



ХИМИЯ

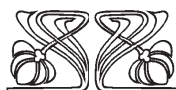
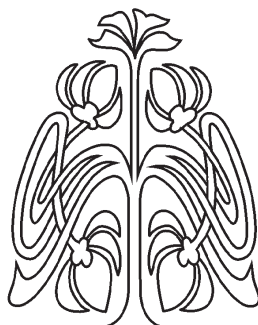
Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 4. С. 364–373

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 4, pp. 364–373

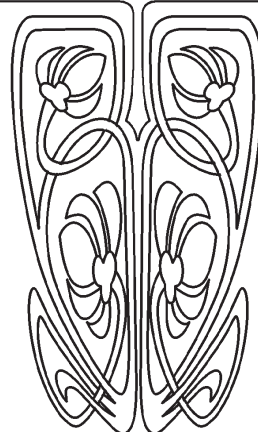
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-4-364-373>

EDN: DQGJAQ



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ



Научная статья
УДК 543.426

Перенос энергии возбуждения в комплексах европия с доксициклином в присутствии мицелл поверхностно-активных веществ и наночастиц серебра

Т. Г. Данилина¹, А. В. Сярдина¹, Е. Р. Тимонова¹,
Н. В. Неврюева², Т. Д. Смирнова¹✉

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

²Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Б. Казачья, д. 112

Данилина Татьяна Григорьевна, кандидат химических наук, ассистент кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, danilina.tatyana.a@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7956-2716>

Сярдина Алина Владимировна, студент Института химии, syardinaa@mail.ru, <http://orcid.org/0009-0003-7060-4969>

Тимонова Екатерина Романовна, студент Института химии, ekaterinatimonova8491@gmail.com, <http://orcid.org/0009-0009-4068-2070>

Неврюева Наталья Владимировна, кандидат химических наук, старший преподаватель кафедры общей, биоорганической и фармацевтической химии, natasha.k.83@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3457-1317>

Смирнова Татьяна Дмитриевна, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, smirnovatd@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3391-1092>

Аннотация. Доксициклин относится к антибиотикам тетрациклинового ряда с широким спектром действия, используется для лечения инфекций у людей, в ветеринарии – в качестве препаратов профилактического действия, стимуляторов роста. По этой причине остаточные количества антибиотиков в молоке, мясе и других продуктах питания могут вызывать резистентность, развитие аллергии. В этой связи требуется постоянный контроль остаточных содержаний тетрациклинов в пищевых продуктах, объектах окружающей среды, биологических жидкостях. Целью настоящей работы явилось изучение влияния сферических наночастиц серебра и мицелл поверхностно-активных веществ на интенсивность сенсibilизированной флуоресценции комплексов ионов европия с доксициклином и разработка нового чувствительного и простого способа флуориметрического определения доксициклина в растворах. В результате одновременного воздействия энергии внешнего источника возбуждения и поверхностного плазмонно-



го резонанса наночастиц серебра на доксициклин происходит возрастание интенсивности его флуоресценции. Вероятность перехода лиганда в возбужденное состояние значительно возрастает, что способствует наиболее эффективной реализации внутримолекулярного переноса энергии возбуждения в комплексе Eu^{3+} с доксициклином. Нами показано, что в присутствии наночастиц серебра и ионов Eu^{3+} интенсивность флуоресценции аналитической системы, содержащей доксициклин, возрастает в 125 раз. В присутствии неионогенного поверхностно-активного вещества Твин-80 сигнал сенсibilизированной флуоресценции хелата Eu^{3+} с доксициклином увеличивается более, чем в 19 раз. Солюбилизация компонентов аналитической реакции в мицеллы поверхностно-активных веществ способствует изменению их протолитических свойств, дегидратации, увеличению устойчивости комплексов, эффективности внутримолекулярного переноса энергии. При совместном присутствии мицелл поверхностно-активного вещества Твин-80 и наночастиц серебра наблюдается дополнительное увеличение интенсивности флуоресценции хелата иона металла с доксициклином в 27 раз. На основании проведенных исследований предложен способ флуориметрического определения доксициклина с использованием мицелл Твин-80, нанокластеров серебра и ионов Eu^{3+} в природной воде. Диапазон определяемых концентраций $1.0 \cdot 10^{-7} - 1.0 \cdot 10^{-5}$ М, предел обнаружения (ПрО) $6.0 \cdot 10^{-8}$ М (3 σ). Правильность определения контролировали методом «введено–найдено».

Ключевые слова: перенос энергии возбуждения, люминесценция, ионы европия, доксициклин, наночастицы серебра

Для цитирования: Данилина Т. Г., Сярдина А. В., Тимонова Е. Р., Неврюева Н. В., Смирнова Т. Д. Перенос энергии возбуждения в комплексах европия с доксициклином в присутствии мицелл поверхностно-активных веществ и наночастиц серебра // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 4. С. 364–373. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-4-364-373>, EDN: DQGJAQ

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

Article

Excitation energy transfer in europium complexes with doxycycline in the presence of surfactant micelles and silver nanoparticles

T. G. Danilina¹, A. V. Syardina¹, E. R. Timonova¹, N. V. Nevryueva², T. D. Smirnova¹✉

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

² V. I. Razumovsky Saratov State Medical University, 112 Bolshaya Kazachiya St., Saratov 410012, Russia

Tatyana G. Danilina, danilina.tatyana.a@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7956-2716>

Alina V. Syardina, syardinaa@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0003-7060-4969>

Ekaterina R. Timonova, ekaterinatimonova8491@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0009-4068-2070>

Natalya V. Nevryueva, natasha.k.83@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3457-1317>

Tatyana D. Smirnova, smirnovatd@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3391-1092>

Abstract. Doxycycline is a broad-spectrum tetracycline antibiotic used to treat infections in humans and in veterinary medicine as a prophylactic drug and growth stimulant. For this reason, residual amounts of antibiotics in milk, meat and other food products can cause resistance and the development of allergies. In this regard, constant monitoring of residual contents of tetracyclines in food products, environmental objects, and biological fluids is required. The purpose of this work was to study the effect of spherical silver nanoparticles and surfactant micelles on the intensity of sensitized fluorescence of europium ion complexes with doxycycline and to develop a new sensitive and simple method for the fluorimetric determination of doxycycline in solutions. As a result of the simultaneous influence of the energy of an external excitation source and the surface plasmon resonance of silver nanoparticles on doxycycline, the intensity of its fluorescence increases. The probability of the ligand transition to the excited state increases significantly, which contributes to the most efficient implementation of intramolecular excitation energy transfer in the Eu^{3+} complex with doxycycline. We have shown that in the presence of silver nanoparticles and Eu^{3+} ions, the fluorescence intensity of an analytical system containing doxycycline increases 125 times. In the presence of the nonionic surfactant Tween-80, the sensitized fluorescence signal of the Eu^{3+} chelate with doxycycline increases by more than 19 times. Solubilization of the components of the analytical reaction into micelles of surfactants helps to change their protolytic properties, dehydration, increase the stability of the complexes, and the efficiency of intramolecular energy transfer. In the combined presence of Tween-80 surfactant micelles and silver nanoparticles, an additional 27-fold increase in the fluorescence intensity of the metal ion chelate with doxycycline is observed. Based on the conducted research, a method for the fluorimetric determination of doxycycline using Tween-80 micelles, silver nanoclusters and Eu^{3+} ions in natural water has been proposed. The range of detectable concentrations is $1.0 \cdot 10^{-7} - 1.0 \cdot 10^{-5}$ M, detection limit (Limit of Detection) $6.0 \cdot 10^{-8}$ M (3 σ). The correctness of the definition has been controlled by the “entered–found” method.

Keywords: excitation energy transfer, luminescence, europium ions, doxycycline, silver nanoparticles

For citation: Danilina T. G., Syardina A. V., Timonova E. R., Nevryueva N. V., Smirnova T. D. Excitation energy transfer in europium complexes with doxycycline in the presence of surfactant micelles and silver nanoparticles. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 4, pp. 364–373 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-4-364-373>, EDN: DQGJAQ

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



Введение

Доксициклин относится к антибиотикам тетрациклинового ряда с широким спектром действия, высокой антимикробной активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, широко используется для лечения инфекций у людей, а также в ветеринарии, животноводстве, рыбоводстве – в качестве препаратов профилактического действия и стимуляторов роста. В сложившейся ситуации остаточные количества антибиотиков могут содержаться в молоке, мясе и других продуктах питания человека, объектах окружающей среды. Употребление продуктов, содержащих антимикробные препараты, может быть причиной развития резистентности к антибиотикам, снижения эффективности применения лекарственных препаратов этой группы, развития аллергических заболеваний. В этой связи требуется постоянный контроль остаточных содержаний тетрациклинов в сыворотке крови, моче, молоке, мясе, рыбе, яйцах и др. Для обеспечения безопасности пищевых продуктов Европейской комиссией в 2010 г. установлена предельно допустимая концентрация препаратов тетрациклиновой группы в мышцах и почках быка на уровне 100–600 мкг/кг [1].

В литературе предложены методы контроля содержания антибиотиков в объектах самого разного происхождения. Наиболее часто для обнаружения следовых количеств тетрациклинов в пищевых продуктах используется высокоэффективная жидкостная хроматография с различными детекторами: масс-спектрометрическими, флуоресцентными, УФ-детекторами и электрохимическими [2–5]. Люминесцентный метод определения биологически активных веществ в настоящее время является наиболее простым, доступным, высокочувствительным с возможностью совершенствования метрологических характеристик известных способов путем применения последних достижений нанотехнологий. Для усиления аналитического сигнала во флуориметрическом методе широко используется перенос энергии возбуждения в комплексах производных тетрациклинов с ионами редкоземельных металлов в присутствии мицелл поверхностно-активных веществ (ПАВ) [6–10]. Солюбилизация компонентов аналитической реакции в мицеллы ПАВ способствует изменению их протолитических свойств, дегидратации, увеличению устойчивости комплексов, эффективности внутримолекулярного переноса

энергии. Влияние твердых наноматериалов (наночастиц благородных металлов) на эффективность внутримолекулярного переноса энергии в комплексах определяется взаимным расположением спектров поверхностного плазмонного резонанса наночастиц и флуоресценции исследуемого флуорофора [11–16].

Целью настоящей работы явилось изучение влияния наночастиц серебра и мицелл поверхностно-активных веществ при совместном присутствии на интенсивность сенсibilизированной флуоресценции комплекса ионов Eu^{3+} с доксициклином и разработка нового способа флуориметрического определения доксициклина в растворах.

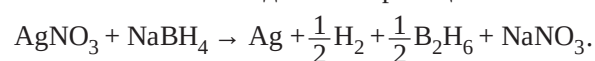
Материалы и методы

Реагенты. Доксициклин гиклат (Fengchen group CO., LTD) содержал не менее 99% основного вещества; цетилпиридиний хлорид, Тритон X-100 (Sigma), Бридж 35 (Acros), натрия додецилсульфат (AppliChem) с содержанием основного вещества не менее 99%; хлорид Eu^{3+} шестиводный (Acros Organics), содержание основного вещества не менее 99%.

Аппаратура. Спектры флуоресценции регистрировали при помощи спектрофлуориметра CM 2203 фирмы ЗАО «SOLAR» с источником возбуждения – импульсной ксеноновой лампой. Ширина дифракционной щели возбуждения 10 нм, флуоресценции 5 нм. Скорость регистрации спектров 75 нм/мин. Измерения проводили в кварцевой кювете с толщиной слоя 1 см. Сигнал регистрировали под углом 90° к возбуждающему свету. Оптическую плотность растворов и электронные спектры поглощения в видимой и УФ-области спектра измеряли на спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu), кварцевые кюветы с длиной оптического пути 1 см (Shimadzu).

Значение pH контролировали на pH-метре (pH-673 M) со стеклянным индикаторным электродом и хлоридсеребряным электродом сравнения.

Синтез наночастиц серебра осуществляли борогидридным методом [17]. Цитрат стабилизированные наночастицы получают восстановлением нитрата серебра борогидридом натрия в соответствии с методикой по реакции:



Методика синтеза: 1 мл водного раствора AgNO_3 (10 мМ) и 1 мл цитрата (500 мМ) добавляют к 47 мл H_2O при перемешивании. После



инкубирования в течение 10 мин при комнатной температуре добавляли 600 мкл свежеприготовленного NaBH_4 (10 мМ) при интенсивном перемешивании. Реакция восстановления продолжалась в течение 30 мин, затем раствор убрали в холодильник на 10 ч, чтобы обеспечить завершение роста наночастиц. Полученный раствор наночастиц серебра имеет ярко-желтый цвет. Концентрацию наночастиц (моль/л) рассчитывали по формуле [18]:

$$C = \frac{N}{N_A V}; N = \frac{3m}{4\pi r^3 \rho},$$

где N – число частиц в растворе; $N_A = 6.02 \times 10^{23}$, моль $^{-1}$ – постоянная Авогадро, V – объем раствора, л; m – масса серебра в растворе ($m = 0.0535$ г); r – радиус наночастиц, см; $\rho = 10.5$ г/см 3 – плотность серебра.

Методика отличается простотой и возможностью получения наночастиц определенного размера. В качестве стабилизатора коллоидного раствора использовали цитрат-ион, который адсорбируется на поверхности наночастиц и позволяет контролировать их размер. По данным просвечивающей электронной микроскопии, наночастицы имели сферическую форму и относительно узкий диапазон распределения по размерам со средним диаметром 7 ± 2 нм, ζ -потенциал -30 мВ, который свидетельствует о достаточно высокой стабильности золей. Нами установлено, что в течение двух недель характеристики наночастиц оставались без изменений. Спектры поглощения синтезированных наночастиц (AgNp) содержали полосу поверхностного плазмонного резонанса (ППР) при $\lambda = 410$ нм.

Результаты и их обсуждение

Спектральные свойства доксициклина. Спектр поглощения доксициклина (ДЦ) характеризуется двумя максимумами в УФ-области $\lambda = 280$ и $\lambda = 350$ нм, что соответствует литературным данным [19] и объясняется присутствием в молекуле двух хромофоров (рис. 1). Первый хромофор включает кольцо, которое содержит протонированную диметиламиногруппу, гидроксильную, карбамидную группы и хиноидный кислород. Сопряженная π -система хромофора невелика и ему соответствует полоса с коротковолновым максимумом. Второй хромофор включает три кольца и протяженную π -систему, которая характеризуется полосой с длинноволновым максимумом.

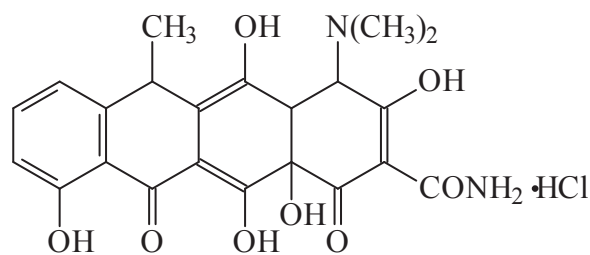


Рис. 1. Формула доксициклина

Fig. 1. Doxycycline formula

Спектру возбуждения доксициклина соответствует длина волны $\lambda_{\text{возб}} = 390$ нм, позволяющая констатировать незначительные флуоресцентные свойства антибиотика.

Взаимодействие доксициклина с ионами европия. Доксициклин образует в слабощелочных растворах комплекс с ионами Eu^{3+} , который характеризуется переносом электронной энергии возбуждения и сенсibilизированной флуоресценцией. Согласно классической теории Декстера, более высокое расположение и близость триплетных уровней лиганда и резонансных уровней энергии иона металла является определяющим фактором эффективного переноса энергии. Для ионов Eu^{3+} условие переноса энергии с триплета доксициклина ($18100\text{--}20300$ см $^{-1}$) на его резонансный уровень (17260 см $^{-1}$) соблюдается и в результате в спектрах флуоресценции системы Eu^{3+} – ДЦ наблюдается сенсibilизированная люминесценция иона металла с $\lambda_{\text{фл}} = 615$ нм, интенсивность которой превышает на порядок собственную флуоресценцию доксициклина [20].

Влияние наночастиц серебра на флуоресцентные свойства доксициклина и его комплекса с ионами европия. Особенности использования твердых нанообъектов в разработке новых подходов флуориметрического определения биологически активных веществ связаны с их непосредственным участием в процессе переноса энергии, высокими значениями коэффициентов экстинкции, легко варьируемыми оптическими характеристиками, зависящими от размера наночастиц, и окружением поверхностного слоя наночастиц. Доксициклин обладает невысокой интенсивностью флуоресценции ($\lambda_{\text{возб}} = 390$ нм, $\lambda_{\text{фл}} = 525$ нм). Наночастицы серебра могут оказывать на флуоресценцию доксициклина влияние, заключающееся в увеличении эмиссионных свойств в результате межмолекулярного переноса энергии возбуждения от наночастиц к органической молекуле ввиду значительного перекрытия



спектра поверхностного плазмонного резонанса наночастиц и спектров поглощения антибиотика (рис. 2) [1, 2]. Однако нами установлено, что возрастание флуоресценции флуорофора не наблюдалось, по-видимому, в связи со значительным расстоянием между донором и акцептором и экранированием поверхности наночастиц стабилизатором. С целью сокращения расстояния и сенсibilизации доксициклина поверхность наночастиц серебра модифицировали ионами европия. Образующийся на поверхности нанообъекта хелат Eu^{3+} с доксициклином характеризуется переносом энергии с триплетного уровня лиганда на излучатель-

ные уровни иона металла с последующей его флуоресценцией ($\lambda_{\text{фл}} = 615 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{возб}} = 390 \text{ нм}$, ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^5\text{F}_2$ переход), который сопровождается синергетическим увеличением сигнала флуоресценции в 125 раз (рис. 3). Такое возрастание интенсивности является результатом совместного воздействия энергии внешнего источника возбуждения и поверхностного плазмонного резонанса наночастиц серебра на доксициклин. При этом вероятность перехода лиганда в возбужденное состояние значительно возрастает, что способствует наиболее эффективной реализации внутримолекулярного переноса энергии возбуждения.

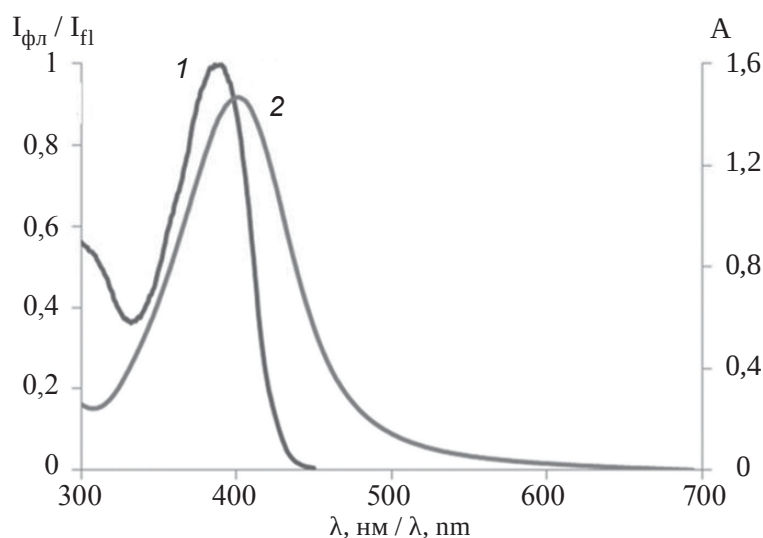


Рис. 2. Спектры возбуждения доксициклина (1) и ППР наночастиц серебра (2). $C_{\text{НЧС}} = 3.3 \cdot 10^{-7} \text{ М}$, $C_{\text{ДЦ}} = 1.0 \cdot 10^{-5} \text{ М}$

Fig. 2. Excitation spectra of doxycycline (1) and SPR spectra of silver nanoparticles (2). $C_{\text{SNP}} = 3.3 \cdot 10^{-7} \text{ М}$, $C_{\text{DC}} = 1.0 \cdot 10^{-5} \text{ М}$

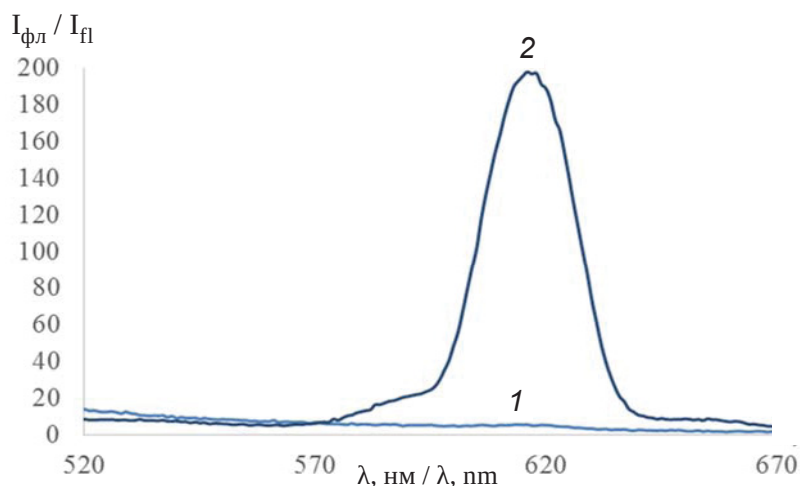


Рис. 3. Спектр флуоресценции ДЦ (1) и комплекса Eu^{3+} -ДЦ (2) в присутствии наночастиц серебра. $C_{\text{ДЦ}} = 5.0 \cdot 10^{-6} \text{ М}$, $C_{\text{Eu}^{3+}} = 2.5 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, $C_{\text{AgNP}} = 1.0 \cdot 10^{-8} \text{ М}$, $\lambda_{\text{возб}} = 390 \text{ нм}$, pH 8

Fig. 3. Fluorescence spectrum of DC (1) and the Eu^{3+} -DC complex (2) in the presence of silver nanoparticles. $C_{\text{DC}} = 5.0 \cdot 10^{-6} \text{ М}$, $C_{\text{Eu}^{3+}} = 2.5 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, $C_{\text{AgNP}} = 1.0 \cdot 10^{-8} \text{ М}$, $\lambda_{\text{ex}} = 390 \text{ нм}$, pH 8



Влияние мицелл ПАВ на флуоресцентные свойства доксициклина и его комплекса с ионами европия. Еще одним фактором, способствующим увеличению интенсивности флуоресценции во флуоресцентном анализе, является использование жидких наносистем – мицелл поверхностно-активных веществ. Солюбилизация компонентов аналитической реакции способствует дегидратации, а значит и изменению протолитических свойств лиганда, увеличению устойчивости комплексов, эффективности переноса энергии, сближению компонентов реакции. Нами показано, что в присутствии мицелл неионогенных, катионных и анионных ПАВ собственная флуоресценция доксициклина изменяется незначительно и зависит от состояния флуорофора в растворе и его гидрофобности. Известно, что высокая гидрофильность тетрациклинов ($\log P = -1.3 \div -0.6$) не способствует их солюбилизации.

Нами установлено, что влияние мицелл поверхностно-активных веществ на интенсивность флуоресценции комплекса доксициклина с ионами европия зависит от природы мицелл и кислотности среды. В кислой среде комплексообразование выражено слабо, поэтому флуоресценция в присутствии мицелл хлорида цетилпиридиния увеличивается в кислой среде незначительно и возрастает в 2.6 раза в щелочной среде. Добавки мицелл анионного додецилсульфата натрия к растворам комплекса сопровождалось ростом сигнала в 5.4 раза.

В качестве неионогенных поверхностно-активных веществ использовались Тритон X-100 (содержащий, помимо гидрофильных остатков оксида этилена, гидрофобный 4-третоктилфенол) и оксиэтилированный сложный моноэфир жирных кислот Твин-80. В присутствии мицелл Тритон X-100 максимальное увеличение эмиссии комплекса в 13 раз установлено при pH 7. В более щелочной среде отмечено тушение флуоресценции. В среде мицелл Твин-80 наблюдался рост интенсивности сенсibilизированной флуоресценции в 19 раза при pH 8. В более щелочной и кислой средах люминесценция хелата Eu^{3+} с доксициклином уменьшалась.

Совместное влияние мицелл ПАВ и наночастиц серебра на интенсивность сенсibilизированной флуоресценции. Нами установлено, что в присутствии мицелл неионогенных ПАВ – Твин-80 и Тритон X-100 в диапазоне концентраций $1.0 \cdot 10^{-4} - 1.0 \cdot 10^{-2}$ М происходит модификация поверхности наночастиц серебра, о чем свидетельствует уменьшение ξ -потенциала до -10 мВ и увеличение среднего диаметра наночастиц серебра. Модификация поверхности наночастиц неионогенными поверхностно-активными веществами сопровождалась ростом интенсивности сенсibilизированной флуоресценции. В присутствии наночастиц серебра, модифицированных Твин-80, наблюдалось максимальное увеличение интенсивности сенсibilизированной флуоресценции комплекса Eu^{3+} -ДЦ в 27 раз (табл. 1).

Таблица 1 / Table 1

Отношение интенсивностей сенсibilизированной флуоресценции хелата европия с доксициклином в присутствии и в отсутствие AgNp и мицелл ПАВ
Ratio of sensitized fluorescence intensities of europium chelate with doxycycline in the presence and absence of AgNp and surfactant micelles

Интенсивность флуоресценции / Fluorescence intensity	Eu^{3+} -ДЦ / Eu^{3+} -DC	Eu^{3+} -ДЦ- AgNp-ЦПХ / Eu^{3+} -DC- AgNp-CPH	Eu^{3+} -ДЦ- AgNp-ДДС / Eu^{3+} -DC- AgNp-DDS	Eu^{3+} -ДЦ- AgNp- Тритон X-100 / Eu^{3+} -DC- AgNp- Triton X-100	Eu^{3+} -ДЦ- AgNp- Твин-80 / Eu^{3+} -DC- AgNp- Twin-80
$I_{\text{фл}} / I_{\text{fl}}$	25	17	37	433	677
$I_{\text{Eu}^{3+}\text{-ДЦ-AgNp-ПАВ}} / I_{\text{Eu}^{3+}\text{-ДЦ}}$ $I_{\text{Eu}^{3+}\text{-DC-AgNp-SAS}} / I_{\text{Eu}^{3+}\text{-DC}}$	1	0.7	1.5	17.0	27.0

Найдены оптимальные условия получения максимального сигнала сенсibilизированной флуоресценции ионов Eu^{3+} в системе Eu^{3+} -ДЦ-Твин-80-AgNp (табл. 2). На основании проведенных исследований предложен флуориметрический способ определения доксициклина с помощью аналитической системы Eu^{3+} -AgNp-Твин-80. Некоторые химико-аналитические характеристики представлены в табл. 3.

Построение градуировочного графика: в шесть пробирок вносят 1.0 мл буферного раствора pH 8–9, 0.2–0.8 мл $1.0 \cdot 10^{-6}$ – $1.0 \cdot 10^{-4}$ М доксициклина, 0.4 мл $1.0 \cdot 10^{-3}$ М раствора соли Eu^{3+} , 0.4 мл 0.1 М Твин-80 $1.0 \cdot 10^{-2}$ М и 0.4 мл $3.3 \cdot 10^{-7}$ М раствора наночастиц серебра, буферный раствор до общего объема 4,0 мл, измеряют интенсивность флуоресценции ($\lambda_{\text{возб}} = 390$ нм, $\lambda_{\text{фл}} = 615$ нм). Измеренные значения используют для построения градуировочного графика.



Таблица 2 / Table 2

Оптимальные условия получения максимального сигнала сенсibilизированной флуоресценции ионов европия
Optimal conditions for obtaining the maximum signal of sensitized fluorescence of europium ions

$C_{Eu^{3+}}$, М	C_{AgNp} , М	$C_{Tvin-80}$, М	pH	$\lambda_{возб}$, нм	$\lambda_{фл}$, нм
$2.5 \cdot 10^{-5}$	$1.0 \cdot 10^{-8}$	$1.0 \cdot 10^{-2}$	8–9	390	615

Таблица 3 / Table 3

Химико-аналитические характеристики флуориметрического способа определения доксициклина
Chemical and analytical characteristics of some fluorimetric methods for determining doxycycline

Аналитическая система / Analytical system	Диапазон определяемых концентраций, М / Range of determined concentrations	pH	R ²	Уравнение градуировочного графика / Calibration graph equation	ПрО, М / Detection limit, М
Eu ³⁺ -ДЦ-Твин-80-AgNp / Eu ³⁺ -DC-Tvin-80-AgNp	$1 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-5}$	8–9	0,999	$Y = 7.0 \cdot 10^4 + 6$	$6 \cdot 10^{-8}$

Определение доксициклина. Предложенный способ флуориметрического определения доксициклина апробирован в анализе природной воды р. Волги, в пробу которой предварительно нами введено определенное количество доксициклина: в пробирку вносят 1.0 мл буферного раствора pH 9, 1–3 мл исследуемой воды, 0.4 мл $1.0 \cdot 10^{-3}$ М соли Eu³⁺, 0.4 мл 0.1 М Твин-80, 0.4 мл $3.3 \cdot 10^{-7}$ М раствора AgNp, буферный раствор до общего объема

4 мл, измеряют интенсивность флуоресценции ($\lambda_{возб} = 390$ нм, $\lambda_{фл} = 615$ нм) и с помощью градуировочного графика определяют содержание доксициклина в воде (табл. 4). Результаты определения доксициклина в речной воде (р. Волга) представлены в табл. 3. Диапазон определяемых концентраций составляет $1.0 \cdot 10^{-7} - 1.0 \cdot 10^{-5}$ М, ПрО составил $6.0 \cdot 10^{-8}$ М. Правильность определения контролировали методом «введено–найдено».

Таблица 4 / Table 4

Результаты определения доксициклина в речной воде (р. Волга, д. Сосновка)

($n = 3$, $P = 0.95$, $t_{табл} = 4.30$)

Determination of doxycycline in river water (Volga river, Sosnovka village)

($n = 3$, $P = 0.95$, $t_{table} = 4.30$)

Введено, мг/л / Introduced, mg/l	Найдено, мг/л / Found, mg/l	S _r	t _{экл} / t _{экр}
46	48.0 ± 12.2	0.10	0.71
34	29.7 ± 8.7	0.12	2.48
23	20.7 ± 3.3	0.06	3.23

Заключение

Установлено влияние наночастиц серебра и мицелл неионогенных поверхностно-активных веществ на эффективность внутримолекулярного переноса энергии возбуждения в комплексе Eu³⁺ с доксициклином. Показано, что интенсивность флуоресценции и эффективность внутримолекулярного переноса энергии возрастает более, чем в 19 раз в присутствии неионогенного Твин-80 в связи с эффективной солюбилизацией хелата в мицеллы

и изменением характера его гидратации. В присутствии наночастиц серебра эффективность внутримолекулярного переноса энергии также увеличивается, но более значимо – в 125 раз, что можно объяснить эффективной адсорбцией комплекса Eu³⁺ на поверхности наночастиц серебра и сокращением расстояния в паре донор–акцептор. Усиление сигнала сенсibilизированной флуоресценции является результатом переноса энергии возбуждения от наночастиц серебра к хелату. Перенос энергии реализуется за счет перекрывания спектра поверхностного



плазмонного резонанса нанокластеров и спектра возбуждения лиганда. В результате воздействия на антибиотик внешнего источника излучения и энергии поверхностного плазмонного резонанса наночастиц возрастает вероятность перехода доксициклина в возбужденное состояние и, соответственно, интенсивность сенсibilизированной флуоресценции. При совместном присутствии мицелл ПАВ и наночастиц серебра наблюдается дополнительное увеличение интенсивности флуоресценции хелата в 27. Это связано, по-видимому, с эффективной сорбцией на поверхности нанокластеров Твин-80 и комплекса европия с доксициклином и влиянием поверхностно-активного вещества на ближайшее окружение флуоресцирующего центра, которое способствует уменьшению гидратации комплекса, удалению молекул тушителей, подавляя процесс диссипации энергии возбуждения. В результате наблюдается рост эффективности внутримолекулярного и межмолекулярного переноса энергии возбуждения.

Предложен способ флуориметрического определения доксициклина с использованием мицелл Твин-80, нанокластеров серебра и ионов Eu^{3+} . Диапазон определяемых концентраций составляет $1.0 \cdot 10^{-7} - 1.0 \cdot 10^{-5}$ М, PrO $6.0 \cdot 10^{-8}$ М. Правильность определения контролировали методом «введено–найдено».

Список литературы

1. Tan H., Chen Y. Silver nanoparticle enhanced fluorescence of europium (III) for detection of tetracycline in milk // *Sensors and Actuators B*. 2012. Vol. 173. P. 262–267. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.06.090>
2. Navratilova P., Borkovcova I., Drackova M., Janstova B., Vorlova L. Occurrence of tetracycline, chlortetracycline and oxytetracycline residues in raw cow's milk // *Czech J. Food Sci.* 2009. Vol. 27, № 5. P. 379–385. <https://doi.org/10.17221/177/2008-CJFS>
3. Zhou J., Xue X., Li Y., Zhang J., Chen F., Wu L., Chen L., Zhao J. Multiresidue determination of tetracycline antibiotics in propolis by using HPLC-UV detection with ultrasonic-assisted extraction and two-step solid phase extraction // *Food Chem.* 2009. Vol. 115, № 3. P. 1074–1080. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.031>
4. Cinquina A. L., Longo F., Anastasi G., Giannetti L., Cozzani R. Validation of a high-performance liquid chromatography method for the determination of oxytetracycline, tetracycline, chlortetracycline and doxycycline in bovine milk and muscle // *J. Chromatogr. A*. 2003. Vol. 987. P. 277–233. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01446-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01446-2)
5. Fritz J. W., Zuo Y. Simultaneous determination of tetracycline, oxytetracycline, and 4-epitetracycline in milk by high-performance liquid chromatography // *Food Chem.* 2007. Vol. 105, № 3. P. 1297–1301. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.047>
6. Hirschy L. M., van Geel T. F., Winefordner J. D. Characteristics of the binding of europium(III) to tetracycline // *Anal. Chim. Acta*. 1985. Vol. 166. P. 207–219.
7. 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. <https://doi.org/10.7868/S0044450213020126>
8. Штыков С. Н. Химический анализ в нанореакторах: основные понятия и применение // *Журн. аналит. химии*. 2002. Т. 57, № 10. С. 1018–1028. ID: 23520679. EDN: TUSHAZ
9. Штыков С. Н., Смирнова Т. Д., Молчанова Ю. В. Синергетические эффекты в системе европий теноилтрифторацетон-1.10-фенантролин в мицеллах блоксополимеров неионных ПАВ и их аналитическое применение // *Журн. аналит. химии*. 2001. Т. 56, № 10. С. 1052–1056. ID: 25074704. EDN: VCSLOX
10. Hongliang T., Yang C. Silver nanoparticle enhanced fluorescence of europium (III) for detection of tetracycline in milk // *Sensors and Actuators B*. 2012. Vol. 173. P. 262–267. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.06.090>
11. Смирнова Т. Д., Желобицкая Е. А., Данилина Т. Г. Люминесцентные свойства доксициклина в присутствии наночастиц серебра, модифицированных ионами европия // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология*. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 370–375. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-4-370-375>
12. Смирнова Т. Д., Желобицкая Е. А., Данилина Т. Г. Влияние поверхностного плазмонного резонанса на флуориметрические свойства молекул и комплексов // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология*. 2017. Т. 17, вып. 2. С. 132–137. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-2-132-137>
13. Смирнова Т. Д., Желобицкая Е. А., Данилина Т. Г., Симбирева Н. А. Флуоресцентные свойства доксициклина в присутствии нанокластеров серебра // *Известия вузов. Химия и химическая технология*. 2021. Т. 64, № 1. С. 34–40. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20216401.6249>
14. Smirnova T. D., Shtykov S. N., Zhelobitskaya E. A. Energy transfer in liquid and solid nanoobjects: Application in luminescent analysis // *Nanoanalytics: Nanoobjects and Nanotechnologies in Analytical Chemistry*. Pt. II: Application in spectrometric methods. Ch. 5 / ed. S. Shtykov. Berlin, Germany : De Gruyter., 2018. P. 131–151.
15. Wang P., Wu T.-H., Zhang Y. Novel silver nanoparticle-enhanced fluorometric determination of trace Tetracyclines in aqueous Solutions // *Talanta*. 2015. Vol. 146. P. 175–180. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.07.065>



16. Wang P., Hong Q., Liu M., Yuan H., Peng Y., Zhao J. Rapid detection of doxycycline content in duck meat by using silver nanoparticles and alkylphenols polyoxyethylene enhanced fluorescence of europium complex // *Spectroscopy Letters*. 2016. Vol. 49, № 9. P. 563–567. <https://doi.org/10.1080/00387010.2016.1167088>
17. Крутяков Ю. А., Кудринский А. А., Оленин А. Ю., Лисичкин Г. В. Синтез и свойства наночастиц серебра: достижения и перспективы // *Успехи химии*. 2008. Т. 77, № 3. С. 233–257. <https://doi.org/10.1070/RC2008v077n03ABEH003751>
18. Uivarosi V. Metal complexes of quinolone antibiotics and their applications: An update // *Molecules*. 2013. Vol. 18, № 9. P. 11153–11197. <https://doi.org/10.3390/molecules180911153>
19. Бабушкина Т. А., Грошева В. И., Золин В. Ф., Коренева Л. Г. Изучение комплексообразования тетрациклина с ионами лантаноидов методами оптической и ЯМР-спектроскопии // *Координационная химия*. 1997. Т. 23, № 9. С. 709–711. ID: 13268398, EDN: LEJEBZ
20. Смирнова Т. Д., Штыков С. Н., Кочубей В. И., Крючкова Е. С. Перенос энергии возбуждения в хелате европия с доксициклином в присутствии второго лиганда в мицеллярных растворах неионогенных ПАВ // *Оптика и спектроскопия*. 2011. Т. 110, № 1. С. 65–71. ID: 15598899, EDN: NDJCYN
6. Hirschy L. M., van Geel T. F., Winefordner J. D. Characteristics of the binding of europium(III) to tetracycline. *Anal. Chim. Acta*, 1985, vol. 166, pp. 207–219.
7. Parashchenko I. I., Smirnova T. D., Shtykov S. N., Kochubei V. I., Zhukova N. N. Doxycycline-sensitized solid-phase Fluorescence of europium on silica in the presence of surfactants. *J. of Analytical Chemistry*, 2013, vol. 68, no. 2, pp. 112–116 (in Russian). <https://doi.org/10.7868/S0044450213020126>
8. Shtykov S. N. Chemical analysis in nanoreactors: Main concepts and applications. *J. Analyt. Chem.*, 2002, vol. 57, no. 10, pp. 859–868 (in Russian). ID: 25074704, EDN: VCSLOX
9. Shtykov C. N., Smirnova T. D., Molchanova Yu. V. Synergistic effects in the europium (III)–thenoyltrifluoroacetyone-1,10-phenanthroline System in micelles of block copolymers of nonionic surfactants and their analytical applications. *J. Analyt. Chem.*, 2001, vol. 56, no. 10, pp. 920–924 (in Russian). ID: 25074704. EDN: VCSLOX
10. Hongliang T., Yang C. Silver nanoparticle enhanced fluorescence of europium (III) for detection of tetracycline in milk. *Sensors and Actuators B*, 2012, vol. 173, pp. 262–267. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.06.090>
11. Smirnova T. D., Zhelobitskaya E. A., Danilina T. G. Luminescent properties of doxycycline in the presence of silver nanoparticles modified by ions of europium. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 370–375 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-4-370-375>
12. Smirnova T. D., Zhelobitskaya E. A., Danilina T. G. Effect of Surface Plasmon Resonance in the Fluorometric Properties of Molecules and Complexes. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 2, pp. 132–137 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-2-132-137>
13. Smirnova T. D., Zhelobitskaya E. A., Danilina T. G., Simbireva N. A. Fluorescent properties of doxycycline in presence of silver nanoclusters. *J. Chem. Chem. Tech.*, 2021, vol. 64, no. 1, pp. 34–40 (in Russian). <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20216401.6249>
14. Smirnova T. D., Shtykov S. N., Zhelobitskaya E. A. Energy transfer in liquid and solid nanoobjects: Application in luminescent analysis. In: Shtykov S., ed. *Nanoanalytics: Nanoobjects and Nanotechnologies in Analytical Chemistry. Pt. II: Application in spectrometric methods. Ch. 5*. Berlin, Germany, De Gruyter., 2018, pp. 131–151.
15. Wang P., Wu T.-H., Zhang Y. Novel silver nanoparticle-enhanced fluorometric determination of trace Tetracyclines in aqueous Solutions. *Talanta*, 2015, vol. 146, pp. 175–180. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.07.065>
16. Wang P., Hong Q., Liu M., Yuan H., Peng Y., Zhao J. Rapid detection of doxycycline content in duck meat by using silver nanoparticles and alkylphenols polyoxyethylene enhanced fluorescence of europium complex. *Spectroscopy Letters*, 2016, vol. 49, no. 9, pp. 563–567. <https://doi.org/10.1080/00387010.2016.1167088>

References

1. Tan H., Chen Y. Silver nanoparticle enhanced fluorescence of europium (III) for detection of tetracycline in milk. *Sensors and Actuators B*, 2012, vol. 173, pp. 262–267. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.06.090>
2. Navratilova P., Borkovcova I., Drackova M., Janstova B., Vorlova L. Occurrence of tetracycline, chlortetracycline and oxytetracycline residues in raw cow's milk. *Czech J. Food Sci.*, 2009, vol. 27, no. 5, pp. 379–385. <https://doi.org/10.17221/177/2008-CJFS>
3. Zhou J., Xue X., Li Y., Zhang J., Chen F., Wu L., Chen L., Zhao J. Multiresidue determination of tetracycline antibiotics in propolis by using HPLC-UV detection with ultrasonic-assisted extraction and two-step solid phase extraction. *Food Chem.*, 2009, vol. 115, pp. 1074–1080. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.031>
4. Cinquina A. L., Longo F., Anastasi G., Giannetti L., Cozzani R. Validation of a high-performance liquid chromatography method for the determination of oxytetracycline, tetracycline, chlortetracycline and doxycycline in bovine milk and muscle. *J. Chromatogr. A*, 2003, vol. 987, pp. 277–233. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01446-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01446-2)
5. Fritz J. W., Zuo Y. Simultaneous determination of tetracycline, oxytetracycline, and 4-epitetracycline in milk by high-performance liquid chromatography. *Food Chem.*, 2007, vol. 105, pp. 1297–1301. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.047>



17. Krutyakov Yu. A., Kudrinskiy A. A., Olenin A. Yu., Lisichkin. G. V. Synthesis and properties of silver nanoparticles: Advances and prospects. *Russ. Chem. Rev.*, 2008, vol. 77, no. 3, pp. 233–257 (in Russian). <https://doi.org/10.1070/RC2008v077n03ABEH003751>
18. Uivarosi V. Metal complexes of quinolone antibiotics and their applications: An update. *Molecules*, 2013, vol. 18, no. 9, pp. 11153–11197. <https://doi.org/10.3390/molecules180911153>
19. Babushkina T. A., Grosheva V. I., Zolin V. F., Koreneva L. G. Optical and NMR Spectroscopy studies of complexation between tetracycline and lanthanide ions. *Russian J. of Coordination Chemistry*, 1997, vol. 23, no. 9, pp. 666–668 (in Russian). ID: 13268398, EDN: LEJEBZ
20. Smirnova T. D., Shtykov C. N., Kochubei V. I., Khrychkova E. S. Excitation energy transfer in europium chelate with Doxycycline in the presence of a second Ligand in Micellar Solutions of nonionic surfacants. *Optics and Spectroscopy*, 2011, vol. 110, no. 1, pp. 60–66 (in Russian). ID: 15598899. EDN: NDJCYN

Поступила в редакцию: 25.06.2024; одобрена после рецензирования 08.07.2024;
принята к публикации 18.07.2024; опубликована 25.12.2024
The article was submitted 25.06.2024; approved after reviewing 08.07.2024;
accepted for publication 18.07.2024; опубликована 25.12.2024