



скую точку на стороне треугольника разреза ( $KCl + H_2O$ ) –  $C_4H_8O_2$ . При более высоких температурах это поле двух жидких фаз исчезает из плоскости разреза. Например, на изотерме при  $90.0^\circ C$  (см. рис. 4) к стороне треугольника разреза ( $KCl + H_2O$ ) –  $C_4H_8O_2$  примыкает поле гомогенно-жидкого состояния I.

Таким образом, полученные результаты позволили выявить топологическую трансформацию фазовой диаграммы разреза 3 четверной системы вода – пиридин – масляная кислота – хлорид калия при изменении температуры.

#### Список литературы

1. Черкасов Д.Г. Фазовые равновесия и критические явления в разрезе 1 четверной системы вода – пиридин – масляная кислота – хлорид калия // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. 2008. Т.8. Сер. Химия. Биология. Экология, вып.2. С.28–36.

2. Черкасов Д.Г. Фазовые равновесия и критические явления в разрезе 2 четверной системы вода – пиридин – масляная кислота – хлорид калия // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. 2009. Т.9. Сер. Химия. Биология. Экология, вып.2. С.36–40.

3. Черкасов Д.Г., Смотров М.П., Ильин К.К. Равновесие двух жидких фаз и критические явления в тройной системе вода – пиридин – масляная кислота в интервале  $5-55^\circ C$  // Журн. прикл. химии. 2008. Т.81, №2. С.229–233.

4. Химическая энциклопедия: В 5 т. / Ред. И.Л. Кнунянц. М., 1988–1998. Т.1–5.

5. Ильин К.К., Черкасов Д.Г. Равновесие трех жидких фаз и критические явления высшего порядка в четверных системах. Сообщение 2. Определение координат трикритической точки и топология объема трехжидкофазного состояния в системе вода – изопропиловый спирт – н-октан – бромид калия // Изв. вузов. Химия и хим. технология. 2006. Т.49, №1. С.3–12.

6. Ильин К.К., Никурашина Н.И. Изучение фазовых равновесий тройной системы вода – пиридин – хлорид калия в интервале температур  $0-160^\circ C$  // Журн. прикл. химии. 1980. Т.53, №10. С.2211–2215.

7. Черкасов Д.Г., Ильин К.К. Высаливание масляной кислоты из водных растворов хлоридом калия // Журн. прикл. химии. 2009. Т.82, №5. С.864–867.

УДК 543.426

## ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ РУТИНА, ОСНОВАННОЕ НА КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИИ С ЕВРОПИЕМ (III) В МИЦЕЛЛЯРНЫХ РАСТВОРАХ ПАВ

Т.Д. Смирнова, И.Ю. Паращенко

Саратовский государственный университет  
E-mail: smirnova@sgu.ru

Изучено тушение флуоресценции хелата европия (III) с теноилтрифторацетоном, солюбилизованного в мицеллах Бридж-35, рутином. Показана возможность прямого флуориметрического определения биоантиоксиданта в лекарственном препарате «Аскорутин» с пределом обнаружения  $2,9 \cdot 10^{-6} M$ .

**Ключевые слова:** антиоксиданты, полифенолы, флуориметрический метод, поверхностно-активные вещества.

**Fluorimetric Determination of Rutin, Based on the Complexation with Eu (III) in Micellar Solutions of Surfactants**

T. D. Smirnova, I. Yu. Paraschenko

The quenching of fluorescence of europium chelate (III) with tenoiltrifloracetone solubilized in the micelles of Bridge-35 with rutin is studied. The possibility of a direct fluorimetric determination of bioantioxidants in the drug «Ascorutin» with a detection limit of  $2.9 \cdot 10^{-6} M$  is shown.

**Key words:** food antioxidants, polyphenols, fluorimetric method, surfactants.

Рутин относится к группе витаминов Р, является биоантиоксидантом ряда флавоноидов и содержится во многих лекарственных



растениях и пищевых продуктах. Роль антиоксидантов заключается в различных биохимических воздействиях – ингибировании ферментов, регулировании содержания в организме различных гормонов, а также фармакологической активности – антимикробной, антиоксидантной, антираковой, защите сердечно-сосудистой системы. В этой связи разработка качественных и количественных методов определения флавоноидов в лекарственных растениях, продуктах питания и фармацевтических препаратах весьма актуальна.

Для решения задач количественного определения антиоксидантов в лекарственных растениях широко используют методы обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с УФ-, диодно-матричным и масс-спектрометрическим



детекторами [1, 2], капиллярного электрофореза [3], спектрофотометрии [4], флуориметрии [5]. Предварительное разделение определяемых компонентов в тонком слое сорбента позволяет повысить избирательность спектрофотометрического анализа [6]. К недостаткам известных методов необходимо отнести использование дорогостоящей аппаратуры [2], токсичных растворителей [7], продолжительность определения. Альтернативой известным методам может явиться флуориметрическое определение, основанное на измерении собственной флуоресценции биологически активного вещества, которое является высокочувствительным и простым в исполнении. Возрастание аналитического сигнала и понижение предела обнаружения можно достичь, используя сенсibilизированную флуоресценцию хелатов лантаноидов с биологически активными веществами в микрогетерогенных мицеллярных средах поверхностно-активных веществ [8]. Проявление эффекта антенны, суть которого заключается в передаче энергии возбуждения от нескольких лигандов одновременно одному иону лантаноида, способствует синергетическому увеличению интенсивности эмиссии металла. Солюбилизация хелата в мицеллах ПАВ повышает сенсibilизированную флуоресценцию благодаря концентрированию компонентов, повышению устойчивости комплекса и его защите от посторонних тушителей [9]. Необходимо отметить, что сенсibilизированную флуоресценцию ранее не использовали для определения биоантиоксидантов флуориметрическим методом.

Целью настоящей работы является изучение влияния рутина на сенсibilизированную флуоресценцию хелатов  $\text{Eu}^{3+}$  с органическими основаниями в водных и мицеллярных растворах поверхностно-активных веществ (ПАВ) и разработка флуориметрической методики определения антиоксиданта в лекарственном препарате.

#### Материалы и методы

Растворы основных и вспомогательных химических реактивов готовили на бидистиллированной воде. Исходные водные рас-

творы теноилтрифторацетона (ТТА) фирмы «Merk», 1,10-фенантролина солянокислого (Фен) («Chemapol») и триоктилфосфиноксида (ТОФО) («Sigma») квалификации ч.д.а. имели концентрацию  $1 \cdot 10^{-2}$  М. Растворы  $\text{EuCl}_3$  и  $\text{TbCl}_3$  (х. ч.) стандартизовали комплексонометрически с индикатором ксилеоловым оранжевым.

Ацетатно-аммиачные буферные растворы готовили из 2 М растворов  $\text{CH}_3\text{COOH}$  и  $\text{NH}_3$ . Использовали препараты анионного – додецилсульфат натрия (ДДС) «AppliChem», катионного – хлорид цетилпиридиния («Merk»), неионных – оксиэтилированный спирт Бридж-35 фирмы «Serva», оксиэтилированный алкифенол Тритон X-100 («Merk») ПАВ, которые содержали более 98% основного вещества. Раствор рутина  $1 \cdot 10^{-3}$  М готовили растворением навески в этаноле.

Спектрофотометрические измерения проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-1800, спектры люминесценции – на люминесцентном фотометре ФЛ с источником возбуждения – галогеновой лампой КГМ-12-100-2. Интенсивность люминесценции измеряли в кварцевой кювете с длиной оптического пути 10 мм. Для возбуждения использовали светофильтр с  $\lambda_{\text{возб}} = 330$  нм. Значения кислотности растворов контролировали рН-метром рН-673 М со стеклянным индикаторным электродом и хлоридсеребряным электродом сравнения.

#### Результаты исследований и их обсуждение

Рутин обладает незначительной собственной флуоресценцией, в связи с этим рассматривалась возможность использования сенсibilизированной флуоресценции хелатов с лантаноидами в качестве аналитического сигнала для его определения.

Комплексообразование рутина с  $\text{Eu}^{3+}$  и другими лантаноидами ( $\text{Tb}^{3+}$ ,  $\text{Sm}^{3+}$  и  $\text{Gd}^{3+}$ ) сопровождается батохромным смещением полосы поглощения лиганда (рис. 1).

Энергия триплета рутина ( $25245 \text{ см}^{-1}$ ) значительно выше энергии резонансного уровня  $\text{Eu}^{3+}$  ( $19020 \text{ см}^{-1}$  ( $^5\text{D}_1$ ) или  $\text{Tb}^{3+}$  ( $20500 \text{ см}^{-1}$  ( $^5\text{D}_4$ )). В то же время в образующихся комплексах отсутствует перенос энергии возбуждения. В литературе известны флуори-

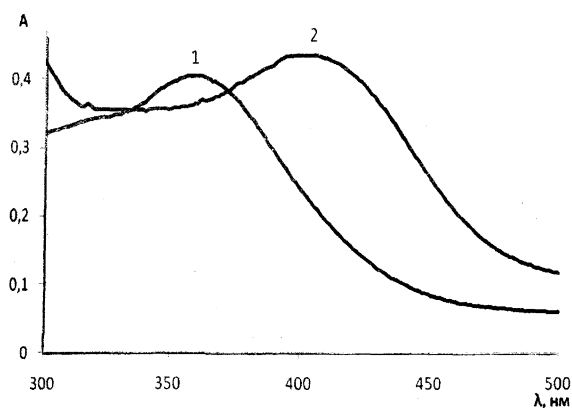


Рис. 1. Спектры поглощения рутина (1) и его комплекса с  $\text{Eu}^{3+}$  (2).  $C_{\text{рутин}} = 2 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{Eu}^{3+}} = 1 \cdot 10^{-2}$  М, рН 7.4

метрические методики определения биологически активных веществ, основанные на тушении сенсibilизированной флуоресценции лантаноидов с органическими основаниями [10]. Установлено, что в присутствии рутина наблюдается уменьшение интенсивности сенсibilизированной флуоресценции хелата  $\text{Eu}^{3+}$  с ТТА ( $\lambda_{\text{возб}} = 330$  нм,  $\lambda_{\text{фл}} = 615$  нм), связанное, возможно, с образованием в данных условиях менее флуоресцирующего комплекса. Сенсibilизирующее действие ТТА на флуоресценцию  $\text{Eu}^{3+}$  заключается в интеркомбинационной конверсии энергии возбуждения из синглетного состояния ТТА в триплетное, внутримолекулярном переносе энергии с триплетного уровня лиганда на излучательные энергетические уровни  $^5\text{D}_0$  иона металла, который излучает флуоресценцию с  $\lambda_{\text{фл}} = 615$  нм, соответствующую переходу  $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ . Анализ литературы показал, что предел обнаружения биологически активных веществ в методиках, основанных на эффекте тушения эмиссии ионов РЗЭ, лимитирован интенсивностью люминесценции хелата [10]. Для повышения чувствительности определения рутина нами рассмотрено влияние организованных сред на интенсивность флуоресценции системы  $\text{Eu}^{3+}$  – ТТА – рутин.

**Влияние мицелл ПАВ.** Известно, что эффективность переноса энергии возрастает при переходе от гомогенных растворов к микрогетерогенным организованным средам [9]. Изучено влияние мицелл различных типов ПАВ на интенсивность флуоресценции хелата  $\text{Eu}^{3+}$  – ТТА. Установлено, что в при-

сутствии мицелл катионного ПАВ (хлорида цетилпиридиния) интенсивность флуоресценции бинарного хелата практически не меняется. Мицеллы анионного ПАВ (додецилсульфата натрия) незначительно увеличивают эмиссию иона европия. Максимальное возрастание флуоресценции бинарного хелата наблюдается в мицеллярной среде неионогенных ПАВ: Тритон Х-100 увеличивает сигнал в 150 раз, а Бридж-35 – в 400 раз.

Введение в систему  $\text{Eu}^{3+}$  – ТТА – Бридж-35 добавок рутина вызывает уменьшение флуоресценции лантаноида в 2.2 раза (рис. 2).

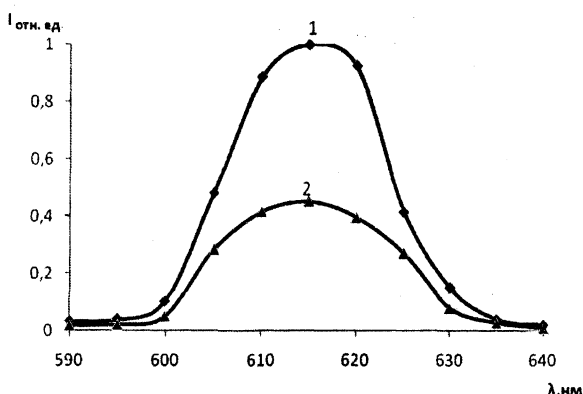


Рис. 2. Спектры флуоресценции  $\text{Eu}^{3+}$  – ТТА – Бридж-35 (1),  $\text{Eu}^{3+}$  – ТТА – рутин – Бридж-35 (2).  $C_{\text{Eu}^{3+}} = 1 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{ТТА}} = 3 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{Бридж-35}} = 1 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_{\text{рутин}} = 2 \cdot 10^{-5}$  М,  $\lambda_{\text{возб}} = 330$  нм

Причиной тушения является, по-видимому, более высокая устойчивость менее флуоресцирующего комплекса  $\text{Eu}^{3+}$  с флавоноидом, чем с ТТА. Статический механизм тушения доказан линейной зависимостью величины  $I_0/I$  от концентрации рутина  $C_{\text{рутин}}$ , которая описывается уравнением

$$I_0 / I = 1 + K_{\text{ст}} C_{\text{рутин}},$$

где  $I_0$  и  $I$  – интенсивность флуоресценции в отсутствии и в присутствии рутина,  $K_{\text{ст}}$  – константа равновесия,  $\text{M}^{-1}$ ,  $C_{\text{рутин}}$  – концентрация тушителя рутина, М [11] (рис. 3). Наибольшее изменение сигнала флуоресценции в присутствии рутина происходит при молярном соотношении  $\text{Eu}^{3+} : \text{ТТА} = 1 : 3$ . Величина тушения флуоресценции  $\Delta I$  системы  $\text{Eu}^{3+}$  – ТТА – Бридж-35 в присутствии флавоноида зависит от кислотности среды. Максимальный сигнал тушения  $\Delta I$  достигается в диапазоне рН 7.3–7.6 (рис. 4).

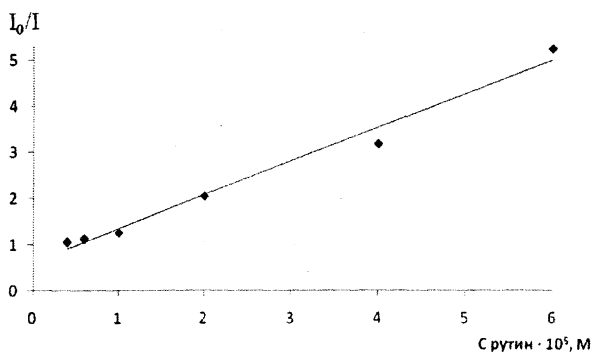


Рис. 3. Зависимость величины тушения флуоресценции  $I_0/I$  хелата  $\text{Eu}^{3+}$  – ТТА – Бридж-35 от концентрации тушителя  $C_{\text{рутин}}$  ( $4 \cdot 10^{-6}$  –  $6 \cdot 10^{-5}$  М).  $C_{\text{Eu}^{3+}} = 1 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{ТТА}} = 3 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{Бридж-35}} = 1 \cdot 10^{-3}$  М,  $\text{pH} = 7.4$ ,  $\lambda_{\text{возб}} = 330$  нм,  $\lambda_{\text{фл}} = 615$  нм

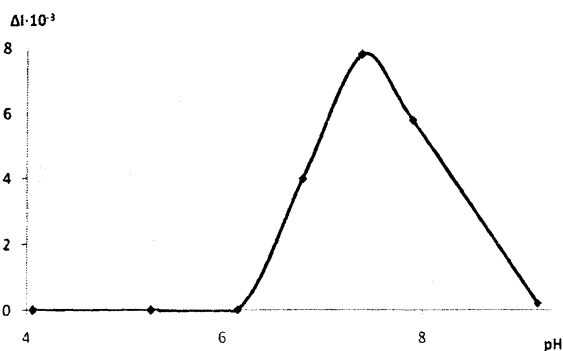


Рис. 4. Зависимость тушения флуоресценции  $\Delta I$  хелата  $\text{Eu}^{3+}$  – ТТА – Бридж-35 в присутствии рутина от кислотности среды.  $C_{\text{Eu}^{3+}} = 1 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{ТТА}} = 3 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{Бридж-35}} = 1 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_{\text{рутин}} = 2 \cdot 10^{-5}$  М,  $\Delta I = I_{\text{Eu}^{3+} - \text{ТТА} - \text{Бридж-35}} - I_{\text{Eu}^{3+} - \text{ТТА} - \text{рутин} - \text{Бридж-35}}$

На основании проведенных исследований разработана флуориметрическая методика определения рутина на основе тушения сенсibilизированной флуоресценции хелата  $\text{Eu}^{3+}$  с ТТА в мицеллярных растворах Бридж-35. Некоторые метрологические характеристики новой методики представлены в табл. 1.

Таблица 1

Некоторые метрологические характеристики флуориметрической методики определения рутина

Диапазон определяемых концентраций, М	ПрО, М	$R^2$	Уравнение градуировочного графика
$4 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-4}$	$2.9 \cdot 10^{-6}$	0.989	$y = -17.5x + 94.9$

**Определение рутина в лекарственном препарате «Аскорутин».** Кроме рутина в состав таблетки входят аскорбиновая кислота и глюкоза, которые при данных количественных соотношениях не оказывают мешающего действия.

Таблетки (10 шт.) препарата «Аскорутин» растирали в ступке до порошкообразного состояния. Навеску, соответствующую одной таблетке, переносили в колбу и растворяли в 30 мл этанола на ультразвуковой установке в течение 30 мин, фильтровали (синяя лента), и фильтрат помещали в мерную колбу емкостью 50 мл [2]. Аликвотную часть исследуемого раствора (0.10–0.25 мл) вносили в пробирку, добавляли последовательно 1 мл буферного раствора (pH 7.4), 0.5 мл  $1 \cdot 10^{-4}$  М раствора соли европия, 0.15 мл  $1 \cdot 10^{-3}$  М ТТА, 0.5 мл  $1 \cdot 10^{-2}$  М раствора Бридж-35, буферный раствор до общего объема 5 мл. После перемешивания измеряли интенсивность флуоресценции в кварцевой кювете с длиной оптического пути 10 мм ( $\lambda_{\text{возб}} = 330$  нм,  $\lambda_{\text{фл}} = 615$  нм).

Правильность определения контролировали фотометрическим методом по реакции комплексообразования с хлоридом алюминия [3]. Результаты определения рутина в фармацевтическом препарате представлены в табл. 2.

Таблица 2

Результаты определения рутина в «Аскорутине» ( $n_{\text{флуор}} = 5$ ,  $n_{\text{фотом}} = 6$ ,  $P = 0.95$ ,  $t_{\text{табл}} = 2.26$ ,  $F_{\text{табл}} = 6.26$ )

Аттестованное значение, г	Найдено, г				$t_{\text{эксп}}$	$F_{\text{эксп}}$
	Флуоресцентный метод		Фотометрический метод			
	$x \pm \Delta x$	$S_r$	$x \pm \Delta x$	$S_r$		
0.05	$0.049 \pm 0.002$	0.02	$0.049 \pm 0.002$	0.04	0.22	2.03

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 08-03-00725а).

#### Список литературы

- Hyun Ryul Goo, Jae Sue Choi, Dong Hee Na. Simultaneous determination of quercetin and its glycosides from the leaves of *Nelumbo nucifera* by reversed-phase high-performance liquid chromatography // Arch. Pharm. Res. 2009. Vol.32, №2. P.201–206.
- Lin L.-Z., Harnly J.M. A screening method for the systematic identification of glycosylated flavonoids and other phenolic compounds using a standard analytical approach for all plant materials // J. Agric. Food Chem. 2007. Vol.55. P.1084–1096.
- Абдуллабекова В.Н. Идентификация рутина в растительном сырье методом капиллярного электрофореза // Вестник фармации. 2009. Т.45, №3. С.1–5.
- Ломбоева С.С., Танхаева Л.М., Оленников Д.Н. Методика количественного определения суммарного содержания флавоноидов в надземной части ортилии однобокой (*Orthilia secunda* (L.) House) // Химия растительного сырья. 2008. №2. С.65–68.



5. Бельтюкова С.В., Бычкова А.А. Сорбционно-люминесцентное определение рутин в фармацевтических препаратах // Вісник УжНУ. Серія Хімія. 2008. Вип.20. С.93–98.

6. Кузьмина С.С., Афанасьева А.С. Определение содержания рутин и его доли в сумме флавоноидов в лекарственном растительном сырье // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: Материалы III Всерос. конф. Барнаул, 23–27 апр. 2007 г. Барнаул, 2007. С.230–233.

7. Olszewska M. Quantitative HPLC analysis of flavonoids and chlorogenic acid in the leaves and inflorescences of *Prunus serotina* Ehrh // Acta Chromatographica. 2007. №19. P.253–269.

8. Штыков С.Н., Смирнова Т.Д., Молчанова Ю.В. Синергетические эффекты в системе европий – теноилтрифтор-

ацетон-1.10-фенантролин в мицеллах блоксополимеров неонных ПАВ и их аналитическое применение // Журн. аналит. химии. 2001. Т.56, №10. С.1052–1056.

9. Штыков С.Н. Химический анализ в нанореакторах: основные понятия и применение // Журн. аналит. химии. 2002. Т.57, №10. С.1018–1028.

10. Штыков С.Н., Смирнова Т.Д., Былинкин Ю.Г. Определение аденозинтрифосфорной кислоты по тушению флуоресценции дикетонатного хелата европия (III) в мицеллах неонного ПАВ Бридж-35 // Журн. аналит. химии. 2004. Т.59, №5. С.495–499.

11. Экспериментальные методы химической кинетики: Учеб. пособие / Под ред. Н.М. Эмануэля, М.Г. Кузьмина. М., 1985.

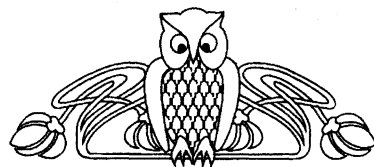
УДК 544.478.13

## МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ВЫСОКОКРЕМНИСТЫЕ ЦЕОЛИТНЫЕ КАТАЛИЗАТОРЫ

Р.И. Кузьмина, А.А. Афонин, В.Т. Ливенцев, Т.В. Аниськова

Саратовский государственный университет

E-mail: aniskovatv@mail.ru



Исследовано превращение *n*-гексана и бензиновой фракции нефти на висмутхромовоцеолитном катализаторе при 300–500°C. Показано, что в катализате с ростом температуры уменьшается суммарное содержание продуктов изомеризации, максимальное значение ароматических углеводородов достигает 16.5% при 450°C при минимальном образовании бензола (0.8 мас. %). Облагораживание бензиновой фракции на висмутхромовоцеолитном катализаторе способствует росту октанового числа на 29 пунктов при 400°C. Содержание бензола составляет 1.4 мас.%, что соответствует экологическим требованиям к моторным топливам.

**Ключевые слова:** *n*-гексан, висмутхромовоцеолитный катализатор, бензиновая фракция.

### Modified High Silicon Zeolite Catalyst

R.I. Kuzmina, A.A. Afonin, V.T. Liventcev, T.V. Aniskova

*N*-hexane and gasoline fraction conversion on bismuthchromezeolite catalyst at 300–500°C was researched. It was showed that in catalysate total content of isomerization products reduce. The maximum content of aromatic hydrocarbons is 16.5% at 450°C and minimum benzene formation (0.8%).

Ennoblement of gasoline fraction on bismuthchromezeolite catalyst contributes increase octane number on 29 points at 400°C. Benzene content is 1.4% that accord with environmental requirements of motor fuels.

**Key words:** *n*-hexane, bismuthchromezeolite catalyst, gasoline fraction.

В настоящее время актуальным является поиск технологий и катализаторов, способных обеспечить производство экологически чистых бензинов с высоким октановым числом. Наиболее простым способом решения данной задачи является увеличение доли на-

сыщенных углеводородов изостроения в компонентном составе бензина. Прямогонные бензиновые фракции, получаемые при первичной переработке нефти и газового конденсата, обычно содержат значительное количество линейных парафинов, нефтяных углеводородов, которые имеют низкое октановое число и поэтому не пригодны для использования в качестве автомобильного бензина без дополнительного облагораживания [1, 2].

Современные промышленные катализаторы изомеризации парафиновых углеводородов являются в основном бифункциональными и представляют собой каталитические системы «металл–носитель». Несмотря на то что процесс изомеризации *n*-парафинов изучается с 40-х годов XX века, разработка катализаторов данного процесса остается актуальной задачей и на сегодняшний день в связи с сокращением запасов углеводородного сырья и повышением экологических требований к моторным топливам.

В последние годы развитие процесса изомеризации парафинов направлено на разработку и использование цеолитных катализаторов [3–7]. Интерес к цеолитным катализаторам объясняется рядом их специфических свойств. Регулярная структура и спо-