

Міністерство освіти і науки України  
Департамент освіти і науки Харківської обласної державної адміністрації  
Комунальний заклад «Харківська обласна Мала академія наук  
Харківської обласної ради»

Відділення хімії та біології  
Секція: загальна та неорганічна хімія

**СПЕКТРОФОТО- ТА ФЛУОРИМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ РТУТІ  
ЗА ДОПОМОГОЮ НОВОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БАРВНИКА НА  
ОСНОВІ ГЕМІСКВАРАЇНУ**

Роботу виконала:

Колосова Олександра Максимівна, учениця  
10 класу Комунального закладу  
«Харківський ліцей № 89 Харківської  
міської ради»

Наукові керівники:

Колосова Ольга Сергіївна, старший  
дослідник Науково-технологічного  
комплексу «Інститут монокристалів»  
Національної академії наук України,  
кандидат хімічних наук

Віценцик Анна Володимирівна, вчитель  
хімії Комунального закладу «Харківський  
ліцей № 89 Харківської міської ради»,  
Заслужений вчитель України

## СПЕКТРОФОТО- ТА ФЛУОРИМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ РТУТІ ЗА ДОПОМОГОЮ НОВОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БАРВНИКА НА ОСНОВІ ГЕМІСКВАРАЇНУ

**Колосова Олександра Максимівна**, учениця 10 класу Комунальний заклад «Харківський ліцей №89 Харківської міської ради»;

**Колосова Ольга Сергіївна**, старший дослідник Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» Національної академії наук України, кандидат хімічних наук;

**Віценцик Анна Володимирівна**, учитель хімії Комунального закладу «Харківський ліцей № 89 Харківської міської ради», Заслужений вчитель України

Враховуючи небезпеки, пов'язані із забрудненням навколишнього середовища токсичними елементами, зокрема Меркурієм, який має тенденцію накопичуватися в природному харчовому ланцюзі та перетворюватися на більш шкідливі речовини, розробка нових і вдосконалення існуючих методів для виявлення цих елементів є критично необхідними.

Дуже перспективними для визначення вмісту ртуті є хемосенсиори, які здатні специфічно з нею утворювати комплекси, що супроводжується зміною властивостей хемосенсору, зокрема його спектральних властивостей, а саме оптичного поглинання та флуоресценції. Метою нашої роботи стало дослідження можливостей нового хемосенсору на основі гемісквараїнового барвника до визначення Меркурію у водних розчинах. Для цього проводили вимірювання спектрів поглинання та флуоресценції барвника в залежності від вмісту ртуті. За зміною цих властивостей можна побудувати концентраційну залежність, а також визначити основні аналітичні параметри сенсору, зокрема спосіб зв'язування барвника у комплексі, що утворюється, та його чутливість.

**Ключові слова:** ртуть, хемосенсор, оптичне поглинання, флуоресценція, гемісквараїновий барвник, титрування.

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	6
1.1. Огляд існуючих методів визначення концентрації ртуті .....	6
1.2. Використання хемосенсорів для визначення концентрації ртуті (II) .....	7
РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	10
2.1. Вимірювання спектрів поглинання .....	10
2.2. Вимірювання спектрів флуоресценції .....	11
РОЗДІЛ 3. ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ РОБОТИ .....	13
3.1. Поглинання та флуоресценція гемісквараїнового барвника.....	13
3.2. Спектрофотометричне та флуориметричне титрування .....	15
3.3. Аналітичні параметри нового сенсору на основі гемісквараїну RS-SH-1B при визначенні концентрації ртуті у розчині.....	17
ВИСНОВКИ .....	20
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	21

## ВСТУП

**Актуальність роботи:** створення нових та вдосконалення існуючих методів визначення наявності токсичних елементів, особливо Меркурію, наразі є дуже важливим питанням, якщо зважати на забруднення ними навколишнього середовища. Ця проблема постає особливо гостро через тенденції вказаних елементів до біоаккумуляції в природному харчовому ланцюзі та біотрансформації у більш токсичні речовини. Ртуть є токсичним важким металом, і її виявлення має велике значення для моніторингу навколишнього середовища, промислових процесів і аналітичної хімії.

Хемосенсиори для визначення іонів ртуті – це спеціальні молекули або матеріали, призначені для вибіркового виявлення та кількісного визначення присутності іонів  $\text{Hg}^{2+}$  у досліджуваному зразку. Вони здатні специфічно утворювати з аналізованими іонами комплекси, що супроводжується зміною спектральних властивостей хемосенсору, а саме оптичного поглинання та флуоресценції. Хемосенсиори для іонів  $\text{Hg}^{2+}$  часто виявляють високу чутливість, вибірковість і швидку реакцію.

**Мета роботи:** розробка методу визначення іонів ртуті за допомогою нового хемосенсору на основі гемісквараїнового барвника.

Для цього проводили вимірювання спектрів поглинання та флуоресценції розчинів барвника з різною концентрацією катіонів  $\text{Hg}^{2+}$  у розчині. За зміною спектрів будували концентраційну залежність, а також визначили основні аналітичні параметри сенсору, зокрема стехіометрію зв'язування барвника з іоном-аналітом, чутливість та селективність, а також аналітичні параметри визначення.

### **Завдання дослідження:**

1. Літературний пошук сучасних методів визначення вмісту ртуті та вибір найбільш ефективних серед них.
2. Дослідження спектральних властивостей нового хемосенсору на основі гемісквараїнового барвника та їхніх змін при взаємодії з солями ртуті. Дослідження комплексу, що утворюється, встановлення стехіометрії.

3. Розробка лабораторної методики визначення вмісту ртуті із застосуванням нового флуоресцентного барвника на основі гемісквараїну.

Таким чином, **предметом** дослідження є новий флуоресцентний барвник на основі гемісквараїну, а об'єктом – його спектральні властивості та їхня зміна в залежності від комплексоутворення з іонами ртуті.

**Методи дослідження:** спектрофотометрія, флуорометрія та комплексометричне титрування.

В ході виконання роботи отримано такі результати:

- Показано, що новий гемісквараїновий барвник **RS-SH-1B** є чутливим до присутності катіонів ртуті(II), і може використовуватись для якісного та кількісного визначення іонів ртуті у водному розчині та її концентрації.

- Показано, що при додаванні іонів ртуті(II) до розчину гемісквараїнового барвника **RS-SH-1B** відбувається довгохвильовий зсув спектрів поглинання на 6 нм, а також гасіння флуоресценції ліганда.

- Встановлено, що комплекс барвника **RS-SH-1B** з ртуттю утворюється у співвідношенні 1 молекула барвника на один катіон  $\text{Hg}^{2+}$ .

- Розроблено флуоресцентний метод для визначення ртуті, який є чутливим у межах концентрацій  $\text{Hg}^{2+}$ : від 0 до 1.0  $\mu\text{M}$ . Межа виявлення  $\text{Hg}^{2+}$  для метода, що було розроблено у роботі, дорівнює 0.024  $\mu\text{M}$  або 4.8  $\mu\text{g/l}$ .

При виконанні роботи було використано сучасні фізико-хімічні методи та обладнання.

**Практичне значення роботи:** завдяки тому, що дані, отримані в ході дослідження можуть бути використані для розповсюдження розробленого методу визначення токсичних іонів ртуті на об'єкти навколишнього середовища, харчові та фармакологічні продукти.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Меркурій (Hg) є важким металом, який становить серйозну небезпеку для здоров'я людей і екосистем, якщо його вміст перевищує встановлені ГДК. Забруднення навколишнього середовища іонами ртуті пов'язано в основному з антропогенними чинниками. Агентство з охорони навколишнього середовища США встановило межу безпеки ртуті (у будь-якій формі) у питній воді на рівні 2  $\mu\text{г/л}$  [1], саме тому для визначення вмісту ртуті потрібно використовувати надзвичайно чутливі методи. Дуже важливо дотримуватися цих обмежень, щоб мінімізувати ризики для здоров'я та навколишнього середовища, пов'язані із забрудненням ртуттю. Контроль вмісту ртуті може здійснюватися за допомогою різноманітних методів аналізу. Вибір методу залежить від типу матеріалу, що аналізується, та потреб конкретної ситуації. Розглянемо основні, найбільш вживані методи.

#### **1.1. Огляд існуючих методів визначення концентрації ртуті**

В літературних джерелах повідомляється про різні методи визначення вмісту ртуті. Як правило, методи, які використовуються для виявлення та вимірювання концентрації, залежать від характеристик і форми, в якій ртуть знаходиться в об'єкті, що досліджується. До найбільш традиційних методів дослідження вмісту ртуті належать атомно-абсорбційна спектроскопія [1, 2], мас-спектрометрія з індуктивно зв'язаною плазмою [1], а також селективна атомна флуоресцентна спектрометрія з холодною парою [1]. Зазвичай вони дають надзвичайно точний результат, але їх недолік полягає у потребі використання дорогих приладів та складних етапів підготовки зразка, що аналізують. Саме з цих причин питання розробки нових та удосконалення вже існуючих методів, що потребують менше ресурсних затрат, було та залишається актуальним.

До вже існуючих методів, що є більш зручними у своїй реалізації, відносяться колориметричні [1-4], та/або флуориметричні [6, 7, 8, 3]. Серед їхніх переваг є можливість виявлення аналіту навіть неозброєним оком, або використання недорогих приладів, а також висока чутливість та придатність для вжитку в польових умовах і зручність у застосуванні.

Колориметричні хемосенсиори зазнають зміни кольору в присутності іонів Hg. Ці сполуки часто є специфічними лігандами, які взаємодіють з іонами Hg, що призводить до зміни спектра поглинання.

Більш перспективний підхід до визначення катіонів токсичних металів в об'єктах навколишнього середовища, а також у харчовій та фармацевтичній продукції ґрунтується на флуоресцентних методах. Флуоресцентні хемосенсиори випромінюють світло певної довжини хвилі під дією ультрафіолетового або видимого світла. У присутності іонів  $\text{Hg}^{2+}$  властивості флуоресценції цих датчиків можуть бути змінені. Ця зміна інтенсивності флуоресценції або довжини хвилі може бути визначена кількісно, щоб знайти концентрацію іонів  $\text{Hg}^{2+}$  у зразку. Флуоресцентні хемосенсиори вирізняються більш високою чутливістю, надійністю, простотою використання, безпечністю, екологічною чистотою та малою вартістю.

## **1.2. Використання хемосенсорів для визначення концентрації ртуті (II)**

Неорганічні або органічні хімічні сенсори – це хімічні речовини, які при взаємодії з субстратом специфічно змінюють вже існуючі, або виявляють нові фізико-хімічні властивості. Фіксація та вимірювання таких сигналів дозволяють визначити якісний і кількісний вміст аналіту, що визначається у відібраному зразку (в нашому випадку цим аналітом є іони  $\text{Hg}^{2+}$ ).

В основі спектральних аналітичних технологій лежить використання оптичних хемосенсорів – органічних сполук, молекули яких містять рецептор, здатний до селективної взаємодії з субстратом (наприклад, з катіонами токсичних металів), та сигнальний фрагмент (хромофор), що змінює свої спектральні властивості (спектри поглинання, флуоресценції тощо) при зв'язуванні з субстратом [3]. Зміни

спектральних властивостей сенсора при утворенні комплексу відбуваються за рахунок реалізації різних фотофізичних механізмів, зокрема фотоіндукованого переносу електрону або внутрішньомолекулярного перерозподілу заряду при утворенні комплексу [3]. Це свідчить про те, що зв'язування з катіоном металу викликає зміни в електронній будові хромофорної частини молекули сенсору.

Значні зусилля були вкладені в розробку низькомолекулярних флуоресцентних органічних сенсорів, які можна використовувати для визначення  $\text{Hg}^{2+}$ . В літературі є відомості про сенсори на основі родаміну, пірену, нафталіміду, *біс*-піренілу, терфенілу, нафтілтіосечовини, тощо [3-8]. Через погану розчинність у воді більшість із них вимагають використання органічних розчинників при проведенні аналізів або вимагають тривалого часу реакції при підвищених температурах, але такі вимоги розглядаються як обмеження, оскільки в біологічному та екологічному середовищах катіон  $\text{Hg}^{2+}$  зазвичай присутній у водному розчині. Тому велика увага приділяється розробці нових сенсорів на  $\text{Hg}^{2+}$  з високою розчинністю у воді, а також сприятливими аналітичними характеристиками.

Перспективними в цьому сенсі є хемосенсори, створені на основі сквараїнових барвників. Ці барвники відрізняються високою фотостабільністю, мають інтенсивні смуги поглинання [7], крім того, можливість легко модифікувати їхню структуру дозволяє створювати сполуки з високою водорозчинністю на їхній основі.

Багато хемосенсорів для визначення іонів ртуті містять хелатні фрагменти. Хелатування передбачає утворення координаційних зв'язків між центральним іоном металу (у цьому випадку це ртуть) та двома або більше донорними атомами в ліганді. Хелатні ліганди розроблені таким чином, щоб мати специфічні сайти зв'язування, які можуть ефективно захоплювати й утворювати стабільні комплекси з іонами металів. Як приклад хелатуючих фрагментів можна назвати тіольні групи ( $-\text{SH}$ ), які мають сильну спорідненість до іонів ртуті, і вони часто включені в ліганди для утворення стабільних комплексів з  $\text{Hg}^{2+}$ .

Ці хелатні фрагменти забезпечують специфічні сайти зв'язування іонів ртуті, що дозволяє розробляти хемосенсори з високою селективністю. Зв'язування іонів ртуті з цими хелатними лігандами часто приводить до змін його характеристик, таких як колір, флуоресценція або електрохімічний потенціал. Ці зміни можна виміряти та



співвіднести з концентрацією іонів ртуті в зразку, що забезпечує чутливе та вибіркоче виявлення.

## РОЗДІЛ 2

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Спектрофотометричний метод аналізу ґрунтується на загальному принципі – пропорціональній залежності між світлопоглинанням речовини, її концентрації і товщини поглинаючого шару. Отримані величини оптичної густини можуть бути використані як для якісної характеристики речовини, так і для кількісного визначення в розчині чи в суміші з іншими речовинами [20].

Флуориметрія (люмінесцентний аналіз) заснований на вимірюванні випромінювання, що виникає в результаті взаємодії світла з аналітом. Для виникнення явища люмінесценції молекули речовини необхідно перевести з основного стану в збуджений з тривалістю його існування, достатньою для здійснення радіаційного електронного переходу зі збудженого стану в основний. Цей метод дозволяє проводити визначення концентрації речовини по інтенсивності флуоресценції, що виникає після поглинання ним енергії збуджуючого випромінювання. Принцип методу флуориметрії полягає в пропорційності між інтенсивністю флуоресценції аналізованого зразка і кількістю речовини, що визначається [21].

#### 2.1. Вимірювання спектрів поглинання

Електронні спектри поглинання вимірювали при кімнатній температурі на спектрофотометрі *Perkin–Elmer Lambda 35 UV/Vis* в стандартних кварцових кюветах з довжиною оптичного шляху в 1 см. Максимуми поглинання були визначені з точністю  $\pm 0.5$  нм.

Спектрофотометричне титрування проводили шляхом додавання порцій 30  $\mu\text{M}$  розчину  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ , стабілізованого нітратною кислотою, об'ємом по 5  $\mu\text{л}$  до 3005  $\mu\text{л}$  0.976  $\mu\text{M}$  розчину гемісквараїнового барвника з наступним вимірюванням спектрів поглинання отриманого розчину. З урахуванням розведення за рахунок додавання аліквот розчину ртуті було отримано 21 розчин 0; 0.080; 0.159; 0.239; 0.318; 0.397; 0.475; 0.554; 0.632; 0.709; 0.787; 0.864; 0.941; 1.018; 1.094; 1.171; 1.247; 1.323; 1.398; 1.473; 1.548  $\mu\text{M}$  нітрату ртуті. Концентрацію гемісквараїнового барвника у першому розчині визначали за законом Бугера–Ламберта–Бера:  $A = \varepsilon cl$ , використовуючи

коефіцієнт молярного поглинання барвника ( $10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ). У подальшому зменшення концентрації сенсора за рахунок розведення враховували шляхом множення аналітичного сигналу (оптичної густини при довжині хвилі 483 та 489 нм) на коефіцієнт розведення.

Для встановлення хімічної рівноваги кожен розчин перед вимірюванням витримували протягом 10 хвилин. Усі вимірювання спектрів поглинання проводили по 3 рази для кожного зразка і усереднювали.

## 2.2. Вимірювання спектрів флуоресценції

Спектри флуоресценції та квантові виходи барвників вимірювали при кімнатній температурі на спектрофлуориметрі *Varian Cary Eclipse* у стандартних кварцових кюветах з довжиною оптичного шляху в 1 см. Довжина хвилі збудження флуоресценції складала 460 нм. Усі експериментальні спектри флуоресценції корегувались з урахуванням спектральної чутливості приладу. Максимуми спектрів флуоресценції визначені з точністю  $\pm 1$  нм.

Для флуориметричного титрування використовували ті ж самі розчини, що і для спектрофотометричного титрування (див. вище). Для кожного розчину проводили вимірювання спектру флуоресценції. Концентрацію гемісквараїнового барвника у першому розчині визначали за його поглинанням (див. вище). У подальшому зменшення концентрації сенсора за рахунок розведення враховували шляхом множення аналітичного сигналу (інтенсивність флуоресценції при довжині хвилі 503 нм) на коефіцієнт розведення

Для калібрувального графіку для визначення вмісту ртуті у зразку готували серію стандартних розчинів 0; 0.10; 0.20; 0.30; 0.40; 0.50; 0.60; 0.70; 0.80; 0.90; 0.10  $\mu\text{M}$   $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ , використовуючи розраховані об'єми стандартного 30  $\mu\text{M}$  розчину нітрату ртуті, стабілізованого нітратною кислотою.

Для приготування досліджуваного розчину до 2975  $\mu\text{l}$  розчину гемісквараїнового барвника  $c = 1 \mu\text{M}$  (яку визначали за його поглинанням) додавали 25  $\mu\text{l}$  стандартного 30  $\mu\text{M}$  розчину  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ , стабілізованого нітратною кислотою. Концентрація  $\text{Hg}^{2+}$  в такому розчині складає 0.25  $\mu\text{M}$ . Потім вимірювали спектри флуоресценції для кожного з розчинів: стандартного та того, що досліджували.

Усі вимірювання спектрів флуоресценції проводили по 3 рази для кожного зразка і усереднювали.

## РОЗДІЛ 3

### ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ РОБОТИ

Нещодавно у відділі люмінесцентних матеріалів та барвників ім. Б.М. Красовицького ДНУ “НТК «Інститут монокристалів»” НАН України було розроблено серію гемісквараїнових барвників, що є чутливими до мікрооточення (в’язкість, полярність, тощо) [ ].

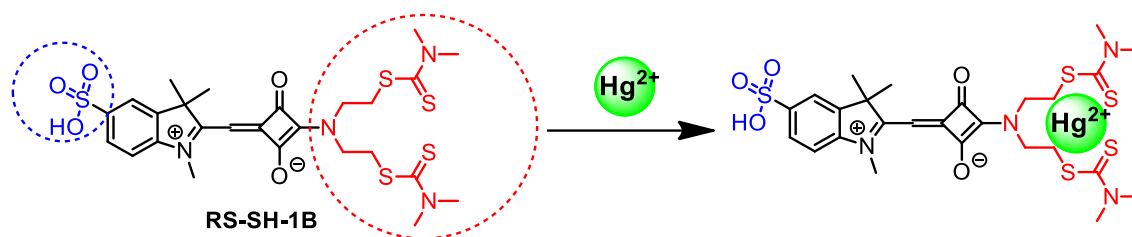


Рисунок 3.1. Структура барвника **RS-SH-1B**. Червоним кольором показаний дитіокарбаматний хелатуючий фрагмент, а синім – сульфогрупа.

Гемісквараїновий барвник **RS-SH-1B** (рис. 3.1) містить дитіокарбаматний фрагмент, який за рахунок наявності атомів Сульфуру має хелатуючі властивості і потенційно може зв’язувати іони  $\text{Hg}^{2+}$ . Також цей барвник за рахунок наявності сульфогрупи є водорозчинним. Поєднання цих двох особливостей структури робить барвник **RS-SH-1B** перспективним для використання для визначення іонів ртуті (II) у водних розчинах.

#### 3.1. Поглинання та флуоресценція гемісквараїнового барвника

Гемісквараїн **RS-SH-1B** проявляє свою чутливість до присутності іонів ртуті (II) зміною кольору розчину з жовтого на світло-помаранчевий. Таку зміну викликано утворенням комплексу гемісквараїновий барвник–ртуть. У водному розчині довгохвильова смуга поглинання барвника **RS-SH-1B** знаходиться в області 482 нм (рис. 3.2а, синя лінія), а при додаванні розчину солі ртуті спостерігається довгохвильове (батохромне зміщення) цієї смуги на 6 нм та збільшення інтенсивності

поглинання в 1.1 рази. Максимум довжини хвилі поглинання комплексу у воді дорівнює 489 нм (рис. 3.2а, червона лінія).

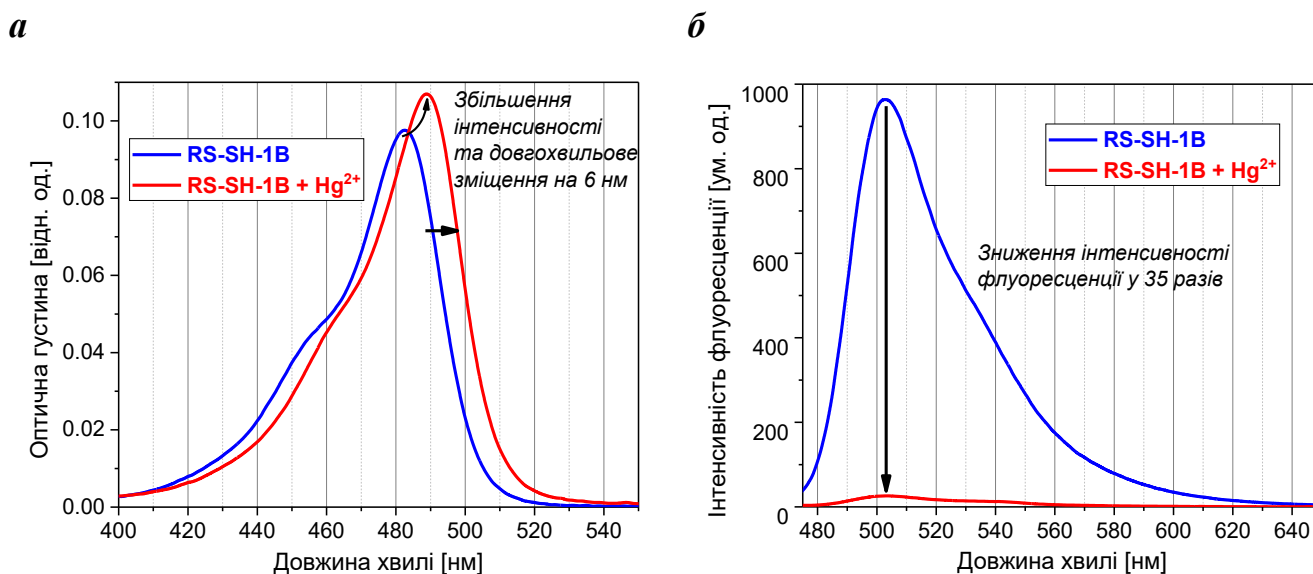


Рис. 3.2. Зміна спектрів поглинання (а) та флуоресценції (б) барвника **RS-SH-1B** при додаванні солі ртуті.

Спектри флуоресценції барвника **RS-SH-1B** також зазнають змін при додаванні солей ртуті. Так, у водному розчині спостерігається досить інтенсивна флуоресценція гемісквараїну **RS-SH-1B** при 503 нм (рис. 3.2б, синя лінія). При додаванні надлишку солі ртуті смуга флуоресценції **RS-SH-1B** не змінює свого положення, але її інтенсивність в максимумі знижується майже у 35 разів (рис. 3.2б, червона лінія). Це свідчить про те, що утворення комплексу гемісквараїновий барвник–ртуть супроводжується практично повним гасінням флуоресценції.

Можна припустити, що зміщення смуги поглинання та гасіння флуоресценції при додаванні ртуті до розчину барвника **RS-SH-1B** можна використовувати не тільки для якісного виявлення наявності ртуті у розчині, але й для визначення її концентрації у розчині. Але для кількісних оцінок необхідно визначити стехіометрію утворення комплексу, що ми робили на наступному етапі роботи.

### 3.2. Спектрофотометричне та флуориметричне титрування

Для дослідження співвідношення сенсор **RS-SH-1B**: ртуть при утворенні комплексу, а також для визначення робочого діапазону сенсора ми провели фотометричне та флуориметричне титрування розчину барвника **RS-SH-1B** (початкова концентрація барвника:  $c_{\text{барвн.}} = 0.976 \mu\text{M}$ ) розчинами з концентрацією  $\text{Hg}^{2+}$  від 0.08 до 1.55  $\mu\text{M}$ .

На рис. 3.3. представлено, як змінювались спектри поглинання барвника **RS-SH-1B** при додаванні аліквот розчину ртуті до розчину барвника, тобто, при постійному збільшенні концентрації  $\text{Hg}^{2+}$  (рис. 3.3a).

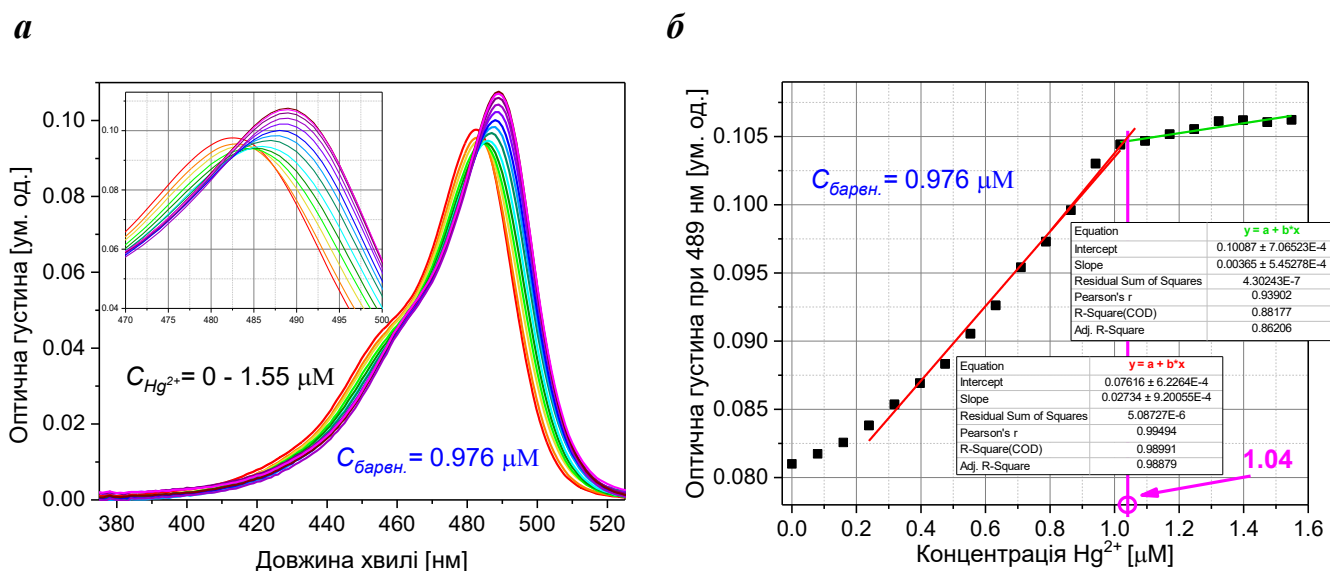


Рис. 3.3. Спектрофотометричне титрування барвника **RS-SH-1B**

( $c_{\text{барвн.}} = 0.976 \mu\text{M}$ ) розчинами ртуті (II): спектри поглинання при додаванні аліквот  $\text{Hg}^{2+}$  (а) та залежність зміни оптичної густини при 489 нм від концентрації  $\text{Hg}^{2+}$  (значення оптичної густини для побудування цього графіку коригувалися на розведення барвника за рахунок зміни об'єму розчину) (б).

При збільшенні концентрації іонів  $\text{Hg}^{2+}$  у розчині інтенсивність смуги поглинання вільного барвника **RS-SH-1B** при 483 нм спочатку зменшується і після проходження ізобестичної точки поступово зростає. При цьому смуга зміщується до довжини хвилі 489 нм. Це пов'язано з утворенням комплексу барвника **RS-SH-1B** з іонами  $\text{Hg}^{2+}$ . Для побудування залежності зміни оптичної густини від концентрації  $\text{Hg}^{2+}$  ми обрали довжину хвилі 489 нм, тому що в цій області зміни більш істотні, ніж

при 483 нм, що супроводжується меншими похибками. Починаючи з певної концентрації іонів ртуті ( $c_{\text{ртуті}} \approx 1.04 \mu\text{M}$ ) у розчині, барвник **RS-SH-1B** майже повністю знаходиться у комплексі, про що свідчить відсутність суттєвих змін інтенсивності смуги при 489 нм при подальшому додаванні ртуті. Беручи до уваги те, що початкова концентрація барвника у розчині була  $0.976 \mu\text{M}$ , і за рахунок розведення вона зменшилась незначно (до  $\sim 0.97 \mu\text{M}$ ), можна зробити висновок, що стехіометрія комплексу складає приблизно 1 молекула барвника **RS-SH-1B** на 1 катіон ртуті (II). У діапазоні концентрацій  $\text{Hg}^{2+}$   $0.3\text{--}1.0 \mu\text{M}$  спостерігається лінійність зміни оптичної густини при 489 нм від концентрації іонів  $\text{Hg}^{2+}$  з коефіцієнтом кореляції  $0.9888$ , тому кількісне визначення ртуті (II) краще проводити в цьому діапазоні [8]. Нахил лінійної залежності дозволяє оцінити чутливість [ ], з якою можна проводити аналіз, її визначають як тангенс куту нахилу (величину коефіцієнту  $b$  у рівнянні прямої), і в цьому випадку він дорівнює  $0.027 \mu\text{M}^{-1}$ .

Флуориметричне титрування було проведене для тих самих розчинів, що і спектрофотометричне (рис. 3.4).

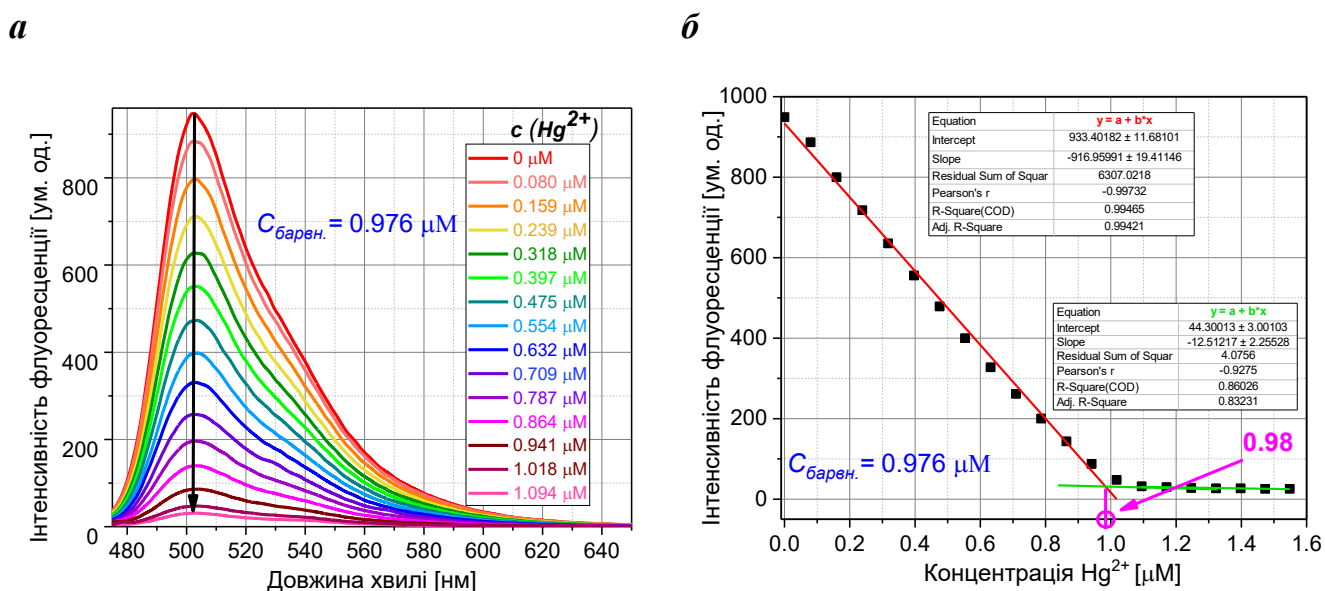


Рис. 3.4. Флуориметричне титрування барвника **RS-SH-1B** ( $c_{\text{барвн.}} = 0.976 \mu\text{M}$ ) розчином ртуті: спектри флуоресценції при додаванні аліквот  $\text{Hg}^{2+}$  (а) та залежності зміни інтенсивності флуоресценції в максимумі при 503 нм від концентрації  $\text{Hg}^{2+}$  (інтенсивність флуоресценції для побудування цього графіку коригували на розведення барвника за рахунок зміни об'єму розчину) (б)



У діапазоні концентрацій  $\text{Hg}^{2+}$  0–1.0  $\mu\text{M}$  спостерігається лінійність зміни інтенсивності флуоресценції барвника від концентрації іонів  $\text{Hg}^{2+}$  з коефіцієнтом кореляції 0.9942, тому цей діапазон концентрацій підходить для кількісного визначення ртуті (II). Він є ширшим в області низьких значень концентрацій порівняно з діапазоном, що було отримано під час спектрофотометричного титрування. Щодо чутливості, при реєстрації флуоресцентного сигналу вона значно вища:  $917 \mu\text{M}^{-1}$  порівняно з  $0.027 \mu\text{M}^{-1}$ .

### 3.3. Аналітичні параметри нового сенсору на основі геміскваріну RS-SH-1B при визначенні концентрації ртуті у розчині

Для встановлення аналітичних параметрів сенсору **RS-SH-1B** був проведений спектрофлуориметричний аналіз вмісту катіонів ртуті (II) у водному розчині із залученням методу калібрувального графіку. Для цього ми вимірювали спектри флуоресценції (рис. 3.5а) 11 розчинів, в яких концентрація барвника **RS-SH-1B** складала 1  $\mu\text{M}$ , а концентрація  $\text{Hg}^{2+}$  змінювалась послідовно від 0 до 1.0  $\mu\text{M}$   $\text{Hg}^{2+}$  з шагом 0.10  $\mu\text{M}$ . Для кожного з розчинів визначали інтенсивність флуоресценції в максимумі (503 нм) та за цими даними будували калібрувальний графік (рис. 3.5б).

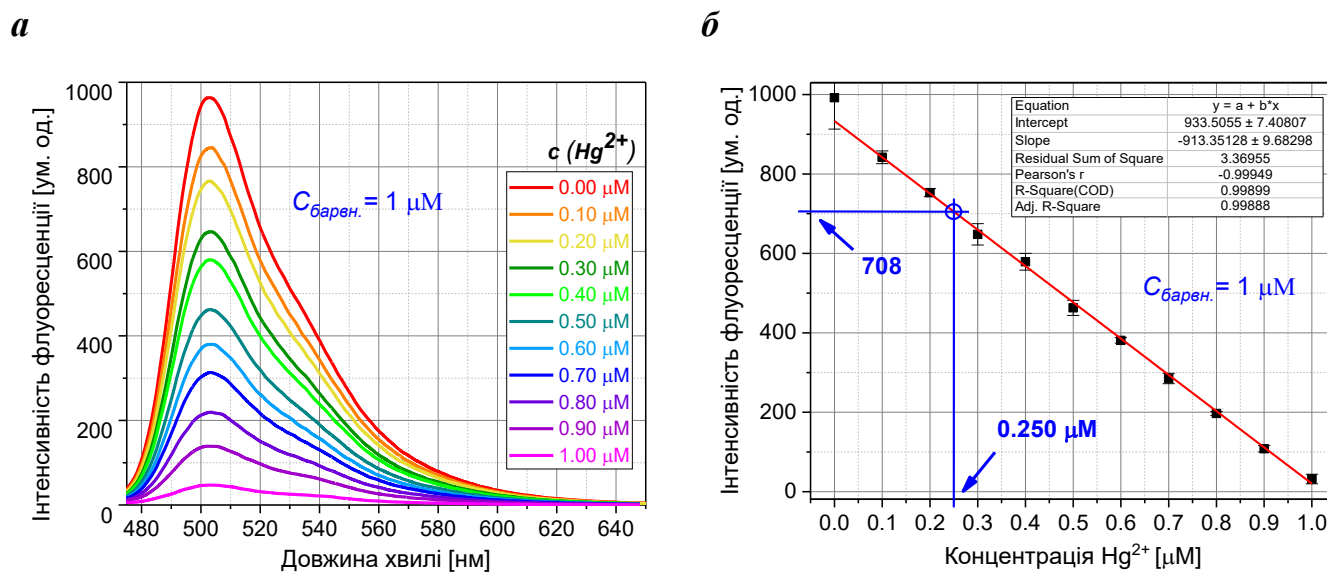


Рис. 3.5. Спектри флуоресценції (**а**) та калібрувальна залежність інтенсивності флуоресценції барвника **RS-SH-1B** від концентрації  $\text{Hg}^{2+}$  (**б**).

Калібрувальний графік добре описується прямою лінією з коефіцієнтом кореляції 0.9989. Апроксимацією методом найменших квадратів було отримано лінійну залежність інтенсивності флуоресценції від концентрації  $\text{Hg}^{2+}$ :  $I = 933 - 913 \cdot c_{\text{Hg}^{2+}}$ . Концентрацію досліджуваної речовини можна знаходити або за допомогою калібрувального графіка, або розрахунком за отриманим рівнянням прямої. Для вимірюваного значення інтенсивності флуоресценції ( $708 \pm 18$  ум. од.) графічним методом ми отримали результат приблизно  $0.250 \mu\text{M}$ , а шляхом розрахунку за рівнянням –  $0.246 \pm 0.019 \mu\text{M}$ ; саме  $0.25 \mu\text{M}$   $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  розчин було приготовано для проведення дослідження.

Чутливість методики дорівнює  $913 \mu\text{M}^{-1}$ , а визначення концентрації ртуті можна проводити в діапазоні до  $1.0 \mu\text{M}$ .

Для характеристики методу, окрім чутливості та робочого діапазону концентрацій ми визначили ще межу виявлення. Це найнижча концентрація аналіту, яку можна виявити вказаним методом [9]. Один з найбільш уживаних методів визначення межі виявлення є розрахунок за формулою:  $(3.3 \cdot \sigma)/b$ , де  $\sigma$  – це стандартне відхилення коефіцієнту  $a$  (в нашому випадку дорівнює 7.41), а  $b$  – тангенс куту нахилу прямої (в нашому випадку дорівнює 913). Для методу, що було розроблено в цій роботі, межа визначення  $\text{Hg}^{2+}$  дорівнює  $0.024 \mu\text{M}$  або  $4.8 \mu\text{г/л}$ .

Селективність сенсору саме до іонів ртуті було перевірено з використанням солей лужних ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ), лужноземельних ( $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ), перехідних ( $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) металів, а також  $\text{Pb}^{2+}$  і  $\text{Al}^{3+}$ . Для цього вимірювали спектри флуоресценції барвника **RS-SH-1B** у  $100 \mu\text{M}$  розчинах цих металів, а також у розчині  $10 \mu\text{M}$   $\text{Hg}^{2+}$ , окремо чи разом з катіонами інших металів. На рис. 3.6. показано стовпчикову діаграму, що відображає інтенсивність флуоресценції у кожному з цих розчинів.

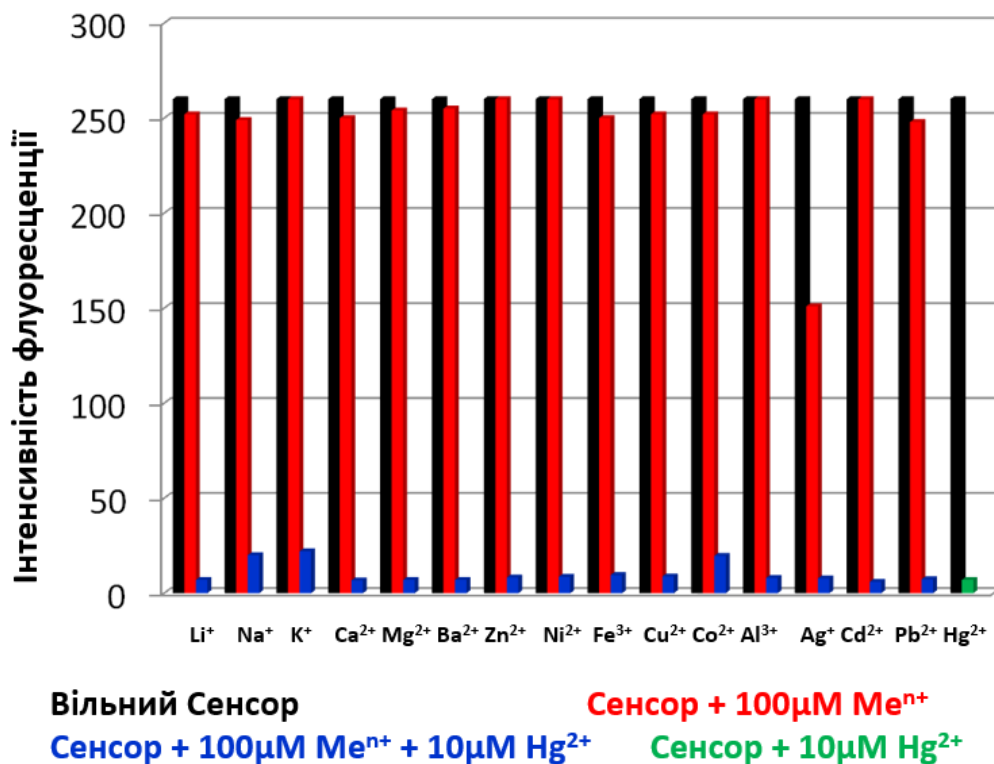


Рис. 3.6. Інтенсивність флуоресценції при 503 нм для 1 μM **RS-SH-1B** (чорні стовпчики), для 1 μM **RS-SH-1B** та 100 μM солей металів за виключенням ртуті (червоні стовпчики), для 1 μM **RS-SH-1B** та 10 μM Hg<sup>2+</sup> (зелений стовпчик), для 1 μM **RS-SH-1B**, 100 μM солей та 10 μM Hg<sup>2+</sup> (сині стовпчики).

Майже для всіх катіонів металів спостерігається такий самий рівень флуоресценції, як і для сенсору без додавання металів (чорні та червоні стовпчики відповідно). У випадку додавання солі ртуті до всіх розчинів спостерігається повне гасіння флуоресценції: як для розчину сенсору (зелений стовпчик), так і для розчинів, що містять одночасно і сенсор, і солі інших металів (сині стовпчики). Таким чином, результати, що продемонстровано на рис. 6, свідчать про високу селективність сенсору **RS-SH-1** до катіонів ртуті, що робить можливим проводити надійне визначення концентрації Hg<sup>2+</sup> у присутності катіонів інших металів.

## ВИСНОВКИ

В результаті виконання роботи ми можемо зробити наступні висновки:

1. Новий геміскварайновий барвник **RS-SH-1B** є чутливим до присутності катіонів ртуті(II), і може використовуватись для визначення як їх наявності ртуті у водному розчині, так і концентрації.

Показано, що при додаванні іонів ртуті(II) до розчину геміскварайнового барвника **RS-SH-1B** відбувається батохромний зсув спектрів поглинання на 6 нм разом зі збільшенням інтенсивності поглинання, а також значне гасіння флуоресценції геміскварайну. Це пов'язане з утворенням комплексу барвник **RS-SH-1B** –  $\text{Hg}^{2+}$ , який має більш довгохвильову смугу поглинання та дуже низький квантовий вихід флуоресценції.

2. Стехіометрію комплексу було встановлено шляхом спектрофотометричного та флуориметричного титрування розчину барвника **RS-SH-1B** солями ртуті (II). Встановлено, що комплекс утворюється у співвідношенні 1 молекула барвника на один катіон  $\text{Hg}^{2+}$ . Це підтвердилось обома методами: спектрофотометричним та флуориметричним.

Спектрофлуориметричний метод визначення ртуті є більш чутливим, ніж спектрофотометричний. Робочий діапазон визначення концентрацій  $\text{Hg}^{2+}$ : до 1.0  $\mu\text{M}$ . Межа визначення  $\text{Hg}^{2+}$  для метода, що було розроблено у роботі, дорівнює 0.024  $\mu\text{M}$  або 4.8  $\mu\text{g}/\text{l}$ .

3. Істотною перевагою вивченого барвника є його водорозчинність. Також важливою ознакою є його висока селективність до катіонів ртуті. З огляду на це він є дуже перспективним для його практичного застосування у вирішенні різноманітних завдань, що вимагають визначення вмісту іонів ртуті в об'єктах навколишнього середовища.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Mercury Update: Impact on Fish Advisories (EPA Fact Sheet EPA-823-F-01-011). Washington, DC: Office of Water, EPA. 2001.
2. Determination of lead and mercury in sea water by preconcentration in a flow injection system followed by atomic absorption spectrometry detection / Bravo-Sánchez L. Talanta. 2001. T. 55, № 6. С. 1071–1078.
3. Determination of Mercury (Hg) in Sediment by a Sequential Injection (SI) System With Cold Vapor Generation Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS) Detection After a Rapid and Mild Microwave-Assisted Digestion / G. Leng та ін.
4. Direct detection of mercury in single human hair strands by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) / M. Legrand та ін. Journal of Analytical Atomic Spectrometry. 2004. T. 19, № 10. С. 1287.
5. Mercury analysis in environmental samples by cold vapor techniques / Anderson K. A. Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation. 2006.
6. Naphthalimide–Porphyrin Hybrid Based Ratiometric Bioimaging Probe for Hg<sup>2+</sup>: Well-Resolved Emission Spectra and Unique Specificity / C.-Y. Li та ін. Analytical Chemistry. 2009. T. 81, № 24. С. 9993–10001.
7. Fluorescent and colorimetric magnetic microspheres as nanosensors for Hg<sup>2+</sup> in aqueous solution prepared by a sol–gel grafting reaction and host–guest interaction / W. Wang та ін. Nanoscale. 2013. T. 5, № 11. С. 4958.
8. A reusable biosensor for detecting mercury(ii) at the subpicomolar level based on “turn-on” resonance light scattering / Q. Yue та ін. Chemical Communications. 2013. T. 49, № 17. С. 1750.
9. Colorimetric detection of Hg<sup>2+</sup> using thioctic acid functionalized gold nanoparticles. RSC advances. / Su D. та ін. 2013. С. 24618-24624.

10. A new approach to design ratiometric fluorescent probe for mercury (II) based on the Hg<sup>2+</sup>-promoted deprotection of thioacetals / Cheng X. та ін. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2010. С. 1066-1072.
11. Fluorescent chemosensors: the past, present and future / Wu D. та ін. *Chemical Society Reviews*. 2017. С. 7105-7123.
12. New fluorescent chemosensors for metal ions in solution / Formica M. та ін. *Coordination Chemistry Reviews*. 2012. С. 170-192.
13. Tools and tactics for the optical detection of mercuric ion / Nolan, E. M., & Lippard, S. J *Chemical reviews*. 2008. С. 3443-3480.
14. Bis(2-pyridyl)-Substituted Boratriazaindacene as an NIR-Emitting Chemosensor for Hg(II) / Coskun A., Yilmaz M. D., Akkaya E. U. *Organic Letters*. 2007. Т. 9, № 4. С. 607–609.
15. A selective fluorescent ratiometric chemodosimeter for mercury ion / Liu, B., & Tian, H. *Chemical Communications*. 2005. С. 3156-3158.
16. Construction of Self- A near-infrared-fluorescent chemodosimeter for mercuric ion based on an expanded porphyrin / Zhu, X.J.; Fu, S.T.; Wong, W.K.; Guo, H.P.; Wong, W.Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* С. 3150-3154.
17. Switching the Recognition Preference of Rhodamine B Spirolactam by Replacing One Atom: Design of Rhodamine B Thiohydrazide for Recognition of Hg(II) in Aqueous Solution / H. Zheng та ін. *Organic Letters*. 2006. Т. 8, № 5. С. 859–861.
18. A general strategy to convert the MerR family proteins into highly sensitive and selective fluorescent biosensors for metal ions. / Chen P., He C. *Journal of the American Chemical Society*. 2004. С. 728-729.
19. Synthesis, Spectral Properties, and Detection Limits of Reactive Squaraine Dyes, a New Class of Diode Laser Compatible Fluorescent Protein Labels / B. Oswald та ін. *Bioconjugate Chemistry*. 2000. Т. 11, № 3. С. 438.
20. В К. С. СПЕКТРОФОТОМЕТРІЯ. Фармацевтична енциклопедія. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/596/spektrofotometriya> (дата звернення: 05.12.2023).

21. Practical Guide to Instrumental Analysis / Pungor E., Horvai G. Taylor & Francis Group, 2020. 288 c.
22. Environment-sensitive indolenine-based hemisquaraine dyes: Synthesis, molecular structure, and spectral properties / R. P. Svoiakov та ін. Dyes and Pigments. 2023. C. 111612.
23. Glossary of atmospheric chemistry terms (Recommendations 1990) / Calvert, J. G. Pure and applied chemistry. 1990. C. 2167-2219.
24. Trends in the design of intensity-based optical fiber biosensors (2010–2020) / De Acha, N., Socorro-Leránoz, A. B., Elosúa, C., & Matías, I. R. Biosensors. 2021. 197 c.
25. Limit of detection and limit of quantification development procedures for organochlorine pesticides analysis in water and sediment matrices / Saadati N., Abdullah M.P., Zakaria Z., Sany S.B., Rezayi M., Hassonizadeh H. Chem Cent J. 2013. C. 63.