

На правах рукописи

ПАРАЩЕНКО ИРИНА ИГОРЕВНА

**СЕНСИБИЛИЗИРОВАННАЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ В ПРИСУТСТВИИ
МИЦЕЛЛ ПАВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ
АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В РАСТВОРЕ И НА ПОВЕРХНОСТИ**

02.00.02 – аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Саратов – 2013

Работа выполнена в ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный
университет имени Н.Г. Чернышевского»

Научный руководитель

доктор химических наук, доцент
Смирнова Татьяна Дмитриевна

Официальные оппоненты:

Горячева Ирина Юрьевна
доктор химических наук, доцент
Саратовский государственный
университет имени Н.Г. Чернышевского,
профессор кафедры общей и
неорганической химии

Амелин Василий Григоревич
доктор химических наук, профессор
Владимирского государственного
университета им. А.Г. и Н.Г. Столетовых,
профессор кафедры химии

Ведущая организация

**Уральский федеральный
университет имени первого
Президента России Б.Н. Ельцина,
г. Екатеринбург**

Защита состоится 28 ноября 2013 г в 14 часов на заседании
диссертационного совета Д 212.243.07 при Саратовском государственном
университете имени Н.Г. Чернышевского по адресу: 410012, г. Саратов,
ул. Астраханская, 83, СГУ, корп.1, Институт химии

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке
имени В.А. Артисевич Саратовского государственного университета имени
Н.Г. Чернышевского.

Автореферат разослан 25 октября 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор химических наук



Т.Ю. Русанова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. В настоящее время растет ассортимент сенсоров, датчиков и тест-систем, использующих люминесцентный сигнал для детектирования, визуализации, распознавания и определения неорганических и органических соединений, биомолекул и целых биообъектов. Наиболее часто в указанных люминесцентных устройствах, например в медицинской диагностике, на протяжении последних 25 лет использовали органические флуорофоры. Их основными недостатками являются быстрая фотодеструкция, короткое время жизни флуоресценции и широкие спектры излучения. Одним из способов устранения этих недостатков может быть замена органических флуорофоров на флуоресцирующие хелаты некоторых лантанидов.

Собственная флуоресценция ионов лантанидов в растворах мала ввиду того, что f-f переходы запрещены, причем энергия возбуждения расходуется также на колебательные переходы в ОН-группах координированных молекул воды. Молярные коэффициенты поглощения ионов лантанидов не превышают $0.5-3 \text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$. Известно, что интенсивность эмиссии ионов лантанидов может возрастать в десятки раз при их комплексообразовании с хромофорными органическими лигандами, в результате которого возникает сенсibilизированная флуоресценция, обусловленная внутримолекулярным переносом энергии электронного возбуждения с лигандов на лантанид (эффект антенны). Происходящее при этом замещение координированных лантанидом молекул воды на молекулы лиганда устраняет диссипацию энергии возбуждения лантанида. Развитием этого подхода, дополнительно увеличивающего интенсивность сенсibilизированной флуоресценции, является введение второго лиганда (образование разнолигандных комплексов), а также сорбция аналитической формы на твердой поверхности или использование организованных мицеллярных сред. Возрастание интенсивности аналитического сигнала в этом случае основано на дополнительной сенсibilизации лантанида, дальнейшем вытеснении молекул воды из ближайшего окружения иона металла, формировании более «жесткого» окружения флуорофора на поверхности, в клетке мицеллы, а также экранировании флуорофора от влияния посторонних тушителей. Преимущества сенсibilизированной флуоресценции лантанидов состоят в высокой интенсивности и разрешенности аналитического сигнала, а также значительной разнице времени жизни комплексов некоторых физиологически активных веществ с лантанидами. Такие фотофизические свойства позволяют реализовать возможность высокочувствительного и избирательного определения одного компонента в присутствии других. В тоже время, близкие флуоресцентные характеристики хелатов, обусловленные одним и тем же центром излучения, способствуют определению также суммы физиологически активных веществ в исследуемых объектах при их совместном присутствии.

Цель работы: применение сенсibilизированной флуоресценции лантанидов в растворах и на поверхности в присутствии мицеллярных сред для определения физиологически активных соединений.

Для достижения цели необходимо было решить следующие **задачи**:

- оценить влияние сорбции на поверхности на фотофизические свойства хелатов Eu(III) и Tb(III) с антибиотиками фторхинолонового и тетрациклинового рядов;
- изучить кинетику затухания флуоресценции комплексов Eu(III) и Tb(III) с антибиотиками фторхинолонового и тетрациклинового рядов в растворах и на поверхности сорбентов;
- оценить возможность концентрирования аналитов методом мицеллярной экстракция с целью снижения предела их обнаружения на поверхности;
- разработать флуориметрические методики определения суммы некоторых антибиотиков в растворах при их совместном присутствии;
- изучить возможность селективного флуориметрического определения одного производного тетрациклина в присутствии других его производных методом разрешенной во времени флуоресценции;
- разработать методики флуориметрического определения антибиотиков, флавоноидов и кумаринов на поверхности и в растворах с использованием организованных сред в лекарственных формах и биологических жидкостях.

Научная новизна полученных в диссертации результатов заключается в том, что:

- Получены данные о временах жизни комплексов Eu(III) и Tb(III) с антибиотиками тетрациклинового и фторхинолонового рядов в присутствии второго лиганда и мицелл некоторых неионных и катионных ПАВ.
- Изучена сорбция хелатов Eu(III) и Tb(III) на поверхности различных сорбентов и установлено увеличение квантового выхода, константы скорости излучательных процессов и времени жизни флуоресценции в результате закрепления их на силикагеле и целлюлозной матрице.
- Показано, что возрастание интенсивности сенсibilизированной флуоресценции при введении второго лиганда, мицелл ПАВ и сорбции происходит в результате уменьшения числа молекул воды в ближайшем окружении иона лантанида, которые являются основной причиной диссипации энергии возбуждения флуоресцирующего центра.
- Выявлено влияние мицелл ПАВ различной природы на эффективность переноса энергии возбуждения в комплексах Eu(III) и Tb(III) с некоторыми антибиотиками, антиоксидантами на поверхности и в растворе. Впервые изучена сенсibilизированная флуоресценция новых синтезированных кумаринов.
- Показана возможность предварительного концентрирования энрофлоксацина из водного раствора методом мицеллярной экстракции, позволяющая понизить предел его обнаружения флуориметрическим методом. Установлен синергетический эффект увеличения интенсивности сенсibilизированной флуоресценции комплекса Tb(III) с энрофлоксацином в смешанных мицеллах Тритона X-100 и хлорида цетилпиридиния, образования разнолигандного комплекса в присутствии

триоктилфосфиноксида и сорбции аналитической формы на силикагеле. Найдены оптимальные условия мицеллярной экстракции, позволяющие уменьшить нижнюю границу определяемого содержания антибиотика более чем на порядок.

- На основании исследования спектров люминесценции с временным разрешением комплексов Eu(III) с тетрациклинами показана принципиальная возможность определения одного производного тетрациклинового ряда в присутствии других путем устранения сигнала флуоресценции хелата, имеющего меньшее время жизни возбужденного состояния, несмотря на полное перекрывание аналитических полос в спектрах флуоресценции.

Практическая значимость работы состоит в том что:

- Предложенный подход для снижения предела обнаружения антибиотиков методом сенсibilизированной флуоресценции в результате предварительной мицеллярной экстракции, а также при использовании разных времен жизни хелатов лантанидов, может быть применен для снижения предела обнаружения и улучшения селективности определения других классов физиологически активных соединений.
- Разработаны методики флуориметрического определения энрофлоксацина в плазме крови свиньи (совместная работа с ЗАО «НИТА-ФАРМ»);
- Разработаны сорбционно-люминесцентные тест-методики определения доксициклина в лекарственных формах, оксолиновой кислоты и энрофлоксацина в растворах, основанные на измерении интенсивности собственной и сенсibilизированной флуоресценции;
- Разработаны люминесцентные методики определения рутина и кверцетина в лекарственных формах и растворах, основанные на тушении сенсibilизированной флуоресценции европия в присутствии мицелл ПАВ.

На защиту автор выносит:

- Результаты изучения сенсibilизированной антибиотиками флуоресценции комплексов европия и тербия на твердых сорбентах в сочетании с предварительной мицеллярной экстракцией индивидуальными и смешанными мицеллами ПАВ;
- Результаты изучения избирательности флуориметрического определения тетрациклина в присутствии других представителей тетрациклинового ряда методом разрешенной во времени флуоресценции, а также определение суммарного содержания некоторых антибиотиков в растворе;
- Тест-методики и методики флуориметрического определения антибиотиков тетрациклинового и хинолонового рядов, некоторых антиоксидантов в биологических объектах и лекарственных формах.

Личный вклад автора заключался в проведении экспериментальных исследований лично, при непосредственном участии, обработке и обобщении полученных результатов.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на III Всероссийской научной конференции «Аналитика России» (Краснодар, 2009); Первой международной конференции по люминесценции лантанидов (ICLL-1, Одесса, 2010); XI Всероссийской научно-практической конференции студентов и аспирантов «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2010); V Всероссийской конференции студентов и аспирантов «Химия в современном мире» (Санкт-Петербург, 2011); XIX Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Волгоград, 2011); III Всероссийском симпозиуме «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар, 2011); Молодежной конференции «Международный год химии» (Казань, 2011); I Всероссийском симпозиуме по поверхностно-активным веществам «От коллоидных систем к нанохимии» (Казань, 2011), EUROANALYSYS 16 (Belgrad, Serbia, 2011), VIII и IX Всероссийских конференциях молодых ученых «Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии» (Саратов, 2011, 2013); II Научно-практической конференции «Presenting Academic Achievements to the World» (Саратов, 2012); Всероссийской конференции по аналитической спектроскопии с международным участием (Краснодар, 2012), Всероссийской школе-конференции "Химия биологически активных веществ" молодых учёных, аспирантов и студентов с международным участием "ХимБиоАктив-2012" (Саратов, 2012); XIX и XX Международных конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2012, 2013); III научной конференции с международным участием «Химия – 2013. Физическая химия. Аналитическая химия. Нанохимия. Теория, эксперимент, практика, преподавание» (Москва, 2013); II Съезде аналитиков России (Москва, 2013).

Публикации. Опубликовано 28 работ, из них 5 статей в журналах, рекомендуемых ВАК, 5 статей в научных сборниках, 17 тезисов докладов международных и Всероссийских конференций, получен один патент.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, семи глав, выводов, библиографического списка, состоящего из 206 наименований, приложения. Работа изложена на 184 листах, включающая 33 таблицы и 99 рисунков.

Данная работа является частью плановых госбюджетных исследований кафедры аналитической химии и химической экологии, а также выполнялась в соответствии с проектами РФФИ № 08-03-00725а, 12-03-00450а и Госконтрактом № 02.740.11.0879.

КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

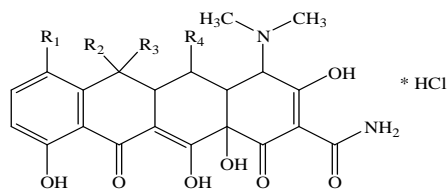
Во введении сформулированы цель и задачи исследования, обоснована актуальность темы, изложены новизна и практическая значимость полученных результатов, основные положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы рассмотрены подходы к увеличению эффективности переноса энергии возбуждения с различными механизмами - Декстера и Фёрстера. Отмечены основные пути повышения интенсивности сенсibilизированной флуоресценции: использование организованных сред, различных вариантов нанотехнологий, процессов сорбции. Представлены возможные области применения систем с переносом энергии. Выявлена актуальность использования хелатов лантанидов в биохимии, медицинской диагностике и химическом анализе. Особое внимание уделено сорбционно-люминесцентным методам определения лекарственных препаратов, различным вариантам модификации твердой поверхности сорбента с целью разработки экспресс-методик определения некоторых антибиотиков.

В главе 2 описаны использованные в работе реактивы и аппаратура, методики изучения кинетики затухания флуоресценции, расчет времени жизни флуоресценции, константы скорости излучательных и безызлучательных процессов и определение квантового выхода флуоресценции. Объекты исследования – физиологически активные вещества следующих классов: тетрациклины, хинолоны, фторхинолоны, микотоксины, кумарины, флавоноиды. Вторыми лигандами являлись триоктилфосфиноксид (ТОФО), о-фенантролин (Фен), теноилтрифторацетон (ТТА), ЭДТА. В качестве поверхностно-активных веществ (ПАВ) использовали анионные – додецилсульфат натрия, (ДДС), катионные – хлорид цетилпиридиния (ЦПХ), неионные – Тритон X-100 (ТХ-100), Твин-80 и Бридж-35, содержавшие более 98 % основного вещества.

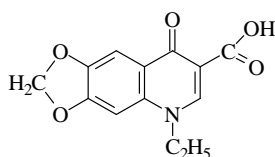
В качестве сорбентов использовали полярный силикагель, нанесенный на пластины «Сорбфил АТСХ», порошкообразные сорбенты: полярный силикагель Silasorb 600 и неполярные Silasorb C8 и Silasorb C18, а также целлюлозную матрицу (фильтровальная бумага).

тетрациклин



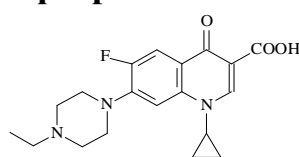
гидрохлорид тетрациклина (ТЦ)
гидрохлорид хлортетрациклина (ХТЦ)
гидрохлорид доксициклина (ДЦ)
гидрохлорид метациклина (МЦ)
гидрохлорид окситетрациклина (ОТЦ)

хинолоны



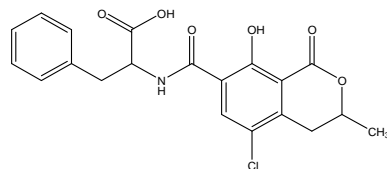
оксолиновая кислота (ОК)

фторхинолоны



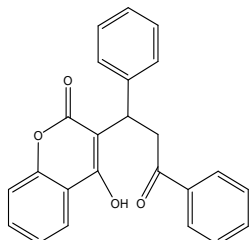
энрофлоксацин (ЭФ)

МИКОТОКСИНЫ

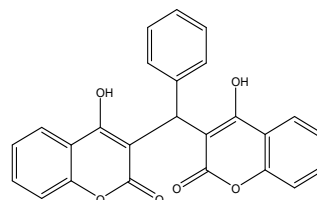


охратоксин А (ОТА)

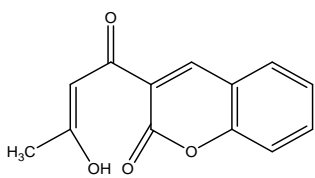
кумарины



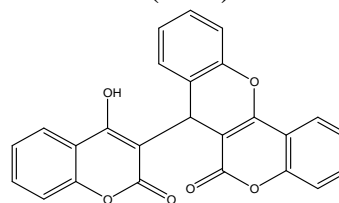
4-гидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)- 2H-хромен-2-он (ДФК)



4-гидрокси-3-((4-гидрокси-2H-хромен-2-он-3-ил)фенилметил)-2H-хромен-2-он (ТКЗ)

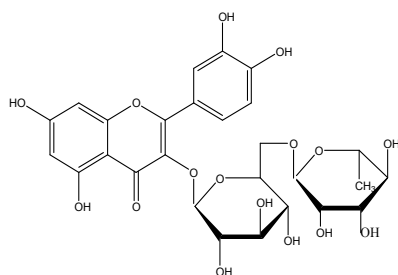


3-(3-гидрокси-1-оксобут-2-ен-2-ил)- 2H-хромен-2-он (ДК4)

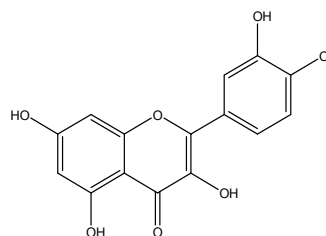


7-(4-гидрокси-2-оксо-2H-хромен-3-ил)- 6H,7H-хромено[4,3-b]хромен-6-он (ФДК)

флавоноиды



рутин



кверцетин

Спектры флуоресценции и возбуждения регистрировали на спектрофлуориметрах LS-55, фирмы «Perkin-Elmer», RF-5301, фирмы «Shimadzu», спектры флуоресценции также получали на нерегистрирующем флуориметре ФЛ-УХЛ-4. Измерения в растворе проводили в кварцевой кювете с толщиной слоя 1 см. Порошкообразные сорбенты перед снятием спектров помещали в кювету для твердых образцов. Сигнал регистрировали под углом 90° к возбуждающему свету. Кинетические измерения и спектры сорбентов получали в режиме разрешенной во времени флуоресценции.

Глава 3. Фотофизические свойства некоторых антибиотиков и комплексов лантанидов, сорбированных на поверхности

При изучении флуоресцентных свойств антибиотиков на немодифицированной и модифицированной сахарозой фильтровальной бумаге и пластинах «Сорбфил АТСХ» установлено, что их собственная флуоресценция

незначительна и не может быть использована в анализе. Показано, что модификация поверхности пластин «Сорбфил АТСХ» мицеллами неионогенных ПАВ Тритон Х-100 и Бридж-35 увеличивает интенсивность сигнала собственной флуоресценции антибиотиков, например ДЦ, в 2.5 и 3.6 раза, соответственно (рис. 1а).

Обработка силикагеля солями Tb(III) также способствует росту флуоресценции ЭФ в 1.4, а ОК – в 1.5 раза ($\lambda_{\text{фл}} = 545$ нм), соответствующей электронному переходу $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ тербия. Предварительная обработка силикагеля мицеллами Бридж-35 увеличивает интенсивность сенсibilизированной флуоресценции Tb(III) на силикагеле с ОК в 2.3, а с ЭФ - 1.4 раза (рис. 1б). Характеристики методик сорбционно-флуоресцентного определения антибиотиков представлены в табл. 1.

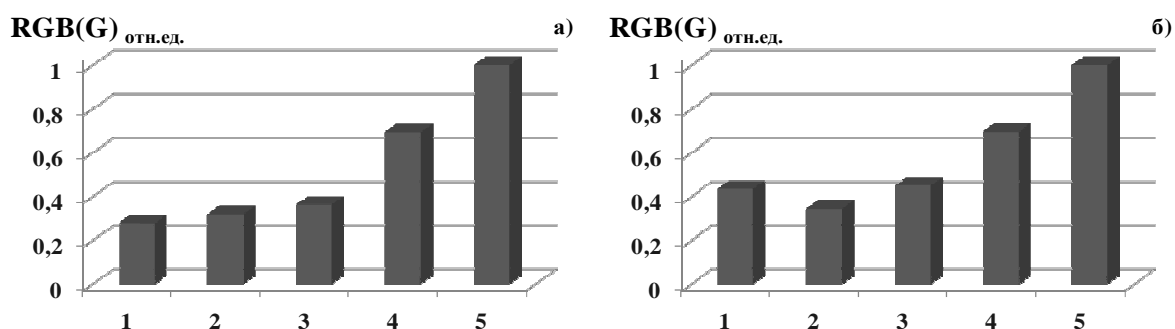


Рис. 1. Влияние природы ПАВ на интенсивность основного цвета зоны а) ДЦ, б) бинарного хелата Tb(III)–ОК. 1-без ПАВ, 2-ДДС, 3-ЦПХ, 4-ТХ-100, 5-Бридж-35. $C_{\text{ДЦ}}=1.0 \cdot 10^{-2}$ М, $C_{\text{Tb(III)}}=1.0 \cdot 10^{-2}$ М, $C_{\text{ЭФ}}=1.0 \cdot 10^{-2}$ М, $C_{\text{ПАВ}}=1.0 \cdot 10^{-1}$ М

Таблица 1. Метрологические характеристики определения антибиотиков на силикагеле «Сорбфил АТСХ»

Аналит	Модификатор силикагеля	Диапазон определяемых содержаний, М	Диапазон определяемых содержаний, мкг	Уравнение градуировочного графика	R ²
ЭФ	Tb(III)-Бридж-35	$3 \cdot 10^{-4} - 7 \cdot 10^{-3}$	0.22-5.0	$I = -25\rho C + 98$	0.974
ДЦ	Бридж-35	$2 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-3}$	0.020-0.99	$I = -16\rho C + 78$	0.993
ОК	Tb(III)-Бридж-35	$9 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-2}$	0.47-5.2	$I = -23\rho C + 74$	0.974

На следующем этапе изучена сенсibilизированная флуоресценция Eu(III) с ДЦ на поверхности целлюлозы и силикагеля Silasorb 600 в отсутствие и в присутствии мицелл ПАВ. Метрологические характеристики разработанных методик представлены в табл. 2.

Как видно из следующей табл. 3, в которой приведены фотофизические характеристики систем, применяемых для определения ДЦ, эффективность переноса энергии выше для системы Eu(III)-ДЦ-НПАВ на целлюлозной матрице, что является причиной самого низкого предела обнаружения ДЦ на этом сорбенте (см. табл. 2).

Таблица 2. Некоторые метрологические характеристики сорбционно-люминесцентных методик определения ДЦ на различных сорбентах

Система	Сорбент	Диапазон концентраций, мкг/мл	PrO, мкг/мл	Уравнение градуировочного графика	R ²
Eu(III)-ДЦ-ТХ-100	Silisorb 600	0.14-14	0.05	$\lg I = -0.67pC + 5.1$	0.998
Eu(III)-ДЦ-Твин-80	Целлюлоза	0.050–4.6	0.02	$\lg I = -0.85pC + 6.6$	0.995
ДЦ-Бридж-35	Сорбфил АТСХ	$9.3-4.6 \cdot 10^2$	5	$I = -16C + 77$	0.993

Таблица 3. Фотофизические характеристики сенсibilизированной флуоресценции хелата Eu(III)- ДЦ в растворах и на сорбентах

Хелат	τ^* , мкс	A_r , мс ⁻¹	A_{nr} , мс ⁻¹	η (%)	q
Раствор					
Eu(III)-ДЦ	35	0.11	28.4	0.39	30
Eu(III)-ДЦ-НПАВ	38	0.20	26.1	0.76	27
Сорбент (Silisorb 600)					
Eu(III)-ДЦ	120	0.36	7.97	4.3	8.4
Eu(III)-ДЦ-ТХ-100	182	0.36	5.13	6.6	5.4
Модифицированная бумага					
Eu(III)-ДЦ	169	0.46	5.46	7.8	7.7
Eu(III)-ДЦ-Твин-80	205	0.48	4.40	9.8	4.6

* τ – время жизни флуоресценции, мкс; A_r – константа скорости излучательного процесса, мс⁻¹; A_{nr} – константа скорости безызлучательного процесса, мс⁻¹; η (%) – квантовый выход, q – число молекул воды в ближайшем окружении Eu(III)

Глава 4. Мицеллярная экстракция доксициклина, хелатов Eu(III)-доксициклин и Tb(III)-энрофлоксацин

Ранее в анализе не использовалось сочетание сенсibilизированной флуоресценции на твердой матрице и предварительной мицеллярной экстракции (МЭ), которое, как оказалось в нашем случае, способствует уменьшению нижней границы определяемого содержания аналита. Ранее также установлено, что интенсивность сенсibilизированной флуоресценции бинарного хелата Eu(III) и эффективность переноса в нем энергии возбуждения тем больше, чем больше индекс липофильности лиганда – фторхинолона. Причиной, как предполагалось, может быть более эффективное вытеснение воды из координационной сферы лантанида более гидрофобным лигандом. С целью использования указанных эффектов определены и сопоставлены времена жизни возбужденных состояний хелатов Eu(III) и Tb(III) с ЭФ, которые

составили 184 ± 6 и 567 ± 13 мкс, соответственно (рис. 2). Учитывая долгоживущий характер флуоресценции системы Tb(III) с ЭФ и высокую гидрофобность ЭФ ($\lg P = 4.7$), изучена возможность отделения и концентрирования ЭФ методом мицеллярной экстракции его комплекса Tb(III) смешанными мицеллами ЦПХ и ТХ-100 с целью последующего определения фторхинолона в экстракте. Установлено, что мицеллярная экстракция гидрофобного разнолигандного комплекса Tb(III)-ЭФ-ТОФО позволяет уменьшить нижнюю границу определяемых содержаний на поверхности сорбента больше чем на порядок (табл. 4).

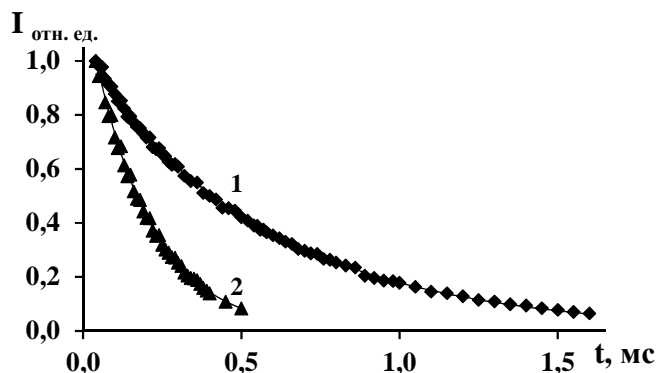


Рис.2. Кривые затухания флуоресценции хелата 1) Tb(III)-ЭФ (pH=5.2, $\lambda_{\text{возб}}=332$ нм, $\lambda_{\text{фл}}=545$ нм), 2) Eu(III)-ЭФ (pH=7.3, $\lambda_{\text{возб}}=347$ нм, $\lambda_{\text{фл}}=615$ нм). $C_{\text{Ln(III)}}=1.0 \cdot 10^{-4}$ М, $C_{\text{ЭФ}}=1.0 \cdot 10^{-4}$ М

Синергетический эффект увеличения эффективности переноса энергии и интенсивности сенсibilизированной флуоресценции в рассмотренном случае определяют три фактора:

- сорбция разнолигандного комплекса Tb(III)-ЭФ-ТОФО в тонком слое силикагеля, которая сопровождается удалением молекул воды из ближайшего окружения иона комплексообразователя, увеличением жесткости микроокружения флуорофора, уменьшением константы скорости безызлучательных переходов и увеличением квантового выхода флуорофора;

- использование *второго* высокогидрофобного лиганда ТОФО, который благодаря своей липофильности, также способствует удалению молекул воды из координационной сферы лантанида. Необходимо отметить, что мицеллярная экстракция позволяет реализовать в сорбционно-люминесцентном определении образование разнолигандного комплекса;

- использование *смешанных мицелл*, способствующих образованию и солюбилизации разнолигандного хелата и созданию микроокружения с повышенной вязкостью.

Показано, что предварительная МЭ позволяет уменьшить нижнюю границу сорбционно-люминесцентного определения даже таких гидрофильных аналитов, как производные тетрациклина ($\lg P$ от -1.3 до -0.6), например ДЦ по его собственной флуоресценции, практически на порядок (табл.4). Применение *сенсibilизированной* флуоресценции с предварительной МЭ хелата Eu(III)-ДЦ позволило на порядок уменьшить нижнюю границу сорбционно-люминесцентного определения антибиотика за счет возможного увеличения константы скорости излучательных процессов (табл. 4).

Таблица 4. Некоторые характеристики сорбционно-люминесцентного определения ЭФ и ДЦ

Модификатор поверхности	Сорбент	Прибор	Диапазон концентраций, М
Определение энрофлоксацина			
Tb(III)-Бридж-35	«Сорбфил АТСХ»	Видеоденситометр	$1.0 \cdot 10^{-4} - 1.0 \cdot 10^{-2}$
Tb(III)-ТОФО-ТХ-100- ЦПХ-NaCl (с предварительной МЭ)	«Сорбфил АТСХ»	Видеоденситометр	$8.0 \cdot 10^{-6} - 1.3 \cdot 10^{-4}$
Определение доксицилина			
Бридж-35	«Сорбфил АТСХ»	Видеоденситометр	$2.0 \cdot 10^{-5} - 1.0 \cdot 10^{-3}$
ТХ-100 (с предварительной МЭ)	«Сорбфил АТСХ»	Видеоденситометр	$3.0 \cdot 10^{-6} - 5.0 \cdot 10^{-5}$
Eu(III)-Твин-80	Целлюлоза	Спектрофлуориметр	$1.0 \cdot 10^{-7} - 1.0 \cdot 10^{-4}$
Eu(III)-Твин-80 (с предварительной МЭ)	Целлюлоза	Спектрофлуориметр	$1.0 \cdot 10^{-8} - 3.0 \cdot 10^{-6}$

Глава 5. Определение суммарного и индивидуального содержания некоторых антибиотиков при их совместном присутствии

Изучена возможность определения суммы трех производных тетрациклинов МЦ, ДЦ, ХТЦ в растворах при их совместном присутствии. Учитывая близкие фотофизические характеристики и химические свойства указанных антибиотиков для их флуориметрического определения использовали комплексообразование с Eu(III), которое характеризуется переносом энергии возбуждения от триплета лиганда на резонансный уровень иона лантанида с последующей эмиссией ($\lambda_{\text{возб}} = 395$ нм, $\lambda_{\text{фл}} = 615$ нм), соответствующей переходу $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$. Установлено, что интенсивность сенсibilизированной флуоресценции хелата Eu(III)-ДЦ-ЭДТА зависит от природы мицелл ПАВ. Максимальное увеличение эмиссии комплекса (в 4.5 раза) наблюдается в среде катионного ПАВ – хлорида цетилпиридиния (рис. 3).

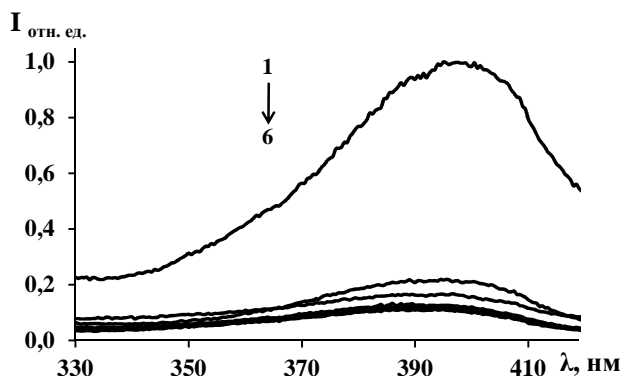


Рис.3. Спектры возбуждения Eu(III)-ДЦ-ЭДТА-ПАВ. 1-ЦПХ, 2- без ПАВ, 3-Твин-80, 4-ДДС, 5-ТХ-100, 6-Бридж-35; $C_{\text{ДЦ}} = 4.0 \cdot 10^{-6}$ М, $C_{\text{Eu(III)}} = 2.0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{ЭДТА}} = 1.0 \cdot 10^{-4}$ М, $C_{\text{ПАВ}} = 1.0 \cdot 10^{-2}$ М, pH=8.8, $\lambda_{\text{возб}} = 615$ нм

Такие эффекты можно связать с дополнительным влиянием электростатических взаимодействий катионов ПАВ с анионными группами ЭДТА, способствующими более эффективной солюбилизации аналитической формы в мицеллы ЦПХ и удалению молекул воды из ближайшего окружения иона лантанида.

Градуировочные графики для определения МЦ, ДЦ, ХТЦ имеют практически одинаковый угол наклона (рис. 4, табл. 5), что является основанием для определения суммы трех производных тетрациклина при их совместном присутствии в исследуемой смеси. В качестве стандарта использован антибиотик доксициклин, который отличается лучшей растворимостью по отношению к его указанным аналогам.

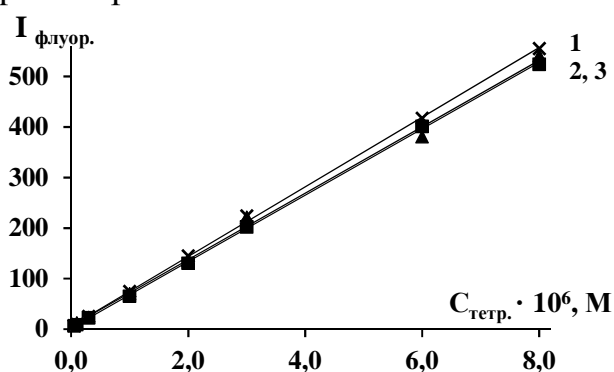


Рис. 4. Градуировочные графики для определения тетрациклинов с использованием мицелл ЦПХ. 1-МЦ, 2-ДЦ, 3-ТЦ. $C_{Eu(III)}=4.0 \cdot 10^{-5} M$, $C_{ЭДТА}=1.0 \cdot 10^{-4} M$, $C_{ЦПХ}=6.3 \cdot 10^{-3} M$, $pH=8.8$, $\lambda_{возб}=395 \text{ нм}$, $\lambda_{фл}=615 \text{ нм}$

Таблица 5. Метрологические характеристики флуориметрического определения тетрациклинов с помощью системы $Eu(III)$ -ЭДТА- ЦПХ

Антибиотик	Диапазон определяемых концентраций, М	R^2	Уравнение градуировочного графика	$PrO \cdot 10^8, M$
доксициклин	$5.0 \cdot 10^{-8} - 8.0 \cdot 10^{-6}$	0.999	$I = 6.6 \cdot 10^7 C$	2
метациклин	$5.0 \cdot 10^{-8} - 8.0 \cdot 10^{-6}$	0.999	$I = 6.9 \cdot 10^7 C$	2
хлортетрациклин	$5.0 \cdot 10^{-8} - 8.0 \cdot 10^{-6}$	0.997	$I = 6.6 \cdot 10^7 C$	2
тетрациклин	$3.0 \cdot 10^{-8} - 3.0 \cdot 10^{-6}$	0.999	$I = 2.6 \cdot 10^8 C$	0.6
окситетрациклин	$5.0 \cdot 10^{-8} - 6.0 \cdot 10^{-6}$	0.997	$I = 9.4 \cdot 10^7 C$	2

Изучена кинетика затухания флуоресценции хелатов $Eu(III)$ с МЦ, ХТЦ, ДЦ, ТЦ, ОТЦ, рассчитаны времена жизни возбужденного состояния (табл. 6).

Таблица 6. Времена жизни (τ) флуоресценции хелатов $Eu(III)$ -антибиотик-ЭДТА в мицеллярных растворах ЦПХ ($pH=8.8$, $C_{Eu(III)}=4.0 \cdot 10^{-5} M$, $C_{ЭДТА}=1.0 \cdot 10^{-4} M$, $C_{ЦПХ} = 6.3 \cdot 10^{-3} M$)

Антибиотик	$\tau, \text{ мкс}$
метациклин	23 ± 2
окситетрациклин	26 ± 2
хлортетрациклин	29 ± 2
доксициклин	40 ± 2
тетрациклин	69 ± 2

Установлено, что интенсивность флуоресценции комплексов Eu(III)-ТЦ-ЭДТА и Eu(III)-ОТЦ-ЭДТА превышает флуоресценцию комплекса Eu(III)-ДЦ-ЭДТА при равных концентрациях антибиотиков в 4.2 и 1.5 раза соответственно. Различия времен жизни флуоресценции (табл. 6, рис. 5) позволили предположить возможность избирательного определения, например, ТЦ в присутствии ОТЦ и ДЦ, ДЦ в присутствии ОТЦ.

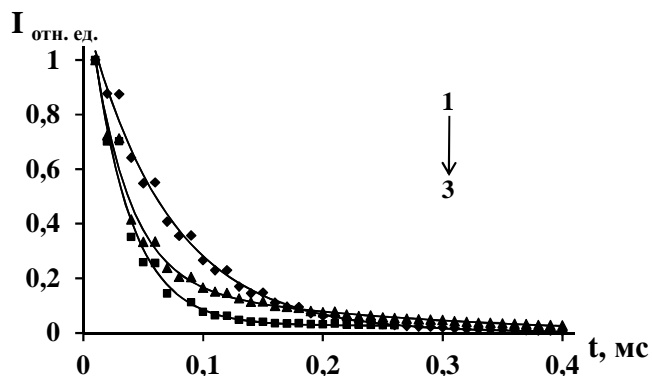


Рис. 5. Кривые затухания флуоресценции разнолигандных хелатов Eu(III) с: 1 - ТЦ, 2 - ДЦ, 3 - ОТЦ. $C_{Eu(III)} = 4.0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{ТЦ, ДЦ, ОТЦ} = 1.0 \cdot 10^{-6}$ М, $C_{ЭДТА} = 1.0 \cdot 10^{-4}$ М, $C_{ПАВ} = 6.3 \cdot 10^{-3}$ М, рН 8.8, $\lambda_{возб} = 395$ нм, $\lambda_{фл} = 615$ нм

Основой для этого являются зависимости, представленные на рисунке 6, которые позволяют выбрать оптимальное время задержки для получения максимальной разницы в интенсивностях флуоресценции аналита и мешающего компонента.

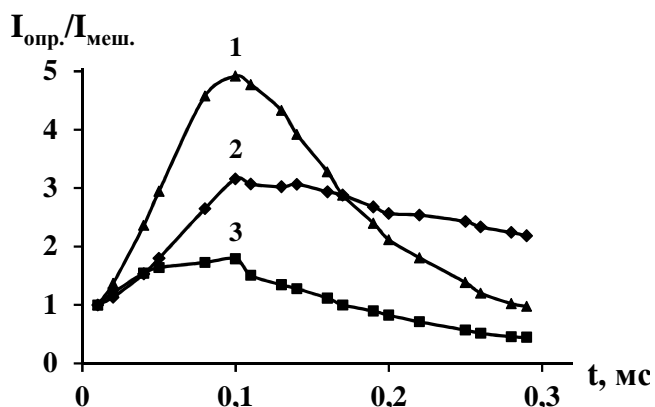


Рис. 6. Влияние времени задержки на отношение интенсивностей определяемого и мешающего компонентов: 1 – ТЦ/ОТЦ, 2 – ДЦ/ОТЦ, 3 – ТЦ/ДЦ. $C_{Eu(III)} = 4.0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{ТЦ, ДЦ, ОТЦ} = 1.0 \cdot 10^{-6}$ М, $C_{ЭДТА} = 1.0 \cdot 10^{-4}$ М, $C_{ЦПХ} = 6.3 \cdot 10^{-3}$ М, рН 8.8, $\lambda_{возб} = 395$ нм, $\lambda_{фл} = 615$ нм

Глава 6. Флуориметрическое определение некоторых физиологически активных веществ в растворах

С целью применения сенсibilизированной флуоресценции для флуориметрического определения в растворе других биологически активных веществ изучены фотофизические свойства энрофлоксацина, охратоксина А, четырех производных кумарина, антиоксидантов рутина и кверцетина и их комплексов с европием(III) и тербием(III) в присутствии второго лиганда в водных и мицеллярных средах ПАВ. Показано, что для хелата Tb(III)-ЭФ присутствие второго лиганда и мицелл ПАВ не увеличивает эффективность переноса энергии в бинарной системе. По результатам исследования разработана простая, чувствительная методика определения ЭФ, основанная на измерении сенсibilизированной флуоресценции *бинарного* хелата Tb(III)-ЭФ, с PrO $8 \cdot 10^{-9}$ М.

Показано, что в результате комплексообразования микотоксина ОТА с Tb(III) наблюдается сенсibilизированная флуоресценция ($\lambda_{\text{возб}}=375$ нм, $\lambda_{\text{фл}}=545$ нм), возрастающая в присутствии Фен дополнительно на 20%, а в мицеллярных средах Бридж-35 – еще на 50%.

Производные кумарина (ФДК, ТКЗ, ДК4,ДФК) (синтезированные на кафедре органической и биоорганической химии СГУ под руководством проф. Федотовой О.В.), содержащие хорошо развитую хромофорную π -систему, обладают интенсивной собственной флуоресценцией в диапазоне 360-420 нм и способны к комплексообразованию с лантанидами. Однако сигнал сенсibilизированной флуоресценции установлен только для комплексов с ТКЗ, что вероятно связано с близостью триплетного уровня лиганда и резонансного уровня иона металла. Спектры флуоресценции комплексов ТКЗ с Tb(III), Sm(III) и Eu(III) представлены на рисунке 7: максимальный сигнал сенсibilизированной флуоресценции наблюдается для хелата Tb(III), а минимальный – Sm(III).

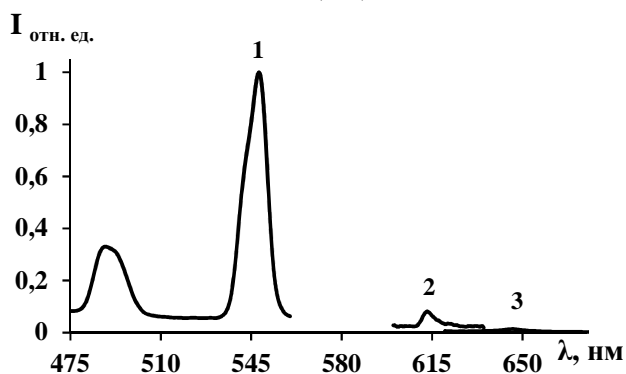


Рис. 7. Спектры флуоресценции хелатов ТКЗ с РЗЭ: 1- Tb(III), 2- Eu(III), 3- Sm(III).
 $C_{\text{Ln(III)}}=1.0 \cdot 10^{-4}$ М, $C_{\text{ТКЗ}}=3.0 \cdot 10^{-5}$ М.

Использование временной задержки (30 мкс) при измерении сигнала флуоресценции позволило увеличить интенсивность эмиссии в 5 раз. Установлено, что интенсивность сенсibilизированной флуоресценции бинарного хелата в мицеллярных растворах додецилсульфата натрия увеличивается еще в 2.5 раза. Введение в бинарный хелат Tb(III)-Фен ТКЗ приводит к тушению флуоресценции комплекса, в результате конкурирующего комплексообразования Tb(III) с кумарином при взаимодействии по двум ОН-группам данного кумарина. Образующийся комплекс обладает меньшими флуоресцирующими свойствами и возможно более высокой устойчивостью.

На основании проведенных исследований предложены две методики флуориметрического определения ТКЗ. Первая из них основана на образовании бинарного комплекса в мицеллярных средах анионного ПАВ додецилсульфата натрия. Вторая методика основана на тушении кумарином сенсibilизированной флуоресценции хелата Tb(III)-Фен.

Нами показано, что эффект тушения сенсibilизированной флуоресценции хелата Eu(III)-ТГА-Бридж-35, который осуществляется по статическому механизму (рис. 8), может быть использован для определения биофлавоноидов - рутина и кверцетина.

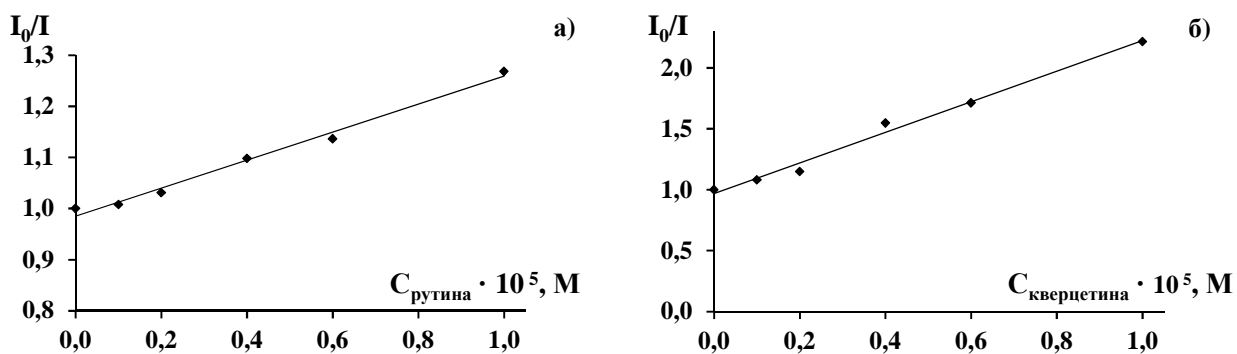


Рис. 8. Зависимость тушения флуоресценции хелата Eu(III)-ТГА-Бридж-35 от концентрации а) рутина и б) кверцетина. $C_{\text{Eu(III)}}=1.0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{ТГА}}=3.0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Бридж-35}}=1.0 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, pH 7.4, $\lambda_{\text{возб}}=330 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{фл}}=615 \text{ нм}$.

Предположительно, что механизм тушения флуоресценции системы Eu(III)-ТГА-Бридж-35 в присутствии рутина или кверцетина связан с конкурирующим комплексобразованием Eu(III) с рутином или кверцетином и образованием менее флуоресцирующего продукта. В тоже время, нельзя исключить избирательную сольubilизацию отдельных компонентов системы Eu(III)-ТГА-флавоноид в мицеллу неионогенного ПАВ, приводящую к разрушению исходного комплекса и, в связи с этим, уменьшению интенсивности аналитического сигнала.

Глава 7. Применение сенсibilизированной флуоресценции на поверхности и в растворе для определения фторхинолонов, тетрациклинов и флавоноидов в биологических жидкостях и лекарственных препаратах

В результате проведенных исследований предложен ряд направлений практического применения изученных систем, разработаны конкретные методики определения энрофлоксацина, доксициклина и рутина в биологических жидкостях и лекарственных препаратах, основанные на измерении собственной или сенсibilизированной флуоресценции на поверхности сорбента и в растворе с использованием мицеллярных организованных сред. Правильность определения контролировали спектрофотометрическим методом и методом «введено-найдено».

1. Определение энрофлоксацина в плазме крови. Предложенные нами методики апробированы на плазме крови свиней, получающих в качестве пищевой добавки разработанные на предприятии ЗАО «НИТА-ФАРМ» различные препараты, содержащие ЭФ. Суточная доза препарата составляла от 0.1 до 0.3 мл/кг. В отобранных пробах крови (плазме крови) по предложенной нами методике, основанной на измерении сенсibilизированной флуоресценции комплекса Tb(III)-ЭФ, определяли содержание фторхинолона (табл. 7). Правильность определения контролировали методом «введено-найдено» в плазму крови, не содержащую антибиотика (табл. 8).

Таблица 7. Результаты определения ЭФ в плазме крови (n=3, P=0.95)

№ пробы	Препарат	Доза ЭФ, мг/кг	Найдено, мкг/мл
3 день			
1	Энронит ОР	10	-
2			0.53±0.03
3		15	0.57±0.03
4			-
5		30	0.54±0.03
6			0.46±0.02
7	Энрофлон	10	0.56±0.03
8			0.31±0.02
7 день			
1-8	Энронит ОР, энрофлон	10-30	-

Таблица 8. Контроль правильности определения энрофлоксацина в плазме крови методом «введено-найденно» (n=5, P=0.95, $t_{\text{табл.}}=2.78$)

Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	S_r	$t_{\text{эсп.}}$
0.72	0.68±0.03	0.04	2.47
2.52	2.63±0.08	0.03	2.27
3.61	3.7±0.1	0.02	2.02
14.4	14.0±0.3	0.02	1.41

2. *Определение доксициклина сорбционно-люминесцентным способом в лекарственных препаратах.* В настоящее время в России остро стоит проблема фальсификации лекарственных препаратов. Вероятность различных видов фальсификации вызывает необходимость в разработке простых тест-методов и экспрессных методик для контроля качества лекарственных препаратов.

Тест-определение ДЦ в лекарственном препарате «ДОКСИЦИКЛИН» основано на измерении собственной флуоресценции антибиотика на модифицированном мицеллами Бридж-35 силикагеле ($\lambda_{\text{возб}}=365$ нм, $\lambda_{\text{фл}}=540$ нм). Новизна и оригинальность разработанного способа определения антибиотика подтверждена патентом. Результаты анализа лекарственной формы представлены в таблице 9.

Таблица 9. Определение ДЦ в препарате «ДОКСИЦИКЛИН», аттестованное содержание 0.1 г (n=6, P=0.95)

Флуоресценция	Сорбент	Прибор	$\bar{X} \pm \Delta X$, г	S_r
Собственная	«Сорбфил АТСХ»	Видеоденситометр	0.13±0.05	0.4
Сенсибилизированная	Silasorb 600	Спектрофлуориметр	0.11±0.01	0.04
Сенсибилизированная	Целлюлоза	Спектрофлуориметр	0.12±0.01	0.04

Определение ДЦ в результате сорбции его комплекса с Eu(III) на сорбентах Silasorb 600 и целлюлозной матрице из мицеллярных растворов Тритон X-100 и Твин-80, соответственно, основанное на измерении сенсibilизированной флуоресценции, позволяет уменьшить погрешность анализа (табл. 9).

3. *Определение рутина в лекарственном препарате «Аскорутин».* Для флуориметрического определения рутина использован эффект тушения сенсibilизированной флуоресценции комплекса Eu(III)-ТТА-Бридж-35 рутином. Правильность определения контролировали фотометрическим методом по реакции комплексообразования рутина с хлоридом алюминия (табл. 10).

Таблица 10. Результаты определения рутина в «Аскорутине» (n=5, P=0.95, $t_{\text{табл}} = 2.57$, $F_{\text{табл}} = 6.39$)

Аттестованное значение, г	Найдено, г				$t_{\text{экс.}}$	$F_{\text{экс.}}$
	Флуоресцентный метод		Фотометрический метод			
	$\bar{X} \pm \Delta X$, г	S_r	$\bar{X} \pm \Delta X$, г	S_r		
0.05	0.049 ± 0.002	0.02	0.049 ± 0.002	0.04	0.22	2.03

На основании проведенных исследований разработаны флуориметрические методики определения некоторых физиологических веществ в растворах (табл.11).

Таблица 11. Некоторые химико-аналитические характеристики флуориметрического определения физиологически активных веществ в растворах

Система	Диапазон определяемых концентраций, М	PrO, М
Tb(III)-ЭФ	$2.5 \cdot 10^{-8} - 5.0 \cdot 10^{-6}$	$8 \cdot 10^{-9}$
Tb(III)-ОТА-Фен-Бридж-35	$1.2 \cdot 10^{-8} - 2.5 \cdot 10^{-7}$	$6 \cdot 10^{-9}$
Tb(III)-ТКЗ-Фен	$6.0 \cdot 10^{-7} - 3.0 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-7}$
Tb(III)-ТКЗ-ДДС	$3.0 \cdot 10^{-7} - 2.0 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-7}$
Eu(III)-ТТА-рутин-Бридж-35	$4.0 \cdot 10^{-6} - 1.0 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-6}$
Eu(III)-ТТА-кверцетин-Бридж-35	$1.0 \cdot 10^{-6} - 6.0 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{-7}$

Выводы

1. Разработан подход к снижению пределов обнаружения и улучшению селективности определения физиологически активных соединений, основанный на измерении сенсibilизированной флуоресценции лантанидов при образовании ими разнолигандных комплексов с антибиотиками, кумаринами, флавоноидами в индивидуальных и смешанных мицеллах ПАВ в растворе и на

поверхности. Показано, что в основе этого подхода лежит комплекс явлений, включающих удаление воды из координационной сферы лантанида в результате образования разнолигандных соединений, сольбилизации в мицеллах ПАВ, сорбции комплексов на твердой поверхности, применении мицеллярной экстракции и разном времени жизни возбужденного состояния комплексов лантанидов.

2. На примере доксицилина и его комплекса с Eu(III) показано, что сорбция на пластинах АТСХ, Silasorb 600 и целлюлозе способствует увеличению интенсивности как собственной, так и сенсibilизированной флуоресценции. В основе возрастания эффективности переноса энергии в бинарном комплексе лежит удаление молекул воды из ближайшего окружения иона металла и соответствующее уменьшение константы скорости безызлучательных процессов переноса энергии возбуждения, а также увеличение константы скорости излучательных процессов. Увеличению эмиссии способствуют также сольбилизация в гемимицеллы неионогенного ПАВ как антибиотика, так и его комплекса с Eu(III), которая приводит к концентрированию бинарного хелата и экранированию его от влияния посторонних тушителей.
3. На основании изучения кинетики затухания сенсibilизированной флуоресценции Eu(III) с производными тетрациклинового ряда и расчета времени жизни бинарных хелатов, предложен подход к определению содержания суммы трех производных тетрациклинов (доксицилина, метациклина, хлортетрациклина) в растворе при совместном присутствии. Показана возможность повышения избирательности определения тетрациклинов в их смеси при измерении флуоресценции с разрешением во времени. Установлено, что определению тетрациклина не мешают доксицилин и окситетрациклин при их молярном соотношении 1:1.
4. Показано, что предварительная мицеллярная экстракция разнолигандного комплекса Tb(III)-энрофлоксацин-триоктилфосфиноксид в смешанные мицеллы неионного и катионного ПАВ позволяет уменьшить нижнюю границу определяемых содержаний сорбционно-люминесцентного определения антибиотика больше чем на порядок. Синергетический эффект увеличения квантового выхода и интенсивности сенсibilизированной флуоресценции определяется тремя факторами, способствующими удалению молекул воды из координационной сферы лантанида: сорбцией и сольбилизацией разнолигандного комплекса, а также присутствием высокогидрофобного лиганда триоктилфосфиноксида.
5. Разработаны методики и тест-методы флуоресцентного определения антибиотиков, антиоксидантов, микотоксина и кумаринов в плазме крови свиней (ЗАО «Нита-Фарм»), лекарственных формах доксицилина и рутина при проведении реакции на поверхности и в растворе, с использованием простых и смешанных мицелл ПАВ. Предложен подход к избирательному определению тетрациклина, а также методика определения общего содержания доксицилина, метациклина, хлортетрациклина в растворе. Получен патент на сорбционно-люминесцентный способ определения ДЦ в лекарственных препаратах.

Основные публикации по теме диссертации

1. Паращенко И.И., Смирнова Т.Д., Штыков С.Н., Кочубей В.И., Жукова Н.Н. Твердофазная, сенсibilизированная доксициклином, флуоресценция европия на силикагеле в присутствии ПАВ // Журн. аналит. химии. 2013. Т. 68. №2. С. 125-129.
2. Паращенко И.И., Удалова А.Ю., Смирнова Т.Д., Штыков С.Н., Жукова Н.Н. Экспрессное сорбционно-флуоресцентное определение доксициклина в лекарственных препаратах // Изв. Саратовск. ун-та. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. 2012.Т. 12. Вып.2. С. 16-20.
3. Смирнова Т.Д., Паращенко И.И. Флуориметрическое определение рутина, основанное на комплексообразовании с европием(III) в мицеллярных растворах ПАВ // Изв. Саратовск. ун-та. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2010. Т. 10. № 2. С. 19-23.
4. Смирнова Т.Д., Штыков С.Н., Неврюева Н.В., Жемеричкин Д.А., Паращенко И.И. Флуориметрическое определение флюомеквина с помощью сенсibilизированной флуоресценции тербия в организованных средах // Хим.-фарм. журн. 2010. Т. 44. № 11. С. 49-52.
5. Смирнова Т.Д., Штыков С.Н., Паращенко И.И. Флуориметрическое определение европия, основанное на переносе энергии возбуждения в организованных средах // Цветные металлы. 2009. № 11. С. 55-58.
6. Паращенко И.И., Альбаева Л.Р., Желобицкая Е.А., Смирнова Т.Д., Штыков С.Н. Сорбционно-люминесцентное определение доксициклина с предварительной мицеллярной экстракцией // Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии: Межвуз. сборник науч. трудов IX Всерос. конф. мол. ученых с международ. участием. Саратов: Изд-во «КУБиК», 2013. С. 115-117.
7. Паращенко И.И., Желобицкая Е.А., Смирнова Т.Д., Штыков С.Н., Неврюева Н.В., Юрасов Н.А. Фотохимические свойства хелатов фторхинолонов с лантанидами и использование их в анализе // Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии: Межвуз. сборник науч. трудов IX Всерос. конф. мол. ученых с международ. участием. Саратов: Изд-во «КУБиК», 2013.С. 118-120.
8. Птицкая С.А., Паращенко И.И., Мажукина О.А., Смирнова Т.Д. Флуоресцентные свойства некоторых кумаринов и их комплексов с ионами лантаноидов // Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии: Межвуз. сборник науч. трудов IX Всерос. конф. мол. ученых с международ. участием. Саратов: Изд-во «КУБиК», 2011.С. 135-137.
9. Паращенко И.И., Птицкая С.А., Смирнова Т.Д., Штыков С.Н., Жукова Н.Н. Сорбционно-флуориметрическое определение производных тетрациклинов с использованием мицелл ПАВ // Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии: Межвуз. сборник науч. трудов IX Всерос. конф. мол. ученых с международ. участием. Саратов: Изд-во «КУБиК», 2011. С.148-150.
10. Parashchenko I.I., Ptitskaya S.A., Smirnova T.D. Sorption-luminescent determination of enrofloxacin and oxalic acid // Матер. II научно-практ. конф. «Presenting Academic Achievements to the World». Саратов: Изд-во Саратовск. ун-та. 2011. Вып.2. С. 56-59.

- 11.** Паращенко И.И., Желобецкая Е.А., Штыков С.Н., Смирнова Т.Д. Экстракционно-люминесцентное определение некоторых антибиотиков с использованием организованных сред // Второй съезд аналитиков России: Тез. докл. Москва, 2013. С.223. (<http://www.wssanalytchem.org/car2013/doc/Abstracts-CRusAn2013.pdf>).
- 12.** Смирнова Т.Д., Штыков С.Н., Паращенко И.И., Желобецкая Е.А., Неврюева Н.В. Влияние второго лиганда на сенсibilизированную флуоресценцию комплексов европия и тербия с некоторыми антибиотиками // Второй съезд аналитиков России: Тез. докл. Москва, 2013. С.225. (<http://www.wssanalytchem.org/car2013/doc/Abstracts-CRusAn2013.pdf>).
- 13.** Паращенко И.И. Фотофизические свойства некоторых хелатов лантанидов с антибиотиками на поверхности сорбентов в присутствии мицелл ПАВ и их аналитическое применение // Матер. междунаро. молодеж. форума «Ломоносов-2013». Секция «Химия» [Электронный ресурс]. – М.: МАКС Пресс, 2013. (http://lomonosov-msu.ru/archive/Lomonosov_2013/structure_31_2341.htm).
- 14.** Паращенко И.И., Штыков С.Н., Смирнова Т.Д. Влияние сорбции доксициклина и его хелата с европием на интенсивность флуоресценции в присутствии мицелл неионогенных ПАВ // Матер. III науч. конф. с междунаро. участием «Химия – 2013. Физическая химия. Аналитическая химия. Нанохимия. Теория, эксперимент, практика, преподавание». Москва, 2013. С.78.
- 15.** Желобецкая Е.А., Паращенко И.И., Смирнова Т.Д., Штыков С.Н. Флуориметрическое определение охратоксина А в мицеллярных средах // Химия биологически активных веществ: Межвуз. сборник науч. трудов Всерос. школы-конф. молодых учёных, асп. и студ. с междунаро. участием. Саратов: Изд-во «КУБиК», 2012. С. 170-171.
- 16.** Паращенко И.И., Желобецкая Е.А., Смирнова Т.Д., Штыков С.Н., Жукова Н.Н. Сорбционно-флуоресцентное определение доксициклина на модифицированных мицеллами ПАВ сорбентах // Матер. Всерос. конф. по аналит. спектроскопии с междунаро. участием. Краснодар, 2012. С. 254.
- 17.** Смирнова Т.Д., Паращенко И.И., Штыков С.Н., Кочубей В.И., Панкратов А.Н. Особенности переноса энергии возбуждения в комплексах ионов лантаноидов с некоторыми антибиотиками // Матер. Всерос. конф. по аналит. спектроскопии с междунаро. участием. Краснодар, 2012. С. 266.
- 18.** Удалова А.Ю., Паращенко И.И. Сорбционно-люминесцентное определение доксициклина на целлюлозной матрице с использованием мицеллярных сред неионогенных ПАВ // Матер. междунаро. молодеж. форума «Ломоносов-2012». Секция «Химия». М.: МАКС Пресс, 2012. (http://lomonosov-msu.ru/archive/Lomonosov_2012/1932/Chemistry_all.pdf).
- 19.** Smirnova T.D., Parashchenko I.I., Nevryueva N.V., Shtykov S.N. Energy transfer in micellar solutions of europium (terbium) complexes: application for determination of biologically active substances // 16th Eur. Conf. on Anal. Chem. "Challenges in Modern Analytical Chemistry" (Euroanalysis-2011). Belgrade, Serbia, 2011. P.163.
- 20.** Паращенко И.И., Птицкая С.А., Смирнова Т.Д., Штыков С.Н., Жукова Н.Н. Сорбционно-флуоресцентное определение антибиотиков группы хинолонов и тетрациклинов с использованием мицеллярных сред неионогенных ПАВ // Матер.

III Всерос. симп. «Разделение и концентрирование в аналит. химии и радиохимии». Краснодар, 2011. С.128.

21. Смирнова Т.Д., Паращенко И.И., Неврюева Н.В., Штыков С.Н. Влияние мицелл ПАВ на перенос энергии и интенсивность сенсibilизированной флуоресценции в хелатах европия и тербия // Сборник тез. докл. I Всерос. симп. по поверхностно-активным веществам (с международ. участием). «От коллоидных систем к нанохимии». Казань, 2011. С.134.

22. Паращенко И.И., Смирнова Т.Д., Штыков С.Н. Флуориметрическое определение биологически активных веществ, основанное на статическом тушении сенсibilизированной флуоресценции лантаноидов с использованием организованных сред // Тез. докл. XIX Менделеевск. съезда по общей и прикладной химии. Волгоград, 2011. Т. 4. С. 390.

23. Паращенко И.И. Флуориметрическое определение кверцетина и рутина с использованием мицеллярных растворов ПАВ // Матер. XI Всерос. научно-практ. конф. студ. и асп. «Химия и химическая технология в XXI веке». Томск, 2010. С.348-349.

24. Smirnova T.D., Shtykov S.N., Parashchenko I.I. Analysis of rutine in medicines // Intern. Conf. on Luminescence of Lanthanides (ICLL-1). Odessa, Ukraine, 2010. P. 98.

25. Смирнова Т.Д., Штыков С.Н., Неврюева Н.В., Паращенко И.И. Флуориметрическое определение биологически активных веществ, основанное на переносе энергии возбуждения в организованных средах // Матер. III Всерос. конф. «Аналитика России». Краснодар, 2009. С.421.

26. Сорбционно-флуоресцентный способ определения доксициклина в лекарственных препаратах. Паращенко И.И., Удалова А.Ю., Смирнова Т.Д., Штыков С.Н., Жемеричкин Д.А. Патент РФ на изобретение №2471184 опубликовано 27.12.2012. Бюлл. №36. Заявка: 2011105992. Приоритет изобретения 18.02.2011.

Автор выражает глубокую благодарность и признательность научному руководителю д.х.н. Смирновой Т.Д., д.х.н., профессору Штыкову С.Н. за всестороннюю поддержку, ценные советы, консультации; д.ф.-м.н., профессору Кочубею В.И. за предоставление возможности постановки экспериментальных работ на спектрофлуориметре LS-55 и ценные советы; д.х.н., профессору Черновой Р.К. за всестороннюю поддержку; заведующему кафедрой органической и биоорганической химии д.х.н., профессору Федотовой О.В. за предоставленные препараты кумаринов; к.х.н., с.н.с. Сафаровой М.И. за предоставленные антибиотики и объекты анализа.