны на основе Тритона X-100/ β-циклодекстрина (TX-100/β-CD) с использованием электролитов гидроксида и карбоната натрия соответственно в качестве агентов, вызывающих разделение фаз. В оптимизированных условиях CP-(TX-βCD)-NaOH был выбран для извлечения фенола ИЗ реальных проб воды из-за его превосходных характеристик по сравнению с СР-(ТХ-ВСD)-Na₂CO₃. Эффективность извлечения фенола в реальных образцах воды находилась в диапазоне 91.9 - 116.1%.

В работе [41] авторами представлена экстракция на основе точки помутнения для предварительного концентрирования и отделения биоактивных соединений из кожуры граната. Проведена оптимизация для отделения общих фенолов и флавоноидов с максимальным извлечением (% R), коэффициентов разделения (Ks/a), концентрации фракции (fc), используя композитную конструкцию (RCCD). Оптимальные условия составляли 8.22% ПАВ (Triton X-114), 4%-ый раствор соли (NaCl) при температуре 36.80°C и pH 4, что приводило к 95% извлечению фенолов.

В работе [42] изучен новый дисперсионный способ жидкость-жидкостной микроэкстракции, основанный на температурном разделении фаз, индуцированного полимером - циклодекстрин-поли (N-изопропилакриламид) (-CD-PNIPAM), для определения фенола, 2,4-дихлорфенола, β -нафтола и бисфенола А. Затем вводили 200 мл экстрагента ацетон/н-гексан (1 : 3), и фенолы десорбировали из -CD-PNIPAM под воздействием ультразвука в течение 5 мин. Пределы обнаружения для всех анализируемых веществ варьировались от 0.01 до 1.0 г/л.

Предложено [43] простое и портативное устройство на основе смартфона для определения фенольного индекса. Способ основан на комбинации микроэкстракции и зондирования с помощью смартфона. Фенол реагировал с

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

В работе [44] предложена дисперсионная жидкофазная микроэкстракция для извлечения фенола, *3*-метилфенола, *4*-нитрофенола, *2*-хлорфенола, *трет*-бутилфенола, из водных сред, с последующим ГХ-определением. В оптимальных условиях калибровочные графики линейны в диапазоне 1-500 мкг/л с пределами обнаружения от 0.1 до 0.9 мкг/л и повторяемостью в диапазоне от 2.6 до 10.0%.

Предложен вариант [45] СР для извлечения фенольных соединений из отходов винного осадка с использованием лецитина в качестве поверхностноактивного вещества. Согласно результатам при использовании нескольких стадий СР, концентрации ПАВ 5%, рН 3 и температуры 40°С были оптимальными условиями для отделения фенольных соединений от винного осадка с использованием лецитина в качестве нПАВ.

1.2. Интегральные характеристики в анализе вод

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

В зависимости от технологического процесса производства, компонентный состав фенольных соединений в исследуемых пробах разнообразен (табл. 1.3). Поэтому определение индивидуального состава (т.е. какие фенолы и в каком количестве) фенольных соединений характеризуется низкой точностью результатов анализа [50].

	Относительные расчетнь	Ie	
	По степени обобщения	По характеру	По формам
Натуральные	и формализации	отображаемой	выражения
		информации	
1)	1) Статистические	1) Покомпонентные	1) Коэффициенты
Дифференцированные	(среднее	(отображают ЗВ	загрязненности
(характеризуют	арифметическое и	отдельными	(комплексные оценки
только	среднее ВЗ: мода,	компонентами: СГ,	первого, реже второго
одно свойство: Cl ⁻ ,	медиана и др.);	Ca ²⁺ и др.);	уровня обобщения:
SO ₄ ²⁻ , Ca ²⁺ и др.);			КЗ);
	2) Косвенные	2) Групповые	
2) Групповые	(кратность	(информация по	2) Индекс качества
(информация об	и повторяемость	отдельным группам	(загрязненности)
отдельных группах	случаев превышения	однородных	(«относительная
химических веществ:	ПДК);	химических веществ:	числовая величина,
БПК, ХПК и др.);		ТМ, растворенные	количественно и
	3) Обобщенные (ОЗ	газы, биогенные	однозначно характе-
3) Интегральные	поверхности вод через	вещества и др.);	ризующая
(группа однородных	условные (цифровые)		разнородную
свойств воды,	показатели: показатель	3) Комплексные	совокупность
обусловливающих	общей нагрузки или	(оценка	компонентов
физико-химическими	относительного объема	загрязненности воды с	и соединений
и биохимическими	загрязненного стока	учетом большинства	химического состава
процессами: pH, TM,	воды);	числа параметров, в	поверхностных вод»);
жесткость воды и др.)		т.ч.	
	4) Интегральные (ОЗ	и разнородных	Классификация
	поверхностных вод,	свойств воды – КИЗВ,	качества
	уплот-няющих	УКИЗВ)	(загрязненности)
	информацию о		(распределение ПЗ
	наиболее		согласно опреде-
	информативных		ленному общему
	гидрохимических		признаку
	параметров		по классам с
			образованием
			системы)
Chugor companyation	MINOUGOMIN O MOGT 13.		

Таблица 1.3. Гидрохимические показатели качества вод [54]

 Список сокращений, применяемых в табл. 1.3:

 ТМ – тяжелые металлы;
 3B – загрязненность воды;

 БПК – биологическое потребление
 КИЗВ – комбинаторный индекс

 кислорода;
 загрязненности воды;

 ХПК – химическое потребление
 УКИЗВ – удельный КИЗВ;

 кислорода;
 КЗ – коэффициент загрязненности;

 ВЗ – взвешенное значение;
 ПЗ – показатели загрязненности

ОЗ – оценка загрязненности;

Однако близость значений ПДК, а также сходство химико-аналитических свойств различных фенолов позволяют не определять каждый фенол в отдельности, а контролировать их суммарное содержание [51-53]. Определение суммарного содержания фенолов проводят различными методами

(бромометрический,гравиметрический,колориметрический,хроматографический,фотометрический,флуориметрический,спектрофотометрический) [54-57].54-57].

Известно, что полифенолы являются антиоксидантами, которые содержатся в продуктах питания (чайные и кофейные напитки, соки, вина, овощи и фрукты, зерновые культуры и т.д), входят в состав фармацевтических препаратов и биологически активных добавок (БАД) [58-60]. Поэтому важной задачей является определение их содержания в исследуемых объектах, так как дополнительный прием этих веществ может нанести вред организму [61]. Некоторые основные группы фенольных антиоксидантов (ФА) представлены в таблице 1.4.

Класс полифенола	Фенольное соединение	Формула
Флавоноиды	Эпикатехин	HO OH OH
Фенольные кислоты	Кофейная кислота	но он
Стильбены	Ресвератрол	HOUT
Танины	Дубильная кислота	$HO \rightarrow OH \rightarrow HO \rightarrow OH \rightarrow OH \rightarrow OH \rightarrow OH \rightarrow OH \rightarrow$
Лигнаны	Матаиресинол	

Таблица 1.4. Некоторые группы фенольных антиоксидантов

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

Продунт	Содержание	Продикт	Содержание
продукт	(мг/г)	продукі	(мг/г)
Экстракт валерианы	1.78 ± 0.12	Дикая шелковица	3.73 ± 0.11
Экстракт розмарина	2.19 ± 0.15	Яблоки, сорт Гала	3.91 ± 0.08
Экстракт кубинского орегано	0.34 ± 0.00	Ананас	0.67 ± 0.01
Экстракт базилика	147 ± 1.60	Ацерола (барбадосская вишня)	8.61 ± 0.62
Экстракт лавра	92.0 ± 2.45	Экстракт семян винограда (dw)	63.5 ± 1.0
Экстракт фенхеля	30.3 ± 0.76	Кожица чёрной сливы	92.5
Экстракт розмарина (dw)	92.5 ± 1.8	Клубни дикого батата	0.58
Экстракт центеллы	25.4 м 1.2	Экстракт скорлупы	21.7
азиатской (dw)		фисташек (dw)	
Экстракт гинкго (dw)	24.8 ± 1.4	Финик	2.47
Экстракт тмина	37.4 ± 0.32	Дикий цикорий	1.03 ± 0.00
Пажитник (dw)	54.3 ± 2.6	Краснокочанная капуста Пшеница	1.78 ± 0.1
Экстракт имбиря (dw) Оливковое	39.9 ± 2.6	Шершавый белый латук	1.86
масло, сорт экстра вирджин	0.27	(Prenanthes aspera)	0.53 ± 0.09
Оливковое масло, сорт вирджин		Красный салат-латук	
Карамбола	0.30	(Lactuca sativa)	1.70 ± 0.01
Высокорослая черника (Vaccinium		Зёрна риса	
ashei)			
Клюква	1.26 ± 0.10	Рисовые отруби	1.85
Земляника	3.40		16.4
Малина		Мёд	
Голубика щитковая	1.71	Красное вино (мг/мл)	0.35
(Vaccinium corymbosum) Голубика	2.57 ± 0.02	Шерри (мг/мл)	1.64 ± 0.26
узколистная (Vaccinium	1.21 ± 0.03	Белое вино (мг/мл)	0.29
anguslifolium) Листья голубики	3.86 ± 0.14		0.25 ± 0.05
щитковой		Экстракт зелёного чая (dw)	
	4.71 ± 0.19		59.8 ± 1.8
		Экстракт чёрного чая (dw)	
	44.8		59.3 ± 0.3

Таблица 1.5 Содержание фенолов в пищевых продуктах [62]

Примечание, dw – сухой вес.

AOA: Методы исследования титриметрия, электрохимические вольтамперометрия, (амперометрия, кулонометрия, потенциометрия), хроматографические (тонкослойная, ГХ, ВЭЖХ), спектральные методы (СФМ), (спектрофотометрия метод определения радикалудерживающей способности с использованием реактива 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (метод DPPH), метод определения железосвязывающей активности экстрактов (метод FRAP), флуориметрические, хемилюминесцентные, биологические и другие методы [58, 62, 63].

ИП по фенолам может соответствовать суммарному содержанию ФА, значение которого возможно получить СФМ определением фенолов с реактивом Фолина-Чокальтеу [56, 64, 75].

Реактив Фолина-Чокальтеу (ФЧ) применяют в качестве стандартного реагента для спектрофотометрического суммарного определения фенольных соединений, как полифенолов и их производных, так и простых фенолов [65, 66].

Реактив ФЧ широко используется в клинических исследованиях и для контроля питания при определении общего содержания полифенолов в продуктах растительного происхождения и биологических образцах. Первоначально этот способ был разработан для анализа белков, но позже усовершенствован Синглтоном, Ортофером и Ламуэлой-Равентос [67] для анализа фенольных компонентов в вине, и стал обычным тестом для оценки антиоксидантности пищевых продуктов и растительных экстрактов [68].

В настоящее время реактив ФЧ широко используется для количественного определения полифенолов в экстрактах растительного происхождения, а также в пищевых продуктах и напитках [69].

Некоторые способы спектрофотометрического определения фенольных соединений с реагентом ФЧ приведены в таблице 1.6. Проведенный анализ публикаций [70-91] показал, что определение суммарного содержания фенольных соединений с реактивом Фолина-Чокальтеу, проводится при длине волны от 725 до 765 нм, в присутствии Na₂CO₃ (создает щелочную среду) или NaHCO₃ [71, 81]). Объекты исследований: продукты питания, лекарственные

препараты, экстракты лекарственных растений, почвы, а также модельные растворы. Так, в работе [70] определили суммарное содержание фенолов в молоке (козье, коровье, овечье, человеческое). Для получения водного экстракта, к молоку добавляли метанол, ацетонитрил и реагенты Карреза I и Карреза II. Метод обеспечивал приемлемую линейность, повторяемость, воспроизводимость, пределы количественной оценки и обнаружения. Наибольшее количество фенольных соединений было обнаружено в овечьем молоке.

Колориметрический ΦЧ является наиболее анализ с широко используемым методом для оценки общего содержания фенолов в различных напитках и фруктах. Так, в ряде работ [71, 73, 76, 84], содержание фенолов проводили во фруктовых соках, яблоках и сидорах. Фенольные соединения восстанавливают реагентом ФЧ до оксидов молибдена и вольфрама синего цвета (765 нм [71, 73], 725 нм [76] и 750 нм [84]). Общее содержание фенолов выражали в мг эквивалента галловой кислоты на литр напитка. Содержание фенолов, которое рассматривается как показатель качества продукта, заметно варьировалось в зависимости от технологии переработки сока и марки напитков. Авторы [71, 73] показали, что в протестированных яблочных соках не было заявленного содержания полифенолов и этикетки фруктовых соков, основанные только на процентном содержании фруктов, иногда могут вводить потребителей в заблуждение.

В работе [72] проведено исследование на содержание фенольных соединений в экстракте кожуры тыквы. Образцы тыквы разрезали, а кожуру отделяли от мякоти. После чего ее сушили в темном помещении при комнатной температуры в течение 10 дней и измельчали до порошкообразного вида. Общее содержание фенолов определяли, добавляя 10%-ный реактив ФЧ и 7.5%-ный NaHCO₃. Полученной смеси давали постоять 15 минут при 45°C и измеряли оптическую плотность при длине волны 765 нм. Результаты исследования показывают, что экстракт кожуры различных тыкв обладает значительными антиоксидантными свойствами.

Леп Аналит Объект λ_{max} характеристики (ДОС, ПрО, Sr) Примечание Лпг- ра 1 2 3 4 5 6 7 1 Фенолы Молоко (козье, коровье, овечье, человеческое) 750 HM Про = 6.03 мг GAE/L В качестве эталонного стандарта использовалась 70 1 Фенолы Фолоко (козье, коровье, овечье, человеческое) 750 HM Про = 6.03 мг GAE/L В качестве эталонного стандарта использовалась 70 1 Фенолы Фруктовые соки, (гидрохинон, хлорогеновая кислота, пирокатехин, пирогаллол, кверцетин, фенол) Фруктовые соки, сидры, яблоки были выжаты в сок 765 HM Про = 14.2 мг; ДОС = 42.9-500 мг/л Приотрациях во многих фруктовых соках, препятствуют определению. 71 3 Природные антиоксиданты фенольная кислота) Экстракт кожуры тыквы 765 HM ДОС = 100-1000 МКГ/МЛ Экстракты фильтровали, удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72	Ман				Метрологические		Пит
l l </th <th>лчп /п</th> <th>Аналит</th> <th>Объект</th> <th>λ_{max}</th> <th>характеристики</th> <th>Примечание</th> <th>лит- ра</th>	лчп /п	Аналит	Объект	λ_{max}	характеристики	Примечание	лит- ра
1 2 3 4 5 6 7 1 Фенолы Молоко (козье, коровье, овечье, человеческое) 750 нм ПрО = 6.03 мг GAE/L Sr ≤ 2% В качестве эталонного стандарта использовалась галловая кислота (чистота 98%) 70 1 Фенолы фаваноиды (гидрохинон, хлорогеновая кислота, пирокатехин, пирогаллол, кверцетин, фенол) Фруктовые соки, сидры, яблоки были выжаты в сок 765 нм ПрО = 14.2 мг; ДОС = 42.9-500 мг/л Аскорбиновая кислота, глюкоза и тирозин, компоненты матрицы, присутствующие в 71 3 Природные антиоксиданты фенольные дитерпены, флавоноиды, танины и фенольная кислота) Экстракт кожуры тыквы 765 нм ДОС = 100-1000 мкг/мл Экстракты фильтровали, удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72	-		2		(ДОС, ПрО, Sr)		7
1 Фенолы Молоко (козье, коровье, овечье, человеческое) 750 нм ПрО = 6.03 мг GAE/L В качестве эталонного стандарта использовалась 70 1 Фенолы Молоко (козье, коровье, овечье, человеческое) 750 нм ПрО = 6.03 мг GAE/L В качестве эталонного стандарта использовалась 70 1 Фонолы Фаваноиды (гидрохинон, хлорогеновая (гидрохинон, хлорогеновая кислота, пирокатехин, пирогаллол, кверцетин, фенол) Фруктовые соки, сидры, яблоки были выжаты в сок 765 нм ПрО = 14.2 мг; дОС = 42.9-500 мг/л Аскорбиновая кислота, глюкоза и тирозин, компоненты матрицы, присутствующие в 71 3 Природные антиоксиданты фенольная кислота) Экстракт кожуры тыквы 765 нм ДОС = 100-1000 мкг/мл Экстракты фильтровали, удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72	1	2	3	4	3	0	/
1 Фенолы коровье, овечье, человеческое) нм GAE/L Sr ≤ 2% стандарта использовалась галловая кислота (чистота 98%) 2 Полифенолы и флаваноиды (гидрохинон, хлорогеновая кислота, пирокатехин, пирогаллол, кверцетин, фенол) Фруктовые соки, сидры, яблоки были выжаты в сок 765 нм ПрО = 14.2 мг; ДОС = 42.9-500 мг/л Аскорбиновая кислота, глюкоза и тирозин, компоненты матрицы, присутствующие в 71 3 Природные антиоксиданты фанольная кислота) Экстракт кожуры тыквы 765 нм ДОС = 100-1000 мкг/мл Экстракты фильтровали, удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72		×	Молоко (козье,	750	$\Pi pO = 6.03 \text{ мг}$	В качестве эталонного	70
Полифенолы и флаваноиды (гидрохинон, хлорогеновая кислота, пирокатехин, пирогаллол, кверцетин, фенол) Фруктовые соки, сидры, яблоки были выжаты в сок 765 нм ПрО = 14.2 мг; ДОС = 42.9-500 мг/л Аскорбиновая кислота, глюкоза и тирозин, компоненты матрицы, присутствующие в 71 3 Природные антиоксиданты (фенольные дитерпены, фавоноиды, танины и фенол) Экстракт кожуры тыквы 765 нм ДОС = 100-1000 мкг/мл Экстракт кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72	1	Фенолы	коровье, овечье,	НМ	GAE/L	стандарта использовалась	
2 Полифенолы и флаваноиды (гидрохинон, хлорогеновая кислота, пирокатехин, пирогаллол, кверцетин, фенол) Фруктовые соки, сидры, яблоки были выжаты в сок 765 нм ПрО = 14.2 мг; ДОС = 42.9-500 мг/л Присутствующие в различных концентрациях во многих фруктовых соках, препятствуют определению. 71 3 Природные антиоксиданты фенольные дитерпены, флавоноиды, танины и фенольная кислота) Экстракт кожуры тыквы 765 нм ДОС = 100-1000 мкг/мл Экстракты фильтровали, удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72			человеческое)		$Sr \leq 2\%$	галловая кислота (чистота 98%)	
1юлифенолы и флаваноиды (гидрохинон, хлорогеновая кислота, пирокатехин, пирогаллол, кверцетин, фенол) Фруктовые соки, сидры, яблоки были выжаты в сок 765 нм ПрО = 14.2 мг; ДОС = 42.9-500 мг/л компоненты матрицы, присутствующие в 71 3 Природные антиоксиданты фенольные дитерпены, флавоноиды, танины и фенольная кислота) Экстракт кожуры тыквы 765 нм ДОС = 100-1000 мкг/мл Экстракты фильтровали, удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72		Π1				Аскороиновая кислота,	
2 (гидрохинон, хлорогеновая кислота, пирокатехин, пирогаллол, кверцетин, фенол) Фруктовые соки, сидры, яблоки были выжаты в сок 765 нм ПрО = 14.2 мг; ДОС = 42.9-500 мг/л присутствующие в различных концентрациях во многих фруктовых соках, препятствуют определению. 71 3 Природные антиоксиданты (фенольные дитерпены, флавоноиды, танины и фенольная кислота) Экстракт кожуры тыквы 765 нм ДОС = 100-1000 мкг/мл Экстракты фильтровали, удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72		Полифенолы и флаваноиды				глюкоза и тирозин,	
2 кислота, пирокатехин, пирогаллол, кверцетин, фенол) сидры, яолоки оыли выжаты в сок нм ДОС = 42.9-500 мг/л присутствующие в различных концентрациях во многих фруктовых соках, препятствуют определению. /1 3 Природные антиоксиданты (фенольные дитерпены, флавоноиды, танины и фенольная кислота) Экстракт кожуры тыквы 765 нм ДОС = 100-1000 мкг/мл Экстракты фильтровали, удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72	2	(гидрохинон, хлорогеновая	Фруктовые соки,	765	ПрО = 14.2 мг;	компоненты матрицы,	71
пирогаллол, кверцетин, фенол) выжаты в сок различных концентрациях во многих фруктовых соках, препятствуют определению. 3 Природные антиоксиданты (фенольные дитерпены, флавоноиды, танины и фенольная кислота) Экстракт кожуры тыквы 765 нм ДОС = 100-1000 мкг/мл Экстракты фильтровали, удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72	2	кислота, пирокатехин,	сидры, яблоки были	НМ	ДОС = 42.9-500 мг/л	присутствующие в	/1
фенол) фруктовых соках, препятствуют определению. 3 Природные антиоксиданты (фенольные дитерпены, флавоноиды, танины и фенольная кислота) Экстракт кожуры Тыквы 765 нм ДОС = 100-1000 мкг/мл Экстракты фильтровали, удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72		пирогаллол, кверцетин,	выжаты в сок			различных концентрациях во многих	
Природные антиоксиданты 3 Природные антиоксиданты (фенольные дитерпены, флавоноиды, танины и фенольная кислота) Экстракт кожуры тыквы 765 нм ДОС = 100-1000 мкг/мл Экстракты фильтровали, удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72 3 Фенольная кислота) Экстракт кожуры тыквы 765 нм ДОС = 100-1000 мкг/мл Экстракты фильтровали, удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72		фенол)				фруктовых соках,	
3 Природные антиоксиданты (фенольные дитерпены, флавоноиды, танины и фенольная кислота) Экстракт кожуры тыквы 765 нм ДОС = 100-1000 мкг/мл Экстракты фильтровали, удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72 3 Фенольная кислота) Экстракт кожуры тыквы 765 нм ДОС = 100-1000 мкг/мл Удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72						препятствуют определению.	
3 (фенольные дитерпены, флавоноиды, танины и фенольная кислота) Экстракт кожуры тыквы 765 нм Собластов 1000 удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72 3 Фенольная кислота) Экстракт кожуры тыквы 765 нм МКГ/МЛ и выпаривали под вакуумом. 72 4 Все измерения проводились при температуре 25°С 1000 госо 1000 удаляя частицы кожуры, и выпаривали под вакуумом. 72		Природные антиоксиданты			$\Pi OC = 100-1000$	Экстракты фильтровали,	
флавоноиды, танины и фенольная кислота) тыквы нм ини и выпаривали под вакуумом. /2 Все измерения проводились при температуре 25°С. температуре 25°С. температуре 25°С.	3	(фенольные дитерпены,	Экстракт кожуры	765	мкг/мп	удаляя частицы кожуры,	72
фенольная кислота) Все измерения проводились при температуре 25°С	5	флавоноиды, танины и	тыквы	HM		и выпаривали под вакуумом.	/ _
Все измерения проводились при температуре 25°С		фенольная кислота)					
температуре 25°С						Все измерения проводились при	
Temieparype 25 C.						температуре 25°С.	
Содержание полифенолов в						Содержание полифенолов в	
4 Флавоноилы Яблочный сок 765 ДОС = 25-500 мг/л; растительных продуктах зависит от 73	4	Флавоноилы	Яблочный сок	765	ДОС = 25-500 мг/л;	растительных продуктах зависит от	73
нм ПрО = 0.2 мг/л внутренних (род, вид, культивары) и		+ hubenendbi		HM	ПрО = 0.2 мг/л	внутренних (род, вид, культивары) и	15
внешних						внешних	
(агрономические, экологические,						(агрономические, экологические,	
обработка и хранение) факторов.						обработка и хранение) факторов.	
Этанольные Фенолы экстрагировали 96%-ным			Этанольные			Фенолы экстрагировали 96%-ным	
экстракты чайного этанолом из замороженного			экстракты чайного			этанолом из замороженного	
растения, проростков 725 ность 10,100 жидким азотом и измельченного			растения, проростков	705	HOC 10 100	жидким азотом и измельченного	
5 Фенолы Пшеницы, гречихи; 725 ДОС = 10-100 растительного материала в течение 45 74	5	Фенолы	пшеницы, гречихи;	/25	AOC = 10-100	растительного материала в течение 45	74
растворы галловой ^{НМ} МКГ/МЛ мин при температуре 45 °C	-		растворы галловой	HM	МКГ/МЛ	мин при температуре 45 °C	
кислоты, рутина.			кислоты, рутина.				
эпикатехина.			эпикатехина.				

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

Продолжение таблицы 1.6

					1	,
1	2	3	4	5	6	7
6	Кверцетин, рутин, пирокатехин, резорцин, галловая кислота, аскорбиновая кислота	Индивидуальные ФА и их модельные смеси	765 нм	ДОС = 10 ⁻⁵ –10 ⁻⁴ моль/л; ПрО = 0.1-1 мкМ	Мешающие вещества: углеводы, аминокислоты, белки, карбоновые кислоты	75
7	Фенолы	Виноградный сок, чай	725 нм	Про = 0.25 мг/л	Реакция проходила в течение 60 минут в темноте при комнатной температуре (25°С)	76
8	Полифенолы (катехины, теафталины, теарубигины, галловая кислота)	Чай Пуэр, зеленый чай	765 нм	ДОС = 15-100 мг/л	До проведения анализа все стандартные растворы хранили при температуре 4°С	77
9	Кверцетин, протокатеховая, хлорогеновая, кофейная, феруловая, ванилиновая, мочевая, галловая кислоты, катехол, тирозин, фенилаланин	Кофе	750 нм	ДОС = 590-720 мкмоль ГК/дм ³	Расчет величины суммарного содержания фенольных соединений в образцах кофе проводили по предварительно построенному относительно галловой кислоты градуировочному графику в диапазоне 1.0-6.0 мкмоль ГК/дм ³	78
10	Салициловая, ванильная, <i>n</i> -гидроксибензойная кислоты, эвгенол и тимол	Экстракты лекарственных растений	765 нм	ДОС = 5-200 мг/л	Спектры поглощения регистрировали спустя 2 часа выдерживания при комнатной температуре	79
11	Тербуталин сульфат, фенотерол гидробромид, этафедрин гидрохлорид, изоксуприн гидрохлорид	Таблетки и сиропы Bricanyl, Berotec, Effortil, Duvadilan	747- 760 нм	ДОС = 3.65 · 10 ⁻⁶ - 2.19 · 10 ⁻⁵ моль/л и 2 - 24.0 мкг/мл, Sr < 2 %	-	80
12	Фенолы	Экстракты растений Saurauia vulcani	765 нм	7.155 мг ГК/г, 13.702 мг ГК/г и 16.560 мг ГК/г	Полярность растворителя, используемого при экстракции, может повлиять на общее содержание фенолов в растительных экстрактах	81
13	Полифенолы	Экстракты Salvia sclarea	760 нм	Sr = от -0.6 до +1.24%	-	82

Продолжение таблицы 1.6

1	2	3	4	5	6	7
14	Органорастворимые лигнины и крафт-лигнин	Miscanthus x giganteus, Paulownia tomentosa ष Silphium perfoliatum. Древесина бука и пшеничная солома, черный щелок (смесь ели и сосны)	750 нм	TPC < 1.5 %	Перед измерением спектров поглощения исследуемый раствор инкубировали в течение 30 мин при 40°С	83
15	Полифенолы	Ягоды, фрукты,семена фруктов,овощи,специ и, какао и зеленый чай	750/ 760 нм	-	Все образцы измельчали в порошок или однородную массу и хранили при температуре -80°С	84
16	3,4-Дигидроксифенил- уксусная кислота, тирозол, катехин, 4-гидроксифенилуксусная, ванилиновая, гомованилиновая, кофеиновая, сиреневая, <i>n</i> -кумаровая, синапиновая кислоты	Почва	725 нм	_	Анализировать возможно только водные экстракты почв	85
17	Фенолы и флавоноиды	Мёд	765 нм	Sr < 3.5%, ДОС = 10.74 - 86.80 мг ГК/100 г меда	Все образцы хранились при температуре ниже 0°С	86
18	Фенол, пирокатехин, резорцин, пирогалловая кислота, галловая килота, проантоцианидины, эпикатехин, эпигаллокатехин, галлат эпигаллокатехина.	Зеленый и черный чаи, улун	758- 762 нм	ДОС = 0-140 мкг/мл	-	87
19	Фенольные соединения	Мёд	760 нм	ПрО = 2.55 мкг/мл	Мешающее влияние оказывают сахара (глюкоза, сахароза, фруктоза, ксилоза, манноза, рамноза и арабиноза)	88

Окончание рисунка 5.3

1	2	3	4	5	6	7
20	Фенолы, танин	Экстракт семян асаи	765 нм	ДОС = 25-150 мкг/мл, Sr ≤ 2.63%, ПрО = 9.9 мкг/мл	-	89
21	Полифенолы: <i>пара</i> - гидроксибензойная кислота, эпикатехин, мирицетин, кемпферол, феруловая кислота, синаповая кислота, цианидин-3-глюкозида	Модельный раствор	765 нм	ДОС = 1-500 мг/л, ПрО = 0.33-1.31 мг/л	-	90
22	Танины	Кукуруза и соя	725 нм	ПрО = 0.03 мкг/мкл, ДОС = 2-10 мкг/мкл	Для обработки сырья использовались такие методы, как замачивание, удаление кожуры, сушка в духовке, варка и обжаривание	91

Список сокращений, применяемых в таблице: ПрО – предел обнаружения; ДОС – диапазон определяемых содержаний; Sr – относительное стандартное отклонение; GAE – эквивалент галловой кислоты; ГК – галловая кислота; TPC – общее содержание фенолов.

Определение танинов проводили в экстрактах семян асаи и в продуктах, таких как желтая кукуруза и соя [89, 91]. Экстракт семян асаи, богат танинами, которые потенциально могут применяться для различных методов лечения. Определение проводили спектрофотометрическим методом (λ_{max} =765 нм), время реакции ФЧ и фенольных веществ составило 30 минут, эталонным веществом использовали пирогаллол. Рассчитанные пределы обнаружения и определения составили 9.9 мкг/мл и 33.1 мкг/мл соответственно.

В работе [91] было проведено количественное определение общего содержания танина в желтой кукурузе и сои. Для проведения анализа сырье измельчали, но перед этим продукты замачивали, удаляли кожуру, сушили в духовке, варили и обжаривали. В данном исследовании стандартным раствором явилась дубильная кислота, а пределы обнаружения и определения составили 0.03 и 0.09 мкг/мкл соответственно. Ученые утверждают, что их работа продемонстрировала пригодность метода определения общего содержания танина в пищевых продуктах растительного происхождения с использованием реактива ФЧ – как аналитического реагента.

Спектрофотометрические методы часто применяют для определения общего количества полифенолов и флавоноидов, так как они достаточно просты, чувствительны и точны. В публикациях [75, 90] проводили анализы водных растворов с известным содержанием ФА. В работе [75] в качестве фенольных соединений использовали кверцетин, растворов рутин, пирокатехин, резорцин, галловую кислоту и аскорбиновую кислоту. Полученные растворы имели рН около 10.5. Это дает возможность для высокой скорости взаимодействия реактива ФЧ с полифенолами, а также устойчивости получающихся продуктов реакции. ДОС составил $1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л; ПрО индивидуальных ФА = 0.1 - 1 мкМ. Показано, что суммарное содержание ФА в модельных смесях методом ФЧ определяется с большими систематическими погрешностями, мешающее действие на реакцию оказывают такие вещества, как углеводы, аминокислоты, белки, карбоновые кислоты.

Для определения общего содержания полифенолов и флавоноидов [90] готовили модельные растворы веществ: *пара*-гидроксибензойная кислота,
эпикатехин, мирицетин, кемпферол, феруловая кислота, синаповая кислота, цианидин-*3*-глюкозид в метаноле. Реакцию инкубировали на водяной бане при 40°C и спустя 30 минут измеряли спектры поглощения при 765 нм относительно контрольного раствора. Предел обнаружения полифенолов составил от 0.33 до 1.31 мг/л, а предел определения от 1.01 до 3.96 мг/л. Самая низкая чувствительность была обнаружена для *пара*-гидроксибензойной кислоты (0.0008 л/мг), а самая высокая - для мирицетина (0.0015 л/мг). Результаты по точности для всех стандартов находились в приемлемом диапазоне, за исключением кемпферола.

Достаточно часто объектами исследований фенольных соединений являются различные чаи и кофе, так как в их составе содержится большое количество ФА, которые влияют на вкус, цвет и запах напитков [64, 77, 78, 84, 87].

В работе [77] проанализировано 57 образцов китайского чая. Среди этих образцов 11 были зелеными чаями, 14 – выдержанным чаем Пуэр и 32 спелым чаем Пуэр. Результаты показали, что содержание основных полифенольных соединений чая, катехинов, в чае Пуэр значительно меньше, чем в неферментированном и полуферментированном чае. Оптимизированный метод определения фенолов с помощью реактива ФЧ характеризовался хорошей линейностью, точностью и стабильностью, демонстрируя его пригодность для определения ТРС чая.

Для определения суммарного содержания фенольных соединений в кофе [78] рассматривались как индивидуальные соединения, входящие в состав кофе, так и сами образцы кофе. Расчет значения суммарного содержания фенолов в кофейных напитках проводили по градуировочному графику относительно галловой кислоты в диапазоне 1.0 - 6.0 мкмоль ГК/дм³. Для образцов растворимого кофе суммарное содержание фенольных веществ находилось в пределах от 590 до 720 мкмоль ГК/дм³.

В исследовании [87] анализировали три вида чайных экстрактов на содержание фенольных соединений (фенол, пирокатехин, резорцин, пирогалловая кислота, галловая килота, проантоцианидины, эпикатехин, эпигаллокатехин, галлат эпигаллокатехина). Авторы не рекомендуют

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

Предложенный авторами [80] метод был успешно применен для оценки лекарственных средств (таблетки и сиропы *Bricanyl, Berotec, Effortil, Duvadilan*), и полученные проценты извлечения варьировались от 97.63% \pm 1.4 до 100.2% \pm 0.95 и от 97.3% \pm 0.7 до 100.14 \pm 0.8. В работе [82] объекты исследования - экстракты растений *Saurauia vulcani*. Общее содержание фенолов в экстрактах гексана, этилацетата и метанола составило 7.155 мг GAE/г, 13.702 мг GAE/г и 16.560 мг GAE/г соответственно. Для оценки содержания вторичных метаболитов полифенольной природы в траве шалфея мускатного (*Salvia sclarea L.*), были выбраны оптимальные условия для анализа (время реакции 60-80 мин, длина волны 760 нм, галловая кислота и рутин в качестве эталонных веществ).

В работах [86, 88] проводился анализ на присутствие фенолов в меде. Показано [88], что содержащиеся в меде сахара (глюкоза, сахароза, фруктоза, ксилоза, манноза, рамноза и арабиноза) приводят к помехам в измерениях и завышениям значений ТРС. Авторы предлагают использовать водный раствор Na₂CO₃ концентрацией 0.75% для создания pH~7.9. Такие условия обеспечивают проведение реакции без участия редуцирующих сахаров. Предел обнаружения составил 2.55 мкг/мл, а предел определения 7.74 мкг/мл.

Таким образом, определение фенолов с реактивом ФЧ обладает рядом преимуществ: способ быстр, прост в исполнении и не требует сложных инструментальных устройств [92]. Однако этот вариант подвергался многим неконтролируемым модификациям, часто без какой-либо систематической оптимизации или процедур стандартизации и валидации.

* * *

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

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

ГЛАВА 2. Экспериментальная часть

2.1. Применяемые в работе посуда, реактивы и оборудование

<u>Посуда</u>

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

<u>Реактивы</u>

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

Наименование	*n	** m	Тпом.℃	ω, %	ККМ, г/л	Производитель
ОП-10	8-10	10-12	80-90	80	0,15	Россия, ГОСТ 8433-81
Тритон Х-100	8	9-10	22-25	100	0,90	Германия, Sigma-Aldrich
Тритон Х-114	8	7-8	23-25	100	0,12	Германия, Sigma-Aldrich

Таблица 2.1. Некоторые характеристики применяемых ПАВ

*Длина гидрофобного радикала; **Длина оксиэтиленовой цепи.

5. Цетилтриметиламмония хлорид (ЦТМА), С₁₂Н₄₇NCl, чда.

- 6. Калий сернокислый (K₂SO₄), ч., ГОСТ 4145-65.
- 7. Фенол кристаллический (C_6H_5OH), ГОСТ 6417.
- 8. 4-Аминоантипирин, ТУ 6-09-3948.
- 9. Гексацианоферрат (III) калия, ГОСТ 4206.
- 10. Реактив Фолина Чокальтеу, ГОСТ Р 55488-2013.
- 11. *4*-Нитроанилин (С₆С₆N₂O₂), ч., ГОСТ 5274-75.
- 12. Нитрит натрия (NaNO₂), х.ч., ГОСТ 4197-74.
- 13. Хлорид натрия (NaCl), ГОСТ 4233-77.
- 14. Флороглюцин (C₆H₆O₃), ч.д.а, (имп)
- 15. Резорцин (С₆Н₆О₂), ч.д.а. (имп), Sumitomo chemical, Япония.
- 16. Тимол (C₆H₃CH₃(OH)(C₃H₇)), ч.д.а., ТУ 6-09-3736-79.
- 17. Нафтол-1 (С₁₀Н₈О), ч.д.а., ТУ 6-09-5417-88.
- 18. Нафтол-2 (С₁₀Н₈О), ч.д.а. ТУ 6-09-5418-89.

<u>Annapamypa</u>

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

Вспомогательное оборудование

- 1. Дозаторы Экрос ОП-100-1000 мкл; 10-100 мкл (Россия).
- 2. Лента лабораторная «Parafilm M» (США).
- 3. Программа обработки цифровых данных Adobe PhotoShop CC 2019.
- 4. Бокс, позволяющий стандартизировать условия освещения.

Схема бокса представлена на рисунке 2.1.



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

2.2. Методики приготовления растворов

<u>Гидроксид натрия (NaOH).</u> Для приготовления 10 М раствора гидроксида натрия навеску щелочи 40 г растворяли в термостойком стакане и небольшими порциями добавляли щелочь в дистиллированную воду до полного растворения. Затем перемещали раствор в колбу объёмом 100 мл и доводили до метки дистиллированной водой. Концентрацию NaOH варьировали разбавлением 10 М раствора. Стантартизацию раствора проводили титриметрически с 0.100 M HCl.

<u>Фенол кристаллический</u>. Для приготовления исходного 0.100 М раствора навеску 0.4706 г реактива растворяли в 50 мл этанола. Рабочие растворы готовили разбавлением исходного 0.100 М непосредственно перед применением. Хранили в стеклянной посуде с пришлифованными пробками в темноте при +4 °C.

<u>4-Аминоантипирин (C₁₁H₁₃N₃O).</u> Для приготовления исходного раствора 4-аминоантипирина концентрацией 0.100 М навеску 1.0163 г реактива растворяли в 50 мл дистиллированной воды, фильтровали и переносили в посуду из тёмного стекла.

<u>Гексацианоферрат (III) калия</u>. Для приготовления исходного 8%-ного раствора навеску 4.0 г реактива растворяли в 46 мл дистиллированной воды, фильтровали и переносили в посуду из тёмного стекла.

<u>Карбонат натрия (Na₂CO₃).</u> Для приготовления 2 М раствора карбоната натрия навеску 5.3 г реагента переносили в мерную колбу 50 см³ и растворяли в дистиллированной воде.

<u>Сульфат натрия (Na₂SO₄).</u> Для приготовления исходного 1.35 М раствора навеску 19.175 г Na₂SO₄ растворяли в 100 см³ дистиллированной воды.

<u>Неионный ПАВ - Тритон X-100 (C₁₄H₂₂O(C₂H₄O)n, n = 9–10).</u> Для приготовления исходного 20%-ного раствора навеску 20.2 г реактива растворяли в 79.8 мл дистиллированной воды. Рабочие концентрации Тритон X-100 варьировали разбавлением исходного 20%-ного раствора.

<u>Неионный ПАВ - ОП-10 (С₁₄H₂₂O(С₂H₄O)n, n = 7–8)..</u> Для приготовления исходного 20%-ного раствора навеску 24.4 г реактива растворяли в 75.6 мл дистиллированной воды. Рабочие концентрации ОП - 10 варьировали разбавлением исходного 20%-ного раствора.

<u>Неионный ПАВ - Тритон X-114 (C₁₄H₂₂O(C₂H₄O)n, n = 8)</u>. Для приготовления исходного 20%-ного раствора навеску 20.2 г реактива растворяли в 79.8 мл дистиллированной воды. Рабочие концентрации Тритон X-114 варьировали разбавлением исходного 20%-ного раствора.

<u>Катионный ПАВ - Цетилтриметиламмония бромид (ЦТМА).</u> C₁₂H₄₇NBr, чда. Исходный раствор (ω = 10%) готовили растворением навески 1 г препарата в 9 мл дистиллированной воды. Рабочие концентрации готовили разбавлением исходного.

<u>Нафтол-1 и нафтол-2 (С₁₀Н₈О).</u> Для приготовления 0.100 М исходных растворов навеску 0.7208 г соответствующего препарата растворяли в мерной колбе вместимостью 50 мл в этиловом спирте. Во всех исследованиях применяли очищенные перекристаллизацией нафтолы.

<u>Нитрит натрия (NaNO₂).</u> Для приготовления исходного 0.100 М раствора нитрита натрия навеску 0.3440 г переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили дистиллированной водой до метки.

<u>4-Нитроанилин ($C_6H_6N_2O_2$)</u>. Для приготовления исходного 0.100 M раствора навеску 0.3450 г реактива растворяли в мерной колбе вместимостью 25 мл в этаноле спирте.

Реактив Фолина - Чокальтеу. Для приготовления исходного 2 н. раствора в круглодонной колбе вместимостью 1000 см³ растворяли натрий (50.00 ± 0.01) г и натрий вольфрамовокислый ГОСТ 18289 по ГОСТ 10931 (12.25 \pm 0.01) г в 350 см³ молибденовокислый ПО дистиллированной воды. Добавляли 25 см³ ортофосфорной кислоты по ГОСТ 6552 и 50 см³ концентрированной соляной кислоты по ГОСТ 3118. Кипятили колбу с обратным холодильником по ГОСТ 25336 на водяной бане в течение 10 ч. Затем добавляли (75.00 \pm 0.01) г сернокислого лития, 25 см³ дистиллированной воды, перемешивали и добавляли 5 капель жидкого брома по ГОСТ 4109, перемешивали. Для удаления избытка брома кипятили 15 мин без холодильника и снова перемешивали. Охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 500 см³ и доводили до метки дистиллированной водой.

<u>Хлорид натрия (NaCl).</u> Для приготовления исходного 20%-ного раствора навеску 20.0 г реактива растворяли в 80 мл дистиллированной воды.

<u>Тимол (C₆H₃CH₃(OH)(C₃H₇)).</u> Для приготовления 0.100 М исходного раствора навеску 0.3755 г растворяли в мерной колбе вместимостью 25 мл этиловым спиртом.

<u>Резорцин ($C_6H_6O_2$)</u>. Для приготовления 0.100 М исходного раствора навеску 0.0275 г растворяли в мерной колбе вместимостью 25 мл дистиллированной водой. Во всех исследованиях применяли очищенный сублимацией резорцин. Для очистки резорцина от примесей, собирали установку рисунок 2.2. Навеску резорцина помещали в фарфоровую чашку и нагревали на песчаной бане. Сублимированный резорцин оседал на стенках стеклянной воронки.



Рисунок 2.2. Установка для сублимации резорцина.

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

Определение точной концентрации HCl. Установление титра концентрированной соляной кислоты проводили титриметрически, по фиксанальному раствору карбоната натрия, по стандартной методике, приведенной в [102]. Для этого Навеску карбоната натрия из фиксанала переносили в колбу на 1000 мл и доводили дистиллированной водой до метки. Концентрация раствора Na₂CO₃ составляла 0.100 н. В мерную колбу емкостью 250 мл приливали около половины объема дистиллированной воды, осторожно добавляли 2 мл концентрированной соляной кислоты, доводили водой до метки, тщательно перемешивали и заполняли бюретку (25 мл).

Установку титра раствора HCl осуществляли по приготовленному стандартному раствору карбоната натрия. Для этого в коническую колбу для титрования отмеряли бюреткой 20 мл 0.100 н. раствора карбоната натрия, добавляли одну - две капли метилового оранжевого и титровали раствором хлороводородной кислоты до перехода желтой окраски индикатора в оранжевую. Титрование повторяли не менее 3 раз. Определение молярной концентрации эквивалентов раствора хлороводородной кислоты (н.) проводили по формуле:

$$C_{\mathfrak{3}\mathsf{K}\mathsf{B}}(HCl) = \frac{V(Na_2CO_3) \cdot C_{\mathfrak{3}\mathsf{K}\mathfrak{a}}(Na_2CO_3)}{V_{HCl}}$$

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

 $5H_2C_2O_4 + 2KMnO_4 + 3H_2SO_4 \rightarrow 2MnSO_4 + K_2SO_4 + 8H_2O + 10CO_2\uparrow$

Фиксанальный раствор щавелевой кислоты концентрацией 0.100 н. разбавляли в 10 раз. К 20 мл 0.0100 н. раствора $H_2C_2O_4$ приливали 10 - 15 мл 2 н. H_2SO_4 и нагревали до 70 – 80°С. Титровали перманганатом калия до появления слаборозовой окраски. Концентрация раствора КМпO₄ составила 0.022 н. Исходный раствор нитрита, приготовленный как описано выше, разбавляли в 10 раз. К аликвотной части (20 мл) добавляли 10 - 15 мл 2 н. H_2SO_4 и титровали КМпO₄ до появления слаборозовой окраски. Точная концентрация нитрита натрия составила 1.040 н. В дальнейшем вводили поправку на концентрацию NaNO₂ для приготовления рабочих растворов из исходного.

Определение точной концентрации гидроксида натрия. В коническую колбу на 100 см³ вносили отобранную аликвоту стандартизуемого раствора NaOH, 1-2 капли раствора метилового оранжевого. Титровали полученную смесь раствором соляной кислоты HCl с молярной концентрацией 0.0500 M до перехода оранжево-желтой окраски в оранжевую. По полученным данным определяли концентрацию раствора NaOH:

$$C(\text{NaOH}) = \frac{C(\text{HCI}) \cdot V_{a\pi}(\text{p-pa HCI})}{V_i(\text{p-pa NaOH})} = \frac{0.0500 \cdot 10.0}{V_i(\text{p-pa NaOH})} = \frac{0.5000}{V_i(\text{p-pa NaOH})}$$

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

2.3. Методы исследования

Спектрофотометрия. Электронные спектры поглощения исследуемых растворов регистрировали на двухлучевом сканирующем спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Япония). Предел допускаемых значений абсолютной погрешности: по шкале $\lambda \pm 0.3$ нм, по коэффициенту пропускания ± 1 %. Метод применяли для контроля и определения количественных характеристик мицеллярной экстракции исследуемых фенолов.

Цветометрически оценивали содержание фенолов в водах после СРобработки экстракции с применением математической цифровых изображений окрашенных зон тест-средств, снятых камерой Apple Phone 13 Pro Max в специализованном боксе, снабжённом лампами дневного света. Параметры камеры:. фотокамера (Мп) – 16, размер матрицы (дюйм) - 1/2.8, диафрагма - f/1.7. Необходимую часть цветного изображения усредняли, применяя графический редактор Adobe PhotoShop CS5, до одного пикселя с помощью фильтра «пикселизация». После усреднения цвета, у полученного изображения определяли яркость цветовых параметров R, G, B. По полученным параметрам строили градуировочные зависимости яркости цветового канала от логарифма концентрации исследуемых фенолов.

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

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

Подвижная фаза: Ацетонитрил (марка «HPLC-grade, 99.99% чистоты) – Вода (бидистиллированная) = 50:50 (по объему). Скорость потока подвижной фазы – 0.8 мл/мин. Марка хроматографической колонки: "Phenomenex" Luna 5u C18(2), 100 A, 150 x 4.60 mm, 5 micron.. Дополнительно использовали предколонку Phenomenex KJO-4282, ВЭЖХ security guard картридж C18(2). Температурная программа: термостатирование при н.у.

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

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

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

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

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

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

№ п/п	Фенолы	Формула	pK*	lgP**	Растворимость [*] в воде, 20° С г/100 мл	ПДК, мг/л
1	Фенол	ОН	9.98	1.76	8.2	0.001
2	Резорцин	НООН	$pK_19.15$ $pK_211.33$	1.48	63.7	0.1
3	Флороглюцин	ОН	<i>pK</i> ₁ 9.13 <i>pK</i> ₂ 9.8 <i>pK</i> ₃ -	1.19	1.12	0.3
4	Тимол	CH ₃ OH H ₃ C CH ₃	10.62	3.42	0.09	-
5	/-Нафтол	OH	9.85	2.76	0.07	0.1
6	2-Нафтол	OH	9.63	2.76	0.06	0.4

Габлица 3.1.	Применяемые	в работе	аналиты
--------------	-------------	----------	---------

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

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

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

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



 R^1 = R^2 =H (фенол); R^1 =OH (резорцин), R^2 =H; флороглюцин: R^1 = R^2 =OH), R^1 =CH₃; R^2 =C₃H₇ (тимол); R^1 =H; R^2 =C₆H₅ (нафтол)

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

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



Исследуемые фенолы, а также хлорпроизводные, входят в обобщенный показатель «фенольный индекс», вступают в реакцию взаимодействия с 4-AA в присутствии окислителей, например, гексацианоферрата (III) калия при pH > 10.2 с образованием окрашенных соединений – антипировых красителей, содержащих хроморфорную группу - хинодный фрагмент.

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

Система III. Третий вариант дериватизации основан на реакции Фолина – Чокальтеу. Реактив Фолина-Чокальтеу (ФЧ) представляет собой смесь растворов вольфрамовокислого и молибденовокислого натрия, к которой добавляют последовательно фосфорную, соляную кислоты и, после кипячения, сульфат лития, а также несколько капель бромной воды [103].

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



Данная система высококонтрастна и позволяет определять как индивидуальное, так и суммарное содержание фенолов по стандартному веществу, чаще всего это галловая кислота. Так например, ГОСТ Р 55488-2013, устанавливает метод определения суммарного содержания фенольных соединений в водно-спиртовом экстракте прополиса по реакции Фолина-Чокальтеу в пересчете на галловую кислоту. Данный метод обладает такими преимуществами как простота и доступность оборудования, экспрессность и довольно высокая чувствительность, что делает его применение перспективным для определения суммы фенолов.

3.1. Состояние исходных реактантов при различных рН

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

3.1.1. Исследованные фенолы

Одно из отличий фенолов от других органических соединений состоит в том, что они проявляют слабые кислотные свойства. Увеличение полярности связи О-Н под действием бензольного ядра и появление достаточно большого положительного заряда на атоме водорода приводит к тому, что молекула фенола диссоциирует на фенолят-ионы и протоны. Наиболее реакционноспособной формой фенолов (на примере резорцина) являются их соли, т.е. феноляты. Бо́льшая склонность фенола к диссоциации с отрывом H⁺, обусловлена тем, что, фенолят-анион стабилизирован за счет делокализации отрицательного заряда. Это представлено ниже соответствующими резонансными структурами:



Электронные спектры поглощения резорцина (модельный фенол) приведены на рис. 3.1 в водной среде (рис. 3.1*a*), в соляной кислоте ($c_{HCl} = 0.1$ M) (рис. 3.1 δ) – оптимальные условия для стадии диазотирования 4-нитроанилина (4-HA)) и в щелочной среде ($c_{NaOH} = 0.01 - 2$ M - рис. 3.1*в-е*). Как видно из рис. 3.1, спектр резорцина в водной среде характеризуется максимумом средней интенсивности при 285 нм. В кислой среде отмечается гипо- и гипсохромный эффекты, что связано с частичным протонированием одной из –OH групп и выводом пары электронов кислорода из цепи сопряжения.



Рисунок 3.1. Спектры поглощения резорцина при различной концентрации NaOH. $c_{Pq} = 5 \cdot 10^{-5} \text{ M}; a - \text{H}_2\text{O}; \delta - 3 \cdot 10^{-3} \text{ M} \text{ HCl}; e - 0,01 \text{ M} \text{ NaOH}; e - 0,1 \text{ M} \text{ NaOH};$ $\partial - 1 \text{ M} \text{ NaOH}, e - 2 \text{ M} \text{ NaOH},$ раствор сравнения – дистиллированная вода. *l*=1 см.

В щелочной среде в 0.01 М растворе NaOH спектр резорцина также трансформируется. Констатируются бато- и гиперхромный эффекты ($\lambda_{max} = 290$ нм), что не противоречит данным литературы и может быть объяснено образованием резорцинатов.

Таким образом, феноляты наиболее реакционноспособная форма фенолов, которые обладают хорошей устойчивостью в щелочной среде. Фенол и 1-, 2- нафтолы обладают схожими константами ионизации. При наличии других заместителей в бензойном кольце значение коэффициента ионизации может как увеличиваться, так и уменьшаться. Заместитель, находящийся в *пара*-положении проявляет как эффект сопряжения, так и индукционный. Так, в тимоле, заместители находящиеся в *n*-положении оказывает на кислотность большее влияние. Таким образом, чем выше pK фенолов, тем быстрее происходит отрыв протона, фенолы обладают большей кислотностью и способны образовывать устойчивые соли.

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

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

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

4-Нитроанилин. Поскольку стадия диазотирования 4-нитроанилина осуществляется в кислой среде (в отличие от стадии азосочетания), целесообразно было зарегистрировать его электронные спектры поглощения при различных концентрациях HCl. На рис. 3.2 представлены электронные спектры поглощения 4-нитроанилина в водной среде и в HCl ($c_{\rm HCl} = 0.001 - 6$ M).



Рисунок 3.2. Спектры поглощения 4-нитроанилина в зависимости от концентрации HCl. $c_{4-HA} = 5 \cdot 10^{-5}$ M; раствор сравнения – дистиллированная вода. l = 1 см.

Как 3.2, видно В водной среде регистрируются: ИЗ рис. высокоинтенсивный максимум поглощения при 380 нм, для которого при увеличении кислотности среды отмечается гипсохромный эффект, что связано с протонированием аминогруппы и сопровождается появлением в поглощения полосы $\lambda_{\text{max}}=260$ При спектре с HM. ЭТОМ скорость протонирования фенолов в водных растворах варьирует в широких пределах ~ от 1 до 1010 дм³/(мольс) вследствие необходимости перестройки электронной или геометрической структуры протофильной частицы при переносе протона.

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

4-Аминоантипирин, реактив Фолина–Чокальтеу. В отличие от образования солей диазония, которые образуются в кислой среде, изучение 4-аминоантипирина и реактива Фолина-Чокальтеу целесообразно в щелочной. На рис. 3.3 представлены электронные спектры поглощения 4-аминоантипирина и реактива Фолина-Чокальтеу в водной среде и в растворе NaOH ($C_{\text{NaOH}} = 0.1 - 2$ M).



Рисунок 3.3. Спектры поглощения а) реактива Фолина - Чокальтеу, б) 4-аминоантипирина в зависимости от концентрации NaOH. $c_{4-AA, \Phi, \Psi} = 5 \cdot 10^{-5}$ M; раствор сравнения – дистиллированная вода. l = 1 см. 1 - H₂O, 2 - 0,1 M NaOH, 3 – 2 M NaOH.

Как видно из рис. 3.3, с реактивом Фолина-Чокальтеу ни в водной, ни в щелочной средах не наблюдается максимума поглощения в видимой части спектра, что может быть связано со слабой окраской раствора. Однако, наблюдается гипсохромный сдвиг линии раствора в щелочной среде. Полифенолы в щелочной среде окисляются реактивом ФЧ до бесцветных полихинонов. Глубокая деструкция полихинонов с разрывом бензольного кольца и образованием смеси бесцветных продуктов начинается лишь через 1-2 часа после смешивания реагентов. Входящие в состав реактива ФЧ и введенные в избытке гетерополикомплекс молибдена (VI) и вольфрама (VI) в ходе экспозиции восстанавливаются, превращаясь в «синь» - смесь окрашенных гетерополикомплексов, содержащих Mo(V)И W(V). Светопоглощение «сини» зависит от рН раствора, относительного избытка ФЧ и времени экспозиции [19]; точный состав «сини» неизвестен. Так, при фиксированном времени экспозиции спектры поглощения продуктов восстановления реактива ФЧ фенолами и их смесями совпадают по положению максимума (765 нм) и по форме пиков. Это указывает на независимость состава окрашенных продуктов от природы восстановителя [104].

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

3.2. Реакции образования азосоединений с 4-нитрофенилдиазонием

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

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

Реакция 4-нитроанилина с нитритом натрия протекает в кислой среде.

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

$$Ar-N^{+} = N^{+} + OH^{-} \longrightarrow Ar-N = N - OH \xrightarrow{NaOH} Ar-N \longrightarrow Ar-N \\ \parallel \qquad \parallel \\ NaO - N \qquad N - ONa$$

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

$$O_2N - N = N - ONa - HCl O_2N - N_2^+Cl^- + NaOH$$

Диазогидраты легко подвергаются прототропным превращениям:



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



Рисунок 3.4. Спектры поглощения системы 4-HA – NO₂⁻ при различной концентрации HCl. $c_{4-HA} = c(NO_2^{-}) = 5 \cdot 10^{-5}$ M; раствор сравнения – дистиллированная вода. l = 1 см.

Как видно из рис. 3.4, соль диазония (4-нитрофенилдиазоний) в водной среде и при концентрации HCl менее $1 \cdot 10^{-3}$ M не образуется, т.к. электронный спектр поглощения 4-HA в этих условиях идентичен спектру, представленному на рис. 3.4., в аналогичных средах. Увеличение кислотности среды ($c_{HCl} > 1 \cdot 10^{-3}$ M) приводит к образованию 4-нитрофенилдиазония, что сопровождается гипохромным эффектом полосы при $\lambda_{max} = 380$ нм и появлением низкоинтенсивной полосы соли диазония при $\lambda_{max} = 310$ нм. Дальнейшее увеличение концентрации HCl в интервале 0.1 – 6 М не приводит к росту концентрации соли диазония.

На рис. 3.5. представлены спектры поглощения 4-нитрофенилдиазония в щелочной среде в интервале концентраций NaOH (0.01 – 5) М.



Рисунок 3.5. Спектры поглощения системы 4-HA – NO₂⁻ при различной концентрации NaOH. $c_{4-HA} = c(NO_2^{-}) = 5 \cdot 10^{-5}$ M; раствор сравнения – дистиллированная вода. l = 1 см.

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

При смешивании компонентов системы 4-НА – нитрит-ион – резорцин – NaOH отмечалось появление мелкодисперсного осадка. Такое поведение системы может быть объяснено образованием малорастворимого в воде азосоединения. Ранее на кафедре аналитической химии и химической экологии варьировали природу азо- и диазосоставляющих в системах аналогичных системе *I*.

Как видно из кинетических кривых стадии азосочетания солей диазония с дифениламином (ДФА) в воде (рис.3.6), в системах 1, 2, в отличие от системы 3, при pH=1 образующиеся азосоединения через 15-20 минут выпадают в осадок. Малая растворимость этих азосоединений не позволяет применять такие реакции в фотометрическом анализе нитрит-иона в водной среде.



Рисунок 3.6. Зависимость оптической плотности от времени в системах 1, 2, 3. $c(\Pi AA) = c(\square \Phi A) = 1.10^{-3} \text{ M}, c(\text{NaNO}_2) = 2.10^{-5} \text{ M}, \text{ pH}=1, \lambda_{\text{max}} = 530 \text{ нм}.$

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

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

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

где, 1 – толщина поглощающего слоя. Строили зависимость lg τ - lg λ. Затем по tg угла наклона прямых рассчитывали показатель длины волны n из уравнения Ангстрема:

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

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

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

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

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

Где, µ1 – показатель преломления дисперсионной среды, m – относительный показатель преломления.

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

Для определения показателя преломления частиц дисперсной фазы, прямую зависимость относительного размера частиц от концентрации ДФА экстраполировали до с (ДФА) = 1 10⁻⁴ М, полученное значение α составило 1.7 (рис.3.7 а) и ему отвечает ρ , равное 1,2. Зная величины α и ρ , соответствующие одному и тому же значению с(ДФА), по уравнению (6) определяли показатель преломления частиц дисперсной фазы:

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

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

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





Рисунок 3.7. Зависимости а) относительного размера частиц α от *c*(ДФА); б) радиуса частиц от pH; в) радиуса частиц от *c*(ΠАА); г) радиуса частиц от *c*(ДФА).

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

3.3. Реакции окислительной конденсации с 4-аминоантипирином

Спекторофотометрически изучена реакция окислительной конденсации (см. стр.50) фенолов (на примере фенола, тимола и 1-, 2-нафтолов, см. табл. 3.2) с 4-аминоантипирином. Поскольку образование хинониминовых красителей B данной системе возможно В политермическом режиме, нами предварительно изучено влияние температуры на эту систему. Для этого в реакционную смесь из фенола, раствора 4-АА, К₃[Fe(CN)₆] и Na₂CO₃ нагревали на водяной бане при разных температурах в интервале от 30 до 80 °C. При необходимых температурах, полученные растворы фотографировали цифровым фотоаппаратом Iphone 11 (рис.3.8).



Рисунок 3.8. Влияние температуры на характер фазового разделения системы в водной среде: фенол – 4-аминоантипирин - K₃[Fe(CN)₆] - Na₂CO₃. $c_{\phi енола}$: 2·10⁻⁵M. Температура: 1- 30 °C; 2- 50 °C; 3- 70 °C; 4- 80 °C.

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



Рисунок 3.9. Зависимость яркости канала В от температуры нагревания (30-80 °C). $c(\phi$ енола) = 2·10⁻⁵ M; c(4-AA) = 1·10⁻³ M; $c(K_3[Fe(CN)_6]) = 0.08\%$; $c(Na_2CO_3) = 0.25$ M.

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

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



Рисунок 3.10. Спектр поглощения системы фенол – 4-аминоантипирин – K₃[Fe(CN)₆] - Na₂CO₃ относительно контрольного раствора. 1 – без нагревания, 2 – с нагреванием до 80 °C. 3 – Спектр поглощения контрольного раствора относительно воды. $c(\phi_{ehona}) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ M}; c(4\text{-AA}) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}; \omega(K_3[Fe(CN)_6]) = 0.08\%; c(Na_2CO_3) = 0.25 \text{ M}.$

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

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

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



Рисунок 3.11. Спектры поглощения системы фенол – 4-AA – K₃[Fe(CN)₆] – Na₂CO₃ – относительно контрольного раствора. $c(4-AA) = 1 \cdot 10^{-3}$ M; ω (K₃[Fe(CN)₆]) =0.08%; c(Na₂CO₃) = 0.25 M; c(фенолов), M: $I - 1 \cdot 10^{-4}$, $2 - 5 \cdot 10^{-5}$, $3 - 1 \cdot 10^{-6}$.

Сопоставление спектров поглощения продуктов взаимодействия исследуемых фенолов показывает, что максимумы поглощения хинониминовых красителей на основе замещенных фенолов батохромно смещены относительно красителя, полученного из незамещенного фенола. Также, изменение положения гидроксогруппы в нафтольном кольце приводит к снижению чувствительности [75].

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

3.4. Особенности реакции с реактивом Фолина–Чокальтеу

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

Получены спектры поглощения системы фенол – реактив Фолина-Чокальтеу – Na₂CO₃ при комнатной температуре в интервале времени 0 - 80 минут (рис. 3.12).

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



Рисунок 3.12. Спектры поглощения системы фенол – реактив Φ Ч – Na₂CO₃ относительно контрольного раствора во времени (0-80 минут). 1 – 25-80 минут; 2 – 15 минут; 3 – 5 минут; 4 – 0 минут. c(фенола) = $2 \cdot 10^{-5}$ M, c(Φ Ч) = 0,2 н., ω (Na₂CO₃) = 6 %.



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

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

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



Рисунок 3.14. Влияние времени на систему: фенол - Φ Ч - Na₂CO₃. 1(а) – контрольный раствор, 1(б)-8 – $c(\Phi$ енола) = $2 \cdot 10^{-5}$ М, 1(б) – 0 минут, 2 –10 минут, 3 –20 минут, 4 – 25 минут, 5 – 30 минут, 6 – 40 минут, 7 – 50 минут, 8 – 60 минут.

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



Рисунок 3.15. Зависимость яркости каналов R (a), G (б), B (в) от времени в системе: фенол - Φ Ч - Na₂CO₃. $c(\Phi$ енола) = $2 \cdot 10^{-5}$ M.

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

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

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

3.5. Сравнительная оценка некоторых метрологических характеристик исследуемых систем

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

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

N⁰	Фанали	λ _{max} Ацетон [*] Этанол* Вода			ЛОС	ПрО	
п/п	Фенолы				дос		
4-Нитрофенилдиазоний - фенол (<i>система I</i>)							
1	Фенол	568	505	475	-	-	
2	Резорцин	625	580	550	-	-	
3	Флороглюцин	-	-	453	-	-	
4	Тимол	610	560	515	-	-	
5	<i>1-</i> Нафтол	630	590	570	-	-	
6	2-Нафтол	578	550	осадок	-	-	
	4-Амин	юантипир	ин – K ₃ Fe(Cl	N) ₆ – фено	эл (<i>система II</i>)		
1	Фенол		510		$8.8 \cdot 10^{-6} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$3.0 \cdot 10^{-6}$	
2	Тимол	493			$2.4 \cdot 10^{-6} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$8.2 \cdot 10^{-7}$	
3	1-Нафтол		485		$1.9 \cdot 10^{-6} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$6.6 \cdot 10^{-7}$	
4	2-Нафтол		430		$6.8 \cdot 10^{-6} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$2.3 \cdot 10^{-6}$	

Tuomingu one inchorophic winning technic indputter philicetre gy chibix cuenten i in	Таблица	3.2.	Некоторые	физико	-химически	е парамет	ры исслед	уемых	систем І	[-]	П
--	---------	------	-----------	--------	------------	-----------	-----------	-------	----------	-----	---

Окончание таблицы 3.2

N⁰	Фенолы	λ _{max}	ДОС	ПрО						
	Реактив Фолина–Чокальтеу – фенол (<i>система III</i>)									
1	Фенол	760	$2.4 \cdot 10^{-5} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$8.2 \cdot 10^{-6}$						
2	Резорцин	760	$2.4 \cdot 10^{-5} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	8.2.10-6						
3	Флороглюцин	760	$2.4 \cdot 10^{-5} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	8.2.10-6						

*Данные литературы

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

* * *

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

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

ГЛАВА 4. Мицеллярно-экстракционное концентрирование окрашенных производных исследуемых фенолов



Методология СР-концентрирования аналитов основана на разделении гомогенных растворов ПАВ (их смесей) при нагревании, изменении добавлении pН, различных высаливателей на две изотропные фазы: обогащенную ПАВ (Surfactantrich micellar-rich phase; phase),

концентрирует вещества, до фазового разделения распределенные по всему объему раствора; обедненную ПАВ или водную фазу (micellar-dilute phase, micelle-poor, surfactant depleted, aqueous phase), содержит ПАВ с концентрацией до ККМ и остаточные количества экстрагируемых веществ. Обогащенная ПАВ фаза – экстрагент, повышающий растворимость аналитических форм фенолов, в частности азосоединений (*cucmema I*), делая ее пригодной для СФМ.

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

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

Тип ПАВ	Название	Формула
КПАВ	Цетилтриметиламмония хлорид (ЦТМА)	$C_{12}H_{47}NCl$
НПАВ	1) Полиэтилированный эфир	R ₂ C ₆ H ₃ O(CH ₂ -CH ₂ O) _n H
	диалкилфенола (ОП-10)	R=C ₈ -C ₁₂ , n=10-12
	2) Этоксилированный октилфенол	$C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)n$,
	(Тритон Х-100)	n = 9 - 10
	3) Этоксилированный октилфенол	
	(Тритон Х-114)	$C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)n$,
	4) Полиоксиэтилен(23) лауриловый эфир	n = 7–8
	(Бридж-35)	C ₁₂ H ₂₅ (CH ₂ -CH ₂ O) ₂₃ OH

Габлица	4.1. Π	[рименяемые	В	работе	ПАВ
		P	~	pnoore.	

Влияние температуры на характер фазового разделения системы *нПАВ – Н₂О (политермический режим)*. Важнейший фактор, влияющий на точку помутнения (Т_п) растворов ПАВ является температура. Известно [95], что концентрирование достигается нагреванием их водных растворов. Однако, регистрация аналитических окрашенных форм, при повышенной температуре затруднительна и практически не допускается в тест-методах анализа. Поэтому нами исследована зависимость T_п - $\omega(\Pi AB)$ визуальнополитермическим методом на примере системы ОП-10 – H₂O. Для этого пикнометры объемом 10 мл с приготовленными растворами поочередно помещали в термостойкий стакан с водой, снабженный термометром, и нагревали газовой горелкой (скорость нагрева 1⁰С в минуту). При непрерывном встряхивании пикнометров наблюдали изменение фазовых состояний системы. Для удобства наблюдения использовали лампуосветитель. Для каждого пикнометра при нагревании отмечали температуру, при которой прозрачный раствор мутнел (наблюдался переход системы в гетерогенное состояние). Затем, охлаждая раствор, отмечали температуру, при которой раствор становился гомогенным. Опыт повторяли несколько раз, пока расхождения в значениях температур не превышали 0.5°C. График зависимости точки помутнения системы ОП-10 – H₂O от температуры строили по усредненным значениям, фиксированных температур (рис. 4.1).



Рисунок 4.1. Зависимость точки помутнения системы ОП-10 – H₂O от температуры.

Как видно рис. 4.1, температура точки помутнения водных растворов ОП-10 уменьшается с ростом концентрации ПАВ, что не противоречит известным данным литературы для других представителей нПАВ [95]. Формирование мицеллярных фаз нПАВ в изотермическом режиме. Известно, что в случае применения методологии *CP*-экстракции при повышенных температурах (дополнительная стадия соответствующих методик) возникает риск разложения термически нестабильных аналитов (их производных). На характер фазового разделения систем нПАВ - H₂O сильно влияет длина полиоксиэтиленовой цепи. Так, из всех типов ПАВ достижение T_n при температуре 20-25°C возможно только для Тритона X-114. Для других представителей нПАВ фазовое разделение в изотермическом режиме возможно только при введении в систему высаливателей. В связи с этим, актуален поиск факторов, снижающих температуру помутнения и фазового разделения водных растворов нПАВ до температуру 20-25°C.

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



Рисунок 4.2. Зависимость Vм.ф. от ω(ПАВ), где ПАВ – ОП-10; Тритон X-100, Тритон X-114, ОП-10 + ЦТМАХ.

Аналогичные зависимости получены и для смесей неионных ПАВ с катионными, которые в виде соответствующих уравнений приведены в табл.4.2.
ПАВ	Высаливатель	Зависимости V _{м.ф.} - ω(_{ПАВ})
Тритон Х-100	NaOH	y = 0.089x + 0.11 $R^2 = 0.98$
Тритон Х-114	NaOH	y = 0.090x + 0.09 $R^2 = 0.95$
ОП-10	NaOH	y = 0.089x + 0.11 $R^2 = 0.98$
0П-10 + ЦТМАХ	NaOH	y=59.5x-253 $R^{2}=0.98$

Таблица 4.2. Зависимости объемов мицеллярных фаз от концентрации нПАВ

Образование мицеллярных фаз в рН-индуцированном режиме. В исследуемых *системах I - III* роль рН многофункциональна. С одной стороны, рН – фактор, индуцирующий образование фаз. Ранее такой подход был реализован для растворов аПАВ в кислых средах.¹ В настоящей работе получены рН-индуцированные фазы нПАВ в щелочной среде. При этом рН можно создавать как растворами щелочей (NaOH), так и растворами гидролизующихся солей (Na₂CO₃).

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



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

Как 4.3. видно рис. при увеличении концентрации NaOH температура точки помутнения раствора ОП-10 быть может значительно снижена. Варьируя концентраций соотношение нПАВ и NaOH можно достигать высаливания ПАВ уже при комнатной температуре. Так,

установлена закономерность влияния концентрации NaOH (pH-фактор) на

¹ Доронин С.Ю., Соколова Т.А., Косырева И.В. Способ определения нитрит-ионов. Патент RU 2727879 С1. МПК 51 G01N 21/78 (2020.02)

объем мицеллярной фазы нПАВ. На примере системы ОП-10 – NaOH (рис. 4.4) установлено фазовое разделение при концентрации NaOH в интервале (2,2 - 3) М. Линейная зависимость имеет вид: V_{м.ф.} = 0.0792 x + 0.0625; R²= 0.97.



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

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

2. В присутствии Na₂CO₃ фазовое разделение водных растворов оксиэтилированных алкилфенолов (2 - 12%) возможно в политермическом режиме при нагревании систем до (70 - 90) °C (табл. 4.3).

ПАВ	Солеруузние	Na ₂ CO ₃		NaOH	
	основного вещества, %	t _{пом} , °С	Локализация		Локализация
			мицеллярной	t _{пом} , °С	мицеллярной
			фазы		фазы
ОП-10	80	80-90	внизу	20-25	вверху
Тритон Х-114	98	70-80	внизу	20-25	вверху
Бридж-35	98	>100	внизу	20-25	вверху

Таблица 4.3. Некоторые характеристики исследуемых растворов нПАВ

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

Так, сочетанием Na₂CO₃ с другими неорганическими солями (NaCl, Na₂SO₄) или его заменой на NaOH возможно получение 2-х фазных систем в

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

На рис. 4.5 представлена зависимость температуры точки помутнения нПАВ от концентрации различных солей. Как видно из данной диаграммы, при увеличении концентрации соли уменьшается температура помутнения, при этом наилучший высаливающий эффект достигается добавлением Na₂CO₃. Соли приводят не только к уменьшению температуры помутнения и объема мицеллярной фазы, но и к увеличению вязкости растворов.



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

Полученные данные не противоречат данным литературы. Так, в работе [104] получены зависимости температуры помутнения нПАВ от концентрации солей щелочных металлов (рис. 4.6).



Рисунок 4.6. Пример зависимости температуры помутнения водных растворов ОП-10 от концентрации солей щелочных металлов. (*с*_{ОП-10} = 10%).

Из представленной зависимости видно, что температура помутнения снижается с увеличением концентрации соответствующей соли. Снижение

температуры помутнения объясняется несколькими факторами: взаимодействием катионов металла с полиоксиэтиленовой цепью; влиянием ионной силы вводимых электролитов; адсорбцией анионов на гидрофильной полиоксиэтиленовой цепи неионного ПАВ. Высаливающий эффект солей уменьшается в ряду: Na₃PO₄ > Na₂HPO₄ > Na₂CO₃ > Na₂SO₄ > NaH₂PO₄ > NaHSO₄.

Особенности формирования фаз нПАВ в присутствии этанола. Известно, что добавление спиртов в водный раствор нПАВ с короткой углеродной цепью, таких как метанол, этанол и пропанол увеличивают температуру точки помутнения. В связи с тем, что в работе применяли этанольные растворы как реагентов, так и аналитов исследовано влияние этанола на температуру точки помутнения на примере водного раствора ОП-10. Объёмную долю спирта варьировали в интервале от 0.5% до 2%. Полученные зависимости T_{μ} растворов ОП-10 от $\phi(C_2H_5OH)$ приведены на рис. 4.7.



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

На рис. 4.7 представлены результаты трех серий растворов при фиксированных концентрациях φ(C₂H₅OH) 0.5; 1 и 2 об. % соответственно. Установлено, что при увеличении объемной доли этанола в растворе ОП-10 температура точки помутнения его значительно увеличивается.

Во всех трех исследуемых системах, варьировали такие факторы как: природа и концентрация ПАВ, высаливателя, pH в политермическом и изотермическом режимах. Были получены следующие закономерности: • обратно пропорциональные зависимости точки помутнения систем нПАВ – H₂O от температуры, концентрации солей и NaOH;

- линейная зависимость Vм.ф. от ω(нПАВ);
- линейная зависимость Vм. ϕ . от ω (C₂H₅OH).

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

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

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

Варьирование концентрации ПАВ. Полученные ранее закономерности для систем нПАВ – H₂O (высаливатель) были изучены и в *системе I*: фенолы - 4-нитрофенилдиазоний. Установлено, что на характер закономерностей не оказывают влияния рабочие концентрации реактантов.

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



Форма А

Форма Б

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

			-			
ПАВ	Фенол		Резорцин		Флороглюцин	
	pH <7 (A)	рН >7 (Б)	А	Б	А	Б
ОП-10	-	90.1	88.6	89.7	82.7	74.8
ОП-10 + ЦТМАХ	-	84.7	73.7	83.9	74.9	67.9
Тритон Х-114	-	92.5	89.8	90.0	83.9	76.1
Тритон Х-114 + ЦТМАХ	-	89.1	74.1	84.3	79.1	69.3
Бридж-35	-	91.2	88.9	89.9	84.0	75.9
Бридж-35 + ЦТМАХ	-	87.6	75.2	84.5	78.6	69.8

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

С другой стороны, кислотность среды оказывает влияние не только на возможность проведения СР-экстракции, получение но И на соответствующей окрашенной аналитической формы. Так, например, изучено состояние продукта азосочетания диазотированного 4-НА с резорцином (Магнезон I, форма A) в водно-мицеллярных средах при различных рН. Как видно из рис. 4.8, в зависимости от кислотности среды резорцин может находится в разных формах: в кислой – протонированная форма $A\mu^+$ ($\lambda_{max} = 405$ нм), в нейтральной и слабокислой - форма A (λ_{max} = 450 нм), в щелочной форма Б ($\lambda_{max} = 555$ нм). При увеличении концентрации щелочи форма Б преобладает в растворе [106].



Рисунок 4.8. Спектры поглощения Магнезона I при различных pH: $c_{\text{магнезона I}} = 2^{\cdot}10^{-5}$ M; l - 0.1 M HCl; 2 - 0.01 M HCl; 3 - 0.1 M NaOH; 4 - 1 M NaOH; 5 - 2.8 M NaOH.

Для продукта азосочетания и 4-нитрофенилдиазония с фенолом и флороглюцином аналогичных эффектов в спектрах поглащения не наблюдалось. Это, вероятно, связано с тем, что в соединениях с *орто-* или *пара-*хинолидной системой связей наблюдается специфический случай кетоенольной таутомерии. Молекула фенола, имеющая гидроксильную группу при ароматическом кольце (по электронному строению близкую к двойной), должна превращаться в алициклическое карбонильное соединение. Однако в действительности в случае простейших фенолов этого не происходит, так как равновесие полностью сдвинуто в сторону фенольной (енольной) формы [105]. образом, простейший фенол существует в Таким только В единственной форме и возможность таутомерии для него отсутствует. Накопление гидроксильных групп в ароматическом ядре, в силу уменьшения разницы в энергиях стабилизации кетонных и енольных форм, должно благоприятно возможность появления таутомерии, влиять на a, следовательно, и отражаться на свойствах и реакционной способности фенолов. Однако непосредственно флороглюцина полиатомных V таутомерии не обнаружено. Наиболее стабильным в кетонной форме должен быть дианон флороглюцина.

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

Рисунок 4.9. Влияние концентрации Тритона X-100 на систему 2-нафтол – 4-HA – NO₂⁻ - Тритон X-100 – NaOH – этанол. $ω(_{Tpumona X-100}), \%$: 1 - 0,4; 2- 3 ; 3 - 4; 4 – 5 ; 5 - 6; 6 – 7 ; 7 – 8.

Получены зависимости: объема мицеллярной фазы и степени извлечения от концентрации Тритона Х-100 (рисунок 4.10, 4.11), рассчитаны величины коэффициентов распределения и степеней извлечения азосоединений в зависимости от концентрации Тритона Х-100 (таблица 4.5).



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



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

ω(Тритона Х-100),%	D	R, %
0.4	0.6	1
3	0.7	3
4	2	10
5	2	13
6	4	30
7	199	97
8	199	97

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

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

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

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



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

Влияние природы и концентрации нПАВ на степень извлечения резорцина представлено на рис. 4.13. Наилучшие результаты (максимальный выход аналитической формы азосоединений) достигается для раствора Тритон X-100 с концентрацией ≥ 4%, или Тритон X-114 с концентрацией ≥ 1%.



Рисунок 4.13. Изменение оптической плотности аналитической формы резорцина от концентрации нПАВ.

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

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



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

Таким образом, в результате проведенного эксперимента установлено, что при температуре (20 - 25) °С наибольший эффект достигается добавлением ЦТМА в интервале концентраций 4·10⁻⁴ - 1·10⁻⁵ М.

Характер фазового разделения системы I во времени. Изучено влияние времени на характер фазового разделения системы: флороглюцин – 4-HA – NO₂⁻ - Тритон Х-100 – H₂O – NaOH. Для этого полученные растворы в пробирках фотографировали цифровым фотоаппаратом Huawei Y8p (рис. 4.15) в пределах часа.



Рисунок 4.15. Влияние времени на характер фазового разделения системы флороглюцин – 4-HA – NO₂⁻ - Тритон X-100 – H₂O – NaOH. Время, мин: 1 – 0; 2 – 2; 3 – 4; 4 – 6; 5 – 8; 6 – 10; 7 – 15; 8 – 20; 9 – 30; 10 – 40; 11 – 50; 12 – 60. с(флороглюцина): 1-12 – 4·10⁻⁶ M.

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



Рисунок 4.16. Зависимость яркости канала R от времени в системе флороглюцин – 4-HA – NO₂⁻ - Тритон X-100 – H₂O –NaOH. c(флороглюцина) = $4 \cdot 10^{-6}$ M.

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

Влияние органического растворителя (этанола). Изучено влияние концентрации этанола на *систему I*: 2-нафтол – 4-НА – NO₂⁻ - Тритон X-100 – NaOH – этанол.



Рисунок 4.17. Влияние концентрации этанола на систему нафтол-2 – 4-HA – NO₂⁻ - Тритон X-100 – NaOH – этанол. $\varphi_{C_{2H5OH}}$,% = 1 – 5.8; 2 – 9.6; 3 – 15.4; 4 – 19.2; 5 – 28.8; 6 – 38.4.

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

Таблица 4.6. Значения D, R при разной концентрации этанола

<i>Ф</i> С2H5OH ,%	D	R, %
5.8	18	71
9.6	199	97
15.4	199	97
19.2	199	97
28.8	199	97
38.4	199	97



Рисунок 4.18. Зависимость степени извлечения 2-нафтола от концентрации _{C2H5OH} в системе 2-нафтол – 4-HA – NO₂⁻ - Тритон X-100– NaOH.

Из таблиц 4.6 и рисунка 4.18 видно, что степень извлечения 2-нафтола достигает 97% при концентрации этанола 10%, что далее было применено при исследовании системы 2-нафтол – 4-НА – NO₂⁻ - Тритон X-100 – NaOH – этанол для определения нафтолов. Добавка этанола в эту систему приводит к ее изотропности, при этом объем мицеллярной фазы возрастал незначительно, а скорость фазового разделения увеличивалась ~ в 5 раз, что способствовало сокращению времени, необходимого для достижения равновесных состояний в исследуемых системах.

4.3. Особенности фазового разделения в *системе II*: фенолы -4-аминоантипирин – K₃[Fe(CN)₆] – неионный ПАВ

Изучены особенности фазового разделения системы II на примере реакции фенола с 4-аминоантипирином и гексацианоферратом (III) калия в растворах неионных ПАВ [108].

4.3.1. Влияния температуры на характер фазового разделения

Исследовано фазовое разделение системы фенол – 4-аминоантипирин – K₃[Fe(CN)₆] – Тритон X-100 - Na₂CO₃ в политермическом режиме в интервале 30 - 80 °C. При достижении необходимых температур, полученные растворы фотографировали цифровым фотоаппаратом Iphone 11. После усреднения цвета, полученного изображения, определяли яркость цветовых каналов R, G, В. По полученным значениям строили зависимости яркости цветового канала

от температуры. Пример зависимости яркости цветового канала (Ів) от Т представлен на рисунке 4.19.



Рисунок 4.19. Зависимость яркости канала В от температуры нагревания (30 - 80 °C) системы фенол - 4-AA - K₃[Fe(CN)₆] - Na₂CO₃ - Тритон X-100. c(фенола) = 2·10⁻⁵ M; c (4-AA) = 1·10⁻³ M; c (K₃[Fe(CN)₆]) = 0.08%; c (Na₂CO₃) = 0.25 M; c (Тритон X-100) = 3%.

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

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



Рисунок 4.20. Спектры поглощения системы: фенол – 4-аминоантипирин – K_3 [Fe(CN)₆] – Тритон X-100 - Na₂CO₃. 1 – без нагревания, 2 – при нагреваниии до 80 °C. $c(\phi$ енола) = 2·10⁻⁵ M; c(4-AA) = 1·10⁻³ M; $c(K_3$ [Fe(CN)₆]) = 0.08%; $c(Na_2CO_3) = 0.25$ M; c(Tритона X-100) = 3%.

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

4.3.2. Варьирование концентрации Тритона Х-100

Изучено влияние концентрации Тритона X-100 на объем мицеллярной фазы в системе: фенол - 4-аминоантипирин – K₃Fe(CN)₆ – Тритон X-100 в присутствии 0.25 М Na₂CO₃. Полученные растворы в пробирках фотографировали цифровым фотоаппаратом (рис. 4.21).



Рисунок 4.21. Фазовое разделение системы: фенол - *4*-аминоантипирин – K₃Fe(CN)₆ – Тритон X-100 - Na₂CO_{3.}

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





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



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

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

4.3.3 Изучение влияния концентрации Na₂SO₄ на систему: фенол - *4*-аминоантипирин - K₃[Fe(CN)₆] - Na₂CO₃ - Тритон X-100

Изучено влияние концентрации Na₂SO₄ на систему: фенол - 4-AA - K₃[Fe(CN)₆] - Na₂CO₃ - Тритон X-100 при концентрации аналита $2 \cdot 10^{-5}$ M. Для этого строили зависимости I (R, G, B) от c(Na₂SO₄), при c(Na₂CO₃) = const (создание pH) после разделения фаз, ускоренного центрифугированием.

Из рисунков 4.24 видно, что интенсивность каналов R и G снижается при увеличении концентрации Na₂SO₄ и при ее оптимальной концентрации (0,5 M) в системе достигается равновесие и максимальная интенсивность окраски аналитической формы.



Рисунок 4.24. Зависимости яркости каналов R, G от *c*(Na₂SO₄) в интервале: 0.2-0.7 M; *c*(фенола): 2·10⁻⁵ M.

Аналогично изучено влияние концентрации Na_2SO_4 на $V_{M,\phi}$. в системе: фенол - 4-AA - $K_3[Fe(CN)_6]$ - Na_2CO_3 - Тритон X-100 - Na_2SO_4 . После разделения фаз отделяли мицеллярную от водной и измеряли их объемы. Строили зависимость $V_{M,\phi}$. исследуемой системы от концентрации Na_2SO_4 (рис. 4.25).



Рисунок 4.25. Зависимость объема мицеллярных фаз от концентрации Na₂SO₄ $c(\phi$ енола) = 8·10⁻⁶ M; c(4-AA) = 1·10⁻³ M; $c(K_3[Fe(CN)_6]) = 0.08\%$; $c(Na_2CO_3) = 0.25$ M; c(Tритона X-100) = 3%, $c(Na_2SO_4) = 0.25$ -0.7 M.

Из рис. 4.25 видно, что система достигает равновесного состояния при оптимальной концентрации Na₂SO₄ – 0.5 M, при которой интенсивность окраски фазы, насыщенной нПАВ также максимальна.

Рассчитаны количественные характеристики (коэффициент распределения, D и степень извлечения, R) экстракции фенола в исследуемой системе в интервале концентраций фенола от 2.10⁻⁶ до 5.10⁻⁵ М по формулам:

$$D = \frac{\mathcal{C}_{O}}{\mathcal{C}_{B}}, \qquad (1),$$

где *c*_o – концентрация компонента в органической (мицеллярной) фазе; *c*_B – концентрация компонента в водной фазе.

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

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

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

С _{фенолов} , моль/л	D		R, %	
	фенол	тимол	фенол	тимол
$2 \cdot 10^{-6}$	6	6	46	35
$4 \cdot 10^{-6}$	10	9	59	46
1.10-5	19	17	72	63
$3 \cdot 10^{-5}$	42	30	85	75
$5 \cdot 10^{-5}$	58	39	89	79

Таблица 4.7. Значения D, R фенола



Рисунок 4.26. Зависимости степеней извлечения фенола (а) и тимола (б) от их концентраций.

Из таблицы 4.7 и рисунка 4.26 видно, что с увеличением концентрации фенолов значения D и R также возрастают, фенол и тимол практически одинаково экстрагируются в мицеллярную фазу ПАВ.

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

4.4.1. Исследование характера фазового разделения от температуры

Изучена стабильность указанной системы во времени. Для этого к водному раствору фенола добавили реактив ФЧ, затем раствор Na₂CO₃, дистиллированную воду, тщательно все перемешивали и оставляли на 30 минут. После вводили в систему Тритон X-100 и регистрировали фотографии растворов *системы III* в интервале времени 5 – 420 минут (рис. 4.27).



Рисунок 4.27. Характер фазообразования в *системе III* во времени в мин. 1 – 5, 2 – 15, 3 – 25, 4 – 35, 5 – 45, 6 – 60, 7 – 120, 8 – 180, 9 – 240, 10 – 300, 11-360, 12 – 420.

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



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

Как видно из рисунка 4.28, с увеличением времени в интервале 5 – 420 минут интенсивность каналов R, G и B первоначально снижается, а равновесие в системе достигается через (300 – 420) минут, о чем свидетельствует плато на кинетической кривой.

Без дополнительных факторов, приводящих к фазовому разделению растворов системы фенол – реактив ФЧ - Na₂CO₃ – Тритон X-100 (органические неорганические высаливатели, температура, И pH. центрифугирование, микроволновое излучение и др.), распределение веществ на две фазы осуществляется в длительном промежутке времени (рис. 4.28), что не удовлетворяет требованиям тест-методов [8]. Поэтому для ускорения фазового разделения В систему Ш вводили добавки различных неорганических высаливателей.

4.4.2. Влияние природы неорганических высаливателей на фазообразование

Известно, что на процесс фазового разделения водных растворов нПАВ, в том числе и *системы III*: фенол – реактив Φ Ч – Na₂CO₃ – Тритон X-100 оказывает влияние концентрация солей. В этой системе присутствует Na₂CO₃, однако его концентрации и ионной силы, которую создает эта соль, не достаточно для выделения фазы нПАВ. Поэтому применяли центрифугирование и введение дополнительного высаливателя NaCl, Na₂SO₄, (NH₄)₂SO₄ и смесь солей (Na₂SO₄ + (NH₄)₂SO₄). Перейдем к обсуждению полученных результатов.

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



Рисунок 4.29. Зависимость яркости канала R от времени (0 - 90 минут), при варьировании концентрации NaCl от 0.08 до 9.2%.

Из полученных результатов (рис. 4.29) видно, что интенсивность канала R снижается при уменьшении концентрации соли (0.08 – 9.2%) и с увеличением времени контакта реактантов, что связано с формированием больших по объему мицеллярных фаз нПАВ.

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



Рисунок 4.30. Зависимость объема мицеллярной фазы от концентрации NaCl в *системе III*: фенол - реактив ФЧ - Na₂CO₃ - Тритон X-100 – NaCl; ω (NaCl) = 0.08 – 9.2%.

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



Рисунок 4.31. Зависимости яркостей каналов R (a), G (б), B (в) от концентрации NaCl в *системе III*: фенол - реактив ФЧ - Na₂CO₃ - Тритон X-100 – NaCl; ω (NaCl) = 0.08 - 9.2%.

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

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



Рисунок 4.32. Зависимость яркости канала R от времени (0-90 минут), при варьировании концентрации Na₂SO₄ от 0.04 до 4.6%.

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

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



Рисунок 4.33. Зависимость объема мицеллярных фаз от концентрации Na_2SO_4 в *системе III*: фенол - реактив ФЧ - Na_2CO_3 – Тритон X-100 - Na_2SO_4 ; $\omega(Na_2SO_4) = 0.04 - 4.6\%$.



Рисунок 4.34. Зависимости яркостей каналов R (a), G (б) и B (в) от концентрации Na₂SO₄ в системе III: фенол - реактив ФЧ - Na₂CO₃ – Тритон X-100 - Na₂SO₄. ω(Na₂SO₄) = 0.04 – 4.6%.

Как видно из рисунков 4.33 – 4.34, фазовое равновесие в системе достигается при концентрациях Na₂SO₄ 3% и выше, что обусловленно постоянным объемом мицеллярной фазы и интенсивностей каналов R, G и B при дальнейшем росте концентрации этой соли.

(NH₄)₂SO₄. Аналогично NaCl и Na₂SO₄, изучено влияние добавки (NH₄)₂SO₄ на скорость формирования мицеллярной фазы ПАВ в *системе III*: фенол - реактив ФЧ - Na₂CO₃ – Тритон X-100. Характер поведения системы изучали в интервале времени (0 - 90 минут).

Получены зависимости $I_{(R,G,B)} - \omega((NH_4)_2SO_4)$ рис. 4.35 во времени.

Из рис. 4.35 видно, что интенсивность канала R снижается (как и в случае NaCl, Na₂SO₄) при уменьшении концентрации соли (0.16 – 7.2%) и с увеличением времени контакта реактантов, что также связано с укрупнением мицеллярных фаз нПАВ и ростом их объемов.



 $\omega((NH_4)_2SO_4) = 0.16 - 7.2\%.$

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



Рисунок 4.36. *Система (III)* с (NH₄)₂SO₄ после центрифугирования. ω((NH₄)₂SO₄), %: 1 – 0.16; 2 – 0.32; 3 – 0.48; 4 – 0.64; 5 – 0.8; 6 – 2.4; 7 – 4.0; 8 – 5.6; 9 -7.2; 10 - 8.8; 11 – 10.4; 12 – 12.0; 13 – 13.6; 14 – 15.2; 15 – 16.8; 16 – 18.4.

Из рисунка 4.36 видно, что мицеллярные фазы синего цвета локализованы в верхней части пробирки, а объем мицеллярных фаз с увеличением концентрации (NH₄)₂SO₄ визуально уменьшается (0.16 – 7.2%), в диапазоне концентраций соли от 8.8 до 18.4% образование фаз не наблюдалось. Зависимости объемов мицеллярных фаз и яркостей цветовых каналов R, G, B от концентрации (NH₄)₂SO₄, приведены на рис. 4.37 и рис. 4.38 соответственно.



Рисунок 4.37. Зависимость объема мицеллярной фазы Тритона X-100 от концентрации (NH₄)₂SO₄; ω ((NH₄)₂SO₄) = 0.16 – 7.2%.



Рисунок 4.38. Зависимости яркостей каналов R (а), G (б) и B (в) от концентрации (NH₄)₂SO₄ от 0.16 до 7.2%.

Из рисунков 4.37 – 4.38 следует что, добавление (NH₄)₂SO₄ не позволяет в системе достичь фазового равновесия без центрифугирования. Поэтому, (NH₄)₂SO₄ не может быть рекомендован в качестве высаливателя для дальнейших исследований.

Влияние смесей двух солей: Na₂SO₄ и (NH₄)₂SO₄. Изучено влияние смесей солей Na₂SO₄ и (NH₄)₂SO₄ на скорость формирования мицеллярной фазы нПАВ в *системе III*: фенол - реактив ФЧ - Na₂CO₃ – Тритон X-100. На рисунке 4.39 представлена зависимость яркости цветового канала $I_{(R)}$ при варьировании общей концентрации SO₄²⁻ во времени.



Рисунок 4.39. Зависимости яркости канала R от времени (0-90 минут) при варьировании $c(SO_4^{2^-})$ от 0.020 до 0.509 М.

Из полученных результатов (рис. 4.39) видно, что интенсивность яркости канала R уменьшается с увеличением общей концентрации $SO_4^{2^-}$. Для смесей солей Na_2SO_4 и $(NH_4)_2SO_4$ образование фаз нПАВ затруднено и отмечалось при концентрациях 0.014 - 0.30 М после центрифугирования (рис. 4.40).



Рисунок 4.40. *Система III* в присутствии Na₂SO₄ и (NH₄)₂SO₄. *c*(SO₄²⁻), M: 1 – 0.020; 2 – 0.027; 3 – 0.042; 4 – 0.370; 5 – 0.509; 6 – 0.788.

Зависимости яркостей цветовых каналов R, G, B от общей концентрации SO_4^{2-} (рис. 4.41) показали, что добавление солей Na₂SO₄ и (NH₄)₂SO₄ не позволяет в *системе III* достигать фазового равновесия.



Рисунок 4.41. Зависимость яркости каналов R (а), G (б) и B (в) от концентрации $SO_4^{2^-}$. $c(SO_4^{2^-}) = 0.020 - 0.509$ M.

Поскольку добавка высаливателей в *системе III* не увеличивала скорость фазообразования, для дальнейших исследований выбран высаливатель - Na₂SO₄ (требуются его минимальные количества) с оптимальной концентрацией 3.2%.

4.4.3. Варьирование концентрации неионного ПАВ

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

ОП-10. Изучено влияние концентрации ОП-10 на систему: фенол (1·10⁻⁵ M) – реактив ФЧ - Na₂CO₃ – ОП-10. Фотографировали растворы указанной системы после центрифугирования 10 минут при 3000 об/мин (рис. 4.42).



Рисунок 4.42. Влияние концентрации ОП-10 на *систему III*. ω (ОП-10), %: 1 – 4.2; 2 – 4.5; 3 – 4.8; 4 – 5.0; 5 – 5.2; 6 – 5.4; 7 - 5.6; 8 – 5.8; 9 – 6.0. *с*(фенола) = 1·10⁻⁵ M.

Из рисунка 4.42 видно, что в полученной системе при концентрации ОП-10 ≤ 4.2% образование фаз не наблюдалось. После достижения фазового равновесия мицеллярные фазы отделяли и измеряли их объем. Строили зависимость V_{м.ф.} – концентрация ОП-10 (рис. 4.43).



Рисунок 4.43. Зависимость объема мицеллярных фаз от концентрации ОП-10. ω (ОП-10) = 4.5 - 6.0%.

Из рис. 4.43 видно, что объем мицеллярной фазы линейно зависит от концентрации ОП-10. Уравнение регрессии имеет вид y = 0.211x + 0.076, коэффициент корреляции R² графической зависимости составил 0.996.

С увеличением концентрации ОП-10 интенсивности каналов R (a), G (б) и B (в) первоначально уменьшаются, а при концентрации 5.2% достигается фазовое равновесие (рис. 4.44).



Рисунок 4.44. Зависимость яркости канала R (а), G (б) и B (в) от концентрации ОП-10. ω (ОП-10): 4.5 – 6.0 %.

Применение коммерческого аналога Тритона X-100 ОП-10 исходная концентрация, которого составила 20% - 30% не целесообразно, так как его мицеллярно-насыщенные фазы собираются достаточно больших объемов при высоких рабочих концентрациях ОП-10, по сравнению с Тритоном X-100, оптимальная концентрация которого составила 2%, а объем рабочего раствора - 0.5 мл, как показано ниже.

Тритон X-100. Изучено влияние концентраций Тритона X-100 на систему: фенол – реактив ФЧ - Na₂CO₃ в интервале концентраций от 0.8 до 2.8%. Полученные растворы центрифугировали для ускорения формирования мицеллярных фаз в течение10 минут при 3000 об/мин.

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



Рисунок 4.45. Зависимость объема мицеллярной фазы от концентрации Тритона X-100 в интервале от 0.8 до 2.8%.

Из рисунка 4.45 видно, что объем мицеллярной фазы в диапазоне от 0.36 до 0.74 мл линейно зависит от концентрации Тритона X-100. Уравнение регрессии имеет вид y = 0.191x + 0.212, коэффициент корреляции R² графической зависимости – 0.991. По полученным значениям яркости цветовых каналов R, G, B строили зависимости I (канала) от концентрации Тритона X-100 (рис. 4.46).



Рисунок 4.46. Зависимости яркостей каналов R (а), G (б) и B (в) от концентрации Тритона X-100. ω (Тритона X-100): 0.8-2.8 %; *c*(фенола) 1·10⁻⁵ M.

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

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



a)

Рисунок 4.47. Контрольный раствор и раствор с *системой III с(*фенола) = 2·10⁻⁵ М, *с*(ФЧ) = 0.2 н., ω(Na₂CO₃) = 6%, ω(Тритон X-114),%: 0.6 % (а); 1.8% (б).

Как видно из рис. 4.47, мицеллярная фаза нПАВ при ω(Тритона X-114) = 0.6% практически не формируется, отсутствует четкая граница фаз. Увеличение концентрации Тритона X-114 от 2 до 6% позволяет получить мицеллярную фазу с выраженной границей раздела, в которой полностью концентрируется продукт реакции - «молибдено-вольфрамовая синь».

Замена Тритона X-100 Тритоном X-114 осуществлялась с целью уменьшения концентрации нПАВ в исследуемой системе. Однако в этом случае для создания мицеллярно-насыщенных фаз необходимо вводить в *систему III* Тритона X-114 больше объемом (его растворимость в воде меньше), по сравнению с Тритоном X-100. Поэтому, для дальнейших исследований выбран Тритон X-100, оптимальная концентрация которого составила 2%, и объем рабочего раствора, вводимого в *систему III*, не привышал 0.5 мл.

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

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

с(фенолов),	D				R, %	, D
моль/л	фенол	резорцин	флороглюцин	фенол	резорцин	флороглюцин
$7 \cdot 10^{-7}$	7	3	0.5	24	13	2
$8 \cdot 10^{-7}$	7	4	2	24	14	9
9.10^{-7}	8	5	3	26	16	11
1.10-6	9	6	4	28	21	16
$2 \cdot 10^{-6}$	10	8	5	29	24	19
$3 \cdot 10^{-6}$	13	19	9	34	45	28
$4 \cdot 10^{-6}$	18	27	21	43	53	47
6.10-6	37	57	33	61	70	58
$8 \cdot 10^{-6}$	53	67	60	69	74	71
$1 \cdot 10^{-5}$	75	112	81	76	82	77
$2 \cdot 10^{-5}$	127	119	187	84	83	89
$4 \cdot 10^{-5}$	524	524	447	96	96	95
6.10-5	3494	3830	3561	99	99	99

Таблица 4.8. Значения D, R фенолов в системе

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



Рисунок 4.48. Зависимости степеней извлечения фенолов от их концентрации. 1 - фенол; 2 - резорцин; 3 – флороглюцин.

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

максимум поглощения при длине волны 760 нм. Реакция протекает практически одинаково и степени извлечения этой формы для систем с фенолом, резорцином и флороглюцином сопоставимы и достигают 99%.

В таблице 4.9 приведена сравнительная характеристика исследуемых систем в водной и мицеллярной средах спектрофотометрическим и цветометрическим методами исследования [106 – 108, 110].

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

No		ДС	ПрО					
л <u>ч</u> п/п	Фенолы	СФМ (СР)	ЦМ*	СФМ	СФМ (СР)	ЦМ*		
	4-Нитрофенилдиазоний - фенол (<i>система I</i>)							
1	Фенол	$1.8 \cdot 10^{-6} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$3.3 \cdot 10^{-9} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	-	$6 \cdot 10^{-7}$	$1.1 \cdot 10^{-9}$		
2	Резорцин	$5,0.10^{-6} - 1.0.10^{-4}$	$3.3 \cdot 10^{-9} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	-	1.6.10-6	$1.1 \cdot 10^{-9}$		
3	Флороглюцин	$4.5 \cdot 10^{-6} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$4.8 \cdot 10^{-9} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	-	$1.5 \cdot 10^{-6}$	1.6·10 ⁻⁹		
4	Тимол	$7.0 \cdot 10^{-7} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$3.3 \cdot 10^{-9} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	-	$2.3 \cdot 10^{-7}$	$1.1 \cdot 10^{-9}$		
5	1-Нафтол	$1.3 \cdot 10^{-6} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$3.6 \cdot 10^{-9} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	-	$4.2 \cdot 10^{-7}$	$1.2 \cdot 10^{-9}$		
6	2-Нафтол	$3.0 \cdot 10^{-6} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$4.8 \cdot 10^{-9} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	-	1.0.10-6	$1.6 \cdot 10^{-9}$		
	4-A	миноантипирин –	К ₃ Fe(CN) ₆ – фенол	(систем	a II)			
1	Фенол	$2.7 \cdot 10^{-6} - 5.0 \cdot 10^{-5}$	$2.6 \cdot 10^{-8} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	$3.0 \cdot 10^{-6}$	9.0·10 ⁻⁷	$8.8 \cdot 10^{-9}$		
2	Тимол	$5.1 \cdot 10^{-6} - 5.0 \cdot 10^{-5}$	$4.8 \cdot 10^{-9} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	8.2·10 ⁻⁷	$1.7 \cdot 10^{-7}$	$1.6 \cdot 10^{-9}$		
	Реактив Фолина–Чокальтеу – фенол (<i>система III</i>)							
1	Фенол	$2.7 \cdot 10^{-6} - 6.0 \cdot 10^{-5}$	$2.3 \cdot 10^{-9} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	$8.0 \cdot 10^{-6}$	9.0·10 ⁻⁷	$1.0 \cdot 10^{-9}$		
2	Резорцин	$1.8 \cdot 10^{-6} - 6.0 \cdot 10^{-5}$	$2.4 \cdot 10^{-9} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	8.0.10-6	$6.1 \cdot 10^{-7}$	$1.0 \cdot 10^{-9}$		
3	Флороглюцин	$2.0 \cdot 10^{-6} - 6.0 \cdot 10^{-5}$	$2.6 \cdot 10^{-9} - 1.0 \cdot 10^{-5}$	8.0.10-6	$6.8 \cdot 10^{-7}$	$1.0 \cdot 10^{-9}$		

* - Цветометрия

Как видно из данных табл. 4.9, концентрирование фенолов в мицеллярные фазы нПАВ понижает их ПрО по сравнению с системами без СР-концентрирования аналитических форм в 3.3 и 9 раз для *системы II* и *системы III* соответственно. Кроме того, реализация такого подхода дает возможность применения *системы I* для спектрофотометрического и цветометрического определения фенолов. Так, пределы спектрофотометрического определения фенола с предварительным его СР–концентрированием в исследуемых *системах I, II* и *III* составили соответственно 6.0·10⁻⁷ М, 9.0·10⁻⁷ М и 9.0·10⁻⁷ М.

Наименьшие значения ПрО спектрофотометрического определения фенолов установлены для тимола и *1*-нафтола, что обусловлено их наибольшей гидрофобностью (*lgP* (тимола) = 3.42, *lgP* (*1*-нафтола) = 2.76) и, как следствие, максимальными значениями степеней извлечения в мицеллярно-насыщенные фазы нПАВ (их смеси с кПАВ).

Цветометрическое определение исследуемых аналитов позволило на два порядка снизить ПрО, ПО сравнению с результатами ИХ ИХ СР-концентрирования, спектрофотометрического определения после что обусловлено отсутствием необходимости разбавления мицеллярных фаз нПАВ для регистрации аналитического сигнала. При этом, пределы обнаружения исследуемых фенолов понижаются в 100 (система I), 600 (система II) и 900 (система III) раз соответственно.

* * *

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

Оптимизированы условия получения мицеллярно-насыщенных фаз неионных ПАВ (их смесей с катионными ПАВ) в присутствии реагентов и аналитов, высаливателей (Na₂SO₄, NaCl и др.). Установлены закономерности: увеличение объема мицеллярной фазы (V_{м.ф.}) от $c(\Pi AB)$, уменьшение температуры помутнения и V_{м.ф.} от c(высаливателя).

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

ГЛАВА 5. Практическое применение результатов исследований

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



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

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

Система I: Для получения мицеллярных фаз на основе неионного ПАВ (Тритон X-100) в пробирках общим объемом 10 мл, вносили 0.15 мл $1 \cdot 10^{-2}$ M спиртового раствора 4-HA, 0.15 мл $1 \cdot 10^{-2}$ M NaNO₂ и 0.5 мл 0.1 M HCl, тщательно перемешивали. Через 5 мин в эти же пробирки с приготовленным диазотированным 4-HA вносили соответствующий фенол, например, тимол в интервале концентраций от $2 \cdot 10^{-6}$ до $4 \cdot 10^{-5}$ M; 1.25 мл 20%-ного Тритона X-100; 0.35 мл этанола; 1.4 мл 10 M NaOH, содержимое пробирок перемешивали.

Система II: Для получения мицеллярных фаз на основе неионного ПАВ (Тритон X-100) в пробирках общим объемом 10 мл, вносили фенол, концентрацией от $2 \cdot 10^{-4}$ до $2 \cdot 10^{-5}$ M, 0.05 мл $1 \cdot 10^{-1}$ M спиртового раствора 4-AA, 0.05 мл 8%-ного K₃Fe(CN)₆ и 1 мл 1.25 M Na₂CO₃, 0.75 мл 20%-ного Тритона X-100, содержимое тщательно перемешивали. Для образования фазы вносили дополнительный высаливатель 10%-ный Na₂SO₄.

Система III: Способ 1: в пробирку вносили водный раствор фенола 0.05 мл 1·10⁻³ М, реактив Фолина-Чокальтеу 0.5 мл 2 н.; тщательно перемешивали и оставляли пробирки на 5-8 минут; после добавляли 1.5 мл 20%-ного Na₂CO₃, разбавляли дистиллированной водой, тщательно все перемешивали и оставляли на 20-30 минут. Вводили 0.5 мл 20%-ного Тритона X-100 и от 0.02 до 2.3 мл 20%-ного NaCl, вновь перемешивали. Наблюдали за полученными растворами в течение 90 минут. Центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин.

Способ 2 и способ 3 отличались от *способа 1* заменой NaCl на 10%-ный Na₂SO₄ и 40%-ный (NH₄)₂SO₄.

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

5.1. Спектрофотометрическое определение фенолов с предварительной мицеллярной экстракцией

Для разработки спектрофотометрического способа определения фенола фазу, обогащённую ПАВ (рис. 5.1), в которой концентрируется аналит, необходимо отбирать и разбавлять приблизительно в 5 раз для последующей регистрации электронных спектров поглощения. При этом

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





Рисунок 5.2. Спектры поглощения исследуемых систем: *система I:* исследуемый фенол – 4-НА – NO₂⁻ - Тритон Х-100 – NaOH – этанол. $c(4-HA) = \cdot 10^{-4}$ M; c(NaOH) = 2.8 M; $\omega(Тритон X-100) = 5\%$; $\varphi(C_2H_5OH) = 10\%$; *системы II:* исследуемый фенол - 4-АА– K₃Fe(CN)₆ – Тритон Х-100 - Na₂CO₃. $c_{4-AA} = 1 \cdot 10^{-3}$ M; $c(Na_2CO_3) = 0.25$ M; $\omega(Тритон X-100) = 3\%$; $\omega(K_3Fe(CN)_6) = 0.8\%$; *системы III:* фенол - реактив Фолина-Чокальтеу – Na₂CO₃ – Тритон Х-100 – Na₂SO₄. $c(\Phi \Psi) = 0.2$ н.; $c(Na_2CO_3) = 6\%$; c(Тритон X-100) = 2%; $c(Na_2SO_4) = 3.2\%$.

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

Аналит	Корреляционные уравнения	λmax				
Система І						
Фенол	$Y = 0.096x + 0.04$ $R^2 = 0.99$	480				
Резорцин	$Y = 0.036x - 0.08 R^2 = 0.98$	580				
Флороглюцин	Y = 0.040x - 0.010 R ² = 0.99	465				
<i>1-</i> Нафтол	Y = 0.06x - 0.20 $R^2 = 0.98$	610				
<i>2</i> -Нафтол	Y = 0.14x - 0.20 $R^2 = 0.98$	556				
Тимол	Y = 0.26x + 0.017 R ² = 0.99	552				
	Система II					
Фенол	$Y = 0.0088x - 0.0009$ $R^2 = 0.99$	516				
Тимол	$Y = 0.0035x - 0.0238$ $R^2 = 0.98$	480				
	Система III					
Фенол	$Y = 0.066x - 0.008$ $R^2 = 0.99$	760				
Резорцин	$Y = 0.098x - 0.004$ $R^{2} = 0.99$	760				
Флороглюцин	Y = 0.088x - 0.010 R ² = 0.99	760				

Таблица 5.1. Градуировочные зависимости оптической плотности от р*с* исследованных фенолов

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

Система I (Тимол)								
№ <i>p-pa</i>	Введено, М	Найдено, М	$X \pm \Delta X, M$	Sr, %				
1		$2.47 \cdot 10^{-6}$						
2	$2.50 \cdot 10^{-6}$	$2.47 \cdot 10^{-6}$	$(2.48 \pm 0.06) \cdot 10^{-6}$	1				
3		$2.51 \cdot 10^{-6}$						
1		$2.07 \cdot 10^{-5}$						
2	$2.00 \cdot 10^{-5}$	$2.06 \cdot 10^{-5}$	$(2.07 \pm 0.01) \cdot 10^{-5}$	2				
3		$2.06 \cdot 10^{-5}$						
1		$2.59 \cdot 10^{-5}$						
2	$2.50 \cdot 10^{-5}$	$2.60 \cdot 10^{-5}$	$(2.60 \pm 0.03) \cdot 10^{-5}$	4				
3		$2.61 \cdot 10^{-5}$						
		Система II (Фе	нол)					
1		$2.59 \cdot 10^{-5}$						
2	$2.00 \cdot 10^{-5}$	$2.60 \cdot 10^{-5}$	$(2.59 \pm 0.01) \cdot 10^{-5}$	3.4				
3		2.59.10-5	-					
1		6.7·10 ⁻⁵						
2	$8.00 \cdot 10^{-5}$	$6.7 \cdot 10^{-5}$	$(6.7 \pm 0.03) \cdot 10^{-5}$	4.2				
3		$6.7 \cdot 10^{-5}$						
1		$2.8 \cdot 10^{-4}$						
2	$2.00 \cdot 10^{-4}$	$2.8 \cdot 10^{-4}$	$(2.9 \pm 0.01) \cdot 10^{-4}$	5.5				
3		$2.9 \cdot 10^{-4}$						
		Система III	(Фенол)					
1	_	$8.37 \cdot 10^{-7}$						
2	8.00.10-7	$8.58 \cdot 10^{-7}$	$(8.5 \pm 0.3) \cdot 10^{-7}$	1.4				
3		8.58·10 ⁻⁷						
1		$2.65 \cdot 10^{-6}$						
2	$3.00 \cdot 10^{-6}$	$2.65 \cdot 10^{-6}$	$(2.7 \pm 0.1) \cdot 10^{-6}$	1.4				
3		$2.71 \cdot 10^{-6}$						
1		7.26.10-6						
2	$8.00 \cdot 10^{-6}$	$7.09 \cdot 10^{-6}$	$(7.3 \pm 0.4) \cdot 10^{-6}$	2.4				
3		$7.43 \cdot 10^{-6}$						

Таблица 5.2. Результаты спектрофотометрического определения некоторых фенолов в модельных растворах (*n* = 3, *P* = 0.95)

Спектрофотометрические способы позволяют определять исследуемые фенолы в диапазоне концентраций: от $1.3 \cdot 10^{-6}$ до $1 \cdot 10^{-4}$ М (*система I*); от $2.7 \cdot 10^{-6}$ до $5 \cdot 10^{-5}$ М (*система II*); от $1.8 \cdot 10^{-6}$ до $6 \cdot 10^{-5}$ М (*система III*) при этом погрешность спектрофотометрического определения не превышала 5 - 6 %. Исходя из данных приведенных в табл. 5.2, большей чувствительностью обладает *система III*, несмотря на то, что получение мицеллярной фазы в ней усложняется этапом центрифугирования. Спектрофотометрическое
определение фенолов с применением *системы I*, уступает по чувствительности, однако отличается хорошей воспроизводимостью результатов и контрастностью аналитических форм. Менее чувствительна и контрастна *система II*.

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

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

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

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

Таблица 5.3. Цветовые шкалы для полуколичественного визуально-

	с(аналита), М								
Аналит	0	1·10 ⁻⁹	5·10 ⁻⁹	1.10-8	5·10 ⁻⁸	1·10 ⁻⁷	5 ·10 ⁻⁷	1.10-6	1.10-5
			Cı	істема І					
Фенол									
Резорцин									
Флороглюцин									
Тимол									
<i>1-</i> Нафтол									
2-Нафтол									
			Си	стема II					
Фенол									
Тимол									
Система III									
Фенол, Резорцин, Флороглюцин									

колориметрического определения фенольных соединений в водных средах



Рисунок 5.3. Профили лепестковых диаграмм исследуемых фенолов для систем I, II, III.

Продолжение рисунка 5.3





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

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

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

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

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

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

Таблица 5.4. Градуировочные зависимости площадей S и периметров Р ЛД от рс

A	Корреляционные уравнения				
Аналит	Канал R, G, B S		Р		
Система І					
Фенол	$Y_G = 52.6x - 216$	S = 8180x - 34000	P = 171x - 527		
	$R^2 = 0.98$	$R^2 = 0.98$	$R^2 = 0.98$		
Резорцин	$Y_G = 54.3x - 235$	S = 9380x - 43360	P = 182x - 625		
	$R^2 = 0.99$	$R^2 = 0.99$	$R^2 = 0.96$		
Флороглюцин	$Y_G = 38.4x - 141$	S = 6130x - 24650	P = 140x - 392		
	$R^2 = 0.97$	$R^2 = 0.97$	$R^2 = 0.99$		
<i>1-</i> Нафтол	$Y_B = 37.3x - 143$	S = 20182 x - 87649	P = 278x - 1013		
	$R^2 = 0.99$	$R^2 = 0.99$	$R^2 = 0.97$		
<i>2</i> -Нафтол	$Y_R = 49.6x - 185$	S = 9445x - 26709	P = 135x - 193		
	$R^2 = 0.98$	$R^2 = 0.99$	$R^2 = 0.96$		
Тимол	$Y_G = 54.2x - 267$	S = 9445x - 26709	P = 135x - 325		
	$R^2 = 0.99$	$R^2 = 0.99$	$R^2 = 0.99$		
Система II					
Фенол	$Y_R = 67.6x - 218$	S = 7915x - 18568	P = 201x - 449		
	$R^2 = 0.99$	$R^2 = 0.99$	$R^2 = 0.999$		
Тимол	$Y_G = 36.0x - 75.7$	S = 4070x + 7237	P = 64.7x + 333		
	$R^2 = 0.997$	$R^2 = 0.99$	$R^2 = 0.98$		
Система III					
Фенол	$Y_B = 77.0x - 331$	S = 17705 x - 66926	P = 150x - 284		
	$R^2 = 0.99$	$\text{R}^2 = 0.99$	$R^2 = 0.99$		
Резорцин	$\overline{Y_{B} = 75x - 373}$ $R^{2} = 0.99$	$S = 17235x - 64463$ $R^2 = 0.99$	P = 168x - 413 $R^2 = 0.97$		
Флороглюцин	$\overline{Y_B = 68x - 292}$	S = 20630x - 76666	P = 177x - 377		
	$R^2 = 0.99$	R ² = 0.99	$R^2 = 0.99$		

исслдованных фенолов

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

Таким образом, примененная в настоящей работе методология СР-концентрирования дериватизатов фенола и его аналогов с использованием простых и комбинированных систем на основе неионных и катионных ПАВ, показала, что цветометрически возможно раздельное их определение с пониженными пределами обнаружения на уровне концентраций 10⁻⁹-10⁻⁵M, с погрешностью не превышающей (10 – 12)%.

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

№ п/п	Аналит	Введено, М	Найдено, M (X $\pm \Delta$ X)	Sr		
Система І						
1		$6.0 \cdot 10^{-7}$	$(6.0 \pm 0.23) \cdot 10^{-7}$	0.07		
	Фенол	$1.5 \cdot 10^{-6}$	$(1.3 \pm 0.27) \cdot 10^{-6}$	0.08		
		1.5.10-5	$(1.5 \pm 0.13) \cdot 10^{-5}$	0.04		
		6.0·10 ⁻⁷	$(5.7 \pm 0.17) \cdot 10^{-7}$	0.05		
2	Резорцин	$1.5 \cdot 10^{-6}$	$(1.5 \pm 0.33) \cdot 10^{-6}$	0.10		
		$1.5 \cdot 10^{-5}$	$(1.4 \pm 0.20) \cdot 10^{-5}$	0.06		
	Флороглюцин	6.0·10 ⁻⁷	$(5.5 \pm 0.17) \cdot 10^{-7}$	0.05		
3		$1.5 \cdot 10^{-6}$	$(1.3 \pm 0.27) \cdot 10^{-6}$	0.08		
		1.5.10-5	$(1.3 \pm 0.23) \cdot 10^{-5}$	0.07		
	Резорцин*	-	$(1.5 \pm 0.07) \cdot 10^{-2}$	0.02		
4		-	$(1.5 \pm 0.20) \cdot 10^{-2}$	0.06		
		-	$(1.4 \pm 0.17) \cdot 10^{-2}$	0.05		
5	Тимол	5. 0·10 ⁻⁶	$(4.7 \pm 0.8) \cdot 10^{-6}$	0.06		
		3. 0·10 ⁻⁶	$(3.1 \pm 0.3) \cdot 10^{-6}$	0.04		
		2. 0·10 ⁻⁶	$(2.0 \pm 0.2) \cdot 10^{-6}$	0.04		
	Система II					
	Фенол	$6.5 \cdot 10^{-5}$	$(6.8 \pm 0.3) \cdot 10^{-6}$	0.03		
1		6.5·10 ⁻⁵	$(6.6 \pm 0.3) \cdot 10^{-6}$	0.02		
		6.5·10 ⁻⁵	$(6.6 \pm 0.3) \cdot 10^{-6}$	0.02		
		$3.0 \cdot 10^{-5}$	$(3.1 \pm 0.5) \cdot 10^{-6}$	0.04		
2	Тимол	$3.0 \cdot 10^{-5}$	$(3.4 \pm 0.5) \cdot 10^{-6}$	0.06		
		$3.0 \cdot 10^{-5}$	$(3.6 \pm 0.5) \cdot 10^{-6}$	0.07		
Система III						
	Фенол	8.0.10-7	$(8.3 \pm 0.6) \cdot 10^{-7}$	0.03		
1		$3.0 \cdot 10^{-6}$	$(2.7 \pm 0.1) \cdot 10^{-6}$	0.02		
		8.0.10-6	$(7.2 \pm 0.2) \cdot 10^{-6}$	0.02		
2	Резорцин	8.0.10-7	$(9.0 \pm 0.7) \cdot 10^{-7}$	0.03		
		3.0.10-6	$(3.2 \pm 0.1) \cdot 10^{-6}$	0.02		
	± ·	8.0.10-6	$(7.9 \pm 0.3) \cdot 10^{-6}$	0.02		
		8.0·10 ⁻⁷	$(7.1 \pm 0.6) \cdot 10^{-7}$	0.03		
3	Флороглюнин	3.0.10-6	$(2.9 \pm 0.1) \cdot 10^{-6}$	0.02		
	· ·	8.0.10-6	$(6.5 \pm 0.3) \cdot 10^{-6}$	0.04		

(n = 3, P = 0.95)

*Препарат «Резорцинол»

5.3. Цветометрическое и ВЭЖХ определение 1- и 2-нафтолов

в их смесях

Для оценки хромофорного эффекта 2-х параллельных хромофорных реакций, (см. *реакцию 1* и *реакцию 2* в экспериментальной части) получены интегральные цветометрические данные в виде ЛД с 6 осями (рис. 5.4, 5.5) по методике [105].



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



Рисунок 5.5. Профили лепестковых диаграмм смесей *1*-нафтол : 2-нафтол. *a)* 9 : 1; *б)* 5 : 5; *в)* 1 : 9.

Как видно из рис. 5.4, изомерные нафтолы имеют индивидуальные профили полученных ЛД. Таким образом, применение цветометрических параметров не одной, а двух хромофорных реакций дериватизации, осуществляемых параллельно для одного и того же аналита, позволяет уверенно различить *1*-нафтол и *2*-нафтол. Ранее такой подход эффективно был применен для определения некоторых фенолов [8]. Чтобы определить возможность применения цветометрических ЛД для контроля смесей изомерных нафтолов, получили ЛД таких смесей, в которых соотношение *1*- и *2*-нафтолов составило 9 : 1, 5 : 5 и 1 : 9. Геометрия ЛД этих смесей представлена на рис. 5.5. В работе [8] предложен способ сравнения ЛД, полученных по результатам цветометрических измерений. Если массив данных представлен шестью различными параметрами, сведенными в ЛД, то общий метод распознавания заключается в следующем: все данные кодируются одним шестимерным действительным вектором $a = (a_1, a_2, a_3, a_4, a_5, a_6)$. Сравнение с другим массивом данных, представленным вектором $b = (b_1, b_2, b_3, b_4, b_5, b_6)$, осуществляется на основе скалярного произведения. Если векторы a и bидентичны, то (a-b, a-b) = 0, а мерой отличия выступает относительная величина, названная коэффициентом близости векторных массивов:

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

Таким образом, задача сравнения профилей ЛД сводится к расчету величины ε , чем она меньше, тем больше соответствует ЛД эталонного образца, для последнего она принимает нулевое значение. Например, выберем *1*-нафтол эталоном, для него ε =0. Расчет показал, что для ЛД 2-нафтола ε =0.424. Для смесей величина ε имеет промежуточные значения (рис 5.6). Номограмма на рис. 5.6 позволяет прогнозировать произвольное содержание изомеров в смеси.

Геометрические параметры ЛД индивидуальных изомеров нафтолов в полулогарифмических координатах (рис. 5.7, 5.8) удовлетворительно описываются линейными уравнениями и могут быть использованы для определения их концентрации в пределах $3.9^{\cdot}10^{-7} - 3.9^{\cdot}10^{-5}$ М, причем линейные корреляции S=blgC-a являются более тесными, чем P=blgC-a.

В качестве арбитражного способа для суммарного и раздельного определения *1*- и *2*-нафтолов использовали метод ВЭЖХ. Время удерживания в подобранных условиях хроматографирования составило для *1- и 2*-нафтолов 7.9 и 6.9 мин соответственно. Диапазон определяемых методом ВЭЖХ концентраций для исследуемых аналитов составил 3.9·10⁻⁷ – 3.9·10⁻⁵ М.



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

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







Рисунок 5.8. Зависимость площади (S) и периметра (P) ЛД от lgc 2-нафтола.

Как видно из рис. 5.9, чувствительность детектора при 265 нм для 2-нафтола выше, чем для 1-нафтола, вместе с тем выбранная аналитическая длина волны пригодна для определения смеси нафтолов (рис. 5.10, табл. 5.6). Оценку правильности результатов определения 1- u 2-нафтолов методом ВЭЖХ осуществили способом «введено-найдено» по параметру площади (*S*) пиков (табл. 5.6). Предложенный способ позволил определять содержание 1- u 2-нафтолов в диапазоне от $3.9 \cdot 10^{-7}$ до $3.9 \cdot 10^{-5}$ М, при этом относительная погрешность хроматографического определения не превышала 10% [110].

Новизной настоящего исследования явилось применение на стадии пробоподготовки методологии СР-концентрирования [9]. Для эффективного концентрирования азосоединений – продуктов взаимодействия 4-аминоантипирина с *1- и 2*-нафтолами в системе нафтол – 4-аминоантипирин – $K_3Fe(CN)_6$ – Тритон Х-100 – Na_2CO_3 , установлены оптимальные условия: 1'10⁻³ М 4-АА – 8%-ный $K_3Fe(CN)_6$ – 3%-ный Тритон Х-100 – 0.25 М Na_2CO_3 .



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



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

Таблица 5.6. Результаты ВЭЖХ определения 1- и 2-нафтолов (n=3, P=0.95)

№ п/п	Аналит	Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	$(X \pm \Delta X)$	Sr
1	/-Нафтол	5.80	5.25 5.36 5.41	5.3 ± 0.2	0.03
		2.90	3.32 2.97 3.04	3.1 ± 0.3	0.10
		15.0	15.7 15.3 15.5	15.5 ± 0.4	0.02
		25.2	25.2 25.2 25.1	25.2 ± 0.1	0.005
2	<i>2-</i> Нафтол	2.90	3.44 3.14 3.22	3.3 ± 0.3	0.08
		5.60	5.25 5.32 5.47	5.4 ± 0.2	0.04
		15.0	14.4 14.5 14.5	14.5 ± 0.1	0.008
		25.2	25.6 25.3 25.2	25.4 ± 0.2	0.008

Цветометрическая методика определения *1*- и *2*-нафтолов с предварительным мицеллярно-экстракционным их концентрированием системами на основе неионных ПАВ позволяет контролировать содержание

нафтолов на уровне долей ПДК с погрешностью, не превышающей 10%. Для этой цели применены обобщенные цветометрические параметры в цветовой системе RGB – площадь (S) и периметр (P) лепестковых диаграмм, полученных по результатам оценки интенсивности цветовых компонент R,G B хромофорных реакций образования азосоединений ДВVХ с И 4-нитрофенилдиазонием и хинониминов с 4-аминоантипирином. Для оценки правильности цветометрического определения 1- и 2-нафтолов предложена методика с применением изократической обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФдетектированием при 265 нм. Показано, что концентрирование дериватов 1- и 2-нафтолов простыми и комбинированными системами на основе неионных ΠAB, позволяет раздельно определять ИХ В диапазоне 3.6⁻10⁻⁹ – 1⁻10⁻⁵ М. Разработанный концентраций способ является экспрессным, экономически и экологически выгодным, по сравнению с методом ВЭЖХ, так как не требует применения летучих и токсичных растворителей и дорогостоящего оборудования.

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

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

<u>Методика определения резорцина в модельных растворах и</u> <u>технологических водах.</u> В пробирку, помещают по 0.1 мл спиртового $1\cdot10^{-3}$ M раствора 4-HA; $1\cdot10^{-3}$ M NaNO₂ и 0.5 мл 1М HCl, перемешивают и оставляют на 5 минут. Добавляют аликвотную часть анализируемого раствора, содержащего $3\cdot10^{-6} - 2.5\cdot10^{-5}$ М резорцина. Прибавляют по 0.7 мл этанола, 1.75 мл 20% ОП-10, 0.35 мл $1\cdot10^{-2}$ М ЦТМА, 1.4 мл NaOH и общий объем до 5 мл разбавляют дистиллированной водой. Через 20 - 45 мин в чистую пробирку отбирают 0.5 мл мицеллярной фазы доводят 1 М раствором NaOH до 5 мл и фотометрируют в кюветах с l = 1 см при 555 нм относительно контрольного раствора (ОП – ЦТМА - NaOH). Концентрацию резорцина определяют по уравнению градуировочного графика, имеющего вид A = 0.003c + 0.03.

Результаты определения резорцина в модельных растворах представлены в таблице 5.7. Оценку правильности результатов осуществляли способом «введено-найдено».

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

Таблица 5.7. Результаты фотометрического определения резорцина в модельных растворах (*n*=3, *P* = 0.95)

Введено, М	Найдено, М	Sr
	$\mathbf{X} \pm \Delta \mathbf{X}$	
	Резорцин	
$5 \cdot 10^{-6}$	$(5.2 \pm 0.2) \cdot 10^{-6}$	0.04
$1.2 \cdot 10^{-5}$	$(1.30 \pm 0.04) \cdot 10^{-5}$	0.01
$1.8 \cdot 10^{-5}$	$(1.90 \pm 0.06) \cdot 10^{-5}$	0.01

При построении градуировочной характеристики для цветометрического определения резорцина в среде ОП-10 в 8 пробирок вводят по 0.1 мл спиртового $1\cdot10^{-3}$ М раствора 4-НА; по 0.1 мл $1\cdot10^{-3}$ М NaNO₂ и 0.5 мл 1М HC1, перемешивают и оставляют на 5 минут. Добавляют 0.05 мл $1\cdot10^{-5}$ М резорцина; 0.02; 0.04; 0.15; 0.3 мл $1\cdot10^{-4}$ М резорцина; 0.05; 0.1; $1\cdot10^{-3}$ М резорцина. Прибавляют по 0.7 мл этанола, 1.75 мл 20% ОП-10, 1.4 мл NaOH и общий объем до 5 мл разбавляют дистиллированной водой. Через 10 минут регистрируют и обрабатывают цифровые изображения (рис. 5.11) как описано выше. Градуировочный график приведен на рис. 5.12.



Рисунок 5.11. Цифровая фотография градуировочной зависимости системы резорцин – 4-HA – NO₂⁻ - ОП-10: c(4-HA) = $c(NO_2^-) = 2 \cdot 10^{-5}$ M, c(HCl) = 0.1 M, $\omega(O\Pi-10) = 7\%$, c(NaOH) = 2.8 M, t = 10 мин, c (резорцина), M: $a - 1 \cdot 10^{-7}$, $\delta - 4 \cdot 10^{-7}$, $e - 8 \cdot 10^{-7}$, $c - 1 \cdot 10^{-6}$, $\partial - 3 \cdot 10^{-6}$, $e - 6 \cdot 10^{-6}$, $\varkappa c - 1 \cdot 10^{-5}$, $3 - 2 \cdot 10^{-5}$.

При построении градуировочной характеристики для цветометрического определения резорцина в среде нПАВ и кПАВ в 8 пробирок вводят по 0.1 мл спиртового $1 \cdot 10^{-3}$ М раствора 4-НА; по 0.1 мл $1 \cdot 10^{-3}$ М NaNO₂ и 0.5 мл 1М HCl, перемешивают и оставляют на 5 минут. Добавляют 0.05 мл $1 \cdot 10^{-5}$ М резорцина; 0.02; 0.04; 0.15; 0.3 мл $1 \cdot 10^{-4}$ М резорцина; 0.05; 0.1; $1 \cdot 10^{-3}$ М резорцина. Прибавляют по 0.7 мл этанола, 1.75 мл 20% ОП-10, 0.35 мл $1 \cdot 10^{-2}$ ЦТМА, 1.4 мл NaOH и общий объем до 5 мл разбавляют дистиллированной водой. Через 15 минут регистрируют и обрабатывают цифровые изображения как описано выше. Градуировочный график приведен на рисунке 5.12.

<u>Методика определения резорцина в лекарственном препарате</u> «<u>резорцинол»</u>. В пробирку помещают по 0.1 мл спиртового 1·10⁻³ М раствора 4-HA; по 0.1 мл 1·10⁻³ М NaNO₂ и 0.5 мл 1М HCl, перемешивают и оставляют на 5 минут. Добавляют аликвотную часть от 0.02 до 0.5 мл раствора препарата «Резорцинол». Прибавляют по 0.7 мл этанола, 1.75 мл 20% ОП-10, 0.35 мл 1·10⁻² ЦТМА, 1.4 мл NaOH и общий объем до 5 мл разбавляют дистиллированной водой. Через 15 мин регистрируют и обрабатывают цифровые изображения как описано выше. Концентрацию резорцина определяют по уравнению градуировочного графика, имеющего вид $I_{G} = 59.5c - 253$.



Рисунок 5.12. Градуировочные зависимости интенсивности (I) параметра цветности G от pc (резорцина): $c_{4\text{HA}} = c_{NO^2} = 2 \cdot 10^{-5} \text{ M}, c_{\text{HCI}} = 0.1 \text{ M}, \omega$ (ОП-10) = 7%, $c_{IIIMA} = 7 \cdot 10^4 \text{ M}, c_{\text{NaOH}} = 2.8 \text{ M}, t = 15 \text{ мин}.$

Таблица 5.8. Результаты цветометрического определения

Введено, М	Введено, М Найдено, М				
	$X\pm\Delta X$				
Резорцин					
$6.0 \cdot 10^{-7}$	$(5.8 \pm 0.3) \cdot 10^{-7}$	0.05			
$1.5 \cdot 10^{-6}$	$(1.7 \pm 0.2) \cdot 10^{-6}$	0.03			
$1.5 \cdot 10^{-5}$	$(1.7\pm0.2)\cdot10^{-5}$	0.03			

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

* * *

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

Выводы

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

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

3. Оптимизированы условия получения мицеллярно-насыщенных фаз неионных ПАВ (их смесей с катионными ПАВ) без и в присутствии реагентов и аналитов, высаливателей (Na₂SO₄, NaCl и др.), органических растворителей (этанол), компонентов pH-индуцирования фаз (NaOH, Na₂CO₃) в политермическом и изотермическом режимах. Установлены универсальные закономерности: увеличение объема мицеллярной фазы (V_{м.ф.}) от c(ПАВ) и c(C₂H₅OH), уменьшение температуры помутнения и V_{м.ф.} от c(высаливателя), уменьшение радиуса частиц и увеличение агрегативной устойчивости систем ($r_{частиц}$ - $c_{ПАВ}$). Установленнные закономерности позволяют эффективно управлять аналитическими эффектами в исследованных системах.

4. Для цветометрической идентификации и определения близких по свойствам фенолов (1- и 2-нафтолов) предложено применение двух хромофорных реакций их дериватизации и построение геометрических профилей лепестковых диаграмм в координатах цвета R₁G₁B₁R₂G₂B₂. По величине коэффициента близости векторных массивов ε и независимым методом (ВЭЖХ) показана принципиальная возможность разделения близких фенольных гомологов в их смесях.

5. Мицеллярно-насыщенные фазы неионных ПАВ (их смеси с катионными ПАВ) предложены в качестве *тест*-средств, позволяющих эффективно концентрировать аналитические формы фенолов (R = 85 - 97%) и определять их (индивидуально и суммарно) на уровне десятых и сотых долей ПДК в водных средах и лекарственных формах при концентрациях порядка n × 10⁻⁹ М методами колориметрии с применением цифровых технологий.

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

Список использованных источников

1. Mortada W.I. Recent developments and applications of cloud point extraction: A critical review. // Microchemical Journal – 2020 – P. 2-10.

2. Li X. Cui, Y.-Y., Yang C.-X., Yan X.-P. Synthesis of carboxyl functionalized microporous organic network for solid phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography for the determination of phenols in water samples.// Talanta. -2019 - P. 6-15.

3. Архипов В.П., Архипов Р.В., Идиятуллин З.С. Эффективность и кинетика извлечения фенола из водных растворов неионными ПАВ.// Российский физико-химический журнал А. – 2018 – Р. 5-8.

4. Moslemzadeh M., Larki A., Ghanemi K. Combination of dispersive liquid-liquid microextraction and smartphone-based colorimetric system for the phenol measurement. // Microchemical Journal. – 2020 – P. 10-12.

5. Tabaraki R., Heidarizadi E. Spectrophotometric determination of phenol and chlorophenols by salting out assisted liquid-liquid extraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction.// Spectrochimica Acta Part. – 2019 – P. 8-13.

6. Luo X., Zheng H., Zhang Z., Wang M., Yang B., Huang L., & Wang M. Cloud point extraction for simultaneous determination of 12 phenolic compounds by high performance liquid chromatography with fluorescence detection.// Microchemical Journal. – 2018 – P. 15-20.

7. Kiai H., Raiti J., El-Abbassi A., Hafidi A. Recovery of phenolic compounds from table olive processing wastewaters using cloud point extraction method. // Journal of Environmental Chemical Engineering. – 2018 – Vol. 6 – P. 10-20.

8. Hong J., Hao X., Liu T., Liu W., Xie M., Wang M., Yang B. Rapid Synergistic Cloud Point Extraction (RS-CPE) with Partial Least Squares (PLS) for the Simultaneous Determination of Chlorophenols (CPs) in Environmental Water Samples Using a Microplate Assay (MPA).// Analytical Letters. – 2020 – Vol. 53 – P. 11-22.

9. Xie M., Hao X., Xu Q., Jiang X., Liu T., & Wang M. Rapid synergistic cloud point extraction for simultaneous determination of five polar phenols in

environmental water samples via high performance liquid chromatography with fluorescence detection. // Microchemical Journal. -2021 - Vol. 166 - P. 5-18.

10. Marothu V.K. Cloud point extraction as a sample enrichment technique for capillary electrophoresis–An overview. // Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. – 2020 – P. 12-19.

11. Luo X., Hong J., Zheng H., Qin J., Wang M., & Yang B. A rapid synergistic cloud point extraction for nine alkylphenols in water using high performance liquid chromatography and fluorescence detection. // Journal of Chromatography A. -2019 - P. 8-18.

12. Shahbakhsh M., Saravani H., Narouie S., & Hashemzaei Z. Poly (hydroquinone-oxovanadium (IV)) porous hollow microspheres for voltammetric detection of phenol.// Microchemical Journal. – 2021 – Vol. 164 – P. 3-20.

Hashim H.S., Fen Y. W., Omar N.A.S., Fauzi N.I.M., Daniyal W.M.
 E.M.M.Recent advances of priority phenolic compounds detection using phenol oxidases-based electrochemical and optical sensors. // Measurement. – 2021 – Vol. 184 – P. 10-23.

14. Gopal K. Al deeb Ibrahim, Raaov M., Suah F. B. M., Samad N. A., Yahaya N., Zain N. N. M. Supramolecular solvent combined with dispersive solid phase extraction based magnetic silicone surfactant activated charcoal adsorbent for extraction of phenolic compounds from industrial wastewater. // Microchemical Journal. -2021 - P. 13-16.

15. Gamonchuang J., Burakham R. Amino-based magneto-polymericmodified mixed iron hydroxides for magnetic solid phase extraction of phenol residues in environmental samples. // Journal of Chromatography A. – 2021 – Vol. 1643 – P. 10-21.

16. Asman S., Abas N.A. Triton X-100/β-Cyclodextrin Cloud Point Extraction for Removal of Phenol Using Different of Sodium Salts as Inducing Phase Separation Agent. // Азиатский химический журнал. – 2018 – Vol. 30 – P. 9-13.

17. Caetano F.R., Carneiro E.A., Agustini D., Figueiredo-Filho L. C. S., Banks C. E., Bergamini M. F., & Marcolino-Junior L. H. Combination of electrochemical

biosensor and textile threads: A microfluidic device for phenol determination in tap water. // Biosensors and Bioelectronics. -2018 - Vol. 99 - P. 14-18.

18. Lupa L., Cocheci L., Pode R., & Hulka I. Phenol adsorption using Aliquat 336 functionalized Zn-Al layered double hydroxide. // Separation and Purification Technology. – 2018 – Vol. 196 – P. 12-28.

Alves D.C.S., Gonçalves J.O., Coseglio B.B., Burgo T.A.L., Dotto G.
 L., Pinto L.A.A., Cadaval T.R.S. Adsorption of phenol onto chitosan hydrogel scaffold modified with carbon nanotubes.// Journal of Environmental Chemical Engineering. – 2019 – Vol. 7 – P. 6-13.

20. Domínguez I., González B., Domínguez Á. Liquid-liquid extraction of phenolic compounds from water using ionic liquids: Literature review and new experimental data using [C2mim]FSI. // Journal of Environmental Management. – 2018 – Vol. 228 – P. 4-15.

21. Li N., Wu D., Liu J., Hu N., Shi X., Dai C., Wu Y. Magnetic covalent organic frameworks based on magnetic solid phase extraction for determination of six steroidal and phenolic endocrine disrupting chemicals in food samples. // Microchemical Journal. -2018 - P. 7-18.

22. Lang H., Yang R., Dou X., Wang D., Zhang L., Li J., Li P.Simultaneous determination of 19 phenolic compounds in oilseeds using magnetic solid phase extraction and LC-MS/MS. // LWT. – 2019 – P. 11-14.

23. Ma J.-Q., Ren J.-Y., Wang L.-L., Wang X., Lin J.-M., Zhao R.-S. Covalent triazine-based frameworks/iron oxide for highly sensitive magnetic solid-phase extraction of phenolic pollutants in water samples. // Journal of Separation Science. – 2018 – P. 6-14.

24. Galanakis C. M. Phenols recovered from olive mill wastewater as additives in meat products. // Trends in Food Science & Technology. -2018 - Vol. 79 - P. 7-16.

25. Otero P., López-Martínez M. I., García-Risco M. R. Application of Pressurized Liquid Extraction (PLE) to obtain bioactive fatty acids and phenols from Laminaria ochroleuca collected in Galicia (NW Spain). // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2018 – P.10-14.

26. Cesari L., Canabady-Rochelle L., Mutelet F. Separation of phenols from lignin pyrolysis oil using ionic liquid.// Separation and Purification Technology. – 2019 – Vol. 79 – P. 10-13.

27. Ji Y., Hou Y., Ren S., Yao C., Wu W. Highly efficient extraction of phenolic compounds from oil mixtures by trimethylamine-based dicationic ionic liquids via forming deep eutectic solvents. // Fuel Processing Technology. -2018 -Vol. 171 – P. 12-16.

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

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

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

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

32. Barrales F.M., Silveira P., Barbosa P. de P. M., Ruviaro A.R., Paulino B.N., Pastore G.M., Martinez J. Recovery of phenolic compounds from citrus by-products using pressurized liquids - an application to orange peel.// Food Chemistry. -2018 - P. 10-13.

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

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

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

36. Tyśkiewicz K., Konkol M., Rój E. The Application of Supercritical Fluid Extraction in Phenolic Compounds Isolation from Natural Plant Materials. // Molecules. – 2018 – Vol. 23 – P. 18-22.

37. Ciulu M., Cádiz-Gurrea M., Segura-Carretero A. Extraction and Analysis of Phenolic Compounds in Rice: A Review. // Molecules. – 2018 – Vol. 23 – P. 11-24.

38. Vieira V., Prieto M. A., Barros L., Coutinho J. A. P., Ferreira I. C. F. R., Ferreira O. Enhanced extraction of phenolic compounds using choline chloride based deep eutectic solvents from Juglans regia L. // Industrial Crops and Products. -2018 - Vol. 115 - P. 7-15.

39. Ji Y., Hou Y., Ren S., Yao C., Wu W. Separation of phenolic compounds from oil mixtures using environmentally benign biological reagents based on Brønsted acid-Lewis base interaction.// Fuel. – 2019 – Vol. 239 – P. 10-14.

40. Yang D., Li X., Meng D., Yang Y. Carbon quantum dots-modified ferrofluid for dispersive solid-phase extraction of phenolic compounds in water and milk samples.// Journal of Molecular Liquids. – 2018 – Vol. 261 – P. 15-26.

41. More P.R., Arya S.S. A novel, green cloud point extraction and separation of phenols and flavonoids from pomegranate peel: an optimization study using RCCD. // Journal of Environmental Chemical Engineering. – 2019 – P. 8-13.

42. Chen X., Guo Z., Wang Y., Liu Y., Xu Y., Liu J. Zhao J. Temperature sensitive polymer-dispersive liquid-liquid microextraction with gas chromatography-mass spectrometry for the determination of phenols. // Journal of Chromatography A. -2019 - P. 8-20.

43. Shahvar A., Saraji M., Shamsaei D. Smartphone-based on-cell detection in combination with emulsification microextraction for the trace level determination of phenol index. // Microchemical Journal. – 2020 – P. 10-19.

44. Javadi T., Farajmand B., Yaftian M.R., Zamani A. Homogenizer assisted dispersive liquid-phase microextraction for the extraction-enrichment of

phenols from aqueous samples and determination by gas chromatography.// Journal of Chromatography A. -2019 - P. 10-21.

45. Alibade A., Batra G., Bozinou E., Salakidou C., Lalas S. Optimization of the extraction of antioxidants from winery wastes using cloud point extraction and a surfactant of natural origin (lecithin).// Chemical Papers. – 2020 – P. 10-23.

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

47. Потенко Е.И., Жукова Н.И., Арефьева О.Д. Фенольные соединения в поверхностных и питьевых водах Приморского края // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. – 2018. – № 5(201). – С. 120-123.

48. Семенова Т.С., Соловей В.Н. Определение фенолов в воде и методы их удаления // Традиции и Инновации : Материалы научной конференции. – СПб.: Из-во с.-петерб. техн. ун-та, 2017. – С. 234.

49. Бельтюкова С.В., Бычкова А.А. Биологически активные полифенолы и методы их определения // Пищевая наука и технология. - 2013. - № 3. - С. 18-25.

50. Магасумова А.Т., Сафаров А.М., Хатмуллина Р.М., Фатьянова Е.В. Идентификация фенолов в сточных водах нефтехимических предприятий Республики Башкортостан // Георесурсы. – 2012. - № 8 (50). – С. 61-64.

51. Бахарева М.В., Бриленок Н.С. Источники систематических погрешностей при оценке суммарного содержания фенолов по реакции Грисса-Илосвая// Молодёжь третьего тысячелетия : Сборник научных статей. – Омск: Изд-во Ом. ун-та, 2017. – С. 1572-1576.

52. ГН 2.1.5.1315-03. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурнобытового водопользования: Гигиенические нормативы. – М., 2003. – 154 с.

53. Хорохордина Е.А., Чан Х.Д. Методы экстракции фенольных экотоксикантов и их определения в материалах и объектах окружающей среды// Научный вестник Воронежского государственного архитектурностроительного университета. – 2014. – № 1(8). – С. 93-105.

54. Габидулина М.К., Доронин С.Ю., Косырева И.В. Тест-средства для раздельного и суммарного определения тяжелых металлов в водных средах// Бутлеровские сообщения. – 2019. – Т. 57. – № 1. –С. 101-114.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

72. Khatana S., Jain C., Vijayvergia R. Estimation of total phenolic and flavonoid content of some cucurbit fruit peels and in-vitro evaluation of their methanolic extracts for antioxidant potential // 2021. Vol. 12. – Is. 1. –P. 491-495.

73. Leposava P., Snežana U.M., Milena J.S., Daniela D. Predrag Determination of flavonoids and total polyphenol contents in commercial apple juices// Czech Journal of Food Sciences. - 2018. - Vol. 36. - No. 3. - P. 233–238.

74. Николаева Т.Н., Лапшин П.В., Загоскина Н.В. Метод определения суммарного содержания фенольных соединений в растительных экстрактах с реактивом Фолина-Дениса и реактивом Фолина-Чокальтеу: модификация и сравнение// Химия растительного сырья. – 2021. – № 2. – С. 291-299.

75. Вершинин В.И., Белова Е.В. Определение суммарного содержания фенольных антиоксидантов в модельных смесях по методу Фолина-Чокальтеу и по методу FRAP // Аналитика и контроль. – 2019. – Т. 23, № 3. – С. 314-322.

76. Margraf T., Karnopp A.R., Rosso N.D., Granato D. Comparison between Folin-Ciocalteu and Prussian Blue Assays to Estimate The Total Phenolic Content of Juices and Teas Using 96-Well Microplates// J. Food Sci. - 2015. - Vol. 80. - P. C2397-C2403.

77. Musci M., Yao S. Optimization and validation of Folin-Ciocalteu method for the determination of total polyphenol content of Pu-erh tea // Int. J. Food Sci. Nutr. - 2017. - Vol. 68, $N_{2}8. - P. 913-918$.

78. Цюпко Т.Г., Тищенко Е.А., Воронова О.Б. Спектрофотометрическая оценка железовосстанавливающей способности растворимого кофе// Аналитика и контроль. – 2016. – Т. 20, № 4. – С. 320-329.

79. Bensemmane N., Bouzidi N., Daghbouche Y., Garrigues S. Quantification of phenolic acids by partial least squares Fourier-transform infrared (PLS-FTIR) in extracts of medicinal plants // Phytochem. Anal. – 2021. - Vol. 32. - P. 206-221.

80. Omar M.A., Badr El-Din K. Salem M., Abdelmageed H. OH. Novel kinetic spectrophotometric method for estimation of certain biologically active phenolic sympathomimetic drugs in their bulk powders and different pharmaceutical formulations// Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. - 2018. – Vol. 193. – P. 310-317.

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

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

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

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

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

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

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

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

89. Martins G.R., Monteiro A.F., Amaral F.R.L. A validated Folin-Ciocalteu method for total phenolics quantification of condensed tannin-rich açaí (Euterpe

oleracea Mart.) seeds extract // Journal of Food Science and Technology. – 2021. -Vol. 58. - P. 4693–4702.

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

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

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

93. ГОСТ Р 55488-2013. Прополис. Метод определения полифенолов.М. : Стандартинформ, 2014. – 9 с.

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

95. Чернова Р.К., Доронин С.Ю.. Определение органических аналитов в растворах ПАВ: ионные и мицеллярные эффекты // Саратов : Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, 2017. – 200 с. – ISBN 978-5-292-04419-2.

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

97. Мирзаева Х.А., Ахмедова М.С., Ахмедов С.А. Исследование ионных ассоциатов молибдена (VI), вольфрама (VI) бромпирогаллоловым красным в присутствии димедрола и папаверина // Известия высших учебных

заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. – 2010. – № 4(158). – С. 71-76.

98. Основы аналитической химии: учебник для студентов высших учебных заведений, обучающихся по химическим направлениям. В 2 т. Т. 1 / [Т. А. Большова и др.]; под ред. Ю.А. Золотова. – 5-е изд., стер. – М. : Издательский центр «Академия», 2012. – 384 с. – ISBN 978-5-7695-9123-5.

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

100. Рабинович В.А. Краткий химический справочник : справ. изд. / В.А. Рябинович, З. Я. Хавин. - Л.: Химия, 1977. – 376 с.

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

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

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

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

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

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

107. Цыгулёва Э.И., Доронин С.Ю. Спектрофотометрическое и цветометрическое определение фенола с 4-аминоантипирином // Известия высших учебных заведений. Химия и химическая технология. 2021. Т.64, № 8. С.25-41.

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

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

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