

## 3-(2-ПИРИДИЛ)-5-(2-ГІДРОКСІФЕНІЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛ ЯК РЕАГЕНТ ДЛЯ ФЛУОРИМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ МІКРОКІЛЬКОСТЕЙ ЦИНКУ

*Охарактеризовано фізико-хімічні властивості 3-(2-піридил)-5-(2-гідроксіфеніл)-1,2,4-тріазолу ( $\log P=3,0\pm 0,1$ ,  $pK_{a1}=3,98\pm 0,05$ ,  $pK_{a2}=8,74\pm 0,03$ ,  $\varepsilon^{320}\approx 1,36\cdot 10^4$  л·моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>). Інтенсивна флуоресценція ліганду спостерігається у довгохвильовій ділянці спектра  $\lambda^{em}_{max}\approx 535$  нм. Можливість використання даного ліганду як реагенту-флюорофору доведено при флуориметричному визначенні вмісту цинку у зразку волосся та таблетці вітамінів "Дуовіт". Розроблені методики дають задовільно правильні та відтворювані результати.*

*Ключові слова: похідні 1,2,4-тріазолу, флуоресценція, визначення цинку.*

**Вступ.** Цинк є життєво важливим для людини мікроелементом, який регулює ріст людини, забезпечує нормальне функціонування органів чуття, має антиоксидантні властивості та є необхідним в організмі для синтезу гормонів щитовидної залози, зокрема інсуліну [1–4]. Для кількісного визначення вмісту цинку в організмі людини зазвичай використовують атомно-абсорбційну та флуоресцентну спектроскопії, спектрофотометричний та рентген-флуоресцентний методи аналізу [5]. Метод полуменевої атомно-абсорбційної спектроскопії з попереднім концентруванням широко застосовують для визначення вмісту цинку у воді, біологічних об'єктах, зразках печінки, нігтів і волосся (МВ  $\approx 2,2$  мкг/г із застосуванням екстракції хелатуючою смолою) [6], а також у харчових продуктах, зокрема йогурті (МВ  $\approx 0,32$  мкг/г) [7]. Електротермічна атомно-абсорбційна спектроскопія придатна для визначення внутрішньоклітинного вмісту цинку та діагностики недостатці цього елемента в організмі. Цим методом було визначено цинк у плазмі крові у кількості 8,6 мкмоль/л [8]. Недоліком атомно-абсорбційного визначення є руйнування досліджуваного зразка.

Можливість встановити вміст визначуваного компонента без пошкодження біоб'єкта забезпечує люмінесцентний метод аналізу з використанням високочутливих флуоресцентних зондів. Із відомих на сьогодні реагентів-флюорофорів для визначення іонів цинку найчастіше використовують похідні хіноліну [9–12], біс(2-піридилметил)аміну [13–16], ациклічних та циклічних поліамінів [17–19], піразоліну [20], бензоксазолу [21]. Такими реагентами можна визначати цинк на рівні наномольних та субнаномольних концентрацій. Однак їх недоліки, такі як мала вибірковість щодо іонів цинку, нестабільність складу комплексів, залежність аналітичного сигналу від рН, фонові переходи та нератіометричність звужують коло їх застосування.

Тому розробка нових реагентів для визначення вмісту цинку в біологічних зразках залишається сучасним актуальним завданням. Основними вимогами, що висуваються до таких реагентів, є висока гідрофобність, мала чутливість до зміни кислотності середовища та інтенсивна флуоресценція у довгохвильовій ділянці спектра [22–24].

Похідні 1,2,4-тріазолу є фотостабільними органічними люмінофорами в УФ та видимій ділянках, що набули використання як активні елементи "лазерного середовища", ефективних транспортних матеріалів в органічних світлодіодах та вибіркових флуоресцентних хемосенсорів [25–27]. Разом з цим система 3-(2-піридил)-1,2,4-тріазол як хелатоутворююча частина молекули обумовлює можливість формування стійких координаційних сполук з іонами металів. Тому вибір жорсткої п-

кон'югованої молекули 3-(2-піридил)-5-(2-гідроксіфеніл)-1,2,4-тріазолу (**H<sub>2</sub>L**) як аналітичного реагента-флюорофора для визначення мікрокількостей цинку в біологічних зразках вбачається раціональним. Метою роботи було встановити основні фізико-хімічні властивості **H<sub>2</sub>L** та з'ясувати можливість його використання при розробці методик флуориметричного визначення цинку.

**Матеріали і методика досліджень.** Синтез ліганду проводили згідно з методикою [28]. Робочий розчин **H<sub>2</sub>L** готували розчиненням його точної наважки в органічному розчиннику спектроскопічної чистоти ДМСО (Merck). Для приготування робочого розчину цинку наважку  $Zn(AC)_2\cdot 2H_2O$  (Реахим, ч.д.а.) розчиняли у дистильованій воді і встановлювали значення рН 2,5. Розчини гідроксиду натрію готували згідно з [29] і визначали їхню точну концентрацію титруванням стандартним розчином соляної кислоти. Робочий розчин HCl із концентрацією 0,1 моль/л готували за фіксаналом. Для приготування розчинів кислот та лугів використовували бідистильат, звільнений від розчиненого у ньому CO<sub>2</sub> кип'ятінням.

Для визначення констант дисоціації функціональних груп **H<sub>2</sub>L** до розчину додавали еквімолярну кількість хлоридної кислоти та проводили рН-метричне титрування протонованої форми ліганду стандартизованим розчином лугу. Титрували за допомогою рН-метру (рН-340) зі скляним електродом ЕСЛ-43-07. Через малу розчинність даних сполук у воді їх умовні константи дисоціації ( $pK_f$ ) визначали у суміші розчинників вода-ДМСО ( $\omega_{H_2O}:\omega_{DMSO}=30:70 \div 70:30$ ). Розрахунок значень констант дисоціації досліджуваних сполук у воді ( $pK_a$ ) проводили екстраполяцією лінійної залежності  $pK_f = f(C_{DMSO}, \%)$  [30].

Коефіцієнт розподілу ( $\log D_{7.4}$ ) **H<sub>2</sub>L** в екстракційній системі вода-октанол, що за властивостями моделює ліпідну мембрану клітини, визначали при рН 7,4 (фосфатний буфер) за формулою  $\log D_{7.4} = \log(C_o/C_w)$ . Концентрацію ліганду у водній фазі ( $C_w$ ) визначали спектрофотометрично за методом добавок, реєструючи оптичну густину в максимумі спектра поглинання, а концентрацію ліганду у фазі октанолу знаходили за різницею вмісту речовини в розчині до екстракції та  $C_w$ . Константу розподілу розраховували за формулою:  $\log P = \log D_{7.4} + \log_{10}(1+10^{(pK_a-pH)})$ .

Сpektри поглинання ліганду реєстрували, застосовуючи UV/Vis спектрофотометр 2800 (Unico, USA), розчин порівняння – чистий розчинник.

Сpektри флуоресценції розчинів **H<sub>2</sub>L** та його комплексів із цинком реєстрували із застосуванням люмінесцентного спектрофотометра LS 55 (Perkin-Elmer, UK). Сpektри флуоресценції та збудження реєстрували у діапазоні 200–800 нм з урахуванням фону розчинника за оптимальних довжин хвиль збудження і емісії для кожної сполуки.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Встановлено, що логарифм константи розподілу 3-(2-піридил)-5-(2-гідроксифеніл)-1,2,4-тріазолу в екстракційній системі вода–н-октанол становить  $3,0 \pm 0,1$ . Дані, одержані на основі кривих потенціометричного титрування, свідчать, що дисоціація протонного атому азоту в піридиновому циклі ліганду відбувається при  $\text{pH} \approx 4$ , показник першої константи дисоціації у воді ( $\text{pK}_{a1}$ ) становить  $3,98 \pm 0,05$ . Значення  $\text{pK}_{a2}$  відповідає за дисоціацію групи N–H тріазольного фрагмента і дорівнює  $8,74 \pm 0,03$ . За обраних умов експерименту третій стрибок титрування на кривих не спостерігається. Однак згідно з теоретично розрахованими в програмі ACDLab даними титрування O–H-групи фенільного фрагмента має відбуватися при  $\text{pH} \approx 11$  ( $\text{pK}_{a3}^{\text{теор}} = 11,1 \pm 0,3$ ).

Спектр поглинання розчину  $\text{H}_2\text{L}$  у ДМСО характеризується двома смугами з максимумами при 272 нм та 320 нм (рис. 1), що обумовлені  $\pi$ - $\pi^*$ -переходами всередині ліганду. Значення молярного коефіцієнта поглинання для цих смуг становить  $1,18 \cdot 10^4$  л·моль $^{-1}$ ·см $^{-1}$  та  $1,36 \cdot 10^4$  л·моль $^{-1}$ ·см $^{-1}$ , відповідно.

На спектрах флуоресценції  $\text{H}_2\text{L}$  також спостерігаються дві смуги при 402 нм та 535 нм (рис. 1). Висока інтенсивність флуоресценції у довгохвильовій ділянці спектра свідчить про перспективність використання даного ліганду як аналітичного реагенту-флюорофору.

Поступове додавання розчину цинку ( $C_{\text{Zn}^{2+}} \leq 2,5 \cdot 10^{-6}$  М) до розчину  $\text{H}_2\text{L}$  приводить до підвищення інтенсивності та невеликого батохромного зміщення смуг поглинання відносно спектра ліганду ( $\Delta\lambda \approx 4$  нм). При цьому на спектрах поглинання з'являється третя смуга у видимій ділянці спектра при 440 нм ( $\epsilon^{440} \approx 6,5 \cdot 10^3$  л·моль $^{-1}$ ·см $^{-1}$ ), що зумовлено реалізацією електронних переходів із

p-орбіталей ліганду на d-орбіталь іону металу. Такий характер змін спектрів поглинання підтверджує формування координаційної сполуки цинку з 3-(2-піридил)-5-(2-гідроксифеніл)-1,2,4-тріазолом.

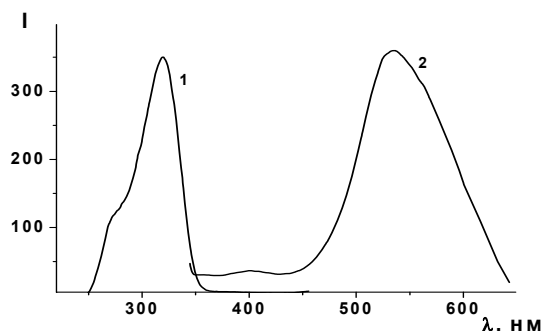


Рис. 1. Спектри збудження (1) та флуоресценції (2) розчину  $\text{H}_2\text{L}$  у ДМСО.

$C_{\text{H}_2\text{L}} = 1 \cdot 10^{-5}$  М.  $\text{pH} = 2,5$ .  $\lambda^{\text{em}} = 535$  нм,  $\lambda^{\text{ex}} = 320$  нм. Товщина кювети, щілин збудження та флуоресценції – 1 см, 10 нм та 5 нм, відповідно

Подальше збільшення концентрації іонів цинку ( $C > 2,5 \cdot 10^{-6}$  М) у розчині обумовлює батохромні зсуви всіх смуг поглинання та їх перерозподіл за інтенсивністю (рис. 2а). Це може бути спричинено формуванням у розчині координаційної сполуки нового типу. Так, перша смуга інтралігандного  $\pi$ - $\pi^*$ -переходу зміщується на 10 нм відносно спектра першого типу комплексу  $\text{H}_2\text{L}$  із  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\Delta\lambda$  другої смуги становить 40 нм, а довгохвильова смуга електронного переходу з перенесення заряду типу ліганд-метал зміщується на 20 нм.

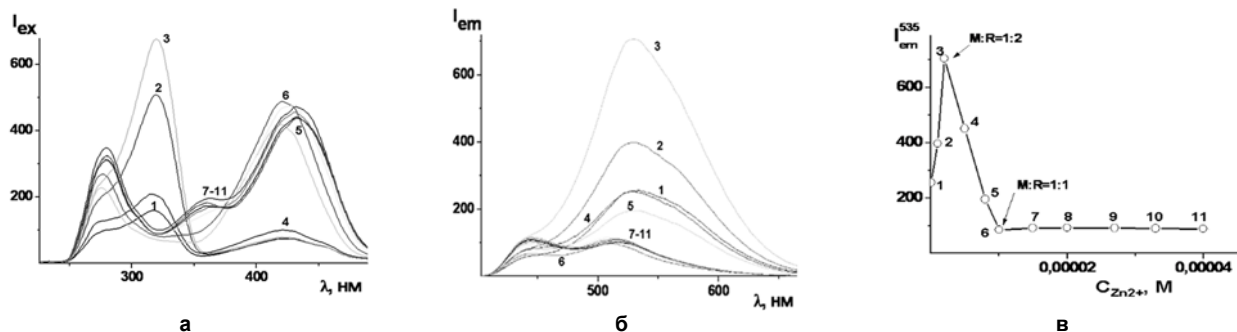


Рис. 2. Спектри збудження (а) та флуоресценції (б) суміші  $\text{H}_2\text{L}$  із  $\text{Zn}^{2+}$  у ДМСО та залежність інтенсивності флуоресценції від концентрації цинку в розчині (в).

$C_{\text{H}_2\text{L}} = 10^{-5}$  М,  $C_{\text{Zn}^{2+}} = 0,4 \cdot 10^{-5}$  М.  $\text{pH} = 2,5$ .  $\lambda^{\text{em}} = 535$  нм,  $\lambda^{\text{ex}} = 320$  нм, товщина кювети, щілин збудження та флуоресценції – 1 см, 10 нм та 5 нм, відповідно. Номери на рисунках відповідають порядковим номерам спектрів за збільшенням концентрації  $\text{Zn}^{2+}$  у розчині

Разом з цим додавання невеликої кількості цинку ( $C_{\text{Zn}^{2+}} \leq 2,5 \cdot 10^{-6}$  М) до розчину  $\text{H}_2\text{L}$  приводить до збільшення інтенсивності флуоресценції. Подальше збільшення концентрації цинку, навпаки, обумовлює гасіння флуоресценції ліганду та невеликий гіпсхромний зсув максимуму флуоресценції ( $\Delta\lambda \approx 15$  нм) (рис. 2б). Побудована на основі одержаних спектрів залежність  $I^{\text{em}} = f(C_{\text{Zn}^{2+}})$  свідчить про можливість формування у розчині двох комплексних сполук зі співвідношеннями метал : реагент (М : R) як 1 : 1 та 1 : 2 (рис. 2в).

Для побудови калібрувального графіка при розробці флуориметричної методики визначення цинку в біологічних зразках, з нашого погляду, доцільно використовувати лінійний відрізок кривої  $I^{\text{em}} = f(C_{\text{Zn}^{2+}})$  в діапазоні концентрацій іону  $\text{Zn}^{2+}$   $3 \cdot 10^{-6}$ – $1,0 \cdot 10^{-5}$  М (рис. 2в). У координатах Штерна – Фольмера така калібрувальна залежність має вигляд:  $I_0/I = (0,89 \pm 0,15) + (1,9 \pm 0,5) \cdot 10^6 \cdot C_{\text{Zn}}$  (мкМ),  $r^2 = 0,996$ .

Заважаючий вплив інших мікроелементів на результати флуориметричного визначення цинку із 3-(2-піридил)-5-(2-гідроксифеніл)-1,2,4-тріазолом перевірили на прикладі таблеток вітамінів "Дуовіт". Одне драже синього кольору містить мікроелементи у таких кількостях:  $\text{Ca}^{2+}$  15 мг,  $\text{P}^{5+}$  12 мг,  $\text{Mg}^{2+}$  20 мг,  $\text{Fe}^{2+}$  10 мг,  $\text{Cu}^{2+}$  1 мг,  $\text{Zn}^{2+}$  3 мг,  $\text{Mn}^{2+}$  1 мг,  $\text{Mo}^{6+}$  0,1 мг.

**ВИЗНАЧЕННЯ ЦИНКУ В ТАБЛЕТЦІ "ДУОВІТ".** Драже масою 0,50 г помістили у мірний стакан на 100 мл, розчинили у відповідній кількості води при помірному нагріванні. Одержаний розчин відфільтрували за допомогою паперового фільтра (синя стрічка) та кількісно перенесли у колбу на 250 мл, довели дистильованою водою до мітки, перемішали. У кювету розміром  $10 \times 10$  мм помістили 3,00 мл  $1,00 \cdot 10^{-5}$  М розчину  $\text{H}_2\text{L}$  у ДМСО ( $\text{pH} 2,5$ ) та додали аліквотну частину розчину таблетки об'ємом 30 мкл. Спектр флуоресценції реєстрували при  $\lambda^{\text{ex}} = 320$  нм; щілини збудження та емісії становили 10 та

20 нм, відповідно. Далі в кювету тричі вносили добавки  $1,00 \cdot 10^{-3}$  М розчину ацетату цинку по 2,0 мкл та реєстрували спектри флуоресценції за тих самих умов. На основі отриманих даних була побудована калібрувальна залежність:  $I_0/I = (-6,38 \pm 0,06) + (3,78 \pm 0,34) \cdot 10^6 \cdot C_{Zn}$  (мкМ),  $r^2 = 0,987$ . Знайдений згідно з даною методикою вміст цинку в таблетці становив  $2,8 \pm 0,3$  мг, що добре узгоджується із задекларованим виробником вмістом. Результати характеризуються задовільною відтворюваністю ( $S_r = 0,042$ ,  $n = 3$ ,  $P = 0,95$ ). Отримані дані свідчать про достатню вибірковість ліганду щодо супутніх мікроелементів.

**ВИЗНАЧЕННЯ ЦИНКУ У ЗРАЗКАХ ВОЛОССЯ.** Для визначення вмісту цинку у волоссі наважку волосся масою 0,4000 г розчиняли у 10 мл 4 М нітратної кислоти. Розчинення проводили протягом доби. До одержаного розчину додавали 5 мл 30 %-го перекису водню, необхідну кількість концентрованого лугу та 0,20 г ацетату натрію для нейтралізації розчину. Отриманий розчин охолоджували та фільтрували за допомогою скляного фільтра. Розчин кількісно переносили у мірну колбу об'ємом 25 мл та доводили дистильованою водою до мітки, встановлювали рН 2,5. У кювету розміром  $10 \times 10$  мм поміщали 3,00 мл  $1,00 \cdot 10^{-5}$  М розчину  $H_2L$  у ДМСО (рН 2,5), додавали аліквоту витяжки волосся (0,50 мл), перемішували. Спектр флуоресценції реєстрували при  $\lambda^{ex} = 320$ ; щілини збудження та емісії становили 10 та 20 нм, відповідно. Після цього визначали вміст цинку в пробі за методом добавок, послідовно додаючи  $1,00 \cdot 10^{-3}$  М розчин цинку ацетату об'ємом 10; 10; 10; 20; 40 мкл. Вміст цинку розраховували на основі лінійної залежності  $I_0/I = (1,86 \pm 0,15) + (0,64 \pm 0,05) \cdot 10^6 \cdot C_{Zn}$  (мкМ),  $r^2 = 0,992$ . Діапазон визначуваних концентрацій  $\approx 71$ –286 мкг/г. Вміст цинку в досліджуваному зразку волосся становив  $83 \pm 7$  мкг/г,  $S_r = 0,033$  ( $n = 3$ ,  $P = 0,95$ ). Одержані дані добре корелюють із даними літератури щодо вмісту цинку у волоссі: рівень цинку у волоссі дорослих становить 50–400 мкг/г, нормальним вмістом вважають 120–200 мкг/г [31]. Розроблена методика характеризується достатньою правильністю та відтворюваністю.

**Висновок.** Таким чином, 3-(2-піридил)-5-(2-гідроксифеніл)-1,2,4-тріазол є високогідрофобним двоосновним лігандом, який характеризується великим значенням коефіцієнта екстинкції в УФ-ділянці спектра, інтенсивною флуоресценцією жовтого кольору та є перспективним аналітичним реагентом для флуориметричного визначення мікрокількостей цинку.

#### Список використаних джерел

- Haim T., Kenneth D. T. Biomed. Pharmacother. 2003. 57 (9). P. 399–411.
- Ghasemi A., Zahediasl S., Hosseini-Esfahani F., Azizi F. Biol. Trace Elem. Res. 2012. 149 (3). P. 307–314.
- Nriagu J. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences Encyclopedia of Environmental Health. Elsevier. 2011. P. 801–807.
- Авцын А. П., Жаворонков А. А., Риш М. А., Строчкова Л. С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. М.: Медицина, 1991. 496 с.

В. Старова, канд. хим. наук,  
Д. Хоменко, канд. хим. наук, dkhomenko@ukr.net,  
Р. Дорошук, канд. хим. наук,  
Р. Лампека, д-р хим. наук,  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

### 3-(2-ПИРИДИЛ)-5-(2-ГИДРОКСИФЕНИЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛ КАК РЕАГЕНТ ДЛЯ ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ЦИНКА

Охарактеризованы физико-химические свойства 3-(2-пиридил)-5-(2-гидроксифенил)-1,2,4-триазола ( $\log P = 3,0 \pm 0,1$ ,  $pK_{a1} = 3,98 \pm 0,05$ ,  $pK_{a2} = 8,74 \pm 0,03$ ,  $\epsilon^{320} \approx 1,36 \cdot 10^4$  л·моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>). Интенсивная флуоресценция лиганда наблюдается в длинноволновой области спектра  $\lambda_{\text{em}}^{\text{max}} \approx 535$  нм. Возможность применения такого лиганда как реагента-флуорофора подтверждена при флуориметрическом определении содержания цинка в образце волос и таблетке витаминов "Дуовит". Разработанные методики обеспечивают достижение удовлетворительно правильных и воспроизводимых результатов.

Ключевые слова: производные 1,2,4-триазола, флуоресценция, определение цинка.

Avtsyn A. P., Zhavoronkov A. A., Rish M. A., Strochkova L. S. Microelementoses human: etiology, classification, organopathology. Moscow: Medicine, 1991. 496 p. (in Russian).

5. Скальный А. В., Нагорная Н. В., Дубовая А. В., Алферов В. В. Междунар. вестн. медицины. 2008. 1(34). С. 208–215.

Skalny A. V., Nagornaya N. V., Dubovaya A. V., Alferov V. V. Internation. J. Medicine. 2008. 1(34). 208–215 (in Russian).

6. Yilmaz S., Tokaloğlu S., Şahan S., Ülgen A., Şahan A., Soykan C. J. Trace Elem. Med. Biol. 2013. 27 (2). 85–90.

7. Brandao G. C., de Jesus R. M., da Silva E. G. P., Ferreira S. L. C. Talanta. 2010. 81(4–5). 1357–1359.

8. Faure H., Favier A., Tripiet M., Arnaud J. Biol. Trace Elem. Res. 1990. 24(1). 25–37.

9. Rurack K. Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. 2001. 57(11). 2161–2195.

10. Thompson R. B., Peterson D., Mahoney W., Cramer M., Maliwal B. P., Suh S. W., Frederickson C., Fierke C., Herman P. J. Neurosci. Methods. 2002. 118. 63–75.

11. Weng Y., Chen Z., Wang F., Xue L., Jiang H. Anal. Chim. Acta. 2009. 647(2). 215–218.

12. Al-Kindy S. M. Z., Al-Bulushi S. T., Suliman F. E. O. Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. 2008. 71(2). 676–681.

13. Walkup G. K., Burdette S. C., Lippard S. J., Tsien R. Y. J. Am. Chem. Soc. 2000. 122. 5644–5645.

14. Burdette S. C., Walkup G. K., Spingler B., Tsien R. Y., Lippard S. J. J. Am. Chem. Soc. 2001. 123. 7831–7841.

15. Hirano T., Kikuchi K., Urano Y., Nagano T. J. Am. Chem. Soc. 2002. 124. 6555–6562.

16. Huston M. E., Haider K. W., Czarnik A. W. J. Am. Chem. Soc. 1988. 110. 4460–4462.

17. Mei M., Wu S. Acta Phys.-Chim. Sin. 2000. 16. 559–562.

18. Prodi L., Montalti M., Zaccaroni N., Dallavalle F., Folesani G., Lanfranchi M., Corradini R., Pagliari S., Marchelli R. Helv. Chim. Acta. 2001. 84. 690–706.

19. Akkaya E. U., Huston M. E., Czarnik A. W. J. Am. Chem. Soc. 1990. 112. 3590–3593.

20. Zhong-Liang Gong, Bao-Xiang Zhao, Wei-Yong Liu, Hong-Shui L. J. Photochem. Photobiol. 2011. 218 (1). 6–10.

21. Qiu-Juan Ma, Xiao-Bing Zhang, Xu-Hua Zhao, Yi-Jun Gong, Jian Tang, Guo-Li Shen, Ru-Qin Yu. Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. 2009. 73(4). 687–693.

22. Walkup G. K., Burdette S. C., Lippard S. J., Tsien R. Y. J. Am. Chem. Soc. 2000. 122. 5644–5645.

23. Maruyama S., Kikuchi K., Hirano T., Yasuteru U., Nagano T. J. Am. Chem. Soc. 2002. 124. 10650–10651.

24. Domaille D. W., Que E., Chang C. J. Nat. Chem. Biol. 2008. 4. 168–175.

25. Avaji P. G., Reddy B. N., Patil S. A., Badami P. S. Transit. Metal Chem. 2006. 31(7). 842–848.

26. Baghalli G. B., Patil S. A., Badami P. S. J. Iran. Chem. Soc. 2009. 6(2). 259–270.

27. Bing Liu, Guo-Cong Guo, Jin-Shun Huang. J. Solid State Chem. 2006. 179. 3136–3144.

28. Захарченко Б. В., Хоменко Д. М., Дорошук Р. О., Севериновська О. В., Старова В. С., Распертова І. В., Лампека Р. Д. Укр. хім. журнал. 2016. 82(7). 28–33.

Zakharchenko B. V., Khomenko D. M., Doroshchuk R. O., Severynovska O. V., Raspertova I. V., Starova V. S., Lampeka R. D. Ukr. khim. zhurnal. 2016. 82(7). 28–33.

29. Коростелев П. П. Приготовление растворов для химико-аналитических работ. М.: Наука, 1964. 311 с.

Korostelev P. P. Preparation of solutions for chemical analytical work. Moscow: Nauka, 1964. 311 p. (in Russian).

30. Britsun V. N., Doroshchuk V. A., Starova V. S., Ryabitskii A. B., Lozinskii M. O. Russ. J. Gen. Chem. 2012. 82(10). 1700–1704.

31. Большова О. В., Пахомова В. Г. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2011. 3(36). 77–82.

Bolshova O. V., Pakhomova V. G. Clinical Endocrinology and Endocrine Surgery, 2011. 3(36). 77–82.

Надійшла до редколегії 30.05.19

V. Starova, PhD,  
D. Khomenko, PhD, dkhomenko@ukr.net,  
R. Doroshchuk, PhD,  
R. Lampeka, Dr. Sci.,  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

### 3-(2-PYRIDYL)-5-(2-HYDROXYPHENYL)-1,2,4-TRIAZOL AS A REAGENT FOR FLUORIMETRIC DETERMINATION OF MICRO-AMOUNTS OF ZINC

*The development of new fluorescent reagents for determination of trace amounts of zinc in biological samples is an actual issue. Efficient reagents should be characterized by high hydrophobicity, low sensitivity to media acidity and intense fluorescence in the long-wavelength region of the spectrum. Therefore, the using of a rigid  $\pi$ -conjugated molecule of 3-(2-pyridyl)-5-(2-hydroxyphenyl)-1,2,4-triazole as a fluorescent probe for the determination of zinc micro-quantities in biological samples is considered as a rational choice.*

*3-(2-pyridyl)-5-(2-hydroxyphenyl)-1,2,4-triazole is a highly hydrophobic ligand ( $\log P=3.0\pm 0.1$ ). Dissociation of the protonated nitrogen atom in the pyridine cycle of the ligand occurs at  $pH = 4$ ,  $pK_{a1}= 3.98\pm 0.05$ . The  $pK_{a2}$  value is equal to  $8.74 \pm 0.03$  and corresponds to the dissociation of the N-H group of the triazole fragment. The absorption spectrum of the ligand solution in DMSO is characterized by two bands with maximum at 272 nm and 320 nm due to intraligand  $\pi-\pi^*$  transitions. The values of the molar absorption coefficient for these bands are  $1.18\cdot 10^4 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$  and  $1.36\cdot 10^4 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ , respectively. Two bands at 402 nm and 535 nm are also observed on the fluorescence spectra of the ligand. The high fluorescence intensity in the long-wavelength region of the spectrum indicates the promising use of this ligand as an analytical reagent at a creation of new fluorescence techniques.*

*3-(2-pyridyl)-5-(2-hydroxyphenyl)-1,2,4-triazole as chelating ligand can form two complex compounds in DMSO solution with composition ML and  $ML_2$ . Complex formation is accompanied by the appearance of a third absorption band in the visible regions of the spectrum at 440 nm ( $\epsilon^{440}\approx 6.5\cdot 10^3 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) due to LMCT transitions. In addition, the complex formation leads to fluorescence quenching.*

*Developed fluorescent techniques for determination of zinc quantities in a sample of hair and in a tablet of vitamins "Duovit" are characterized by satisfactory precision and accuracy. The range of zinc concentrations determining in the hair sample is  $71\text{--}286 \mu\text{g/g}$ ,  $S=0.033$  ( $n=3$ ,  $P=0.95$ ). The zinc content that was found in the "Duovit" tablet is well correlated with the declared content. This indicates the good selectivity of ligand in relation to the accompanying microelements.*

**Keywords:** 1,2,4-triazole derivatives, fluorescence, zinc determination.

УДК 543.34: 543.552

DOI: [https://doi.org/10.17721/1728-2209.2019.1\(56\).2](https://doi.org/10.17721/1728-2209.2019.1(56).2)

Н. Смик, канд. хім. наук,  
nsmysk@chem.univ.kiev.ua,  
Б. Копаниця, студ.,

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

### МОДИФІКОВАНИЙ ЕЛЕКТРОД ДЛЯ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ $\text{NO}_3^-$ В СОЛОНИХ ВОДАХ

*Запропоновано сенсорний елемент на основі модифікованого скловуглецевого електрода для визначення нітратів у водах із високою солоністю. Оптимізовано умови модифікування електрода шляхом електроосадження на його поверхню міді. Методом циклічної вольтамперометрії підтверджено, що електроосаджена мідь каталізує реакцію відновлення нітрату, імовірно, до нітриту. Показано, що струм відновлення нітрату зростає зі збільшенням вмісту хлориду в розчині й досягає максимального значення в інтервалі  $(2\text{--}3,5)\cdot 10^{-1}$  моль/л  $\text{Cl}^-$ . Вплив кислотності незначний в інтервалі  $pH\ 3,5\text{--}6,0$ . Було оптимізовано умови прямого визначення нітрату в нейтральному середовищі за присутності  $2\cdot 10^3$ -кратних надлишків хлориду. Сенсор було застосовано при аналізі імітата морської води без попередньої пробопідготовки. Отримані дані добре корелюють з результатами, що отримані потенціометричним методом зі стандартним іон-селективним електродом після осадження хлоридів.*

**Ключові слова:** вольтамперометрія, скловуглецевий електрод, нітрат, морська вода.

**Вступ.** Нітроген – один з найбільш поширених елементів у природі, необхідний для розвитку всіх живих організмів. В акваріумних водах основним джерелом нітрогену є аміак, що потрапляє туди разом із продуктами життєдіяльності риб. У процесі нітрифікації аміак перетворюється на нітрат-іони. Більшість водних організмів здатна вижити навіть за дуже значних показників вмісту нітратів, але концентрації вищі, ніж  $0,2 \text{ мг/л}$ , призводять до захворювань риб і евтрофікації та цвітіння акваріумів. Отже, вміст  $\text{NO}_3^-$  є важливим індикатором якості води. Зазвичай низькі концентрації  $\text{NO}_3^-$  у морській воді потребують застосування чутливих методів аналізу, а відсутність способів тривалого зберігання проб без зміни співвідношення  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  вимагає визначення безпосередньо на місці відбору проб. Необхідність регулярного контролю складу води в акваріумах обумовлює застосування швидких та дешевих методів аналізу.

Одночасне визначення  $\text{NO}_3^-$  та  $\text{NO}_2^-$  потребує значних зусиль. Існує кілька основних підходів до розв'язання цієї проблеми [1, 2]. Найбільш чутливі методи одночасного визначення вмісту  $\text{NO}_2^-$  та  $\text{NO}_3^-$  – іонна хроматографія (ІХ) та капілярний зонний електрофорез [3, 4] – складні в реалізації, дороговартісні, потребують високої фахової підготовки персоналу та складної пробопідготовки. Більш прості та широко вживані методи – фотометричний та люмінесцентний – при включенні в сучасні

проточно-інжекційні системи [5, 6] дозволяють із достатньою чутливістю визначати вміст  $\text{NO}_2^-$  (після переведення в азобарвник за реакцією азосполучення з ароматичним аміном), визначення  $\text{NO}_3^-$  можливе лише після відновлення до нітриту. Ці методи потребують тривалої пробопідготовки в умовах стаціонарної лабораторії та не можуть бути застосовані для аналізу на місці відбору проб. Пряме спектрофотометричне визначення нітрату за власним поглинанням в УФ-діапазоні ( $\sim 200 \text{ нм}$ ) можливе лише для незабарвлених проб за відсутності розчинених органічних речовин [7]. Результати застосування ряду спеціальних тест-систем, що випускаються промисловістю, не завжди задовольняють вимоги за чутливістю та вибірковістю при застосуванні у морській воді високої солоності [8, 9]. Потенціометрія із застосуванням комерційних іон-селективних електродів (ІСЕ), вибіркової до  $\text{NO}_3^-$ , потребує спеціальної підготовки проб води з високою солоністю й може проводитися лише методом добавок [10, 11]. Тому пряма вольтамперометрія видається перспективним методом для розв'язання поставленого завдання.

Значна частина відомих вольтамперометричних методик визначення нітрату базується на його здатності відновлюватись на робочому електроді до нітриту- [12], амоній-іонів [13] та нітрогену. Оскільки процеси відновлення необоротні, то необхідно забезпечити наявність