

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра аналитической химии и химической экологии

**ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭНРОФЛОКСАЦИНА И ЕГО
КОМПЛЕКСА С ТЕРБИЕМ (III) В РАСТВОРАХ И В ТОНКОМ СЛОЕ
СИЛИКАГЕЛЯ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 4 курса 411 группы
направления 04.03.01 «Химия»
Института Химии
Наумова Григория Анатольевича

Научный руководитель

д.х.н., профессор

подпись, дата

Т.Д. Смирнова

Зав. кафедрой

д.х.н., доцент

подпись, дата

Т.Ю. Русанова

Саратов 2019

Введение

Актуальность работы. Энрофлоксацин широко применяется в медицинской и ветеринарной практике. При использовании препарата в ветеринарии наблюдается присутствие остаточных антибиотиков в мясе, молоке и других продуктах животноводства, что может негативно сказываться на здоровье людей. Употребление остаточных количеств антибиотиков в пищу вызывает аллергические реакции, нарушение обмена веществ, дисбактериоз, подавлять активность некоторых ферментов, изменять микрофлору, способствовать распространению устойчивых форм микроорганизмов и т.д.

Таким образом, одной из главных задач современной аналитической химии является разработка простых, высокочувствительных способов контроля содержания антибиотиков в биологических жидкостях, продуктах животного происхождения, фармацевтических препаратах и объектах окружающей среды. Наиболее перспективными являются тест-методы для предварительной полуколичественной или количественной оценки присутствия химического компонента в образце, а также для проведения предварительного скрининга, отбраковки и установления фальсификации образцов. Особенно это важно в процессе контроля качества пищевых продуктов и фармацевтических препаратов.

Целью работы является изучение влияния мицелл поверхностно-активных веществ на интенсивность флуоресценции ЭФ и его комплекса с ионами Tb^{3+} при проведении реакции на поверхности в тонком слое силикагеля.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Изучить флуориметрические свойства ЭФ в растворе и на поверхности в слое силикагеля;
2. Изучить влияние природы мицелл ПАВ на флуориметрические свойства ЭФ на поверхности в слое силикагеля;

3. Изучить влияние реакций комплексообразования ЭФ с ионами Tb^{3+} на интенсивность флуоресценции;
4. Выявить условия получения максимальной флуоресценции комплекса ЭФ с ионами Tb^{3+} .

Структура и объем работы. Выпускная бакалаврская работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов исследования, изложения результатов и их обсуждения (7 разделов), выводов, списка литературы, содержащего 59 ссылок и техники безопасности. Работа изложена на 42 страницах, содержит 14 рисунков и 2 таблицы.

Основное содержание работы. Во введении обоснована актуальность проделанной работы, поставлена цель и указаны задачи, выполнимые в ходе научно-исследовательской деятельности.

В обзоре литературы проанализированы основные методы определения и исследования энрофлоксацина, особое внимание уделено флуориметрическим методам определения в различных объектах.

В разделе 3.1 рассмотрены спектральные характеристики и влияние тонкого слоя силикагеля и кислотности среды на собственную флуоресценцию энрофлоксацина. ЭФ обладает собственной флуоресценцией, характеризующейся $\lambda_{\text{возб}}=275$ нм и $\lambda_{\text{фл}}=440$ нм.

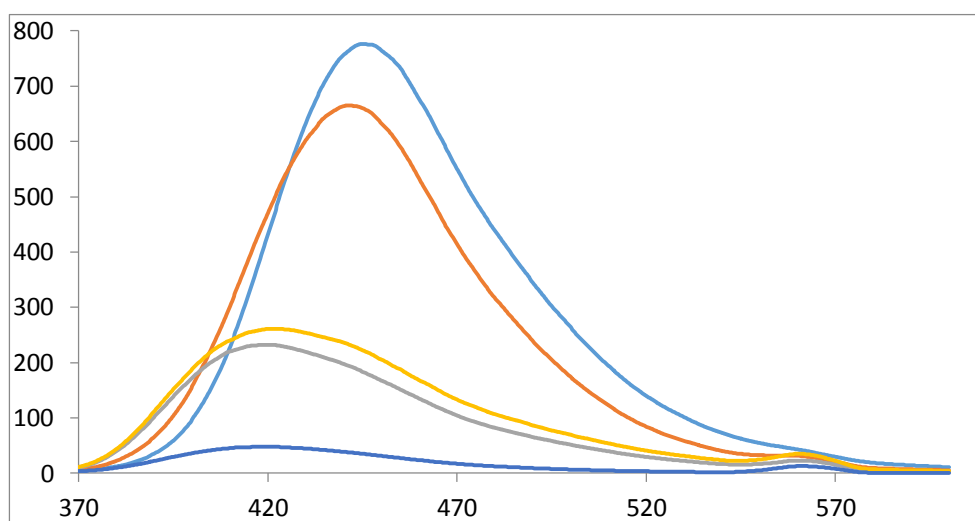


Рис. 1 Спектр флуоресценции ЭФ при различных значениях pH: 1 - pH 5; 2 - pH 6; 3 - pH 7.0; 4 - pH 8.0; 5 - pH 9.0, $C_{\text{эф}} = 10^{-5}$ М, $\lambda_{\text{возб}} = 276$ нм.

Изучено влияние ацетатно-аммиачного буферного раствора с диапазоном кислотности от 3 до 9. Наибольшая интенсивность основного цвета раствора ЭФ $1.0 \cdot 10^{-4}$ М наблюдалась в нейтральных растворах при pH 7 (рис.2).

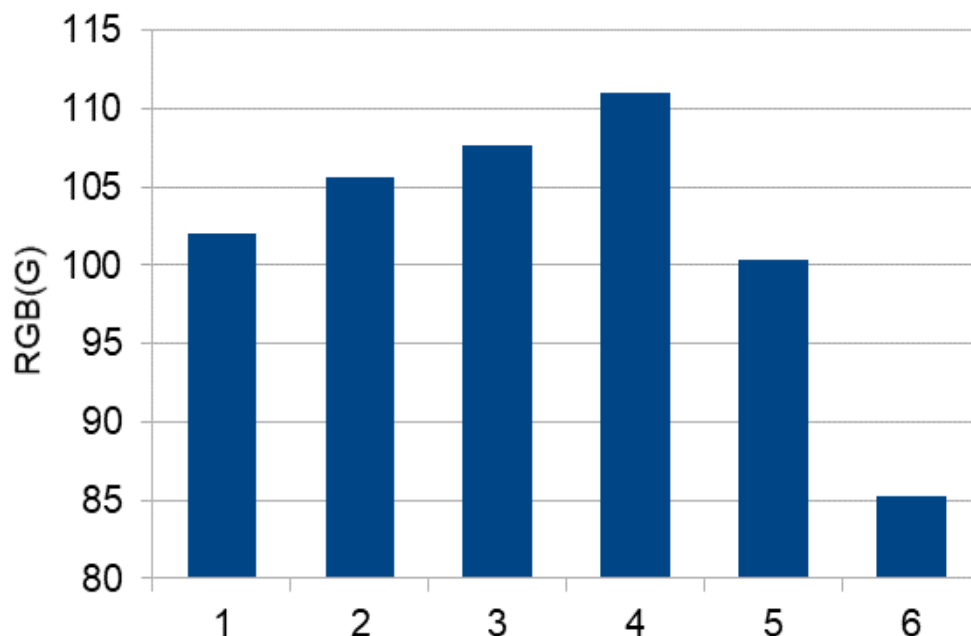


Рис. 2 Влияние pH на интенсивность основного цвета зоны ЭФ $1.0 \cdot 10^{-4}$ М, 1 - pH 3; 2 - pH 5; 3 - pH 6; 4 - pH 7; 5 - pH 8; 6 - pH 9.

В разделе 3.2 приведены результаты изучения влияния мицелл ПАВ различной природы на собственную флуоресценцию ЭФ в тонком слое силикагеля.

Максимальное увеличение интенсивности сигнала ЭФ $1.0 \cdot 10^{-4}$ М наблюдается в организованных средах неионогенных ПАВ (Бридж-35, Твин-80) (рис. 3, 4, 5). Исследование проводили при разных значениях кислотности среды в диапазоне pH 6–8, с максимальной интенсивностью в нейтральных растворах pH 7. Поэтому для определения ЭФ в качестве реагента был выбран Бридж-35 с концентрацией, значительно превышающей критическую концентрацию мицеллообразования, $1.0 \cdot 10^{-2}$ М при pH 7.

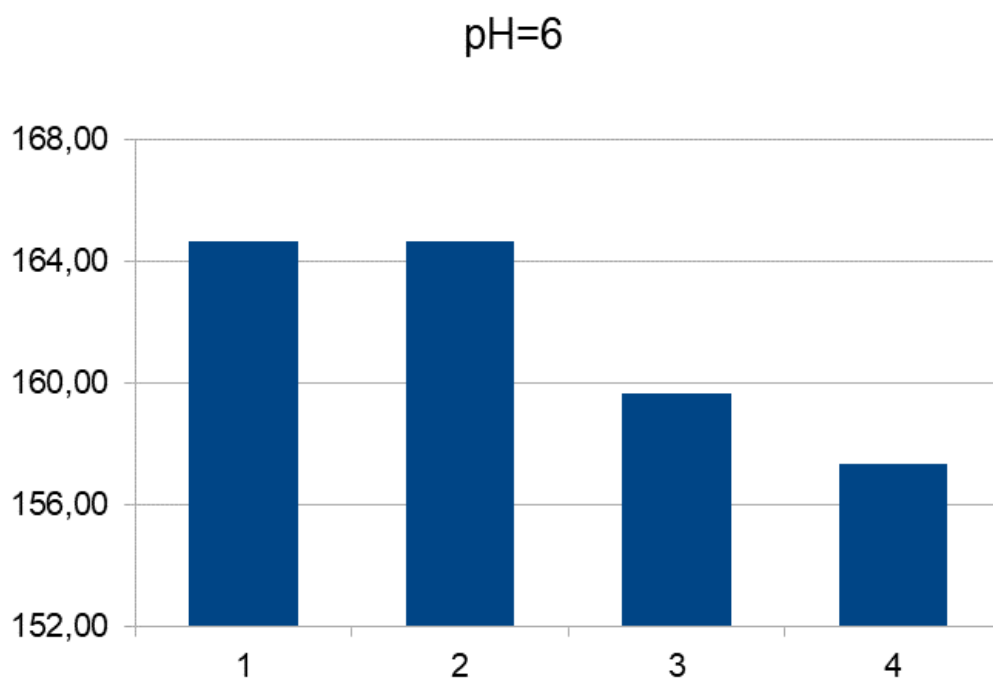


Рис. 3 Влияние природы ПАВ на интенсивность основного цвета зоны ЭФ $1.0 \cdot 10^{-4}$ М, 1 - Бридж-35; 2 - Твин-80; 3 - ДДС; 4 - ЦПХ.

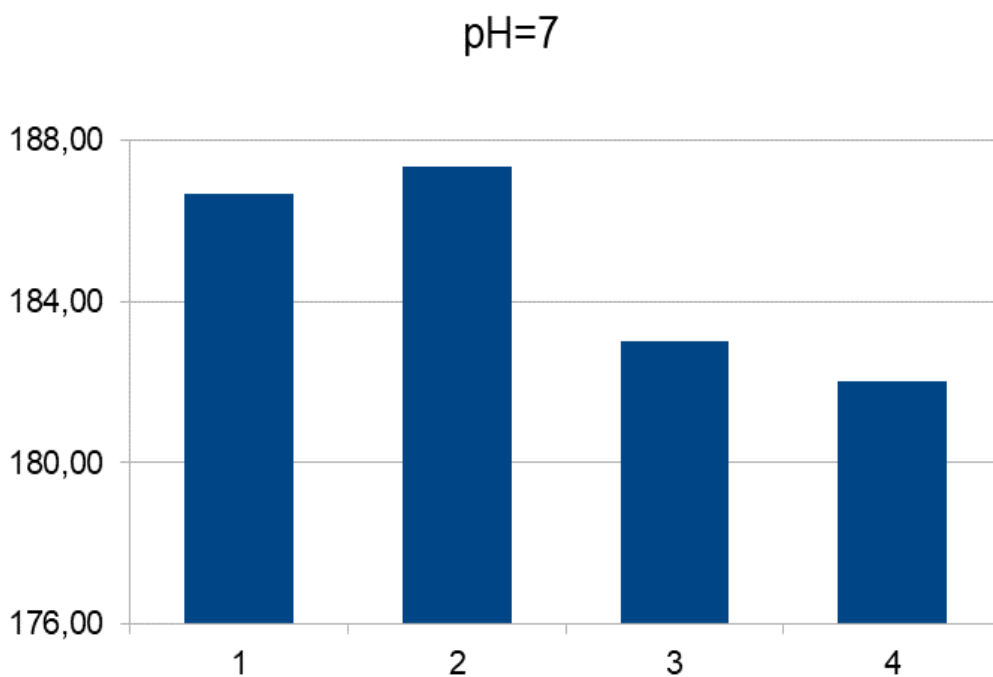


Рис. 4 Влияние природы ПАВ на интенсивность основного цвета зоны ЭФ $1.0 \cdot 10^{-4}$ М, 1 - Бридж-35; 2 - Твин-80; 3 - ДДС; 4 - ЦПХ.

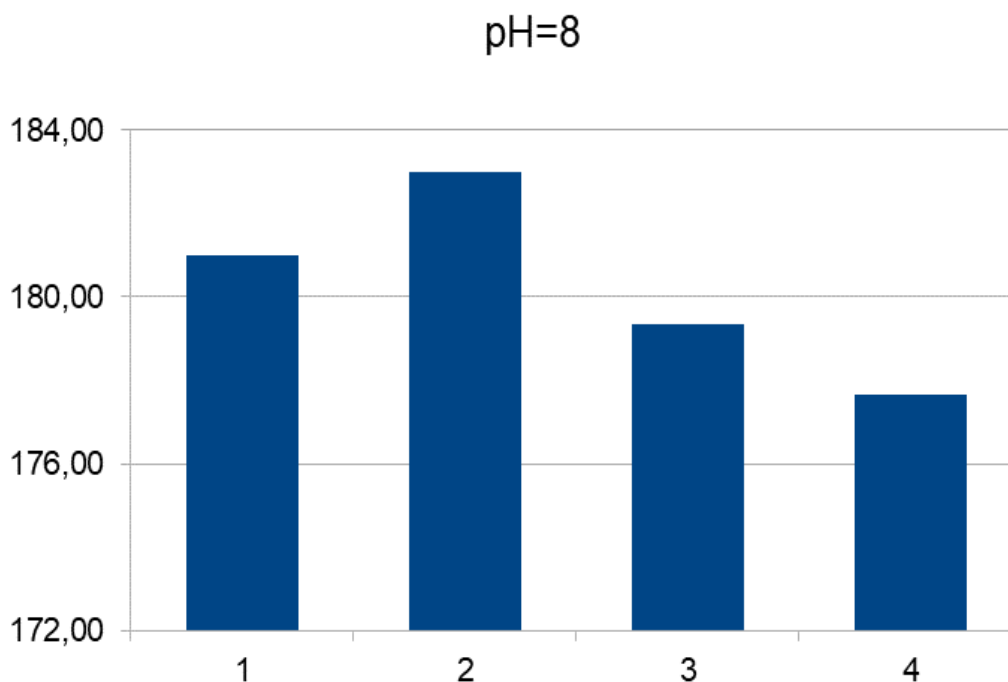


Рис. 5 Влияние природы ПАВ на интенсивность основного цвета зоны ЭФ $1.0 \cdot 10^{-4}$ М, 1 - Бридж-35; 2 - Твин-80; 3 - ДДС; 4 - ЦПХ.

В разделе 3.3 описано взаимодействие ЭФ с ионами тербия и европия. Для повышения квантового выхода флуоресценции ЭФ обычно используют эффект сенсбилизации флуоресценции Tb^{3+} . При этом, кроме квантового выхода, более чем на 100 нм увеличивается Стоксов сдвиг флуоресценции, так как поглощает свет молекула антибиотика, а излучает ион Tb^{3+} . Известно из литературы, что энергии триплетных уровней ЭФ значительно выше энергии возбужденного уровня иона Tb^{3+} .

При взаимодействии Tb^{3+} с ЭФ в водных растворах происходит возбуждение синглетного уровня молекулы ЭФ и затем интеркомбинационная конверсия энергии из ее синглетного состояния в триплетное. Эффективная передача энергии возбуждения от лиганда к иону лантанида осуществляется в том случае, если энергия триплетного уровня молекулы лиганда равна или больше энергии резонансного уровня иона металла. Значительное время жизни и высокая энергия триплетного уровня

ЭФ (21275 см^{-1}) по отношению к резонансным уровням энергии иона тербия (20500 см^{-1}) делает возможным передачу энергии возбуждения иону Tb^{3+} с последующей безызлучательной дезактивацией до первого возбужденного состояния, с которого и происходит излучение. Наиболее интенсивной в спектре комплекса тербия является полоса, соответствующая переходу $^5\text{D}_4 \rightarrow ^7\text{F}_5$ с максимумом 545 нм .

Считается, что для определения ЭФ использование Tb^{3+} более предпочтительно, чем Eu^{3+} так как интенсивность флуоресценции хелатов Tb^{3+} выше. Ранее получены спектры флуоресценции комплексов Tb^{3+} и Eu^{3+} (рис.6). Как видно из рисунка 6, интенсивность сенсibilизированной флуоресценции комплекса тербия практически в 10 раз превышает интенсивность флуоресценции комплекса Eu^{3+} , поэтому дальнейшие исследования проводились с комплексом Tb^{3+} .

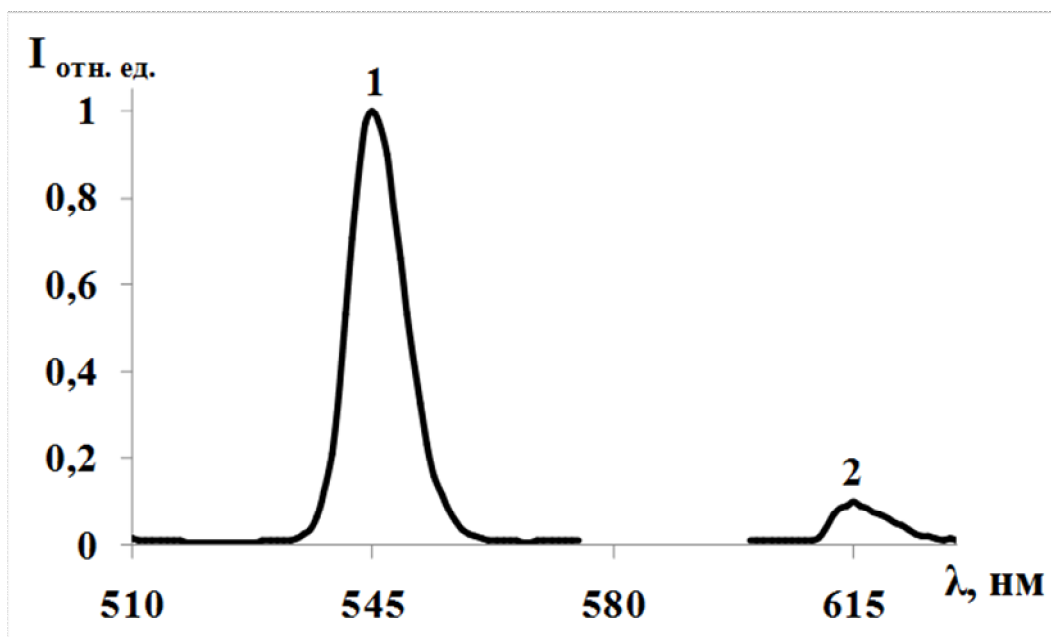


Рис. 6 Спектры флуоресценции хелатов ЭФ с 1 – Tb^{3+} и 2 – Eu^{3+} . $C_{\text{Ln(III)}}=1.0 \cdot 10^{-3} \text{ М}$, $C_{\text{ЭФ}}=1.0 \cdot 10^{-6} \text{ М}$, $\text{pH}=5.2$ и $\text{pH}=7.3$. $\lambda_{\text{возб}}=347 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{фл}}=615 \text{ нм}$ (для хелата Eu(III)), $\lambda_{\text{возб}}=332 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{фл}}=545 \text{ нм}$ (для хелата Tb(III)).

В разделе 3.4 приведены диапазоны линейной зависимости интенсивности флуоресценции ЭФ от концентрации. Измерения проводили при облучении матрицы УФ-лампой с длиной волны 254 нм и 365 нм.

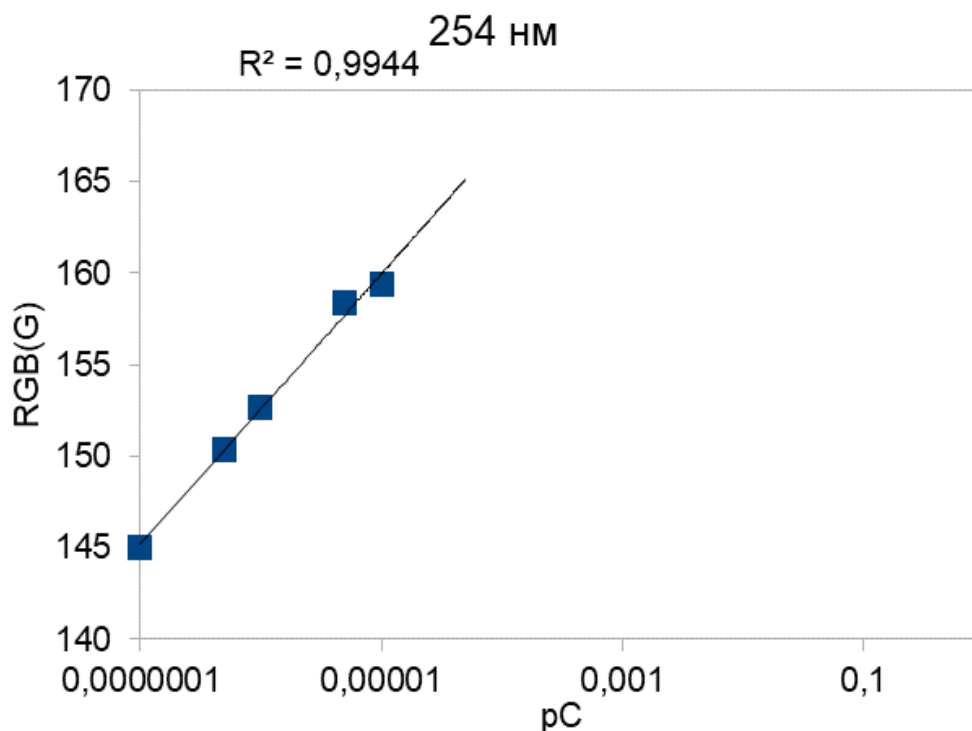


Рис. 7 Градуировочный график для определения ЭФ в буферном растворе pH 7, $\lambda_{\text{возб}}=254$ нм

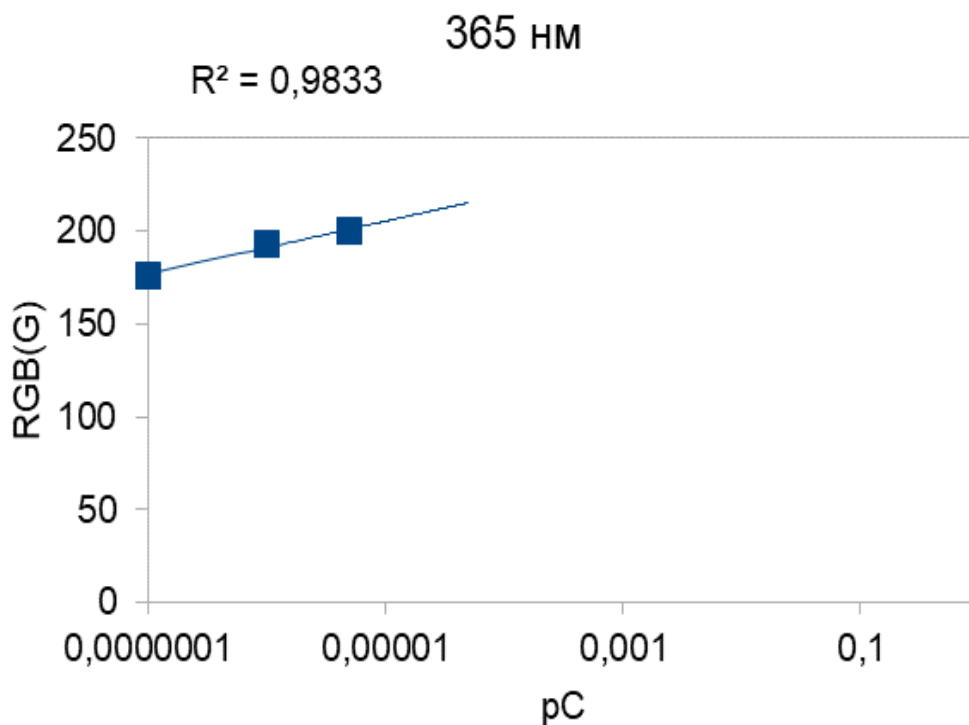


Рис. 8 Градуировочный график для определения ЭФ в буферном растворе pH 7, $\lambda_{\text{возб}}=365$ нм

Градуировочная зависимость, полученная при длине волны возбуждения 365 нм не подходит, из-за более низкого R^2 . При 254 нм определяемый диапазон концентраций равен $1 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-5}$ М.

В разделе 3.5 рассмотрено влияние мицелл Бридж-35 на диапазон определяемых концентраций ЭФ.

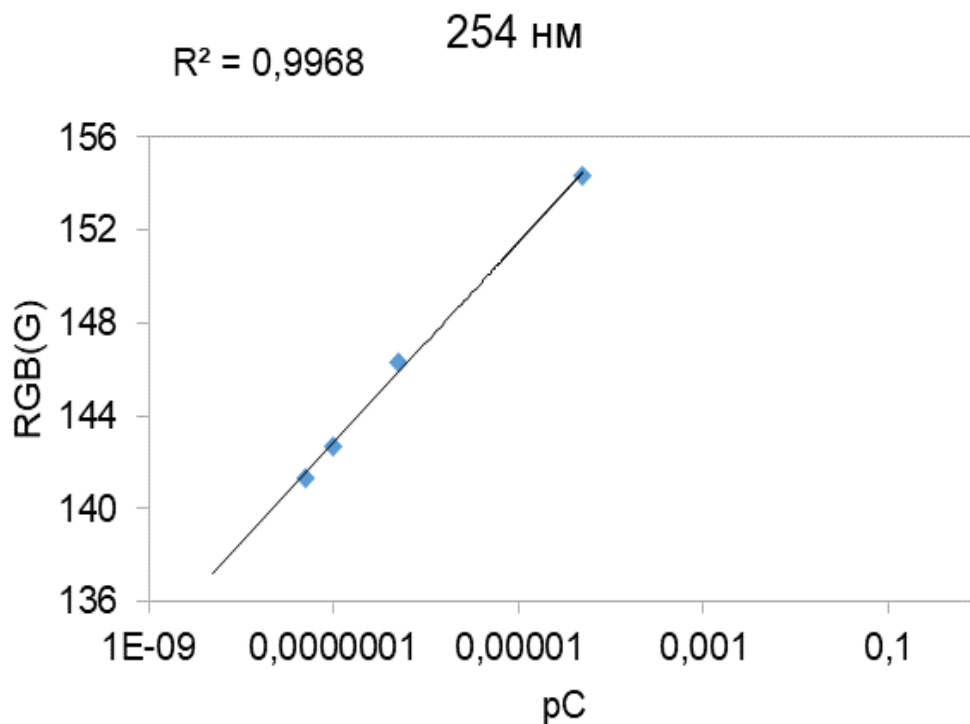


Рис. 9 Градуировочный график для определения ЭФ в мицеллах Бридж-35 $1 \cdot 10^{-2}$ М

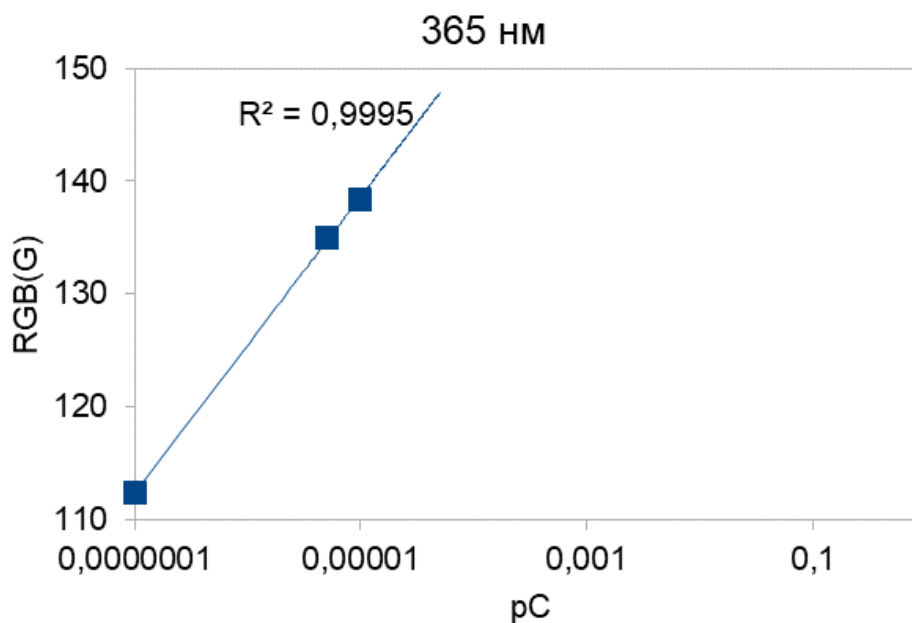


Рис. 10 Градуировочный график для определения ЭФ в мицеллах Бридж-35 $1 \cdot 10^{-2}$ М

Определяемый диапазон концентраций в системе ЭФ-Бридж-35 при 254 нм составил $5 \cdot 10^{-8}$ - $5 \cdot 10^{-5}$ М, при 365 нм: $1 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-5}$ М. Таким образом, длина волны 254 нм является оптимальной для определения ЭФ.

В разделе 3.6 изучено влияние ионов тербия на диапазон определяемых концентраций ЭФ.

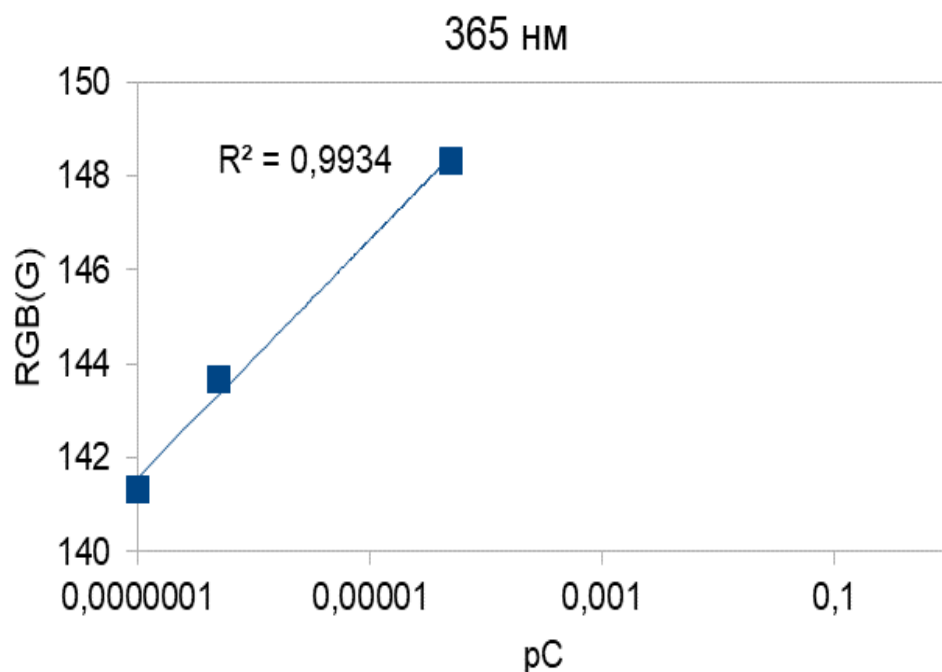


Рис. 11 Градуировочный график для определения ЭФ в комплексе с $Tb^{3+} 1 \cdot 10^{-4}$ М

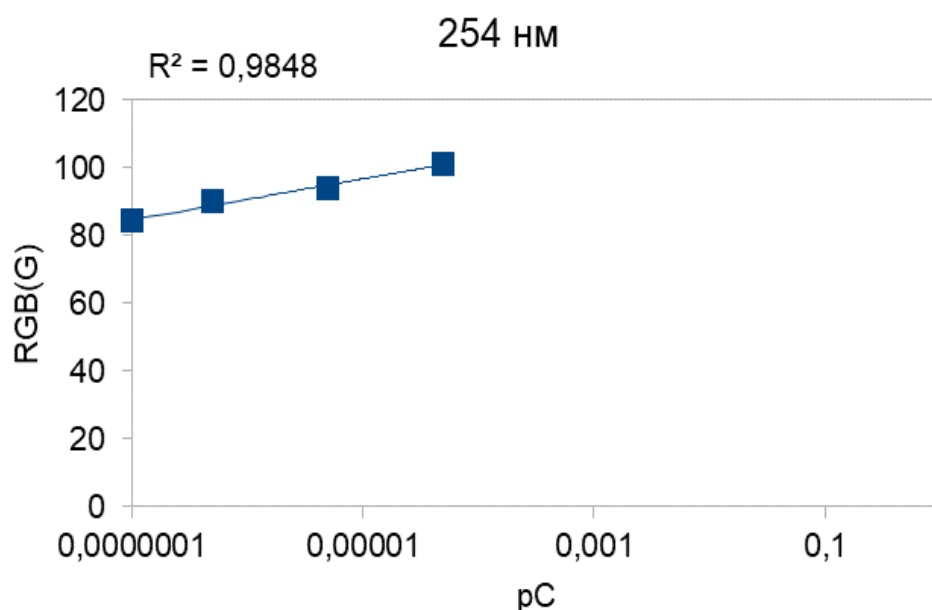


Рис. 12 Градуировочный график для определения ЭФ в комплексе с $Tb^{3+} 1 \cdot 10^{-4}$ М

Как видно из рис. 11 и 12, чувствительность определения ЭФ выше в случае использования длины волны возбуждения 365 нм. Переход к другой длине волны возбуждения связан с образованием в системе комплекса ЭФ с ионами тербия, который характеризуется иными, чем исходный лиганд, спектроскопическими свойствами. Определяемый диапазон концентраций в системе ЭФ-Tb³⁺ М при 365 нм составил $1 \cdot 10^{-7}$ - $5 \cdot 10^{-5}$ М.

В разделе 3.7 представлены результаты изучения влияния мицелл Бридж-35 на интенсивность флуоресценции системы Tb³⁺-ЭФ. Определили диапазон определяемых концентраций в системе Бридж-35-Tb³⁺-ЭФ.

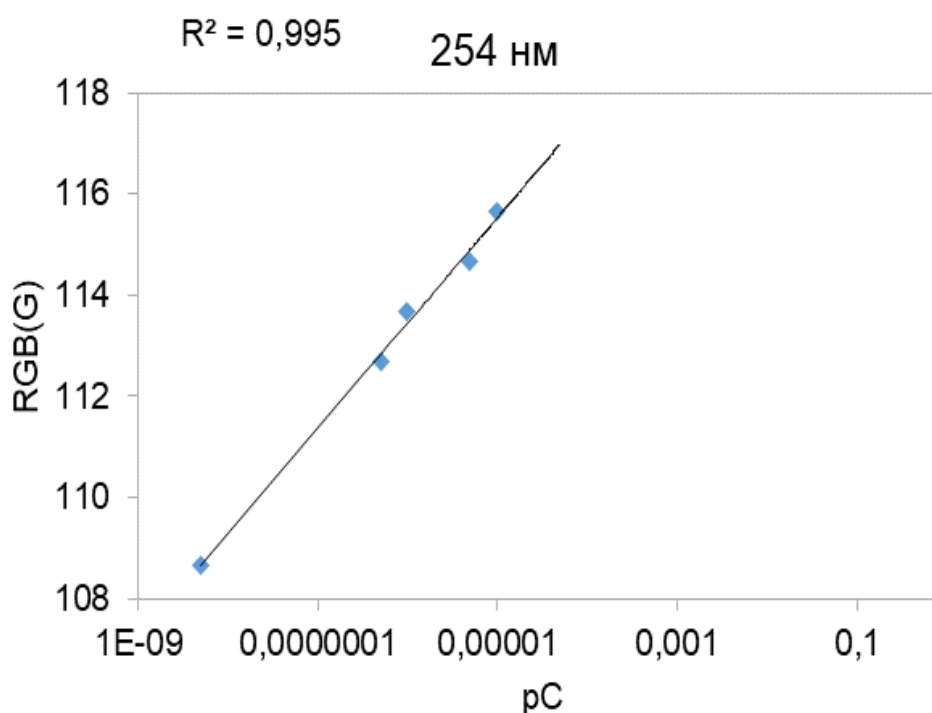


Рис. 13 Градуировочный график для определения ЭФ в системе ЭФ-Бридж-35-Tb³⁺

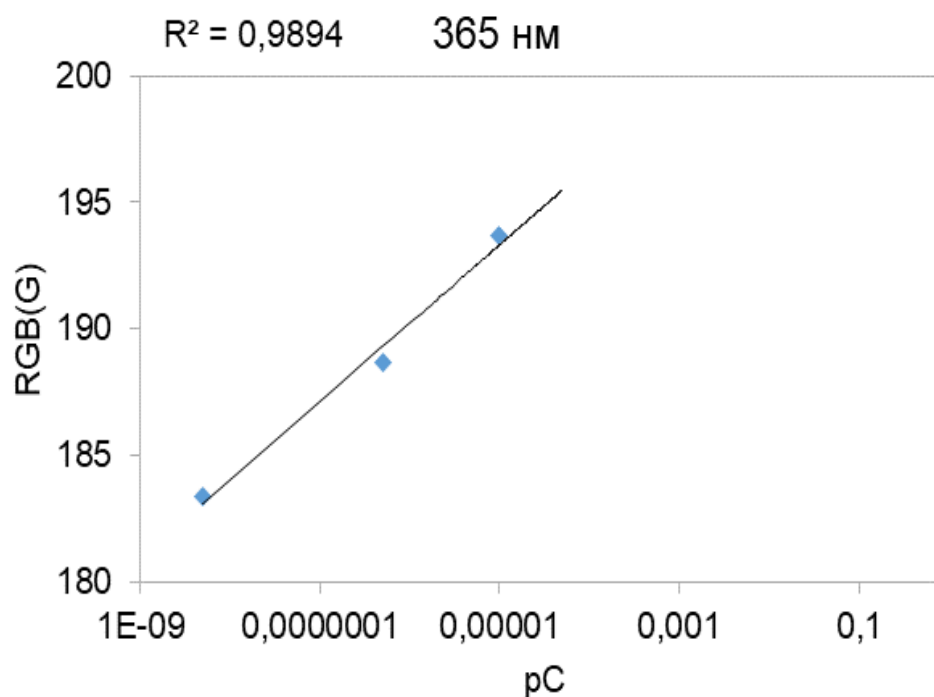


Рис. 14 Градуировочный график для определения ЭФ в системе ЭФ-Бридж-35-Tb³⁺

Градуировочная зависимость, полученная при УФ-лампе 365 нм характеризуется меньшим значением коэффициента корреляции, поэтому дальнейшие исследования проводили при длине волны возбуждения 254 нм. Определяемый диапазон концентраций ЭФ в таких условиях составил более трех порядков $5 \cdot 10^{-9}$ - $1 \cdot 10^{-5}$ М.

Выводы

1. Собрана и проанализирована литература по определению энрофлоксацина в различных объектах за последние 10 лет. Анализ литературы показал, что наиболее часто используемым методом определения антибиотиков является метод ВЭЖХ с флуоресцентным детектором. Широко используются люминесцентные методы. Число сорбционно-люминесцентных методик определения антибиотиков лишь 5, несмотря на то, что они являются простыми, экспрессными и перспективными методами анализа.
2. Предварительная обработка силикагеля мицеллами Бридж-35 позволяет увеличить сигнал флуоресценции ЭФ в тонком слое силикагеля в 2 раза, установлена линейная зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации ЭФ в диапазоне от $5 \cdot 10^{-8}$ до $5 \cdot 10^{-5}$ М.
3. Показано, что понизить нижнюю границу определяемых концентраций ЭФ в 20 раз возможно в случае предварительной модификации силикагеля ионами тербия. Диапазон определяемых концентраций при этом составляет более, чем три порядка.