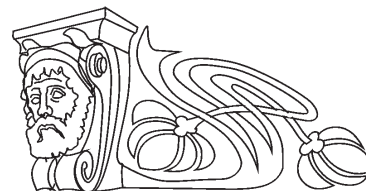




Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 3. С. 289–298
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2023, vol. 23, iss. 3, pp. 289–298
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-3-289-298>, EDN: UPNXYX

Научная статья
УДК 543.05:547.3

Микроэкстракционное концентрирование неионными ПАВ и цветометрическое определение фенола



Е. А. Чеботарева¹, Э. И. Цыгулёва², С. Ю. Доронин¹✉

¹Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

²Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова, Россия, 410012, г. Саратов, пр. им. Петра Столыпина, зд. 4, стр. 3

Чеботарева Елена Алексеевна, магистр кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, lampydusa@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-5994-0993>

Цыгулёва Эльмира Иршатовна, старший преподаватель кафедры общеобразовательных дисциплин, musja2525@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4407-520X>

Доронин Сергей Юрьевич, доктор химических наук, профессор, профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, doroninsu@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1115-1360>

Аннотация. Впервые исследована экстракция комплекса вольфрамовой сини, образованного по реакции фенола с реактивом Фолина – Чокальтеу (ФЧ) в присутствии неионного поверхностно-активного вещества (ПАВ) Тритона X-100 в щелочной среде с применением методологии мицеллярной экстракции на основе «точки помутнения». Для создания pH и в качестве высаливающего агента применяли водные растворы карбоната и сульфата натрия. Последний, оказывая высаливающий эффект, способствует фазовому разделению в исследуемой системе на мицеллярную фазу, насыщенную ПАВ (Тритоном X-100), и водную фазу, обедненную ПАВ, без дополнительного нагревания при комнатной температуре. Установлены оптимальные условия мицеллярной экстракции фенола: ФЧ (0,2 н.) – Na₂CO₃ (6%-ный) – Тритон X-100 (2%-ный) – Na₂SO₄ (3,2%-ный). Показано, что мицеллярно-насыщенные фазы Тритона X-100 эффективно экстрагируют аналитическую форму (комплекс вольфрамовой сини), могут быть предложены для экстракционно-спектрофотометрического и цветометрического определения фенола. Так, для спектрофотометрического определения фенола ($\lambda_{\text{макс}} = 760 \text{ нм}$) закон Бугера – Ламберта – Бера подчиняется уравнению вида: $y = 0,0007x - 0,0079$, $R^2 = 0,997$. Диапазон определяемых содержаний (ДОС) находится в интервале $7 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5} \text{ М}$. Разработана методика цветометрического определения фенола в водных средах (канал R). Интенсивность канала цветности R (I_R) линейно зависит от $\rho(\text{фенола})$ в соответствии с уравнением: $y = 95,0x - 455$; $R^2 = 0,997$. ДОС = $7 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$. Построены профили лепестковых диаграмм в цветовых координатах модели RGB CMYK, получены зависимости их площади (S) и периметра (P) от $-lgc$: (периметр (P)) $y = 150x - 284$; $R^2 = 0,994$; площадь (S) $y = 17710x - 66930$; $R^2 = 0,994$.

Ключевые слова: фенол, концентрирование, поверхностно-активные вещества (ПАВ), мицеллярная экстракция, цветометрия, реактив Фолина – Чокальтеу

Для цитирования: 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. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-3-289-298>, EDN: UPNXYX

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Microextraction preconcentration with nonionic surfactants and colorimetric determination of phenol

Е. А. Chebotareva¹, E. I. Tsygulyova², S. Yu. Doronin¹✉

¹Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

²Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N. I. Vavilov, 4, str. 3 Peter Stolypin Prospekt, Saratov 410012, Russia

Elena A. Chebotareva, lampydusa@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-5994-0993>

Elmira I. Tsygulyova, musja2525@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4407-520X>

Sergei Yu. Doronin, doroninsu@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1115-1360>

Abstract. The extraction of the tungsten blue complex formed by the reaction of phenol with Folin-Ciocalteu reagent (FCR) in the presence of a nonionic surfactant Triton X-100 in alkaline medium using the methodology of micellar extraction based on «clouding point» has been studied



for the first time. Aqueous solutions of sodium carbonate and sodium sulfate were used to create pH and as a desalting agent. The latter, having a desalting effect, promotes phase separation in the system under study into a micellar phase saturated with surfactant (Triton X-100) and an aqueous phase depleted in surfactant without additional heating at room temperature. Optimal conditions for micellar phenol extraction were determined: FCR (0,2 n.) – Na_2CO_3 (6%) – Triton X-100 (2%) – Na_2SO_4 (3,2%). It is shown that micellar-saturated phases of Triton X-100 effectively extract the analytical form (tungsten blue complex), can be proposed for extraction-spectrophotometric and colorimetric determination of phenol. So, for the spectrophotometric determination of phenol ($\lambda_{\text{max}} = 760 \text{ nm}$), the Beer-Bouguer-Lambert law obeys an equation of the form: $y = 0,0007x - 0,0079$, $R^2 = 0,997$. The range of defined contents is in the interval $7 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5} \text{ M}$. A technique for the colorimetric determination of phenol in aqueous media (channel R) has been developed. The intensity of the chromaticity channel R (I_R) linearly depends on $\text{pc}(\text{phenol})$ in accordance with the equation: $y = 95,0x - 455$; $R^2 = 0,997$. The range of defined contents is in the interval $7 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$. The profiles of the petal diagrams in the RGB CMYK color coordinates are constructed, the dependences of their area are obtained (S) and perimeter (P) from $-\lg c$: (perimeter (P)) $y = 150x - 284$; $R^2 = 0,994$; area (S) $y = 17710x - 66930$; $R^2 = 0,994$).

Keywords: phenol, preconcentration, surfactants, micellar extraction, colorometry, Folin – Ciocalteu reagent

For citation: Chebotareva E. A., Tsygulyova E. I., Doronin S. Yu. Microextraction preconcentration with nonionic surfactants and colorimetric determination of phenol. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 3, pp. 289–298 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-3-289-298>, EDN: UPNXX

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Многие фенольные соединения опасны из-за своей токсичности, бионакопляемости, стойкости в окружающей среде и их канцерогенных свойств [1]. Поэтому необходимо своевременное определение фенола и его производных в объектах окружающей среды, в которых превышена его предельно допустимая концентрация (ПДК). Так, ПДК в воздухе рабочей зоны составляет 0,1–5,0 мг/м³, а в питьевой воде и воде рыбохозяйственных водоемов составляет 0,001 мг/дм³ [2].

Наряду с фенольными токсикантами, существуют биологически активные фенолы. К таким фенольным соединениям относят полифенолы, проявляющие антиоксидантную активность (АОА). Они входят в состав пищевых продуктов, лекарственных препаратов и биологически активных добавок [3]. Фенольные антиоксиданты, как правило, не токсичны, но их суммарное содержание также необходимо контролировать. Повышенное содержание фенольных антиоксидантов может оказывать существенное влияние на профилактику и прогрессирование различных заболеваний.

Реактив Фолина – Чокальтеу (ФЧ) применяют в качестве стандартного реагента для спектрофотометрического суммарного определения фенольных соединений, как полифенолов и их производных, так и простых фенолов [4, 5]. Некоторые способы спектрофотометрического определения фенольных соединений с реагентом ФЧ приведены в табл. 1. Метод определения фенолов обладает рядом преимуществ: он быстр, прост в исполнении и не требует сложных инструментальных устройств [6].

Однако этот метод подвергался многим неконтролируемым модификациям, часто без какой-либо систематической оптимизации или процедур стандартизации и валидации. Поэтому разработка новых и усовершенствование уже имеющихся вариантов, с целью снижения предела обнаружения фенолов или улучшения метрологических характеристик методик, является актуальной задачей.

Цель настоящей работы – разработка цветометрического способа определения фенола в водных средах, который основан на применении методологии экстракции «в точке помутнения» (*cloud-point extraction*, CP-экстракция), с использованием неионного поверхностно-активного вещества и реактива ФЧ.

Материалы и методы

Аппаратура. Весы аналитические общего типа WP-11 второго класса точности с наибольшим пределом взвешивания 100 г по ГОСТ 24104-88Е. Сушильный шкаф СНОЛ (T = 0–300°C). Цифровой фотоаппарат Iphone 11. Двухлучевой сканирующий спектрофотометр Shimadzu UV-1800 (Япония). Программа обработки цифровых данных Adobe PhotoShop CC 2019. Центрифуга 800-1 Centrifugal Machine.

Реагенты. Неионный ПАВ – Triton X-100 ($\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$, где $n = 9-10$), массовая доля основного вещества 99%, натрий углекислый (Na_2CO_3 , х.ч., ГОСТ 83-79), натрий хлорид (NaCl , ч.д.а., ГОСТ 4233-77), натрий сернокислый (Na_2SO_4 , х.ч., ГОСТ 4166-76), аммоний сернокислый ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, ч.д.а., ГОСТ 3769-78), реактив Фолина – Чокальтеу (синтезировали в соответствии с ГОСТ Р 55488-2013), фенол ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$, ч.д.а., ТУ 6-09-40-3245-90).



Таблица 1 / Table 1

Спектрофотометрическое определение фенольных соединений с реактивом Фолина – Чокальтеу
Spectrophotometric determination of phenolic compounds with reagent Folina – Chocalteu

№	Объект Object	$\lambda_{\text{макс, нм}}$ $\lambda_{\text{max, nm}}$	Метрологические характеристики Metrological characteristics	Лит-ра / Source
1	Молоко (козье, коровье, овечье, человеческое) Milk (goat, cow, sheep, human)	750	ПрО = 6,03 мг ГАЕ/Л (mg GAE/L), $S_r \leq 2\%$	[7]
2	Яблочный сок Apple juice	765	ДОС = 25–500 мг/л (mg/l), ПрО = 0,2 мг/л (mg/l)	[8]
3	Этанольные экстракты пшеницы, гречихи, калусной ткани чая Ethanol extracts of wheat, buckwheat, callus tissue of tea	725	ДОС = 10–100 мкг/мл ($\mu\text{g/ml}$)	[9]
4	Кверцетин, рутин, пирокатехин, резорцин, галловая кислота, аскорбиновая кислота Quercetin, rutin, pyrogatechin, resorcinol, gallic acid, ascorbic acid	765	ДОС = $10^{-5} - 10^{-4}$ моль/л (mol/l), ПрО = 0,1–1 мкМ (μM)	[10]
5	Кофе Coffee	750	ДОС = 1,0–6,0 мкмоль ГК/дм ³ ($\mu\text{mol GA/l}$)	[11]
6	Кукуруза и соя Corn and soybeans	725	ПрО = 0,03 мкг/мкл ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$), ДОС = 2–10 мкг/мкл ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	[12]

Примечание. ПрО – предел обнаружения; ДОС – диапазон определяемых содержаний; S_r – относительное стандартное отклонение; ГАЕ – эквивалент галловой кислоты; ГК – галловая кислота.

Note. List of abbreviations used in Table: LOD – limits of detection; The range of concentrations to be determined; S_r – relative standard deviation; GAE – Gallic Acid Equivalents; GA – Gallic Acid.

Исходные растворы соединений готовили растворением точных навесок реактивов в дистиллированной воде. Рабочие растворы готовили разбавлением исходных растворов.

Способы СР-концентрирования фенола

Для концентрирования фенола по методологии на основе «точки помутнения» применяли реакцию его с реактивом Фолина – Чокальтеу и Na_2CO_3 для получения мицеллярно-насыщенных фаз нПАВ на основе Тритона X-100. Для осуществления СР-экстракции применяли три типа высаливателей: NaCl , Na_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Растворы готовили общим объемом 5 мл.

Способ 1: в пробирку вносили водный раствор фенола 0,05 мл $1 \cdot 10^{-3}$ М, реактив Фолина – Чокальтеу 0,5 мл 2 н.; тщательно перемешивали и оставляли пробирки на 5–8 мин; после добавляли 1,5 мл 20%-ного Na_2CO_3 , разбавляли дистиллированной водой, тщательно все перемешивали и оставляли на 20–30 мин. 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 мин. Центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин. После отделяли мицеллярные фазы и измеряли их объемы.

Способ 2 и способ 3 отличались от способа 1 заменой NaCl на 10%-ный Na_2SO_4 и 40%-ный $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, в концентрационном интервале 0,04–4,6% и 0,16–18,4% соответственно.

Спектрофотометрическое определение количественных характеристик экстракции фенола. Распределение реагентов в водно-мицеллярной системе контролировали с помощью двухлучевого сканирующего спектрофотометра Shimadzu UV-1800 в спектральном диапазоне 200 – 1000 нм, $l = 1$ см, при комнатной температуре. Для построения градуировочной зависимости готовили растворы с молярной концентрацией фенола в интервале $7 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5}$ М. В пробирки вносили водные растворы фенолов с концентрациями $1 \cdot 10^{-3}$ и $1 \cdot 10^{-4}$ М, реактив ФЧ 0,5 мл 2 н., 1,5 мл 20%-ного Na_2CO_3 ; разбавляли дистиллированной водой, вносили 0,5 мл 20%-ного Тритона X-100 и 1,6 мл 10%-ного Na_2SO_4 . Центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин. После разделения фаз отбирали мицеллярно-насыщенные фазы нПАВ и разбавляли их 2%-ным Na_2CO_3 и фотометрировали.

Для количественного определения эффективности извлечения фенола из разбавленных



мицеллярных фаз нПАВ Тритона X-100 рассчитывали степень извлечения (R , %):

$$R = \frac{D \cdot 100}{D + \frac{V_B}{V_0}}, \quad (1)$$

где D – коэффициент распределения; V_B – объем водной фазы; V_0 – объем органической (мицеллярной фазы).

Цветометрическое определение фенола и построение лепестковых диаграмм

Для цветометрического определения фенола использовали графический редактор Adobe PhotoShop CC 2019. Необходимую окрашенную часть мицеллярно-насыщенной фазы нПАВ выделяли и с помощью функции усреднения определяли яркость цветовых каналов R , G , B . По полученным значениям строили градуировочные зависимости яркости цветового канала от логарифмов концентрации фенола.

Для качественного определения фенола полученные цветометрические данные представляли в виде лепестковых диаграмм с 7 осями, на которых откладывали цветовые координаты параметров $RGBCMYK$.

Для количественной оценки содержания фенола применяли геометрические параметры площадь (S) и периметр (P), которые рассчитывали по следующим формулам:

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

$$S = \sum \left(\frac{1}{2} a \cdot b \cdot \sin(ab) \right), \quad (3)$$

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

Результаты и их обсуждение

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 [13] для анализа фенольных компонентов в вине, после чего он стал обычным тестом для оценки антиоксидантности пищевых продуктов и растительных экстрактов [14].

В настоящее время реактив ФЧ широко используется для количественного определения полифенолов в экстрактах растительного происхождения, а также в пищевых продуктах и напитках [15].

Реактив ФЧ является основой колориметрического способа определения фенольных соединений, который основан на том, что содержащиеся в нём фосфовольфрамовые и фосфомолибденовые кислоты при восстановлении фенолами в щелочной среде образуют комплекс синего цвета (вольфрамовая синь), интенсивность окраски которого пропорциональна количеству фенолов (рис. 1) [16].

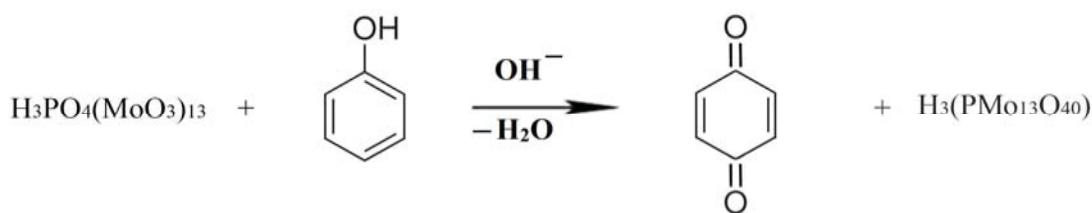


Рис. 1. Схема реакции взаимодействия реактива Фолина – Чокальтеу с фенолом

Fig. 1. Diagram of the interaction of the Folin – Chocalteu reagent with phenol

Нами предложена тест-система, которая позволяет концентрировать продукт взаимодействия полифенолов с реактивом ФЧ в мицеллярно-насыщенные фазы нПАВ с учетом методологии *cloud-point extraction*.

Классическая процедура СР-экстракции основана на способности нПАВ образовывать

мицеллярную фазу в водной среде при нагревании выше температуры помутнения или путем добавления соли (явление высаливания). Происходит разделение на две фазы: водную фазу (обедненная ПАВ) и обогащенную ПАВ фазу [17] (рис. 2).

Для определения оптимальных условий СР-экстракции фенола рассматривали три вида

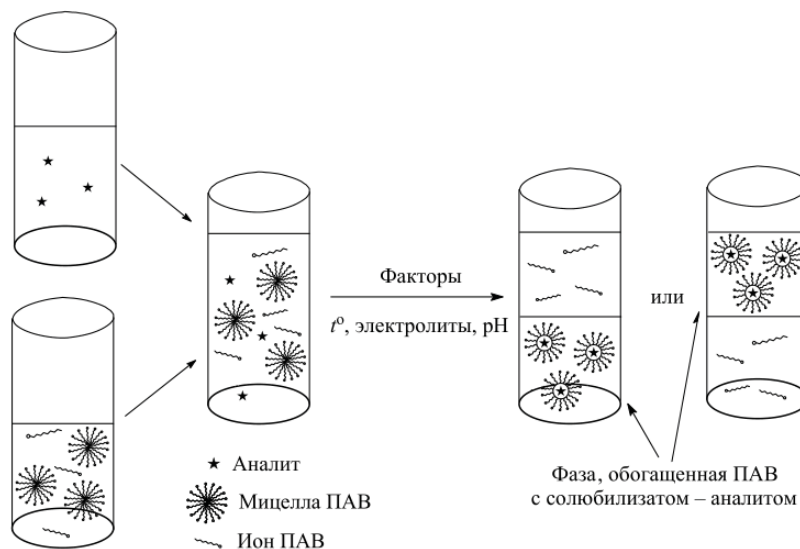


Рис. 2. Схема формирования мицеллярной фазы, насыщенной ПАВ и концентрирования в ней аналита в водных растворах [17]

Fig. 2. Scheme of formation of micellar phase saturated with surfactant and concentration of analyte in it in aqueous solutions [17]

высаливателей с разными исходными концентрациями: 20%-ный NaCl, 10%-ный Na_2SO_4 , 40%-ный $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Изучено влияния этих высаливателей на формирование мицеллярных фаз водных растворов Тритона X-100. Характер поведения систем изучали во времени (0–90 мин). Из полученных результатов (рис. 3) видно, что интенсивность яркости канала R повышается с увеличением кон-

центрации солей в первоначальный момент (0–5 мин), затем постепенно уменьшается во времени, что связано с образованием и укрупнением мицеллярных фаз нПАВ. Образование последних наблюдалось в интервалах концентраций высаливателей: NaCl (0,08–9,2%) и Na_2SO_4 (0,04–4,6%). Для $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ образование фаз затруднено и отмечалось при концентрациях 0,16–7,2%.

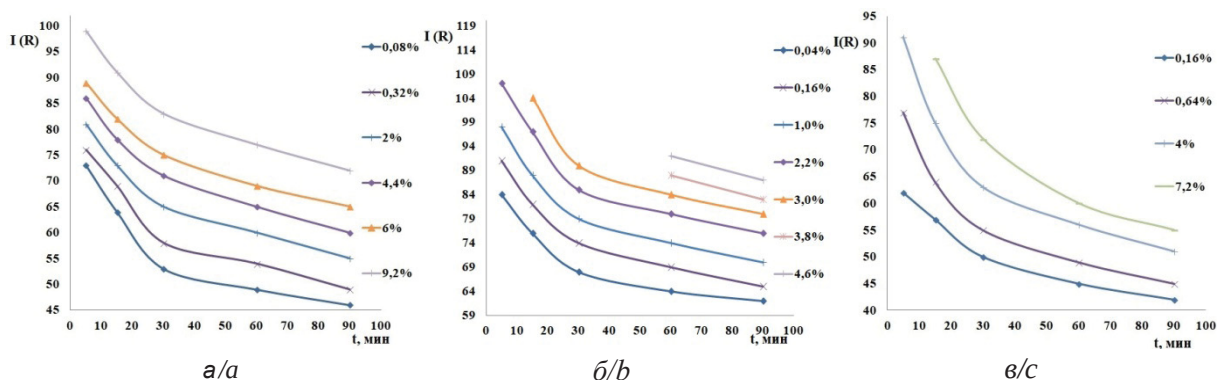


Рис. 3. Зависимость яркости канала R от времени (5–90 мин). $C(\text{фенола}) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $C(\text{ФЧ}) = 0,2 \text{ н.}$, $C(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 6\%$, $C(\text{Тритон X-100}) = 2\%$; а – $C(\text{NaCl}) = 0,08\text{--}9,2\%$, б – $C(\text{Na}_2\text{SO}_4) = 0,04\text{--}4,6\%$, в – $C((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4) = 0,16\text{--}7,2\%$ (цвет онлайн)

Fig. 3. The dependence on the brightness of channel R on time (5–90 minutes). $C(\text{phenol}) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $C(\text{FCR}) = 0,2 \text{ n.}$, $C(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 6\%$, $C(\text{Triton X-100}) = 2\%$; а – $C(\text{NaCl}) = 0,08\text{--}9,2\%$, б – $C(\text{Na}_2\text{SO}_4) = 0,04\text{--}4,6\%$, в – $C((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4) = 0,16\text{--}7,2\%$ (color online)

Для ускорения формирования мицеллярно-насыщенных фаз полученные растворы центрифугировали. После центрифугирования

отделяли мицеллярные фазы и строили зависимость объемов фаз от концентрации солей (рис. 4).

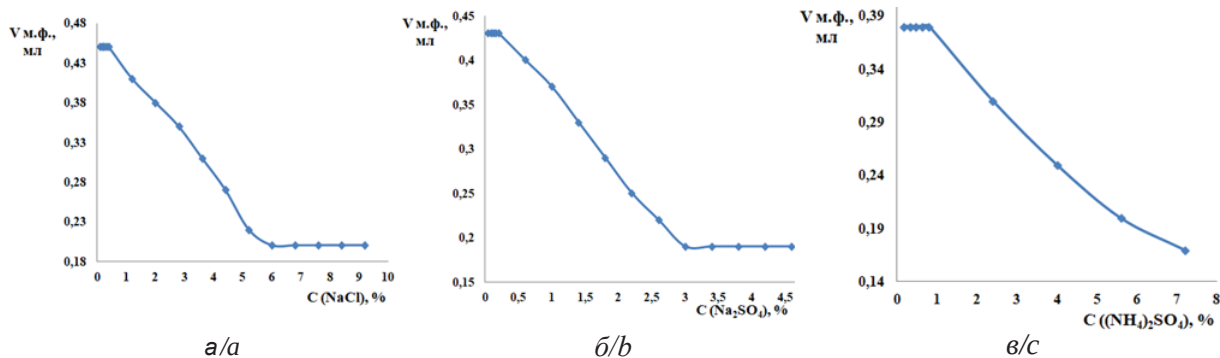


Рис. 4. Зависимость объема мицеллярных фаз от концентрации высаливателей. $c(\text{фенола}) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $c(\text{ФЧ}) = 0,2 \text{ н.}$, $c(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 6 \%$, $c(\text{Тритон X-100}) = 2\%$; а – $c(\text{NaCl}) = 0,08\text{--}9,2\%$, б – $c(\text{Na}_2\text{SO}_4) = 0,04\text{--}4,6\%$, в – $c((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4) = 0,16\text{--}7,2\%$
Fig. 4. Dependence of the volume of micellar phases on the concentration of salting agents. $c(\text{phenol}) = 1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $c(\text{FCR}) = 0,2 \text{ n.}$, $c(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 6\%$, $c(\text{Triton X-100}) = 2\%$; а – $c(\text{NaCl}) = 0,08\text{--}9,2\%$, б – $c(\text{Na}_2\text{SO}_4) = 0,04\text{--}4,6\%$, в – $c((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4) = 0,16\text{--}7,2\%$

Добавление $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ не позволило в системе достичь фазового равновесия (см. рис. 4, в). С NaCl и Na_2SO_4 (см. рис. 4, а, б) фазовое равновесие достигается при концентрациях 6 и 3% соответственно, о чем свидетельствует постоянный объем мицеллярной фазы при дальнейшем росте концентрации солей.

Поскольку добавка высаливателей не увеличивала скорость формирования мицелляр-

ных фаз, для дальнейших исследований выбран Na_2SO_4 , в связи с его минимальными затратами (масса навески) по сравнению с NaCl . Оптимальная концентрация Na_2SO_4 составила 3,2%.

Полученные спектры поглощения системы фенол – реактив Фолина – Чокальтеу – Na_2CO_3 – Тритон X-100 – Na_2SO_4 представлены на рис. 5.

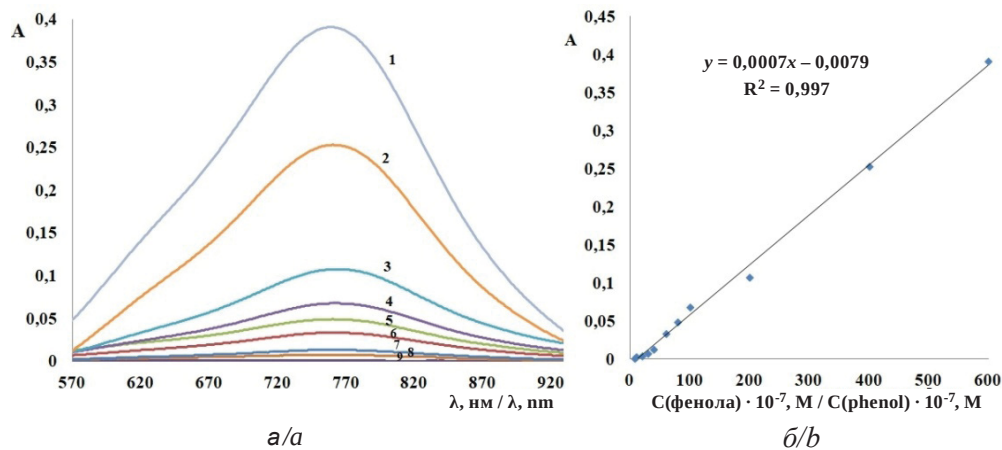


Рис. 5. Спектры поглощения системы фенол – реактив Фолина – Чокальтеу – Na_2CO_3 – Тритон X-100 – Na_2SO_4 (относительно контрольного раствора). $c(\text{ФЧ}) = 0,2 \text{ н.}$; $c(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 6\%$; $c(\text{Тритон X-100}) = 2\%$; $c(\text{Na}_2\text{SO}_4) = 3,2\%$; $c(\text{фенола}) = 1 - 6 \cdot 10^{-5}$; 2 – $4 \cdot 10^{-5}$; 3 – $2 \cdot 10^{-5}$; 4 – $1 \cdot 10^{-5}$; 5 – $8 \cdot 10^{-6}$; 6 – $6 \cdot 10^{-6}$; 7 – $4 \cdot 10^{-6}$; 8 – $3 \cdot 10^{-6}$; 9 – $7 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ (а); б – зависимость А – $c(\text{фенола})$

Fig. 5. Absorption spectra of the phenol – reagent Folin – Chocalteu – Na_2CO_3 – Triton X-100 – Na_2SO_4 system (relative to the control solution). $c(\text{FCR}) = 0,2 \text{ n.}$; $c(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 6\%$; $c(\text{Triton X-100}) = 2\%$; $c(\text{Na}_2\text{SO}_4) = 3,2\%$; $c(\text{phenol}) = 1 - 6 \cdot 10^{-5}$; 2 – $4 \cdot 10^{-5}$; 3 – $2 \cdot 10^{-5}$; 4 – $1 \cdot 10^{-5}$; 5 – $8 \cdot 10^{-6}$; 6 – $6 \cdot 10^{-6}$; 7 – $4 \cdot 10^{-6}$; 8 – $3 \cdot 10^{-6}$; 9 – $7 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ (a); б – dependence of A – $c(\text{phenol})$

Спектры поглощения этой системы имеют один максимум при 760 нм (см. рис. 5, а), оптическая плотность которого возрастает с

увеличением концентрации фенола. Концентрацию экстрагированного фенола определяли по градуировочному графику, представленному на



рис. 5, б. Исходя из рис. 5, б установлен диапазон определяемых содержаний фенола, который составил $7 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5}$ М. Рассчитанные степени извлечения аналита достигает 99% (рис. 6).

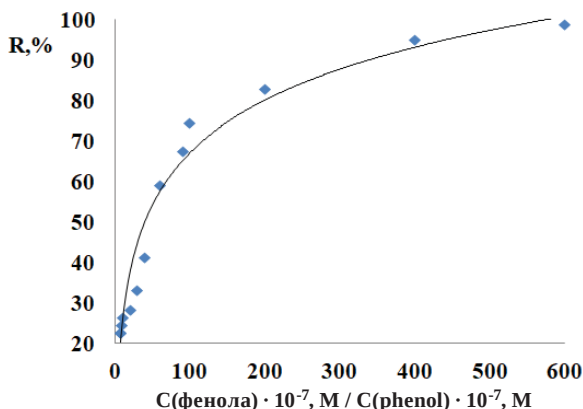


Рис. 6. Зависимость степени извлечения от концентрации фенола. $c(\text{ФЧ}) = 0,2 \text{ н.}; c(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 6\%; c(\text{Тритон X-100}) = 2\%; c(\text{Na}_2\text{SO}_4) = 3,2\%; c(\text{фенола}) = 7 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5} \text{ М}$

Fig. 6. Dependence of the degrees extracted on the concentrations phenol. $c(\text{FCR}) = 0,2 \text{ n.}; c(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 6\%; c(\text{Triton X-100}) = 2\%; c(\text{Na}_2\text{SO}_4) = 3,2\%; c(\text{phenol}) = 7 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5} \text{ M}$

Предложен цветометрический способ регистрации аналитического сигнала в исследуемой системе, который не требует разбавления мицеллярной фазы. Так, на рис. 7 представлена зависимость интенсивности канала R (оптимальный параметр цвета) от логарифма

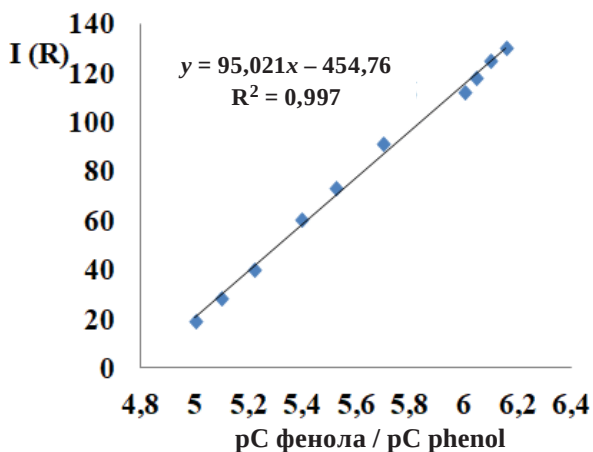


Рис. 7. Зависимость яркости канала R от логарифма концентрации фенола фенол – ФЧ – Na_2CO_3 – Тритон X-100 – Na_2SO_4 . $c(\text{ФЧ}) = 0,2 \text{ н.}; c(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 6\%; c(\text{Тритон X-100}) = 2\%; c(\text{Na}_2\text{SO}_4) = 3,2\%; c(\text{фенола}) = 7 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$

концентрации фенола. Уравнение регрессии имеет вид $y = 95,0x - 455$, коэффициент корреляции R^2 графической зависимости – 0,997. Диапазон определяемых содержаний фенола составил $7 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-5}$ М.

Оценку правильности результатов определения фенола с предварительным СР-концентрированием осуществляли методом «введено-найдено» по цветометрическому параметру R (табл. 2).

Таблица 2 / Table 2

Результаты цветометрического определения фенола в модельном растворе ($n = 3, P = 0,95$)
Results of colorometric determination of phenol in a model solution ($n = 3, P = 0,95$)

№	Введено (М) / Introduced (M)	Найдено (М) / Found (M)	$X \pm \Delta X$ (М)	S_p %
1	$8 \cdot 10^{-7}$	$8,37 \cdot 10^{-7}$	$(8,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-7}$	1,4
2		$8,58 \cdot 10^{-7}$		
3		$8,58 \cdot 10^{-7}$		
1	$3 \cdot 10^{-6}$	$2,65 \cdot 10^{-6}$	$(2,7 \pm 0,1) \cdot 10^{-6}$	1,4
2		$2,65 \cdot 10^{-6}$		
3		$2,71 \cdot 10^{-6}$		
1	$8 \cdot 10^{-6}$	$7,26 \cdot 10^{-6}$	$(7,3 \pm 0,4) \cdot 10^{-6}$	2,4
2		$7,09 \cdot 10^{-6}$		
3		$7,43 \cdot 10^{-6}$		

Для качественного определения фенола полученные цветометрические данные представляли в виде лепестковых диаграмм (ЛД) с 7 и 3 осями, на которых отложены цветные координаты параметров RGBСМУК (рис. 8).

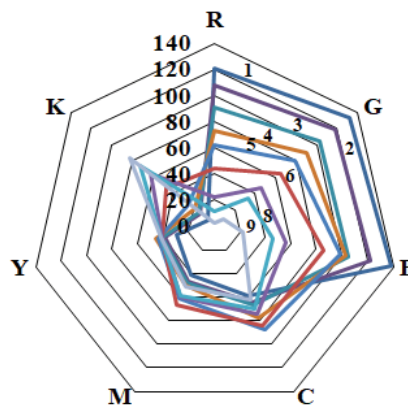


Рис. 8. Профили лепестковых диаграмм системы фенол – ФЧ – Na_2CO_3 – Тритон X-100 – Na_2SO_4 . $c(\text{фенола})$: 1 – $7 \cdot 10^{-7}$; 2 – $1 \cdot 10^{-6}$; 3 – $2 \cdot 10^{-6}$; 4 – $3 \cdot 10^{-6}$; 5 – $4 \cdot 10^{-6}$; 6 – $6 \cdot 10^{-6}$; 7 – $1 \cdot 10^{-5}$; 8 – $2 \cdot 10^{-5}$; 9 – $6 \cdot 10^{-5}$ М



Из рис. 8 видно, что профиль ЛД не изменяется при увеличении концентрации фенола, при этом возрастает его периметр и площадь.

На рис. 9 представлены зависимости площади (S) и периметра (P) ЛД от логарифма концентрации фенола. Линейность градуиро-

вочных зависимостей наблюдалась в пределах $7 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5}$ М, уравнение регрессии и величины достоверностей аппроксимации, представленные на рис. 9, имеют вид: периметр (P) $y = 150x - 284$; $R^2 = 0,994$; площадь (S) $y = 17700x - 66930$; $R^2 = 0,994$.

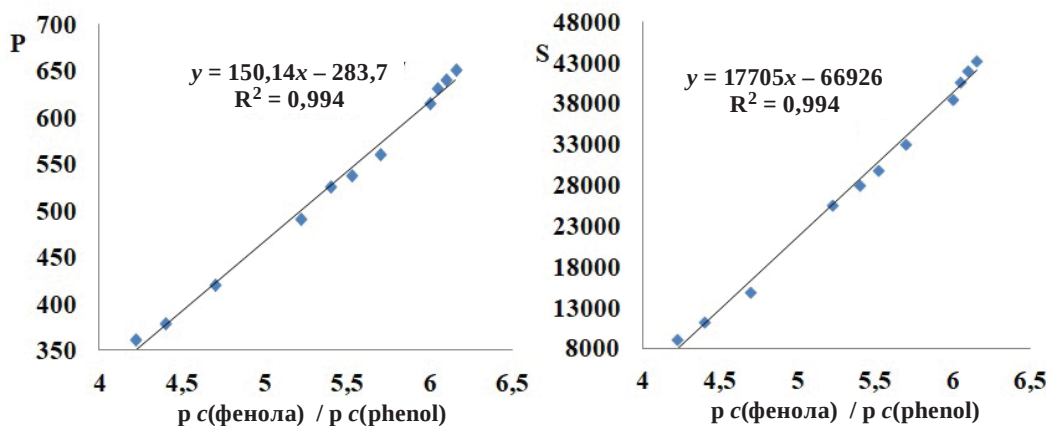


Рис. 9. Зависимость периметра (P) и площади (S) лепестковых диаграмм от $pc(\text{фенола})$

Fig. 9. Dependence of the perimeter (P) and area (S) of the petal diagrams on $pc(\text{phenol})$

Таким образом, методология СР-концентрирования вольфрамовой сини с использованием систем на основе неионного ПАВ (Тритон Х-100) позволяет проводить цветометрическое определение фенола с пониженным пределом обнаружения в интервале концентраций $1 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-5}$ М с погрешностью определения не более 3%.

Выводы

1. Впервые исследована микроэкстракция комплекса вольфрамовой сини, образованного по реакции фенола с реактивом Фолина – Чокальтеу (ФЧ) в присутствии неионного ПАВ Тритона Х-100 в щелочной среде с применением методологии экстракции на основе «точки помутнения». Установлены оптимальные условия мицеллярной экстракции фенола в системе: ФЧ (0,2 н.) – Na_2CO_3 (6%) – Тритон Х-100 (2%) – Na_2SO_4 (3,2%).

2. Показано, что мицеллярно-насыщенные фазы Тритона Х-100 эффективно экстрагируют аналитическую форму (комплекс вольфрамовой сини) и могут быть предложены для экстракционно-спектрофотометрического определения фенола ($\lambda_{\text{макс}} = 760$ нм; $y = 0,0007x - 0,0079$, $R^2 = 0,997$, ДОС = $7 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5}$ М).

3. Разработана оригинальная тест-методика цветометрического определения фенола

(канал R): $y = 95,021x - 454,76$; $R^2 = 0,997$. ДОС = $7 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-5}$ М. Для количественной оценки содержания фенола наряду с цветометрическими R, G, B, применяли также геометрические параметры полученных лепестковых диаграмм: площадь (S) и периметр (P): (периметр (P) $y = 150,14x - 283,7$; $R^2 = 0,994$; площадь (S) $y = 17705x - 66926$; $R^2 = 0,994$).

Список литературы

1. Потенко Е. И., Жукова Н. И., Арефьева О. Д. Фенольные соединения в поверхностных и питьевых водах Приморского края // Вестник ДВО РАН. 2018. № 5 (201). С. 120–123. <https://doi.org/10.25808/08697698.2018.201.5.017>
2. Семенова Т. С., Соловей В. Н. Определение фенолов в воде и методы их удаления // Традиции и инновации: материалы науч. конф., посвящ. 189-й годовщине образования СПбГТИ, СПб., 30 ноября – 1 декабря 2017 г. СПб.: СПбГТИ, 2017. С. 234.
3. Бельтюкова С. В., Бычкова А. А. Биологически активные полифенолы и методы их определения. // Пищевая наука и технология. 2013. № 3. С. 18–25.
4. Аджиахметова С. Л., Червоная 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. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-02-03>



5. 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. <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2022-7-3-7>
6. Денисенко Т. А., Вишник 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. <https://doi.org/10.15826/analitika.2015.19.3.001>
7. Vázquez C. V., Rojas M. G., Ramírez C. A., Chávez-Servín J. L., García-Gasca T., Ferriz Martínez R. A., García O. P., Rosado J. L., López-Sabater C. M., Castellote A. I., Montemayor H. M., de la Torre Carbot K. Total phenolic compounds in milk from different species. Design of an extraction technique for quantification using the Folin Ciocalteu method // Food Chemistry. 2015. Vol. 176. P. 480–486. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.050>
8. Pavun L., Durdevic P., Jelikic-Stankov M., Dikanivic D., Uskokovic-Markovic S. Determination of flavonoids and total polyphenol contents in commercial apple juices // Czech Journal of Food Sciences. 2018. Vol. 36, № 3. P. 233–238. <https://doi.org/10.17221/211/2017-CJFS>
9. 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. <https://doi.org/10.14258/jcrim.2021028250>
10. 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. <https://doi.org/10.15826/analitika.2019.23.3.008>
11. 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. <https://doi.org/10.15826/analitika.2016.20.4.003>
12. Adegbusi H. S., Ismail A., Mohd Esa N., Azuan Mat Daud Z. Application of Folin-Ciocalteu 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. <https://doi.org/10.47836/ifrj.29.5.13>
13. 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. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
14. Munteanu I. G., Apetrei C. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review // Int. J. Mol. Sci. 2021. Vol. 22, № 7. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
15. Apak R., Capanoglu E., Shahidi F. Measurement of Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications. John Wiley & Sons Ltd. : Hoboken, NJ, USA, 2018. 337 p. <http://doi.org/10.1002/9781119135388>
16. Sánchez-Rangel, Juan Carlos and Benavides, Jorge and Heredia, J. Basilio and Cisneros-Zevallos, Luis and Jacobo-Velázquez, Daniel A. The Folin – Ciocalteu assay revisited: Improvement of its specificity for total phenolic content determination // Analytical Methods. 2013. Vol. 5, iss. 21. P. 5990–5999. <https://doi.org/10.1039/C3AY41125G>
17. Чернова П. К., Доронин С. Ю. Определение органических аналитов в растворах ПАВ : ионные и мицеллярные эффекты. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2017. 200 с.

References

1. Potenko E. I., Zhukova N. I., Arefyeva O. D. Phenolic compounds in surface and drinking waters of Primorsky Krai. *Bulletin of the DVO RAN*, 2018, no. 5 (201), pp. 120–123 (in Russian). <https://doi.org/10.25808/08697698.2018.201.5.017>
2. Semenova T. S., Solovey V. N. Determination of phenols in water and methods of their removal. In: *Traditions and Innovations: Proceeding of the Scientific Conference Dedicated to the 189th Anniversary of the St. Petersburg State Institute of Technology (St. Petersburg, November 30 – December 1, 2017)*. St. Petersburg, 2017, pp. 234 (in Russian).
3. Belyukova S. V., Bychkova A. A. Biologically active polyphenols and methods of their determination. *Food Science and Technology*, 2013, no. 3, pp. 18–25 (in Russian).
4. Adjakhmetova S. L., Chervonnaya N. M., Pozdnyakov D. I., Oganessian E. T. The content of phenols (including flavonoids) and antioxidants in the leaves of *Viscum album* L. and *Pyrus communis* L. *Questions of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*, 2021, vol. 24, no. 2, pp. 15–22 (in Russian). <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-02-03>
5. Kovalenko S. A., Fayziev A. S., Sysoeva M. A. Practical application of *Empetrum nigrum* extract in brewing. *Industrialization of Nutrition*, 2022, vol. 7, no. 3, pp. 59–64 (in Russian). <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2022-7-3-7>
6. Denisenko T. A., Vishnikin A. B., Tsyganok L. P. Features of interaction of 18-molybdenum diphosphate and Folin – Chokalteu reagent with phenolic compounds. *Analytica and Control*, 2015, vol. 19, no. 3, pp. 242–251 (in Russian). <https://doi.org/10.15826/analitika.2015.19.3.001>
7. Vázquez C. V., Rojas M. G., Ramírez C. A., Chávez-Servín J. L., García-Gasca T., Ferriz Martínez R. A., García O. P., Rosado J. L., López-Sabater C. M., Castellote A. I., Montemayor H. M., de la Torre Carbot K. Total phenolic compounds in milk from different species. Design of an extraction technique for quantification



- using the Folin Ciocalteu method. *Food Chemistry*, 2015, vol. 176, pp. 480–486. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.050>
8. Pavun L., Durdevic P., Jelkic-Stankov M., Dikanivic D., Uskokovic-Markovic S. Determination of flavonoids and total polyphenol contents in commercial apple juices. *Czech Journal of Food Sciences*, 2018, vol. 36, no. 3, pp. 233–238. <https://doi.org/10.17221/211/2017-CJFS>
 9. Nikolaeva T. N., Lapshin P. V., Zagorskina N. V. Method for determining the total content of phenolic compounds in plant extracts with Folin-Denis reagent and Folin – Chokalteu reagent: modification and comparison. *Chemistry of Plant Raw Materials*, 2021, no. 2, pp. 291–299 (in Russian). <https://doi.org/10.14258/jcpim.2021028250>
 10. Vershinin V. I., Belova E. V. Determination of the total content of phenolic antioxidants in model mixtures by the Folin-Chocalteu method and by the FRAP method. *Analytics and Control*, 2019, vol. 23, no. 3, pp. 314–322 (in Russian). <https://doi.org/10.15826/analitika.2019.23.3.008>
 11. Tsyupko T. G., Tishchenko E. A., Voronova O. B. Spectrophotometric assessment of the iron–reducing ability of instant coffee. *Analytics and Control*, 2016, vol. 20, no. 4, pp. 320–329 (in Russian). <https://doi.org/10.15826/analitika.2016.20.4.003>
 12. Adegbusi H. S., Ismail A., Mohd Esa N., Azuan Mat Daud Z. Application of Folin – Ciocalteu colorimetric method in the determination of total tannin in maize and soybean food products. *International Food Research Journal*, 2022, vol. 29, iss. 5, pp. 1110–1119. 10p. <https://doi.org/10.47836/ifrj.29.5.13>
 13. 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, pp. 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
 14. Munteanu I. G., Apetrei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, no. 7. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
 15. Apak R., Capanoglu E., Shahidi F. *Measurement of Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications*. John Wiley & Sons Ltd. Hoboken, NJ, USA, 2018. 337 p. <http://doi.org/10.1002/9781119135388>
 16. Sánchez-Rangel, Juan Carlos and Benavides, Jorge and Heredia, J. Basilio and Cisneros-Zevallos, Luis and Jacobo-Velázquez, Daniel A. The Folin – Ciocalteu assay revisited: Improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Analytical Methods*, 2013, vol. 5, iss. 21, pp. 5990–5999. <https://doi.org/10.1039/C3AY41125G>
 17. Chernova R. K., Doronin S. Yu. *Opređenje organičeskikh analitov v rastvorakh PAV: ionnye i mitseľnyarne efekty* [Determination of Organic Analytes in Surfactant Solutions: Ionic and Micellar Effects]. Saratov, Saratov State University Publ., 2017. 200 p. (in Russian).

Поступила в редакцию 22.05.2023; одобрена после рецензирования 02.06.2023; принята к публикации 05.06.2023
The article was submitted 22.05.2023; approved after reviewing 02.06.2023; accepted for publication 05.06.2023