Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Уральский государственный экономический университет»

На правах рукописи

Бухаринова Мария Александровна

МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭЛЕКТРОДНЫХ ПРОЦЕССОВ НА НАНОЧАСТИЦАХ ЗОЛОТА И СЕНСОРЫ НА ИХ ОСНОВЕ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АСКОРБИНОВОЙ И МОЧЕВОЙ КИСЛОТ

02.00.02 – Аналитическая химия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук, профессор
Стожко Наталия Юрьевна

Екатеринбург – 2020

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 4

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР 12

1.1 СИНТЕЗ И СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА 12

1.2 ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ (МЕТАЛЛИЧЕСКИХ) НАНОЧАСТИЦ 17

1.3 МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ 19

1.4 МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ 28

ГЛАВА 2. РЕАКТИВЫ, ОБОРУДОВАНИЕ, МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА ... 35

2.1 Реактивы 35

2.2 Оборудование и электроды 36

2.3 Методика эксперимента 38

2.3.1 Синтез наночастиц золота 38

2.3.2 Приготовление рабочих электродов и их модифицирование 41

2.3.3 Измерение аналитического сигнала 42

2.3.4 Статистический анализ и обработка данных 43

2.4 Характеристика наночастиц золота 43

2.4.1 Оптические исследования золей золота 43

2.4.2 Микроскопические исследования золей золота 45

ГЛАВА 3. МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ЭЛЕКТРООКИСЛЕНИЯ ВЕЩЕСТВА НА ТВЕРДОФАЗНЫХ И НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ ЭЛЕКТРОДАХ 48

3.1 Процессы электроокисления нитрит-ионов 52

3.2 Процессы электроокисления аскорбиновой кислоты 58

3.3 Процессы электроокисления мочевой кислоты 66

ГЛАВА 4. СЕНСОР НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ 72

ГЛАВА 5. СЕНСОР НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ 83

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 101

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ 104

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 106

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Наноматериалы, в том числе металлические наночастицы, широко используются в современной химической сенсорике для повышения чувствительности и селективности электроанализа. При создании высокоэффективных сенсоров и прогнозировании их характеристик важно учитывать не только электрохимические свойства наночастиц, но и особенности электропревращений аналитов на наночастицах. В настоящее время сформированы определенные теоретические представления об электрохимии собственно наночастиц металлов, в рамках которых обосновано проявление размерного эффекта, сопровождающегося возрастанием электрохимической активности частиц металлов с уменьшением их размера. Однако теоретические подходы к описанию процессов электропревращения веществ на наночастицах, иммобилизированных на индифферентной подложке, до сих пор не предложены. В связи с этим представляет научный и практический интерес теоретическое обоснование особенностей электрохимических процессов в таких системах. Полученные новые знания будут способствовать пониманию механизмов протекания электродных процессов на наночастицах металлов, а также прогнозированию аналитических характеристик наноструктурированных электродов.

Не теряет актуальности разработка бесферментных сенсоров для определения физиологически значимых соединений антиоксидантной природы, таких как аскорбиновая (АК) и мочевая кислоты (МК). Содержание этих веществ в биологических жидкостях является диагностическим критерием. Кроме того, количественный анализ АК и МК необходим для оценки качества пищевых продуктов, поэтому создание высокочувствительных и селективных сенсоров для in-situ и on site определения АК и МК с использованием новых материалов и методов «зеленой» химии является важной задачей химической сенсорики.

Степень разработанности темы исследования. В единичных научных публикациях показано влияние размера металлических наночастиц-модификаторов на электропревращение аналита на наноструктурированной

поверхности. Однако системные знания, касающиеся взаимосвязи размерных, энергетических характеристик наночастиц с особенностями электродных процессов, протекающих на их поверхности, и формой регистрируемых вольтамперных кривых, отсутствуют в электроаналитике. Эта информация представляет научный интерес и составляет практическую значимость при разработке новых высокочувствительных и селективных наноструктурированных сенсоров, в частности, для определения АК и МК в различных объектах. Многие из существующих сенсоров для определения этих кислот не обладают достаточной чувствительностью и селективностью, а процедура их изготовления представляет собой сложный, многостадийный и длительный процесс с применением не всегда безвредных реагентов и растворителей. Современные тенденции в разработке электрохимических сенсоров связаны с альтернативными безопасными «зелеными» технологиями и методами синтеза модификаторов электродов. При этом попытки использования в электроанализе сенсоров на основе наночастиц, полученных в соответствии с принципами «зеленой» химии, немногочисленны.

Цель работы: математическое моделирование электрохимических процессов на электродах, модифицированных наночастицами золота разного размера, и разработка сенсоров на их основе для определения АК и МК в биологических и пищевых объектах.

Для достижения поставленной цели работы необходимо было решить следующие **задачи:**

– разработать математическую модель, описывающую особенности электропревращения вещества на наноповерхности;

– получить и сравнить теоретические и экспериментальные данные о процессе электроокисления нитрит-ионов, АК и МК на макроэлектродах и электродах, модифицированных наночастицами золота разного размера;

– разработать вольтамперометрический сенсор на основе наночастиц золота и методику определения МК в биологических объектах и пищевых образцах;

– разработать вольтамперометрический сенсор на основе наночастиц золота и методику определения АК в образцах соков.

Научная новизна

– Впервые предложена математическая модель для теоретического описания процессов электропревращения вещества, диффундирующего из объема раствора к поверхности макро- и наноструктурированного электрода с учетом её энергетических особенностей. Работоспособность и адекватность предложенной модели доказана на примере рассмотрения процессов электроокисления нитрит-ионов, АК и МК.

– На основании сопоставления экспериментальных и рассчитанных по математической модели вольтамперограмм установлено, что процесс электроокисления нитрит-ионов на макро- и наноструктурированной поверхности сопровождается пассивацией электрода продуктом электроокисления, но исключает химические стадии и наноэффекты; процесс электроокисления АК и МК является чисто электрохимическим без каталитической стадии и сопровождается проявлением размерных эффектов на наноструктрированном электроде.

– Впервые получены теоретические зависимости сдвига потенциала максимума тока и полуволны окисления АК и МК от размера наночастиц, иммобилизованных на твердую подложку, и их поверхностной энергии Гиббса, отражающие проявление наноэффектов при электропревращении вещества на наноструктурированной поверхности. Установлено, что сдвиг вольтамперной кривой в катодную область потенциалов тем больше, чем меньше размер наночастиц и выше их поверхностная энергия.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Разработана математическая модель физико-химических процессов электропревращения вещества на макро- и наноструктурированной поверхности с учетом трех возможных механизмов: чисто электрохимического, электрохимического с каталитической стадией и электрохимического со стадией пассивации.

2. С использованием разработанной математической модели установлены особенности процесса окисления нитрит-ионов, АК и МК на различных твердофазных электродах, в том числе наноструктурированных. Показано, что процесс электроокисления нитрит-ионов включает пассивацию электрода адсорбированным продуктом электрохимической реакции, при этом каталитические стадии и наноэффекты не наблюдаются, а процесс окисления АК и МК происходит по электрохимическому механизму с проявлением размерных эффектов в случае использования наноструктурированных электродов.

3. Получены теоретические зависимости сдвига потенциала максимума и полуволны окисления АК и МК от размера наночастиц и их поверхностной энергии Гиббса. Показано, что электрохимические методы в совокупности с методами математического моделирования способны прогнозировать сенсорные свойства наноструктурированных электродов.

4. Разработан чувствительный бесферментный планарный сенсор на основе наночастиц золота, покрытых 2.5 % раствором нафиона, для определения МК методом линейной вольтамперометрии в диапазоне 0.5–600 мкМ. Предел обнаружения составил 0.25 мкМ. Высокая селективность определения МК в присутствии избытка АК была достигнута благодаря выбору оптимального pH 5 фонового электролита и катионообменной мембраны – нафион. Разработана методика определения МК в образцах сыворотки крови и молока с использованием предложенного сенсора.

5. Разработан простой вольтамперометрический сенсор для определения АК на основе перспективного углеволоконного материала и золотых наночастиц, полученных по «зеленой» технологии. Фитосинтез золей золота выполнен с использованием экстракта из листьев земляники, обладающего высокой редуцирующей и стабилизирующей способностью. Линейность отклика АК наблюдается в диапазонах: 1–10, 10–5730 мкМ. Пределы обнаружения АК для двух диапазонов составили 0.05 и 0.26 мкМ соответственно. Разработана методика определения АК во фруктовых соках и нектарах без их предварительной пробоподготовки с использованием разработанного сенсора.

Положения, выносимые на защиту

– результаты математического моделирования процессов электроокисления нитрит-ионов, АК и МК на макроэлектродах и электродах, модифицированных наночастицами золота разного размера;

– результаты сравнительного анализа экспериментально полученных и рассчитанных в соответствии с предложенной физико-математической моделью данных;

– электрохимический сенсор на основе наночастиц золота, покрытых пленкой нафиона, и методика определения МК в сыворотке крови и молоке;

– электрохимический сенсор на основе углеволоконного материала и фитосинтезированных наночастиц золота и методика определения АК во фруктовых соках.

Методология и методы исследования. При решении поставленных задач использован комплекс современных физико-химических методов. Для характеристики наночастиц золота, синтезированных различными способами, использованы оптические методы: просвечивающая и сканирующая электронная микроскопия (ПЭМ и СЭМ), спектрофотометрия и метод динамического рассеяния света (ДРС). При изготовлении сенсора на основе нового перспективного материала (углеродной вуали) для определения АК применен метод горячего ламинирования. Исследования углеродной вуали проведены с помощью ИК-Фурье спектроскопии и СЭМ. Основные исследования и анализ реальных образцов выполнены с помощью электрохимических методов. Антиоксидантная активность (АОА) образцов соков оценена потенциометрическим методом. Определение МК в сыворотке крови проведено с помощью ферментативного спектрофотометрического метода. Референтным методом определения АК в соках служил метод потенциометрического титрования.

Степень достоверности полученных результатов. Достоверность полученных результатов обеспечена применением современных методов анализа и высокотехнологичного оборудования, согласованностью теоретических и

экспериментальных данных, получением статистически значимого объема экспериментальных данных и сравнением с независимыми методами, публикацией основных результатов в высокорейтинговых международных изданиях и докладах на научных конференциях.

Апробация работы

Результаты исследований, проведенных в рамках диссертационной работы, были представлены в виде устных и стендовых докладов на всероссийских и международных конференциях: XXV, XXVII Российской молодежной научной конференции «Проблемы теоретической и экспериментальной химии» (Екатеринбург, 2015, 2017), X Всероссийской конференции «Химия и медицина» (Уфа, 2015), «Euroanalysis XVIII (Бордо, Франция, 2015), IX Всероссийской конференции по электрохимическим методам анализа с международным участием «ЭМА» (Екатеринбург-Леневка, 2016), XIX, XXI, XXII Всероссийской экономической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Конкурентоспособность территорий» (Екатеринбург, 2016, 2018, 2019), XX Всероссийской конференции молодых ученых-химиков с международным участием (Н. Новгород, 2017), Третьем съезде аналитиков России (Москва, 2017), II Всероссийской молодёжной научно-практической конференции с международным участием «Ломоносовские чтения-2017» (Екатеринбург, 2017), V Всероссийском симпозиуме с международным участием «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар, 2018), II Всероссийской межвузовской научно-практической конференции «Экологическая безопасность в техносферном пространстве» (Екатеринбург, 2019), XXI Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Санкт-Петербург, 2019).

Диссертационная работа является частью исследований в рамках проекта Министерства образования и науки РФ № 1458 (2014–2016 гг.), проектов РФФИ 13-03-00285_А (2014–2015 гг.) «Электрохимия наночастиц и сенсоры на их основе», 16-33-00587_мол_а «Наноэффекты в электродных процессах: роль подложки, размера и природы наночастиц» (2016–2017 гг.), 17-03-00679_А

«Зеленый синтез» наночастиц золота, их свойства и применение в электроанализе биологически активных соединений» (2017–2019 гг.).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 18 работ, в том числе 5 статей в рецензируемых журналах и изданиях, рекомендованных ВАК (входящих в базы цитирования Scopus и Web of Science), 1 глава в коллективной монографии, цитируемая в базе Web of Science, и тезисы 12 докладов всероссийских и международных конференций.

Личный вклад автора состоял в постановке задач, синтезе наночастиц золота различными способами, приготовлении модифицированных электродов, проведении экспериментальных исследований электрохимического поведения веществ на различных твердофазных и наноструктурированных электродах, сопоставлении полученных результатов с теоретически рассчитанными, установлении аналитических характеристик разрабатываемых сенсоров, анализе реальных объектов, обработке данных.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 128 страницах, состоит из введения, пяти глав, заключения и списка литературы (186 источников). Работа содержит 16 таблиц и 45 рисунков.

Во ***Введении*** раскрыта актуальность темы исследования, определены цели и задачи, сформулирована научная новизна, практическая значимость и положения, выносимые на защиту.

В ***Литературном обзоре*** (Глава 1) рассмотрены методы синтеза наночастиц золота, их уникальные свойства отличные от объемного металла и размерные эффекты. Проанализированы теоретические подходы к изучению металлических наночастиц и особенностей процессов электропревращения с их участием. Уделено внимание физиологической роли АК и МК и важности определения этих соединений в различных объектах. Представлена информация о различных методах, используемых для определения АК и МК. Рассмотрены характеристики разнообразных модифицированных электродов, применяемых при электрохимическом определении АК и МК, их преимущества и недостатки. На основании проведенного обзора литературы сделано заключение об

актуальности создания математической модели для описания процессов электропревращения веществ на электродной поверхности с учетом её энергетических особенностей, разработки высокочувствительных и селективных электрохимических сенсоров для определения МК и АК

Во ***второй главе*** приведены данные об используемых химических реактивах и рабочих растворах, оборудовании и электродах, методах исследований. Представлены способы синтеза наночастиц золота: традиционный, так называемый, цитратный метод Туркевича и «зеленый» синтез, в котором используется экстракт из листьев земляники с высокой АОА в качестве восстанавливающего и стабилизирующего агента. Описаны процедуры приготовления модифицированных электродов и измерения аналитического сигнала. Представлены характеристики синтезированных наночастиц золота, полученных с использованием различных физико-химических методов: спектрофотометрии, ПЭМ, СЭМ, ДРС.

В ***третьей главе*** представлены основные уравнения математической модели, основанной на термодинамическом подходе, предложенном проф. Х. З. Брайниной. Математическая модель описывает процессы электропревращения вещества, диффундирующего из объема раствора к макро- и наноструктурированной поверхности, с учетом её энергетических особенностей. Проведен сравнительный анализ теоретических и экспериментальных данных. Установлены механизмы и особенности процессов электроокисления нитрит-ионов, АК и МК.

Глава 4 посвящена разработке селективного вольтамперометрического сенсора на основе наночастиц золота для определения МК и его апробации на реальных объектах. В ***главе 5*** предложен вольтамперометрический сенсор на основе наночастиц золота, синтезированных с помощью «зеленой» технологии, для определения АК и представлены результаты ее определения в образцах фруктовых соков.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Синтез и свойства наночастиц золота

В настоящее время область применения наночастиц золота довольно обширна. Она включает в себя электронику, где наночастицы являются проводниками и составляющими различных чипов. Золотые наночастицы используются в топливных элементах и в качестве катализаторов [1–3]. Широкой областью использования золотых наночастиц является медицина, включающая диагностические применения, фототермическую и фотодинамическую терапию раковых опухолей. Благодаря большому соотношению площади поверхности к объему наночастиц, перспективной является возможность целенаправленной доставки лекарственных препаратов к пораженному органу [4–6]. На основе наночастиц золота создают колориметрические [7–12] и электрохимические сенсоры [13–18].

Для синтеза наночастиц существуют разнообразные химические и физические методы, которые принято разделять по принципу формирования наноструктур на два типа: «снизу-вверх» (bottom up) или «сверху-вниз» (top down). Принцип «снизу вверх» заключается в сборке наночастиц из атомов, полученных в результате восстановления ионов. По этому принципу происходит формирование наночастиц в химических (метод Туркевича, золь-гель метод, синтез в мицеллах) и электрохимических методах, а так же в таком физическом методе, как наносферная литография. Получение наноструктур по типу «сверху-вниз» реализуется путем измельчения более крупных частиц до наноразмерного состояния такими физическими методами, как фотолитография, электронно-лучевая литография, лазерная абляция, использование ультразвуковых полей и ультрафиолетового облучения [12, 19, 20]. С помощью этих методов возможно контролировать форму наночастиц, но распределение наночастиц по размерам при этом является достаточно неравномерным.

Наиболее часто используемым химическим методом является метод Туркевича, основанный на восстановлении ионов Au(III) до Au(0) цитратом натрия, который одновременно является стабилизатором, предотвращающим агрегацию и осаждение наночастиц [21]. Преимуществом метода Туркевича является его простота и получение золей золота с узким распределением частиц по размерам.

Кроме того, существуют физико-химические методы, в которых физическое воздействие инициирует прохождение химической реакции, приводящей к формированию материала с особыми свойствами и фазовым составом. К таким методам относится газофазный синтез, пиролиз аэрозолей, синтез в сверхкритических растворителях. Несмотря на многие достоинства этих методов, они имеют определенные ограничения и трудности, связанные с использованием сложного и дорогостоящего оборудования, вредных для окружающей среды органических растворителей, поверхностно-активных веществ, токсичных реагентов, а также получением опасных побочных продуктов и высоким энергопотреблением.

В последнее десятилетие в качестве альтернативного и достаточно эффективного метода синтеза наночастиц используют, так называемый «зеленый» синтез, который основан на биовосстановлении наночастиц с помощью растительных экстрактов и различных микроорганизмов [5, 22–25]. Стабилизация наночастиц за счет фитохимических веществ, содержащихся в растительных экстрактах, обеспечивает их биосовместимость и экологическую безопасность. К основным преимуществам этого метода следует отнести отсутствие токсичности, простоту, высокую скорость синтеза, низкую стоимость и возможность широкомасштабного производства.

Растущий интерес использования наночастиц золота в различных областях науки, медицины и промышленности связан с их уникальными свойствами: физическими [26, 27], оптическими [28], каталитическими [29], магнитными [30, 31] и сенсорными, которые заметно отличаются от свойств «объемных» аналогов. Например, при переходе от наносостояния к макро- происходит изменение

температуры плавления, которая возрастает с увеличением размера наночастиц и достигает величины 1337 К, характерной для объемного материала [26, 32]. В рамках химической термодинамики это явление объясняется тем, что атомы внутри наночастиц испытывают дополнительное поверхностное давление, что приводит к изменению их энергии Гиббса. Связь температуры плавления с радиусом наночастиц описывает уравнение Гиббса-Томсона:

$$T_m = T_m^*\left(1 - \frac{2\sigma_{sl}}{\Delta H_{пл}\rho_{тв} r}\right), \quad (1)$$

где T_m – температура плавления наночастиц с радиусом r, T_m^* – температура плавления объемной фазы, σ_{sl} – поверхностное натяжение между жидкой и твердой фазами, $\Delta H_{пл}$ – удельная теплота плавления, $\rho_{тв}$ – плотность твердого вещества [33].

Еще одной особенностью является наличие в видимой области спектра четко выраженной полосы поглощения. Ее появление связано с эффектом локализованного поверхностного плазмонного резонанса (ППР), характерного для наночастиц. Это свойство вызвано возникновением коллективных колебаний электронов, находящихся вблизи поверхности, под воздействием падающего света (рисунок 1.1). Для малых наноструктур электроны будут когерентно колебаться на определенной длине волны, что создает отчетливый пик в спектре.

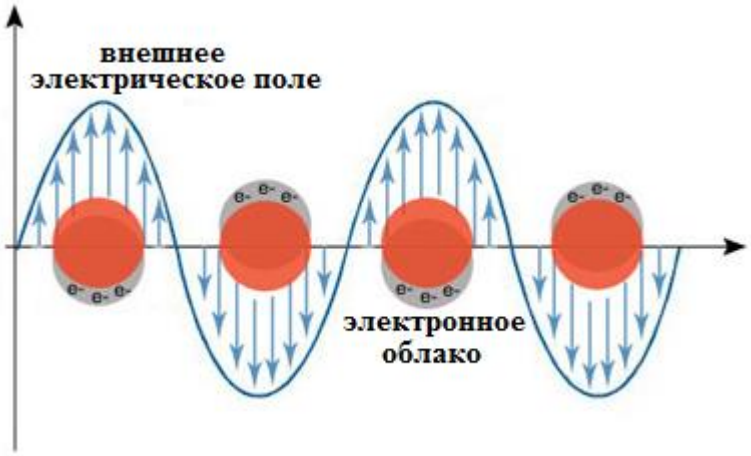


Рисунок 1.1 – Явление локализованного ППР наночастиц золота

Установлено, что положение полосы поглощения (длина волны) сильно зависит от размера, формы, степени агрегации наночастиц. С уменьшением размера наночастиц золота происходит смещение максимума полосы ППР в оптических спектрах в область меньших длин волн [28]. Это позволяет использовать наночастицы для увеличения чувствительности спектрофотометрических сенсоров.

В работе [34] описано существенное влияние размера наночастиц на электрохимические и термодинамические параметры нано-Au-электродов, такие как, стандартный электродный потенциал E°, изменение молярной свободной энергии Гиббса ΔG_m, изменение молярной энтальпии ΔH_m, изменение молярной энтропии ΔS_m, стандартная константа равновесия K° электродной реакции сферических наночастиц. Установлено уменьшение величины E° и lnK° и увеличение термодинамических величин ΔG_m, ΔH_m, ΔS_m с уменьшением размера наночастиц. Эти зависимости особенно сильно проявляются в случае, когда радиус наночастиц меньше 10 нм. При этом к основным факторам, оказывающим влияние на эти параметры, относят частичную молярную площадь и поверхностное натяжение.

Проявление аномалий в свойствах наночастиц обусловлено избыточной поверхностной энергией, возникающей в результате нескомпенсированности связей поверхностных и приповерхностных атомов, доля которых существенно возрастает при уменьшении размера наночастиц [35, 36]. Известно, что уменьшение размера наночастиц сопровождается увеличением степени дефектности кристаллической решетки и появлением большого числа активных реакционных центров на поверхности. Это способствует возрастанию химической активности наноразмерных структур.

Проявление размерного эффекта в сенсорных свойствах электродов также связывают с разной адсорбционной, электрохимической и электрокаталитической активностью наноструктур и их объёмных аналогов. Для наночастиц характерна высокая степень дефектности кристаллической решетки. Бóльшая и возрастающая по мере уменьшения размера частиц доля поверхности приходится на

«вершинные и рёберные» структурные элементы. Адсорбционные свойства дефектов такой наноструктурированной поверхности отличаются от аналогичных свойств плоской поверхности макроэлектродов. На поверхность наночастиц могут выходить грани, которые отсутствуют у макрокристаллов. В результате на модифицированных наночастицами электродах возможно протекание реакций, практически не идущих на поверхности макрокристаллов, а также изменение механизма и кинетики электродного процесса [35]. Различие в адсорбционных и электрокаталитических свойствах нанокристаллов и макрокристаллов объясняют изменением электронного состояния атома в кристалле при уменьшении его размеров.

Таким образом, «размерный эффект» определяет достаточно сильную зависимость физических и химических свойств наночастиц от их степени дисперсности и от геометрии (формы). Со свойствами собственно наночастиц и характерным для них «размерным эффектам» связано улучшение характеристик наноструктурированных электрохимических сенсоров. Широко используемые в качестве составной части сенсоров металлические наночастицы, в частности наночастицы золота могут выполнять функции трансдьюсеров, каталитических агентов, адсорбентов и др.

Проявление «размерного эффекта» в химических процессах, прежде всего, нашло отражение в изменении кинетики химической реакции. Однако экспериментальные исследования влияния размера наночастиц на кинетические параметры химических реакций испытывают определенные трудности. Это связано с тем, что наноматериалы зачастую являются полидисперсными и интерпретация экспериментально полученных данных может быть неоднозначна. В связи с этим весьма эффективным инструментом для исследования размерного эффекта в химических процессах может служить метод математического моделирования.

1.2 Теоретические и экспериментальные подходы к изучению (металлических) наночастиц

В последние десятилетия наблюдается значительный рост числа публикаций, посвящённых применению металлических наночастиц, в частности золота, в электрохимических сенсорах. Однако теоретические и экспериментальные исследования закономерностей электрохимического поведения металлических наночастиц, иммобилизованных на поверхности макроэлектрода, развиты недостаточно широко. С использованием микроскопических и электрохимических методов было экспериментально показано, что электрохимическая активность наночастиц металлов увеличивается с уменьшением их размера. Эта зависимость проявлялась в сдвиге потенциала окисления металлических наночастиц в катодную область относительно объемного металла [35]. Для объяснения размерных эффектов, характерных для наночастиц, различными исследователями были выдвинуты несколько подходов. Так, Комптон с соавт. предложил математическую модель, в основе которой рассматривались процессы диффузии [37, 38]. При этом для необратимой электрохимической системы реализовывалось два случая: 1) при малых количествах наночастиц на макроэлектроде отсутствует перекрывание диффузионных зон, а потенциал максимума тока электроокисления наночастиц сдвигается в катодную область; 2) при больших количествах наночастиц, иммобилизованных на электроде, происходит перекрывание диффузионных зон, реализуются условия планарной диффузии, а потенциал электроокисления смещается в анодную область с увеличением количества металла независимо от размера наночастиц.

При исследовании размернозависимых электрохимических термодинамических величин, проведенные в 1980-х годах Плитом [39, 40] было выведено уравнение для смещения обратимого окислительно-восстановительного потенциала мелких металлических частиц относительно объемной фазы в зависимости от их размера. Впоследствии явление отрицательного сдвига

потенциала нанометаллического электрода было подтверждено и другими литературными данными [41– 44].

Проф. Х. З. Брайниной с соавт. предложена математическая модель, которая описывает процессы электроокисления наночастиц металлов, локализованных на поверхности индифферентной подложки [45]. В основу модели положен термодинамический подход, в котором вещество (металл) рассматривается в каком-либо энергетическом состоянии: M_{I} ($\Delta G°<0$), M_{II} ($\Delta G°=0$) и M_{III} ($\Delta G°>0$). Согласно [45] предполагалось, что в состоянии M_{I} металл связан с поверхностью электрода сильнее, чем в объемной кристаллической решетке (металл во втором энергетическом состоянии M_{II}). Это состояние характеризуется минимальной энергией системы металл – электрод. M_{III} является энергетически богатым состоянием, которое типично для систем, где поверхностная энергия наночастиц не может быть исключена из рассмотрения. При расчетах в кинетическое уравнение, описывающее вольтамперограмму окисления наночастиц, был введен член ($\Delta G°/RT$), который и учитывает энергетические отличия наночастиц металлов от их объемных аналогов [29]. В серии работ экспериментальным и расчетным путями (на основе предложенной математической модели) получено семейство вольтамперограмм электроокисления наночастиц золота [46], висмута [47] и серебра [48] разного размера с поверхности толстопленочного углеродсодержащего электрода (ТУЭ). Показано, что при переходе от макро- к наноструктурам металла на поверхности электрода потенциал пика тока его окисления смещается в катодную область, что указывает на возрастание электрохимической активности наночастиц по сравнению с объёмным металлом [35]. Кроме того, в работе [49] с использованием математического моделирования были описаны процессы электроокисления полидисперсной системы наночастиц золота, иммобилизованной на поверхности индифферентного макроэлектрода. Показано, что степень дисперсности ансамбля наночастиц находит отражение в формах вольтамперограмм окисления золота. В зависимости от распределения наночастиц золота в смеси по размеру их электрорастворение может происходить в более широком или более узком диапазоне потенциалов.

Таким образом, теоретические исследования особенностей процессов электроокисления наночастиц металлов и их свойств описаны в достаточном количестве работ. Но подхода к описанию процессов электропревращения вещества на наночастицах к настоящему времени предложено не было.

1.3 Методы определения аскорбиновой кислоты

Аскорбиновая кислота (витамин С) является водорастворимым соединением с мощными антиоксидантными свойствами и необходима для протекания многих биологических процессов в человеческом организме. Биохимически и физиологически активной формой является L-энантиомер аскорбиновой кислоты. В физиологических условиях существует в виде аскорбат-аниона. Аскорбиновая кислота участвует в регуляции окислительно-восстановительных процессов, синтезе белка, углеводном обмене, свертываемости крови и регенерации тканей. Витамин С принимает участие в синтезе коллагена, биосинтезе карнитина, всасывании железа. Аскорбат-ион выступает в качестве донора электронов и может восстанавливать железо в форме Fe^{3+} до двухвалентного железа Fe^{2+}, окисляясь до дегидроаскорбата. Кроме того, аскорбиновая кислота необходима для реализации функции надпочечников, секреции гормонов и интерферонов, метаболизма фолиевой кислоты, тирозина, фенилаланина. АК способствует уменьшению концентрации холестерина в крови и снижению высокого артериального давления. Благодаря мощной антиоксидантной функции, АК способствует повышению сопротивляемости организма неблагоприятным факторам внешней среды, усиливает иммунный ответ при инфекционных заболеваниях. АК кислота играет важную роль в защите организма от окислительного стресса, взаимодействует со свободными радикалами, в результате чего они становятся относительно нереакционноспособными [50]. Однако при избытке АК могут возникнуть аллергическая реакция, раздражение желудка, нарушение функции почек.

Растения и большинство животных синтезируют аскорбат из глюкозы. У примитивных рыб, амфибий и рептилий синтез аскорбата происходит в почках,

тогда как у млекопитающих, печень является местом синтеза, где фермент L-гулонолактоноксидаза превращает глюкозу в аскорбиновую кислоту. В организме человека АК не синтезируется, но при этом расходуется в процессе жизнедеятельности в значительных количествах. Восполнить потребность в АК возможно путем потребления ее из внешних источников. Такими источниками являются продукты богатые витамином С, биологически активные добавки и фармацевтические препараты. АК в больших количествах содержится в свежих фруктах, овощах [51], ягодах, их соках, специях, а также широко используется в качестве антиоксиданта при производстве пищевых продуктов и напитков, для предотвращения вкусовых изменений и стабилизации окраски. АК широко используется в фармацевтической, химической и косметической отраслях.

Мониторинг уровня АК является немаловажным. Точное определение содержания АК в биологических жидкостях необходимо при клинических исследованиях, связывающих окислительный стресс с такими заболеваниями человека, как сахарный диабет, заболевания печени и рак. Количественная оценка содержания АК имеет большое значение не только для диагностики состояния здоровья человека, но и для контроля качества и обеспечения безопасности пищевой продукции, лекарственного сырья и фармпрепаратов. Учитывая пищевую ценность и терапевтические свойства АК, проблема её определения не теряет актуальности и в настоящее время.

Для определения АК используют разнообразные аналитические методы: титриметрические [52, 53], спектрофотометрические [52, 53], флуориметрические, хроматографические [54–56], хемилюминесцентные, электрохимические методы [50, 57, 58]. Традиционные методы оценки количественного содержания аскорбиновой кислоты связаны с окислительно-восстановительным титрованием [52, 53, 57]. Определение в данном случае основано на экстрагировании АК раствором кислоты (соляной, щавелевой, трихлоруксусной, метафосфорной или смесью уксусной и метафосфорной) и дальнейшем визуальном титровании раствором какого-либо окислителя [59]. Для титрования АК, обладающей восстановительными свойствами, используют растворы таких окислителей, как

2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, йодата или бромата калия. Согласно ГОСТ 30627.2-98 титрование с использованием 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия применяют для определения АК в молочных продуктах для детского питания [50]. Титриметрический метод обладает рядом недостатков. Один из существенных недостатков заключается в том, что данный метод подходит для определения АК только в неокрашенных или слабоокрашенных образцах. Он не обладает высокой селективностью из-за присутствия восстанавливающих веществ (двухвалентное железо, диоксида серы, сульфитов) в пищевых образцах. Кроме того, анализ данным методом требует временных затрат на пробоподготовку и сам процесс титрования.

Широкое использование получили спектрофотометрические методы [52, 61]. Один из методов определения АК основан на использовании соединения двухвалентной меди, сопровождается восстановлением Cu^{2+} до ионов Cu^{+} в присутствии купроина, комплексообразующего агента, и образованием окрашенного комплекса, который поглощает при 545 нм [53]. Ограниченность использования спектрофотометрического метода состоит в низкой селективности при использовании УФ диапазона, особенно при анализе фармацевтических образцов со сложной матрицей, невозможностью анализа окрашенных объектов и временных затратах для завершения процесса комплексообразования.

Существующие ГОСТы для определения АК в соках и соковой продукции используют ферментативный спектрофотометрический метод [62]. Процедура анализа предполагает восстановление АК и других редуцирующих веществ и спектрофотометрическое определение суммы редуцирующих веществ. А для обеспечения специфичного определения АК проводят окисления аналита ферментом аскорбатоксидазой в присутствии кислорода воздуха. Подготовка проб данным методом требует предварительного восстановления и удаления предварительных красящих пигментов. Ферментативное определение проводят при температуре 37 °С [62].

Также нашел применение флуориметрический метод [50, 59, 63, 64]. Определение данным методом заключается в предварительном окислении АК до

дегидроаскорбиновой кислоты (ДГАК), взаимодействии ДГАК с о-фенилендиамином с образованием флуоресцирующего соединения и измерении интенсивности флуоресценции при облучении образующегося хиноксалина на длине волны 350 нм и излучении при 427 нм. Спектрофлуориметрический метод требует строгого контроля pH.

Разработаны различные хроматографические методы для определения АК в пищевых продуктах и биологических жидкостях, включая плазму крови и урину [50, 65–71]. В частности, для оценки количественного содержания АК и ДГАК, широко применяют метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с различными вариантами детектирования: спектрофотометрическим, электрохимическим, флуоресцентным. ГОСТированная методика определения АК в соковой продукции основана на применении обращенно-фазовой ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием в УФ области спектра при длине волны 243 нм [62]. Наибольшую распространенность УФ-спектрофотометрического детектирования при хроматографическом определении АК обуславливает сильное поглощение в области 245 – 270 нм. Подготовка анализируемых образцов при использовании данного метода заключается в предварительном разбавлении, фильтровании или центрифугировании проб в течение 15 минут. Кроме того, метод требует построения градуировочной зависимости, что увеличивает время анализа.

Метод ВЭЖХ, несмотря на селективное определение многих соединений, является достаточно трудоемким инструментальным методом. Для образцов необходима стадия предварительной обработки, экстракции под давлением или кислотного извлечения АК. Метод требует тщательного подбора и соблюдения условий пробоподготовки и хроматографирования, а также временных затрат. Использование растворителей высокой чистоты, дорогостоящих хроматографических колонок и оборудования значительно повышают стоимость анализа. Кроме того, выполнение измерений должен производить квалифицированный оператор.

Способность легко окисляться составляет основу электрохимического определения АК. Электрохимические методы (потенциометрические, вольтамперометрические и амперометрические) характеризуются своей селективностью, быстротой отклика, высокой чувствительностью, точностью определения и минимальными требованиями к пробоподготовке. Они не требуют больших затрат и обладают простотой в эксплуатации и мобильностью, что делает возможным проведение on site и in-situ анализа. Благодаря этому использование электрохимических методов является более предпочтительным перед другими трудоемкими инструментальными методами и привлекает большое внимание при оценке содержания АК в биологических жидкостях, фруктах, соках, фармацевтических препаратах, меде, косметике.

Основным инструментом измерения в электрохимических методах является электрод. При этом используют разнообразные электроды: стеклоуглеродный (СУЭ), золотой, платиновый [72] электроды. Определение концентрации АК с помощью немодифицированных углеродных или металлических электродов вызывает определенные проблемы, связанные с существованием соединений с близкими электрохимическими свойствами, такие, например, как допамин, мочевая кислота, глюкоза, которые затрудняют определение особенно в биологических средах [50, 73]. Кроме того, электрохимическое определение АК с использованием металлических или углеродных электродов, особенно в сложных матрицах, характеризуется относительно высокими рабочими потенциалами, необходимыми для электроокисления АК. Это приводит к плохой селективности и воспроизводимости в результате образования побочных продуктов окисления [13]. Решение этой проблемы связано с модифицированием электродов различными функциональными материалами, в частности наноструктурами. При использовании модифицированных электродов наблюдается отличное от объемных электрохимическое поведение АК. Отмечено, что возрастает скорость процесса переноса электрона на таких электродах по сравнению с немодифицированными электродами. Реакция окисления при этом протекает при меньшем перенапряжении, что термодинамически более благоприятно.

Разработка широкого спектра наноматериалов дала возможность их применения в высокоэффективных электрохимических сенсорах. Благодаря превосходным электрокаталитическим свойствам, хорошей электронной проводимости, высокому отношению поверхности к объему наночастицы золота являются весьма распространенным компонентом, используемым в качестве модификаторов электродов (см. таблицу 1.1). В качестве вспомогательных материалов для увеличения активной поверхности и электропроводности широко используют графитовые материалы, такие как нанотрубки и графен [14, 15, 73–76]. Для закрепления на поверхности электрода наночастицы комбинируют с проводящими полимерными материалами [16, 77–80]. Исследования показывают, что при их использовании улучшаются аналитические характеристики сенсоров: повышается чувствительность и разрешающая способность, снижается предел обнаружения. Улучшенные свойства наноструктурированных сенсоров обуславливают их привлекательность для использования в современных портативных аналитических приборах, что позволяет проводить определение в полевых условиях в реальном времени. Стоит отметить, что при создании сложных многокомпонентных модификаторов процедура их приготовления является достаточно длительным процессом и требует использования вредных растворителей и сложных инструментов. В связи с этим актуален дальнейший научный поиск и разработка новых высокочувствительных и селективных электрохимических сенсоров для определения АК с использованием современных материалов и простых «зеленых» технологий.

Таблица 1.1 – Модифицированные электроды, применяемые для определения аскорбиновой кислоты

Сенсор	Размер $Au_{нч}$ модификатора, нм	Аналитические характеристики сенсора			Метод детекции	Объект исследования	Ссылка
		ПО, мкМ	Чувствитель-ность	ЛД, мкМ			
1	2	3	4	5	6	7	8
$Au_{нч}$/ТУЭ	–	–	7.43 нА×мМ$^{-1}$	1.9–16.6	Амп	Сыворотка крови	[13]
RGO-$Au_{нч}$-СУЭ	38.7±3.5	9.5 5.7	8.1×10^{-3} мкА×мкМ$^{-1}$ 3.1×10^{-3}	10–1000	Амп ДИВ	Модельный раствор	[14]
$Au_{нч}$-МУНТ- N-ТМСП/СУЭ	3–8	0.07	1.04 мкА×мМ$^{-1}$	–	Амп	Фармацевтические образцы	[15]
NG-$Au_{нч}$-ПАН/FTO	–	640	10.44 28.91 мкА×мМ$^{-1}$см$^{-2}$	960–4660 5060–9860	ХрА	Модельный раствор	[16]
$Au_{нч}$-GO/СУЭ	13–16	0.1	101.86 мкА×мМ$^{-1}$см$^{-2}$	–	Амп	Сыворотка крови человека, таблетки витамина С	[73]

Продолжение таблицы 1.1

1	2	3	4	5	6	7	8
$Au_{нч}$-МУНТ/СУЭ	120	0.76	0.1016 мкА×мкМ$^{-1}$	1–150	ДИВ	Сыворотка крови и фармацевтические образцы	[74]
$Au_{нч}$-RGO/СУЭ	пластины Au l=170 нм	0.51	–	–	ДИВ	Сыворотка	[75]
TiO_2-$Au_{нч}$-МУНТ/СУЭ	<10	0.01 1.25	117.776 мкА×мМ$^{-1}$см$^{-2}$ 92.1 мкА×мМ$^{-1}$см$^{-2}$	0.01–0.08 7.5–4000	ДИВ ХрА	Модельный раствор	[76]
$Au_{нч}$-ПАН/СУЭ	1–3 20–50	8.2	25.69 мкА×мМ$^{-1}$см$^{-2}$	10–12000	Амп	Таблетки витамина С	[77]
$Au_{нч}$-ZnO-PPy-RGO-СУЭ	100	0.16	0.0116 мкА×мкМ$^{-1}$	2–950	ДИВ	Таблетки витамина С	[79]
$Au_{нч}$-П(ПДК)-GO/СУЭ	–	1.764	0.0743 мкА×мкМ$^{-1}$	0.6–2400	ДИВ	Урина	[80]
PGM/УПЭ	1	0.97	95.95 мА×мМ$^{-1}$	5–13300	ДИВ Амп	Таблетки витамина С	[81]
$Au_{нч}$-ПДДА-GNS-СУЭ	17, 28, 46	80	0.008 мкА×мкМ$^{-1}$	600–4200	ДИВ	Модельный раствор	[82]

Окончание таблицы 1.1

1	2	3	4	5	6	7	8
TiO_2-$Au_{нч}$-МУНТ-ДГФ/СУЭ	9.7 ± 2.2	1.2	3.59×10^4 мкА×мкМ$^{-1}$	5.0–51	Амп	Фармпрепараты, апельсиновый сок	[83]
$Au_{нч}$-Цис-Bt/СУЭ	–	0.87	0.00216 мкА×мкМ$^{-1}$	1–25000	ДИВ	Фармпрепарат	[84]
β-ЦД-$Au_{нч}$-EDGO/СУЭ	–	2	20.0717 мкА×мкМ$^{-1}$	50–900	ДИВ	Модельный раствор	[85]
ERGO-pEBT-$Au_{нч}$/СУЭ	–	0.53	0.003 мкА×мкМ$^{-1}$	10–900	ДИВ	Таблетки витамина С, урина	[86]
3D-MoS_2-RGO-$Au_{нч}$/СУЭ	74	0.93	0.006 мкА×мкМ$^{-1}$	2–5400	ДИВ	Сыворотка крови	[87]
GO-$Au_{нч}$/ТУЭ	–	1.04	–	20–375	ЦВ, ДИВ	Урина	[88]
PANIS-$Au_{нч}$/СУЭ	–	0.08	–	10–2000	ДИВ	Сыворотка крови	[89]
3DGH-$Au_{нч}$/СУЭ	14	0.028	0.021 мкА×мкМ$^{-1}$	1.0–700	ДИВ	Сыворотка крови	[90]

GO – оксид графена; МУНТ – многослойные углеродные нанотрубки; ПАН – полианилин; N-ТМСП – N-[3(триметоксисилил) пропил] этилендиамин; RGO – восстановленный оксид графена; NG – графен, допированный азотом; FTO – электрод на основе оксида олова, допированного фтором; ПП – полипиррол; ПДДА – полидиметилдиаллиламмоний хлорид; GNS – нанолисты графена; ДГФ – дигексадецилфосфат; Цис – цистеин; Bt – бентонитовая глина; П(ПДК) – поли-(2,6-пиридиндикарбоновая кислота); β-ЦД – β-циклодекстрин; EDGO (ERGO) – электрохимически восстановленный оксид графена; pEBT – поли(эриохромчерный Т); PANIS – нановолокна полианилина; 3DGH – трехмерный графеновый гидрогель.

1.4 Методы определения мочевой кислоты

Мочевая кислота (МК) – конечный продукт метаболизма пуриновых соединений. В результате естественной гибели клеток происходит разрушение пуринов, которое сопровождается образованием малорастворимой МК. В организме МК существует в форме мононатриевого урата. МК является биологически активным веществом с высоким уровнем антиоксидантной активности. Ее содержание в сыворотке крови и моче может служить диагностическим критерием. Нормальный уровень МК в крови составляет 0.12 – 0.45 мМ [91]. Отклонения от этих значений могут свидетельствовать о наличии каких-либо заболеваний. В организм человека МК поступает и с продуктами питания. К увеличению концентрации МК в крови (гиперурикемии) приводит повышенное употребление продуктов богатых пуринами (печень, красное мясо, субпродукты, бобовые, рыба, грибы). При недостаточном выведении МК накапливается в организме и, как следствие, происходит отложение игольчатых кристаллов моноурата натрия и образование камней в почках, подагра. МК оказывает неблагоприятное влияние на сердечно-сосудистую систему, вызывая острую сердечную недостаточность, гипертоническую и ишемическую болезни. Повышенное содержание МК является признаком синдрома Леша-Нихана. Низкий уровень МК может свидетельствовать о наличии рассеянного склероза, болезни Паркинсона или Альцгеймера. Поэтому количественный анализ МК в физиологических жидкостях имеет большое значение для диагностических целей и необходим для предупреждения заболеваний.

Для количественного определения мочевой кислоты используют разнообразные аналитические методы: спектрофотометрические, хроматографические, флуориметрические, электрохимические, капиллярный элеткрофорез [92]. Спектрофотометрическое определение МК известно достаточно давно. Обширная группа спектрофотометрических методов может быть разделена на ферментативные и неферментативные. К неферментативным методам определения относится прямое спектрофотометрическое определение мочевой кислоты в сыворотке (плазме) крови, основанное на поглощении

мочевой кислотой в ультрафиолетовой области спектра при 282–295 нм [93]. Однако этот метод характеризуется невысокой селективностью, что связано с поглощением в УФ-области спектра сопутствующих компонентов сыворотки или цельной крови, таких как АК, допамин, салициловая кислота и белки [91, 94]. В качестве унифицированного метода определения МК утвержден фосфорно-вольфрамовый метод. Определение основано на восстановлении фосфорно-вольфрамового реактива Фолина и образовании в щелочной среде соединения с интенсивным синим окрашиванием [95]. Количество этого соединения можно определить титрованием раствором гексацианоферрата (II) калия $K_3[Fe(CN)_6]$, который при этом окисляется с образованием бесцветного продукта. Количество $K_3[Fe(CN)_6]$, израсходованного на окисление восстановленного фосфорно-вольфрамового реактива, эквивалентно содержанию МК. К недостаткам этого метода следует отнести неспецифичность, поскольку восстанавливающими свойствами также обладают аскорбиновая кислота, триптофан и цистеин, одновременно присутствующие в определенном количестве в плазме или сыворотке крови [93]. Кроме того, для завершения окислительно-восстановительной реакции требуется время.

В настоящее время клинико-диагностические лаборатории отдают предпочтение ферментативным спектрофотометрическим методикам определения МК в плазме, сыворотке или цельной крови [94, 96]. Принцип определения состоит в следующем: МК окисляют до аллантоина в присутствии уриказы с образованием пероксида водорода, который под воздействием пероксидазы окисляет 2,4-дихлорфенол сульфонат и 4-аминофеназон, формируя соединение с интенсивным красным окрашиванием – кинонимин. Интенсивность окраски кинониминового комплекса при 520 нм прямо пропорциональна концентрации мочевой кислоты в пробе [97]. Несмотря на относительную простоту этого метода, он имеет некоторые недостатки, к которым следует отнести неустойчивость фермента уриказы, высокую стоимость, низкую эффективность и точность определения.

Метод ВЭЖХ с обращенной фазой и УФ-детектированием часто используется для количественного определения МК в сложных биологических матрицах – плазме, сыворотке крови, слюне и образцах ногтей [98–100]. Для проведения анализа данным методом требуется достаточно сложная пробоподготовка, которая заключается в разбавлении, осаждении белка, центрифугировании, фильтрации. Кроме того, в составе подвижной фазы используются токсичные органические растворители: метанол, ацетонитрил. В литературе имеются данные об использовании ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием, но поскольку для этого требуется сложное и дорогое оборудование, такой способ не нашел широкого распространения [100].

В основе флуоресцентного метода лежит тушение флуоресценции нанокластеров золота или наночастиц CdTe перекисью водорода, которая образуется в результате ферментативного разложения мочевой кислоты [100].

В литературе представлены данные об использовании поверхностно-усиленной рамановской спектроскопии (SERS) для количественного определения МК [101–103]. Сложность анализа при этом связана с влиянием pH образцов урины на спектр SERS, а также на взаимодействие целевого аналита с поверхностью серебра. В работе [101] отмечено, что после разбавления образцов pH мочи варьировалась от 4.45 до 9.30, что свидетельствует о разных состояниях ионизации мочевой кислоты и, следовательно, различном взаимодействии с поверхностью. При этом генерируются субоптимальные спектры SERS, в результате чего фактическая концентрация МК в образце не может быть найдена. Сложности в данном методе возникают и при подготовке подложки путем нанесения и сушки коллоидного раствора. В работе [102] сообщается, что при нанесении коллоидного раствора на субстрат образуется кольцеобразная структура коллоидных частиц, так называемое «кофейное кольцо», в области которого может быть достигнуто высокое усиление сигнала, но при этом нельзя ожидать воспроизводимости. Для получения воспроизводимых самосборных монослоев Au-наностержней требуется контроль влажности и температуры

сушки, а также смачиваемости и температуры субстрата, на который иммобилизуют коллоидный раствор [102].

Многие из вышеуказанных методов не обладают достаточной чувствительностью и селективностью, либо требуют специальной пробоподготовки, длительной процедуры анализа, использования ферментов, дорогостоящих реактивов и оборудования. Использование электрохимических методов позволяет повысить чувствительность, селективность и ускорить проведение анализа. Кроме того, к достоинствам данной группы методов следует отнести доступность и простоту аппаратурного обеспечения, низкую стоимость.

Электрохимическое определение основано на необратимом окислении МК до аллантоина (см. рисунок 1.2).

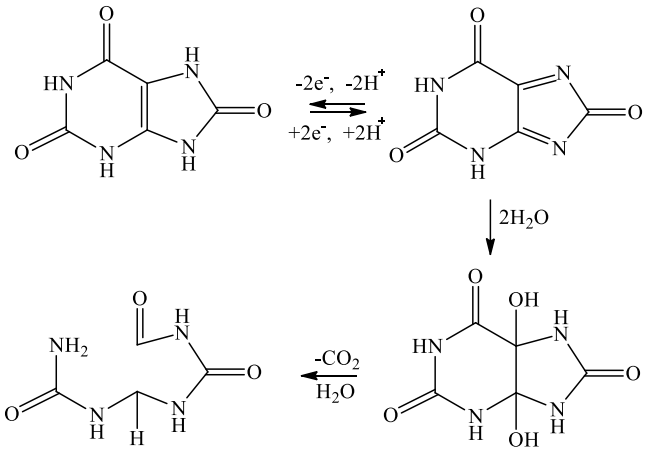


Рисунок 1.2 – Процесс электроокисления МК

При этом мешающее влияние некоторых соединений, присутствующих в биологических жидкостях совместно с МК, затрудняет анализ. К таким веществам относятся АК, допамин, глюкоза, мочевина, цистеин и др. Эти вещества имеют сходное электрохимическое поведение и близкие потенциалы окисления на немодифицированных электродах. Для решения этой проблемы применяют композитные модификаторы электродов. В качестве модификаторов, в частности используют наночастицы золота (см. таблицу 1.2). Модифицирующий слой может дополнительно включать восстановленный оксид графена, нанотрубки, хитозан, нафион, полимеры, циклодекстрины и сочетания этих компонентов. Сочетание

углеродных наноматериалов и металлических наночастиц способствует значительному повышению чувствительности измерений, расширению диапазона определяемых содержаний и снижению пределов обнаружения. Наиболее используемым при определении МК является СУЭ, однако он требует предварительной подготовки поверхности перед эксплуатацией, что является недостатком при работе во внелабораторных условиях. Кроме того, сама процедура приготовления модификатора и модифицирования электрода может быть длительной и занимать от 2 до 8 часов.

Таким образом, из вышеизложенного следует, что разработка простых, удобных в эксплуатации сенсоров для определения АК и МК, как биологически значимых веществ, не теряет актуальности. При этом для создания высокоэффективных, чувствительных и селективных сенсоров немаловажным является получение информация о механизме протекающего электродного процесса и его особенностях. Это свидетельствует об актуальности создания математической модели для описания процессов электропревращения веществ на электродной поверхности с учетом её энергетического состояния.

Таблица 1.2 – Модифицированные электроды, применяемые для определения мочевой кислоты

Сенсор	ПО, мкМ	ЛД, мкМ	Метод детекции	pH	Объект исследования	Ссылка
1	2	3	4	5	6	7
МУНТ/ПСВМ/$Au_{нч}$-СУЭ	0.05	0.05–1000	ДИВ	6	Сыворотка крови, урина	[17]
f-МУНТ/$Au_{нч}$/АТ/СУЭ	1.60	5.0–25.0	ЛВА	7	Сыворотка крови	[18]
$Au_{нч}$/ZnO/ПП/RGO/СУЭ	0.09	1.0 – 680.0	ДИВ	7	Урина	[79]
П(ПДК)/GO/$Au_{нч}$-СУЭ	0.16	0.5–150	ДИВ	3	Урина	[80]
$Au_{нч}$-ПДДА-GNS-СУЭ	2.00	6–156	ДИВ	7	Урина	[82]
$Au_{нч}$-Цис-Bt/СУЭ	0.93	1–200	ДИВ	7	Сыворотка крови птиц	[84]
ERGO-pEBT-$Au_{нч}$/СУЭ	0.046	2–70	ДИВ	6	Урина	[86]
3DGH-$Au_{нч}$/СУЭ	0.005	1–60	ДИВ	7	Сыворотка крови	[90]
Гр.пена/УНТ/Au	0.033	0.5–60	ДИВ	7.4	Урина	[104]
ZrO_2/ChCl/$Au_{нч}$-УПЭ	0.015	0.12–0.55	ДИВ	3	Урина	[105]
$Au_{нч}$@N-АЦ/МУНТ-СУЭ	0.04	0.1–300	ДИВ	7	Урина, сыворотка крови	[106]
$Au_{нч}$-поли-ТрСин/СУЭ	0.07	1.0–550.0	ДИВ	3	Урина, сыворотка крови	[107]

Окончание таблицы 1.2

1	2	3	4	5	6	7
$Au_{нч}$/СУЭ	–	2.8–57.5	ДИВ	7	–	[108]
$Au_{нч}$/RGO/СУЭ	1.80	8.8–53.0	ДИВ	7	Сыворотка крови крыс	[109]
Nf/$Au_{нч}$/AzA/МУНТ	0.28	0.5–50.0	ДИВ	7	Урина	[110]
$Au_{нч}$/ТГК/Хит/МУНТ/СУЭ	0.03	0.1–7.0 7.0–160.0	Амп	7	Сыворотка крови	[111]
RGO/$Au_{нч}$/Хит-мембр/СУЭ	0.70	1.0–300.0	ДИВ	6	Урина	[112]
$Au_{нч}$/β-ЦД/Gra/СУЭ	0.21	0.5–4.0 4.0–60.0	КВВ	2	Урина	[113]
ПТКК/Цис/$Au_{нч}$/СУЭ	0.27	0.8–297.0	ДИВ	4	Сыворотка крови	[114]
$Au_{нч}$/УПЭ	0.71	6.0–180.0	ДИВ	3	Сыворотка крови	[115]
ZnO NRs/$Au_{нч}$/СУЭ	2.38	10.0–400.0	ДИВ	7	–	[116]

AzA – краситель Azure A; $Au_{нч}$@N-АЦ – золотые наночастицы, стабилизированные N-ацетил-1-цистеином; Nf – нафион; ТГК – тиогликолевая кислота; УНТ – углеродные нанотрубки; ChCl – холин хлорид; Хит – хитозан; Хит-мембр – гибридные золь-гель мембраны хитозан/силикагель; f-МУНТ – функционализированные многослойные углеродные нанотрубки; АТ – 2-амино-тиазол; Gra – термически восстановленный оксид графена; Гр.пена – 3D-графеновая пена; поли-ТрСин – поли-трипановый синий; ПТКК – 3, 4, 9, 10-перилентетракарбоновая кислота; ПСВМ – поли (стирол-винилбензолтимин-малеиновый ангидрид); ZnONRs – наностержни ZnO.

ГЛАВА 2. РЕАКТИВЫ, ОБОРУДОВАНИЕ, МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

2.1 Реактивы

Использованные в работе реактивы имели квалификацию «ос. ч.» и «х. ч.». Приготовление рабочих растворов осуществляли с использованием деионизованной воды.

Для синтеза наночастиц золота использовали следующие реактивы:

– 0.05 М раствор золотохлористоводородной кислоты $HAuCl_4$ (Томьаналит, Россия)

– 0.10 М натрий лимоннокислый ($Na_3C_6H_5O_7$) (Химреактивснаб, Россия).

В качестве фоновых электролитов были взяты растворы:

– 1 М HCl (НеваРеактив, Россия) при исследовании электрохимических свойств золотых наночастиц

– 0.002 М сульфат натрия Na_2SO_4 (Россия) при исследовании электрохимического поведения нитрит-ионов на твердофазных электродах

– 0.001 М серная кислота H_2SO_4 (Реахим, Россия) при исследовании электрохимического поведения аскорбиновой кислоты на твердофазных электродах

– фосфатные буферные растворы (ФБР), приготовленные на основе 1/15 М дигидрофосфата калия KH_2PO_4 (НеваРеактив, Россия) и 1/15 М гидрофосфата натрия $Na_2HPO_4 \times 12H_2O$ (Вектон, Россия).

ФБР pH 7.2 и медиаторную систему $10^{-2}/10^{-4}$ М $K_3[Fe(CN)_6]$ (Вектон, Россия)/$K_4[Fe(CN)_6]$ (Реахим, Россия) использовали при оценке антиоксидантной активности (АОА) образцов соков.

В работы были использованы такие реактивы как, нитрит натрия $NaNO_2$ (Россия), гидроксид натрия (Россия), хлорид калия (Россия), аскорбиновая кислота $C_6H_8O_6$ (Sigma-Aldrich, Китай), мочевая кислота $C_5H_4N_4O_3$ (AcrosOrganics, Бельгия), нафион (5%, Fluka, Швеция), глюкоза $C_6H_{12}O_6$ (Россия), мочевина CH_4N_2O (Fluka, Швейцария), L-триптофан $C_{11}H_{12}N_2O_2$ (AppliChem, Германия),

креатинин $C_4H_7N_3O$ (Merc, Германия), яблочная кислота (НеваРеактив., Россия), винная кислота (Merck, Германия), лимонная кислота (Merck, Германия), сахароза (ЛенРеактив, Россия), фруктоза (ЛенРеактив, Россия), Cementit universal (Merz+Benteli AG, Швейцария), ацетон (Экос-1, Москва, Россия), 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (Вектон, Россия).

2.2 Оборудование и электроды

Для получения деионизованной воды с удельным сопротивлением 18 МОм×см использовали комбинированную многоступенчатую лабораторную установку для получения сверхчистой воды «АКВАЛАБ» УВОИ-МФ-1812 (АО НПК «Медиана-Фильтр», Россия).

Навески реагентов брали с помощью аналитических весов I класса точности (ViBRAHT-84RCE, Япония).

Синтез наночастиц золота осуществляли с использованием магнитной мешалки с контролируемым подогревом IKA RCT basic («IKA-Werke», Германия).

Контроль кислотности буферных растворов и процедуру потенциометрического титрования осуществляли с помощью pH-метра/ионометра ТА-Ион («Томьаналит», Россия).

«Отмывку» наночастиц, полученных «зеленым» синтезом производили с использованием центрифуги MIKRO 120 («Andreas Hettich», Germany).

Ламинатор (LM-260iD (Rayson Electrical MFG., Ltd., China) использовали для изготовления подложек на основе углеродной вуали.

Оптические характеристики синтезированных золей золота изучали с помощью спектрофотометра ECO-VIEW UV 1200 («Shanghai Mapada Instruments Co., Ltd.», Shanghai, Китай) в диапазоне длин волн 450–700 нм.

Для определения размера и ξ-потенциала наночастиц, их распределения в золе методом динамического рассеяния света (ДРС) был использован

универсальный анализатор суспензий Brookhaven 90BI-Zeta Plus («Brookhaven Instruments Corporation», США).

Микроскопические исследования золей золота осуществляли с использованием аналитического просвечивающего электронного микроскопа JEM-2100 с катодом из LaB_6, ускоряющим напряжением 200 кВ с разрешением по точкам 0.19 нм и по линиям 0.14 нм («JEOL», Япония). Исследования поверхности электродов, модифицированных наночастицами золота, проводили с использованием сканирующего (растрового) электронного микроскопа LEO 982 («LEO Electronenmikroskopie», Германия) и Scios 2 (Thermo Fisher Scientific, Пардубице, Чехия), оснащенного детектором Ultim Max (Oxford Instruments plc., Абингдон, Великобритания) для проведения исследований методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (EDX). Спектральный анализ проводили с использованием ИК-Фурье спектрометра Thermo Scientific Nicolet 6700 (США).

Для электрохимических измерений использовали полуавтоматический компьютеризированный вольтамперометрический анализатор «ИВА-5» (ИВА, Россия) с магнитной мешалкой ПЭ-6100 и трехэлектродной электрохимической ячейкой (рисунок 2.1)

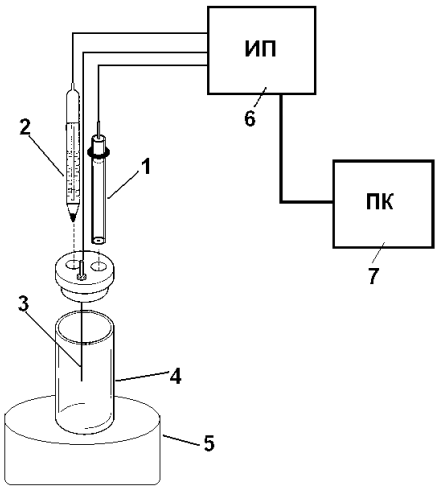


Рисунок 2.1 – Схема установки для измерений: 1 – рабочий электрод, 2 – электрод сравнения, 3 – вспомогательный электрод, 4 – ячейка для анализируемого раствора, 5 – магнитная мешалка, 6 – измерительный прибор, 7 – персональный компьютер

При подготовке образцов сыворотки крови использовали мини-инкубатор с функцией регулировки и постоянства температуры GFL 4010 (Gesellschaft für Labortechnik GmbH, Германия).

В качестве рабочих электродов использовали: золотой дисковый (Au-диск) (Metrohm, Швейцария) d = 0.2 и 0.3 см, стеклоуглеродный (СУЭ) (Metrohm, Швейцария) d = 0.2 см, электрод типа Ultra Trace (UT) (Metrohm, Швейцария) d = 0.2 см, толстопленочный углеродсодержащий электрод (ТУЭ) (ИВА, Россия) S = 0.1 см^2, электрод на основе углеродной вуали (УВЭ) (М-Карбо, Россия) плотностью 30 г/м^2 и те же электроды, модифицированные наночастицами золота; в качестве вспомогательного электрода использовали стеклоуглеродный стержень; насыщенный хлоридсеребряный электрод (Ag/AgCl/3.5 M KCl) ЭВЛ-1М3 (ГЗИП, Гомель, Беларусь) (E = 0.22 В отн. н.в.э.) служил электродом сравнения. Все потенциалы приведены относительно этого электрода.

Для потенциометрических измерений АОА использовали многофункциональный потенциометрический анализатор МПА-1 (ИВА, Россия). Индикаторным электродом служил планарный платиновый электрод (ИВА, Россия), электродом сравнения хлоридсеребряный электрод (Ag/AgCl/3.5 M, KCl) ЭВЛ-1М3 (ГЗИП, Гомель, Беларусь).

2.3 Методика эксперимента

2.3.1 Синтез наночастиц золота

При синтезе наночастиц золота использовали два метода: метод Туркевича [21] и «зеленый» синтез [117]. Метод Туркевича заключается в химическом восстановлении водного раствора золотохлористоводородной кислоты ($HAuCl_4$) цитратом натрия ($Na_3C_6H_5O_7$) (рисунок 2.2). Суспензии золота с частицами разного размера получали, изменяя соотношение $C(HAuCl_4):C(Na_3C_6H_5O_7)$. Были получены два образца золя золота при соотношениях $C(HAuCl_4):C(Na_3C_6H_5O_7)$ равных 1:5, 1:2. В проходящем свете они имели соответственно насыщенно красную (Au-r) и фиолетовую (Au-v) окраску.

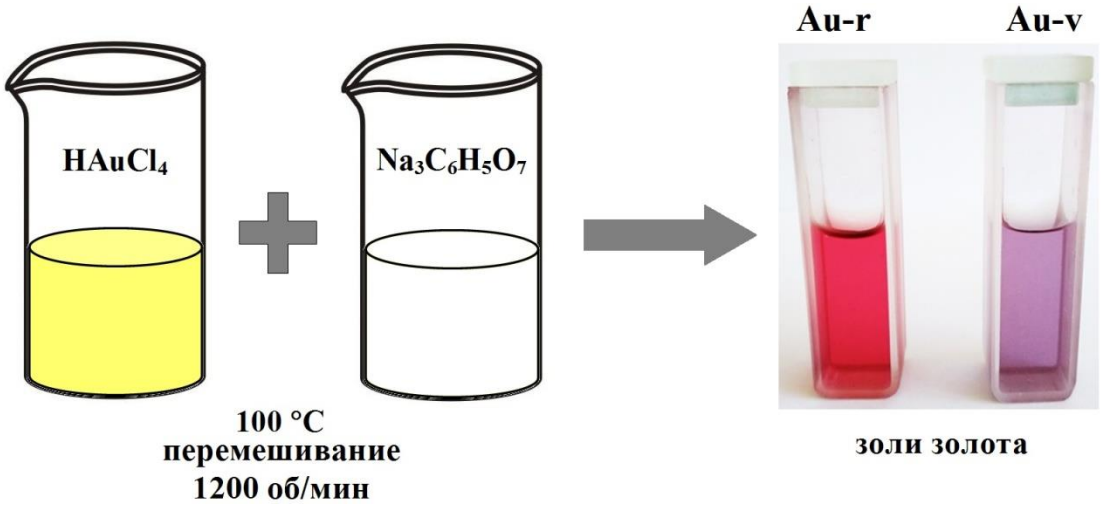


Рисунок 2.2 – Схема синтеза наночастиц золота по методу Туркевича

Процедура синтеза наночастиц заключалась в нагревании 0.001 М раствора золотохлористоводородной кислоты до кипения и добавлении к нему соответствующего количества свежеприготовленного 0.1 М цитрата натрия при интенсивном перемешивании 1200 об/мин. Выдержав реакционную смесь в течение 15 минут на плитке, нагревание прекращали и остужали золь до комнатной температуры при постоянном перемешивании. Синтезированные золи хранили при температуре +4 °С в темном месте.

«Зеленый» синтез наночастиц золота заключался в использовании экстракта из листьев земляники, обладающего высокой антиоксидантной активностью. Приготовление экстракта и оценку его антиоксидантной активности проводили, как описано в [118]. Высушенные листья измельчали в корундовой ступке с помощью корундового пестика и просеивали через сито из нержавеющей стали с диаметром ячеек 0.08 мм. Для получения экстракта 0.04 г измельченных листьев помещали в небольшой термостойкий стакан, заполненный 10 мл деионизованной воды. Экстракцию проводили при 80 °С в течение 20 минут. После окончания экстракции смесь разделяли на жидкую и твердую фазы центрифугированием при 10000 об/мин в течение 5 минут [118].

Фитохимические вещества, содержащиеся в экстракте, выполняли функцию восстановителей и стабилизаторов. Для осуществления синтеза наночастиц

использовали растительный экстракт с pH 11. pH изменяли путем добавления к исходному экстракту (pH 6.4) нескольких капель 5 М NaOH. Контроль pH растительного экстракта проводили с помощью pH-метра/иономера ТА-Ион.

Синтез проводили следующим образом: к 5 мл кипящего раствора 0.001 М $HAuCl_4$ добавляли при интенсивном перемешивании 1 мл свежеприготовленного экстракта из листьев земляники. Изменение окраски реакционной смеси с бледно-желтой на устойчивую в течение 2 минут бордово-красную свидетельствовало о формировании наночастиц (фито-Au) (рисунок 2.3). Кипятили реакционную смесь в течение 5 минут. Затем прекращали нагревание и остужали раствор до комнатной температуры при постоянном перемешивании. Перед электрохимическими исследованиями синтезированные наночастицы «отмывали» от избытка растительного экстракта. Для этого золь золота центрифугировали при 14000 об/мин в течение 10 минут, осадок промывали деионизованной водой для устранения избытка непрореагировавшего растительного экстракта. Процедуру промывания повторяли дважды. Наночастицы отделяли от надосадочной жидкости и ресуспендировали в исходном объеме деионизованной воды. Полученный золь хранили в темноте при температуре +4 С° для дальнейших исследований.

Рисунок 2.3 – Схема «зеленого» синтеза наночастиц золота

2.3.2 Приготовление рабочих электродов и их модифицирование

Рабочие электроды перед модифицированием и дальнейшим использованием были тщательно промыты деионизованной водой. Изготовление подложки из УВ осуществляли следующим образом (рисунок 2.4): УВ приклеивали на пленку из полиэтилентерефталата размером 216×303 мм и толщиной 250 мкм (Fellows, Вьетнам) методом горячего ламинирования при температуре 150 °С. Далее пленку с УВ покрытием разрезали на небольшие полоски размером 35×3 мм. Средний участок полоски, отделяющий рабочую область и контактную зону, покрывали смесью Cementit с ацетоном в соотношении 1:5 по объему. Геометрическая площадь рабочей зоны полученного электрода (УВЭ) составляла 15 мм^2 (5×3 мм).

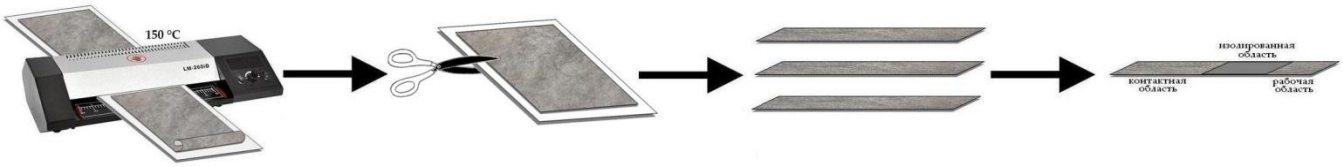
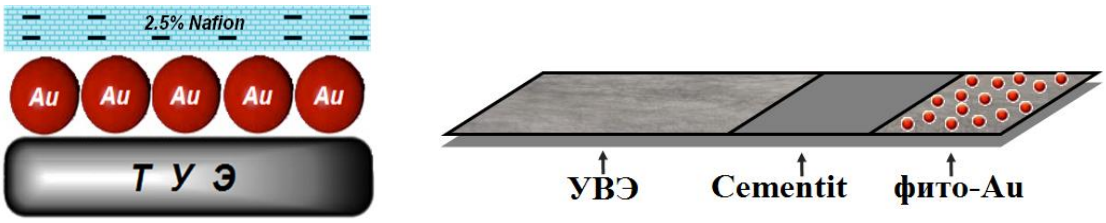


Рисунок 2.4 – Изготовление рабочего УВЭ

Модифицирование наночастицами золота осуществляли капельным способом. Фиксированный объем золя золота наносили на рабочую область электрода с помощью дозатора («Ленпипет», Россия, V = 0.5 – 10 мкл). Капельный способ также использовали для покрытия электрода раствором нафиона. Для ускорения процесса высыхания золя модифицированные электроды помещали под лампу. Приготовленные электроды (рисунок 2.5) хранили при комнатной температуре.



(**a**) (**b**)

Рисунок 2.5 – Схематичное изображение модифицированных электродов для определения МК (**a**) и АК (**b**)

2.3.3 Измерение аналитического сигнала

С целью повышения чувствительности при индивидуальном определении аналитов и разрешающей способности при их совместном определении анодные вольтамперограммы были зарегистрированы в производном режиме. В качестве аналитического сигнала (АС) была использована амплитуда производной вольтамперограммы di/dE = f(E), полученной в результате дифференцирования интегральной вольтамперограммы в интервале потенциалов окисления исследуемого вещества. Вид интегральной и производной вольтамперограммы, а также способ измерения АС представлены на рисунке 2.6.

Линейные и циклические вольтамперограммы регистрировали при скорости сканирования потенциала 0.05 В/с. В кинетических исследованиях скорость сканирования потенциала варьировали от 0.05 В/с до 0.40 В/с при регистрации анодных вольтамперограмм в диапазоне от -0.1 В до 0.85 В. Хроноамперометрические измерения проводили при потенциале +0.7 В в растворе, содержащем 1.0 мМ $K_4[Fe(CN)_6]$ + 0.1 М KCl.

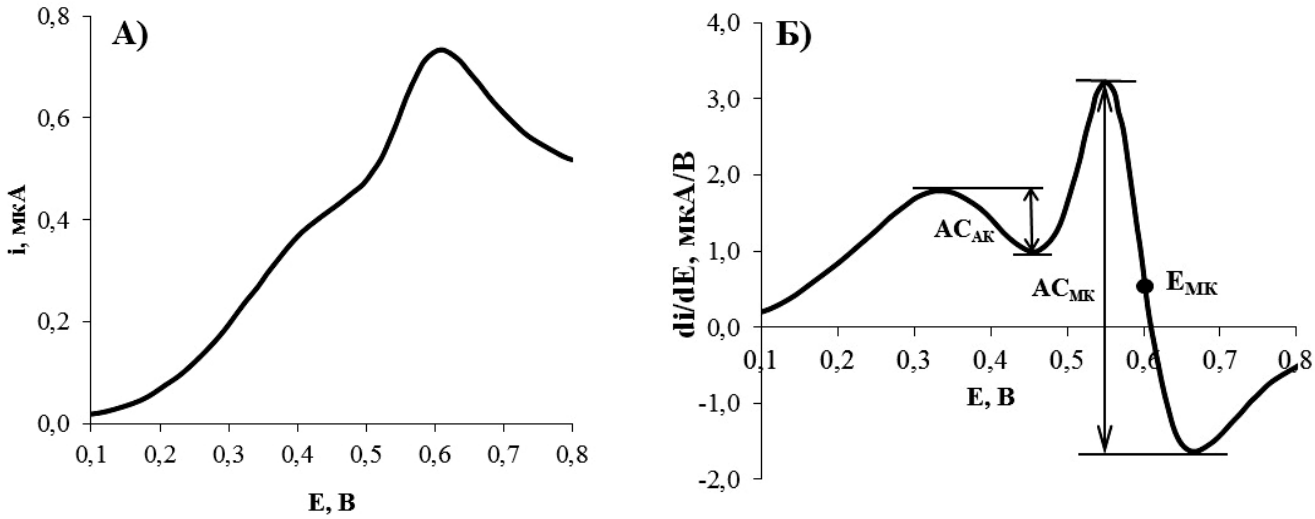


Рисунок 2.6 – Вид интегральной (А) и производной (Б) анодной вольтамперограмм и способ измерения АС.

Состав раствора: фон – ФБР pH 5, 0.1 мМ АК, 0.1 мМ МК

2.3.4 Статистический анализ и обработка данных

Все измерения проводились 3 раза при уровне достоверности 0.95. Результаты представлены в виде X ± ΔX, где X – среднее значение, ΔX – стандартное отклонение. Величину Recovery вычисляли в соответствии с рекомендациями IUPAC [119]. Пределы обнаружения и количественного определения были рассчитаны как 3S/k и 10S/k соответственно, где S – стандартное отклонение минимального аналитического сигнала, а k – коэффициент чувствительности [120].

2.4 Характеристика наночастиц золота

2.4.1 Оптические исследования золей золота

Синтезированные золи золота исследовали спектрофотометрическим методом. При этом были получены оптические спектры, в которых наблюдалась характерная плазмонная полоса поглощения. Её положение зависит от размера наночастиц (рисунок 2.7). Смещение максимума плазмонной полосы поглощения свидетельствует об увеличении размера частиц [28].

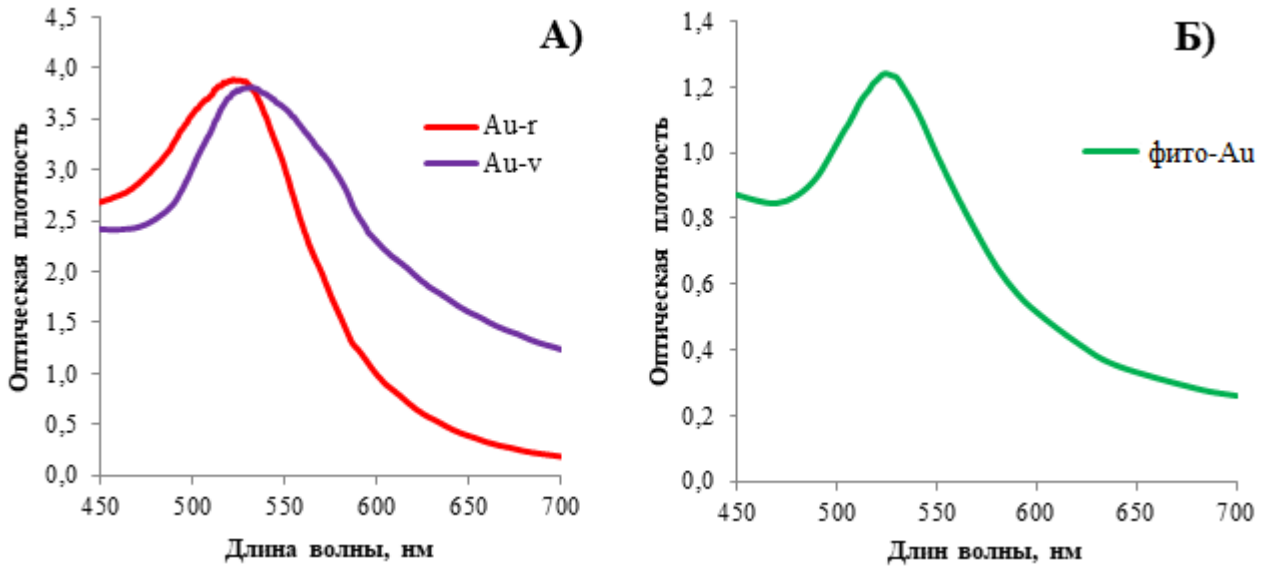


Рисунок 2.7 – Спектры оптического поглощения золей золота Au-r и Au-v, синтезированных методом Туркевича (**А**) и золя золота фито-Au, полученного «зеленым» синтезом (**Б**)

Для наночастиц, синтезированных методом Туркевича, максимум оптической плотности для Au-r и Au-v наблюдался при λ_{max} = 522 нм и λ_{max} = 532 нм соответственно. Для частиц фито-Au, полученных «зеленым» синтезом – λ_{max} = 524 нм. Согласно [121], диаметр Au-r менее 20 нм, Au-v – 33 нм, а диаметр фито-Au составляет 20 нм.

Золи золота были исследованы так же методом ДРС[1]. Для этого образцы помещали в пластиковую прозрачную кювету и снимали автокорреляционную функцию (АКФ), т. е. зависимость произведения интенсивностей рассеяния света через малые конечные промежутки времени от времени съемки образца. Для всех золей были получены АКФ высокой локализации и вида типичного для «быстрых» частиц (рисунок 2.8).

Средневзвешенный диаметр частиц Au-r составил 20.3 нм. Эти данные согласуются с результатами спектрофотометрических исследований. Для наночастиц Au-v диаметр был найден равным 39.2 нм. Это значение немного больше, чем данные спектрофотометрических исследований. Диаметр фито-Au составил 23 нм.

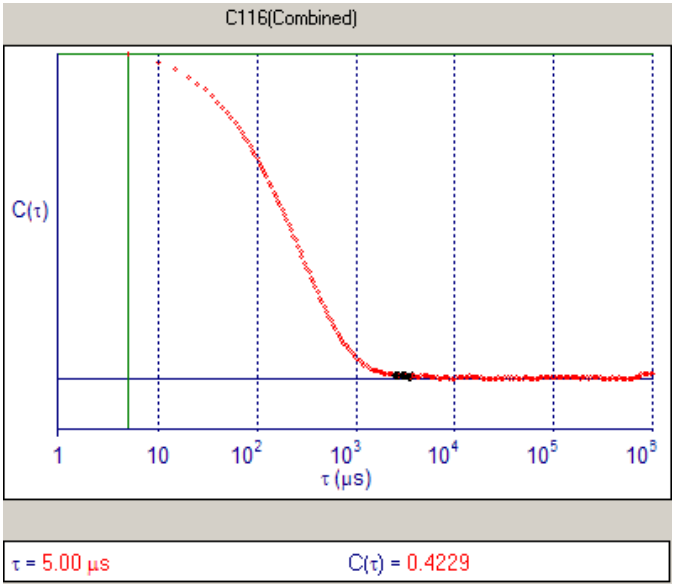


Рисунок 2.8 – Автокорреляционная функция образцов золей золота

[1]Автор выражает благодарность за проведенные ДРС-исследования д.ф.-м.н., профессору департамента фундаментальной и прикладной химии ИЕНиМ УрФУ Сафронову А.П.

Кроме того, была получена информация о величине электрокинетического потенциала. Дзета-потенциал наночастиц Au-r равен -42 ± 7 мВ. Для Au-v эта величина составила -44 ±5 мВ. Наночастицы фито-Au характеризовались величиной дзета-потенциала равной -42 ± 4 мВ. Отрицательные значения дзета-потенциала всех исследуемых систем свидетельствуют о том, что потенциалопределяющими ионами двойного электрического слоя являются анионы (цитрат-ионы или гидроксид-ионы). Значения электрокинетического потенциала для разных систем близки и составляют порядка -42.0 мВ, что свидетельствует об электрической стабилизации изученных золей.

Методом ДРС был определен индекс полидисперсности (ИП), который характеризует меру распределения наночастиц по размерам. Значение ИП является очень чувствительным к присутствию в золях агрегатов или загрязнений [122]. Для монодисперсных золей ИП составляет менее 0.100 [123]. Для Au-r ИП составил 0.235, для Au-v – 0.321 и для фито-Au – 0.300, что свидетельствует о полидисперсности полученных золей.

2.4.2 Микроскопические исследования золей золота

Для оценки формы, размера синтезированных наночастиц и их распределения в золе был использован метод просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ)[2] высокого разрешения. Для этого на медную сетку, покрытую углеродной аморфной пленкой толщиной 5 – 6 нм, наносили полученный золь, позволяли воде медленно испариться в условиях окружающей среды и затем исследовали образец под микроскопом. На рисунке 2.9 представлены электронно-микроскопические изображения синтезированных золей золота. Как видно из рисунка 2.9, частицы, синтезированные по методу Туркевича, имеют преимущественно сферическую форму. Проанализировано распределение частиц Au-r и Au-v в золе по размерам и построены соответствующие гистограммы, позволяющие определить преобладающий размер

[2] Автор выражает благодарность за проведенные исследования к.ф.-м.н., старшему научному сотруднику Института электрофизики УрО РАН Мурзакаеву А.М.

наночастиц (рисунок 2.9). В золе Au-r преобладающая фракция наночастиц имеет диаметр 10±2 нм, а в Au-v – 40±6 нм. В золе фито-Au преобладающий диаметр наночастиц составляет 14±7 нм, что близко к результатам спектрофотометрических исследований [117].

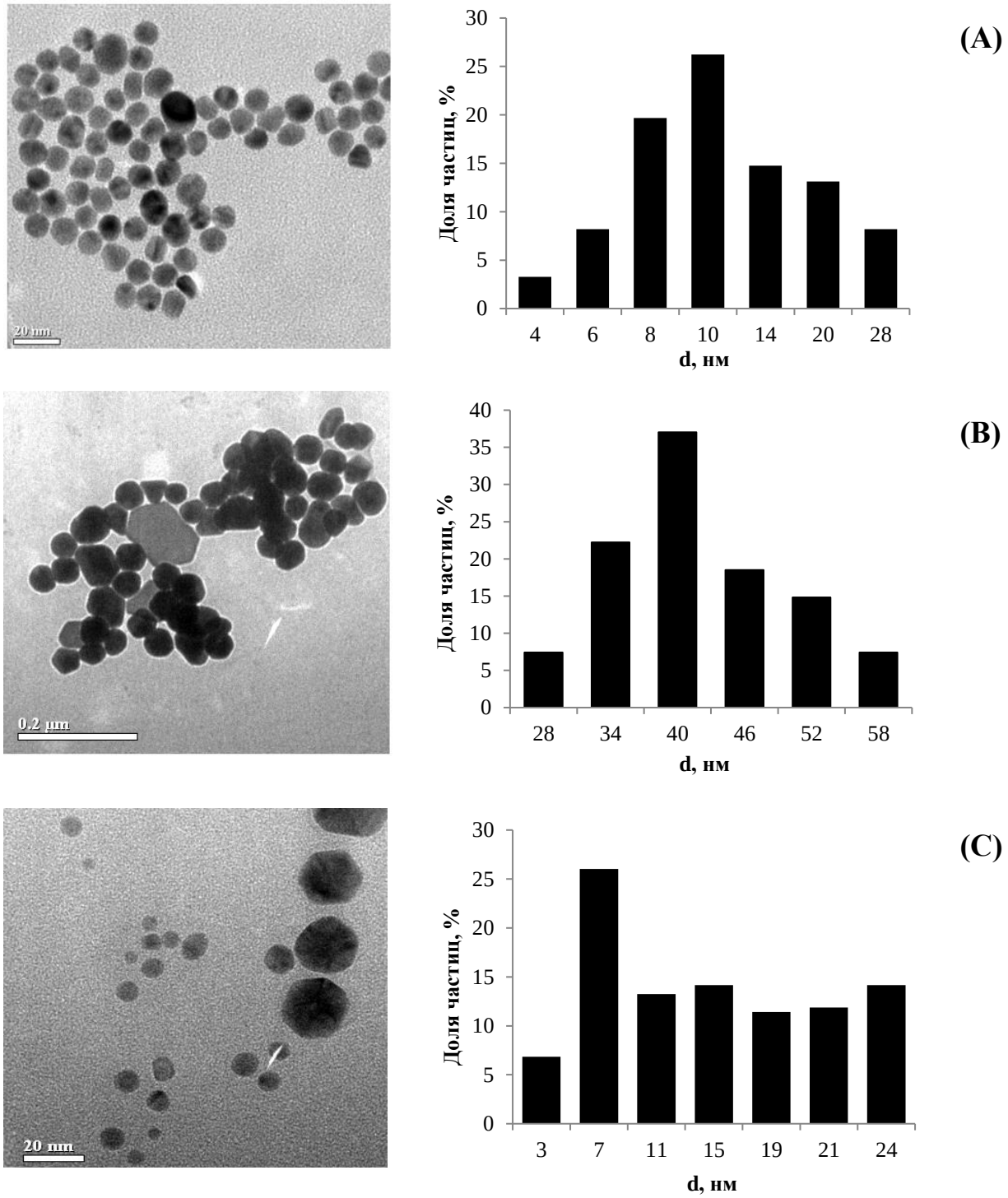


Рисунок 2.9 – ПЭМ изображения и соответствующие гистограммы распределения по размеру частиц в красном Au-r (**A**), фиолетовом Au-v (**B**) золях и в золе фито-Au, синтезированном «зеленым» синтезом (**C**)

Электронно-микроскопические изображения поверхности СУЭ, модифицированного наночастицами золота разного размера, представленные на рисунке 2.10, были получены с использованием растрового электронного микроскопа LEO 982. Были построены гистограммы распределения наночастиц золота на поверхности СУЭ по размерам (рисунок 2.10).

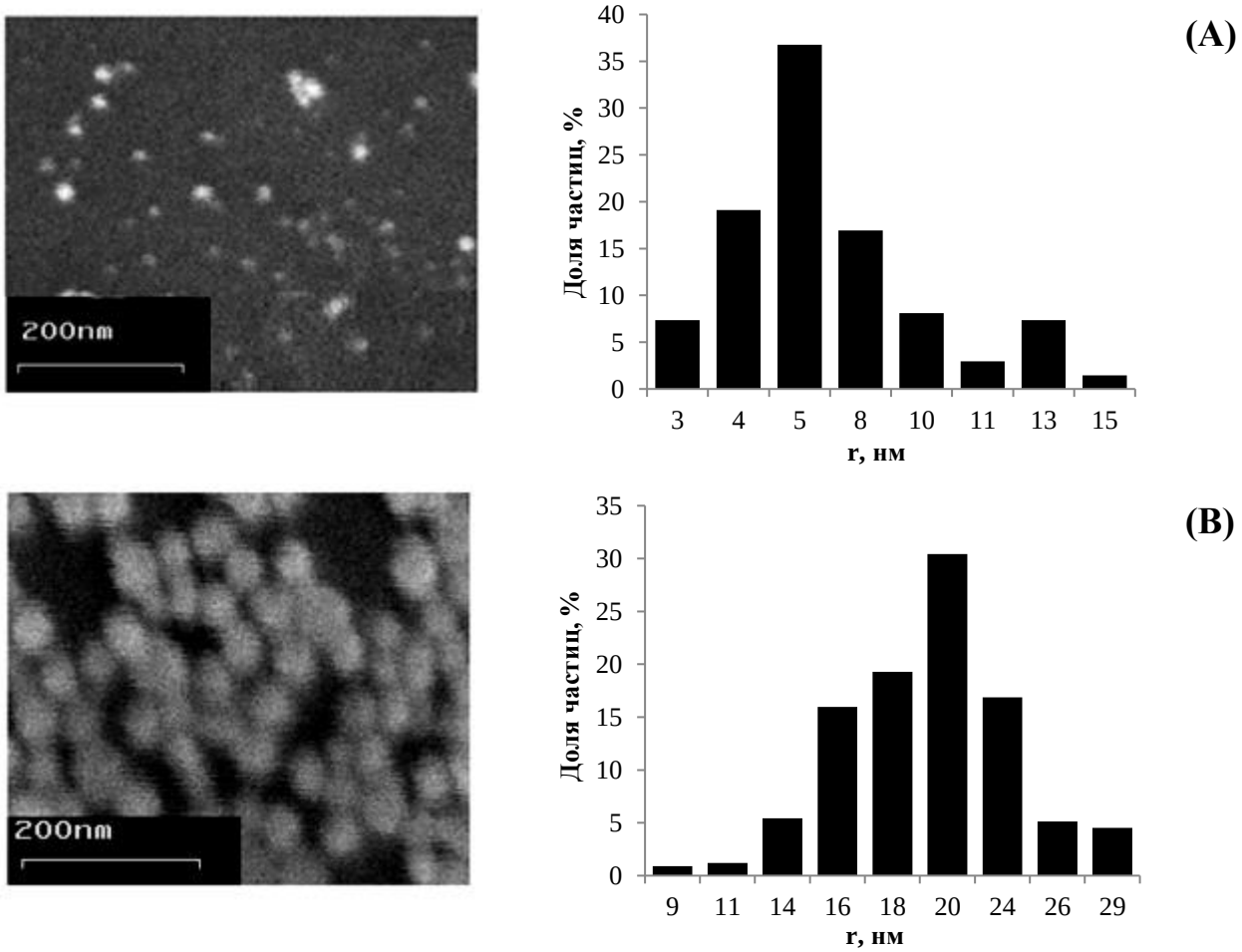


Рисунок 2.10 – СЭМ изображения СУЭ, модифицированногоAu-r (**A**) и Au-v (**B**), и соответствующие гистограммы распределения по размеру на поверхности СУЭ

Из рисунка видно, что частицы достаточно равномерно распределены на поверхности электрода, но также присутствуют агломераты частиц, что нашло отражение в гистограммах распределения.

ГЛАВА 3. МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ ЭЛЕКТРООКИСЛЕНИЯ ВЕЩЕСТВА НА ТВЕРДОФАЗНЫХ И НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫХ ЭЛЕКТРОДАХ

Разнообразие путей протекания электродных процессов, возможности их сочетания приводят к сложностям понимания механизмов и неоднозначности их интерпретации. В определенной мере это является следствием отсутствия критериев, позволяющих выделить тот или иной путь протекания процесса. Для решения этой проблемы была предложена физико-математическая модель электрохимических процессов [124], основанная на термодинамическом подходе Брайниной Х. З. и представлении о трёх энергетических состояниях металла на поверхности электрода [125]. В рамках предложенной модели рассмотрены три возможных случая протекания процесса:

1. E – чисто электрохимический
2. EC – электрохимический, включающий каталитическую стадию
3. EP – электрохимический, с последующей пассивацией поверхности электрода адсорбированным продуктом реакции.

Экспериментальная вольтамперограмма является отражением суперпозиции диффузионного подвода электроактивного вещества (**A**) к поверхности электрода из объема раствора и химических превращений с участием продукта электродной реакции (**B**). Таким образом, измеряемый ток (i) представляет собой сумму диффузионной ($i_{диф}$) и химической ($i_{хим}$) составляющих:

$$i = i_{диф} + i_{хим} \qquad (2)$$

При этом вещество **B** может диффузионно отводиться от поверхности электрода, адсорбироваться на его поверхности или вступать в химические реакции, в том числе электрокаталитические. При рассмотрении этого случая превращение вещества **B** в электроактивное вещество **A** (**B**→**A**), определяет величину химической составляющей тока (3)

$$\frac{i_{\text{хим}}}{nF} = k_{\text{хим}}(m_{\text{B}})^2 \tag{3}$$

Величина диффузионной составляющей полного тока согласно (2) описывается выражением:

$$\frac{i_{\text{диф}}}{nF} = \frac{i}{nF} - \frac{i_{\text{хим}}}{nF} = \frac{i}{nF} - k_{\text{хим}}(m_{\text{B}})^2, \tag{4}$$

где m_{B} – количество вещества **B**, моль; $k_{\text{хим}}$ – константа скорости химической реакции, 1/с×моль; F – число Фарадея, Кл/моль.

Диффузионная составляющая тока в случае макроэлектрода вычисляется по формуле:

$$i_{\text{диф}} = nFk_S SC_{\text{пов}} \exp\left\{\frac{\beta nF(E_{\text{нач}} + vt - E^\circ)}{RT}\right\}, \tag{5}$$

где $C_{\text{пов}}$ – концентрация вещества **A**, доставляемого диффузией к поверхности электрода, моль/см^3; n – число электронов, участвующих в процессе; k_{s} – константа скорости электродного процесса, см/с; S – площадь электрода, см^2; $E_{\text{нач}}$ – начальный потенциал, В; $E°$ – стандартный окислительно-восстановительный потенциал электроактивного вещества, В; v – скорость развертки потенциала, В/с; β – коэффициент переноса, t – время, с; R – универсальная газовая постоянная, Дж×моль/К; T – температура, К.

Плотность диффузионного потока к поверхности электрода, определяющего диффузионный ток (моль/см^2×с), в линейном приближении, обусловленном малостью толщины диффузионной зоны $\delta \sim \sqrt{Dt}$ может быть выражена формулой:

$$q_{\text{диф}} = \frac{i_{\text{диф}}}{nFS} = D\frac{\partial C(0,t)}{\partial \text{x}} \approx D\frac{C_{\text{раств}} - C_{\text{пов}}}{\sqrt{Dt}}, \tag{6}$$

где δ – толщина диффузионного слоя, см; D – коэффициент диффузии, см^2/с; $C_{\text{раств}}$ – концентрация электроактивного вещества в растворе, моль/см^3.

Отсюда искомая величина концентрации $C_{\text{пов}}$ может быть найдена из совместного рассмотрения уравнений (5) и (6):

$$k_s C_{пов} \exp\left\{\frac{\beta nF(E_{нач} + vt - E^\circ)}{RT}\right\} = D\frac{C_{раств} - C_{пов}}{\sqrt{Dt}}. \quad (7)$$

Таким образом,

$$C_{пов} = \frac{C_{раств}}{1 + k_s \frac{\sqrt{t}}{\sqrt{D}} \exp\left\{\frac{\beta nF(E_{нач} + vt - E^\circ)}{RT}\right\}}. \quad (8)$$

В выражение (8) не входит площадь поверхности электрода, что является его несомненным преимуществом.

Изменение количества молей вещества **B** в результате электрохимических и химических реакций во времени может быть рассчитано по формуле (9). Последнее основано на уравнениях (4) и (5).

$$\frac{dm_B}{dt} = \frac{i_{диф}}{nF} = \frac{i}{nF} - \frac{i_{хим}}{nF} = k_s S C_{пов} \exp\left\{\frac{\beta nF(E_{нач} + vt - E^\circ)}{RT}\right\} \equiv \varphi(t) \quad (9)$$

Здесь i – суммарный ток, являющийся источником вещества **B**, а $i_{хим}$ – ток, вызванный химической реакцией, и он определяет потребление вещества **B**. Учитывая $m_B(0) = 0$ и интегрируя уравнение (9) получаем

$$m_B = \int_0^t \varphi(t)dt, \quad (10)$$

откуда величина химической составляющей тока равна

$$i_{хим} = nFk_{хим} m_B^2 = nFk_{хим}\left[\int_0^t \varphi(t)dt\right]^2. \quad (11)$$

Со временем продукт электрохимической реакции может привести к пассивации поверхности. В первом приближении площадь, покрытая молекулой, может быть выражена как площадь круга с радиусом r_B, а общая покрытая поверхность может быть оценена с использованием уравнения (12):

$$S_B = N_B \pi r_B^2. \quad (12)$$

Количество молекул $N_{\text{В}}$, образованных в результате электрохимической реакции в течение времени t, рассчитывается с использованием выражения (13):

$$N_{\text{В}} = \frac{\int_0^t i_{\text{диф}}(t)\mathrm{d}t}{nF} N_{\text{А}}, \tag{13}$$

где $N_{\text{А}}$=6.023·10^{23}(моль$^{-1}$) – число Авогадро.

Величина свободной поверхности рассчитывается по уравнению (14)

$$S(t) = S - \frac{\int_0^t i_{\text{диф}}(t)\mathrm{d}t}{nF} N_{\text{А}} \pi r_{\text{В}}^2 \tag{14}$$

Процессы на наноструктурированном электроде

Рассмотренные выше механизмы могут проявляться на наноструктурированных электродах. Принимая во внимание зависимость свойств наночастиц и их поверхностной энергии Гиббса от размера [45], следует ожидать проявления размерных эффектов в электродных процессах, протекающих на поверхности наночастиц, что может найти отражение на вольтамперограммах - электропревращения веществ.

В предложенной модели монодисперсная смесь наночастиц, равномерно распределенная на плоской подложке, рассматривается в качестве электрода (ансамбль наноэлектродов) площадью S_{Σ}, см^2. $C_{\text{пов}}$ – поверхностная концентрация электроактивного вещества, доставляемого диффузией к поверхности электрода. Если отсутствует перекрывание диффузионных зон наночастиц, каждую из них можно рассматривать как независимый сток вещества, доставляемого диффузией из полуограниченного пространства, где концентрация электроактивного вещества равна $C_{\text{раств}}$. Решение соответствующей диффузионной задачи с помощью функций Грина [126] или с использованием аппарата дробного дифференцирования [127] позволяет рассчитать величину $C_{\text{пов}}$. В противном

случае, если диффузионные зоны перекрываются, поверхность принимается равной площади электрода *S*.

Расчет диффузионного тока для наноструктуированного электрода основан на уравнении (5) с включением свободной поверхностной энергии Гиббса наночастиц $\Delta G°$, Дж/моль [124] ($\Delta G° = 0$ для макроэлектрода).

$$i_{\text{диф}} = nFk_{\text{s}}S_{\Sigma}C_{\text{пов}}\exp\left\{\frac{\beta\Delta G^{\circ} + \beta nF(E_{\text{нач}} + vt - E^{\circ})}{RT}\right\}, \quad (15)$$

Химическая составляющая тока рассчитывается с использованием приведенного выше алгоритма с учетом свободной энергии Гиббса ΔG °.

Адекватность предложенной физико-математической модели и правомерность ее использования была подтверждена на примере рассмотрения процессов электроокисления нитрит-ионов, АК и МК на макро- и наноструктурированных электродах.

3.1 Процессы электроокисления нитрит-ионов

Наглядной иллюстрацией неоднозначной интерпретации экспериментальных данных является часто не согласующиеся между собой представления о механизме электрохимического окисления нитрит-ионов. Разброс взглядов включает как предположение об одностадийном процессе $NO_2^- \rightarrow NO_2 + e^-$, так и более сложных путях, когда передача электронов сопровождается необратимой адсорбцией продуктов окисления и интермедиатов на электродной поверхности, вызывая её пассивацию [128–131]. Одни исследователи придерживается мнения, что процесс окисления нитрит-ионов до нитрат-ионов на макроэлектродах протекает в две стадии: электрохимическую и химическую.

$$\begin{array}{ccc} NO_2^- \rightarrow NO_2 + e^- & \rightarrow & 2NO_2 + H_2O \\ \uparrow & & \downarrow \\ & & NO_2^- + NO_3^- + 2H^+ \end{array}$$

На первой стадии нитрит-ионы окисляются до NO_2, на второй стадии NO_2 подвергается реакции диспропорционирования, в результате которой образуются NO_2^- и NO_3^- ионы [132, 133]. В [134–137] отмечается ускорение электродного процесса на наноэлектродах по сравнению с обычным объёмным электродом, в других работах [132, 138] проявление наноэффектов не подтверждается.

Расчеты проводили на основе табличных и литературных данных (таблица 3.1). Величину k_s выбирали так же как описано в работе [46]. При расчете поверхности электрода вводили поправку на шероховатость с учетом данных, приведенных в [139]. При описании процессов, включающих пассивацию электрода молекулами NO_2, рассчитывали площадь молекулы NO_2, принимая её радиус, равным сумме радиусов атомов азота и кислорода, 1.49 Å [140].

Таблица 3.1 – Параметры, используемые для расчета вольтамперограмм окисления нитрит-ионов

Параметр	Величина
D, коэффициент диффузии	5.9×10^{-5} см^2/с [141]
$C_{раств}$, концентрация NO_2^-	6.0×10^{-5} М
α, коэффициент переноса катодного процесса	0.25 [137]
β, коэффициент переноса анодного процесса	0.75
k_s, константа скорости электрохимического процесса Au-диск СУЭ ТУЭ	 1.5×10^{-3} см/с 5.0×10^{-4} см/с 4.75×10^{-6} см/с
$E_{нач}$, начальный потенциал	0.60 В
$E°$, стандартный электродный потенциал системы NO_2^-/NO_2	0.78 В [142]
S, площадь поверхности электрода СУЭ ТУЭ Au-диск	 4.5×10^{-2} см^2 2.75×10^{-1} см^2 3.3×10^{-2} см^2

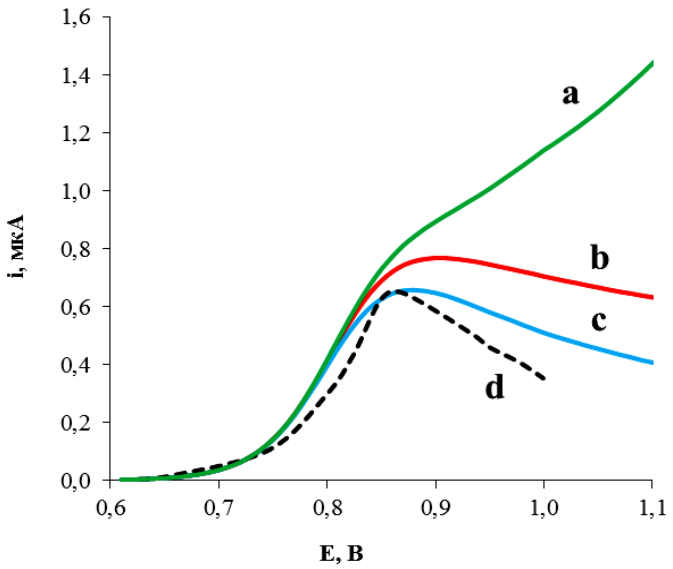


Рисунок 3.1 – Рассчитанные (**a**–**c**) и экспериментальная (**d**) вольтамперограммы электроокисления NO_2^- на Au-диск. **a** – EC-механизм ($k_{хим}$=10^9 $с^{-1}моль^{-1}$, r_{NO2}=0), **b** – E-механизм ($k_{хим}$=0, r_{NO2}=0), **c** – EP-механизм ($k_{хим}$=0, r_{NO2}=149 пм). Фон: 0.002 М Na_2SO_4, ν=0.05 В/с. Другие параметры приведены в Таблице 3.1

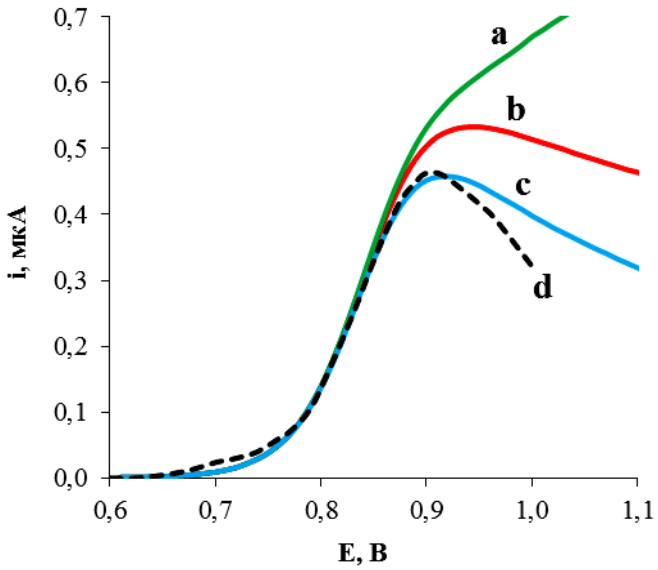


Рисунок 3.2 – Рассчитанные (**a**–**c**) и экспериментальная (**d**) вольтамперограммы электроокисления NO_2^- на СУЭ. **a** – EC-механизм ($k_{хим}$=10^9 $с^{-1}моль^{-1}$, r_{NO2}=0), **b** – E-механизм ($k_{хим}$=0, r_{NO2}=0), **c** – EP-механизм ($k_{хим}$=0, r_{NO2}=149 пм). Фон: 0.002 М Na_2SO_4, ν=0.05 В/с. Другие параметры приведены в Таблице 3.1

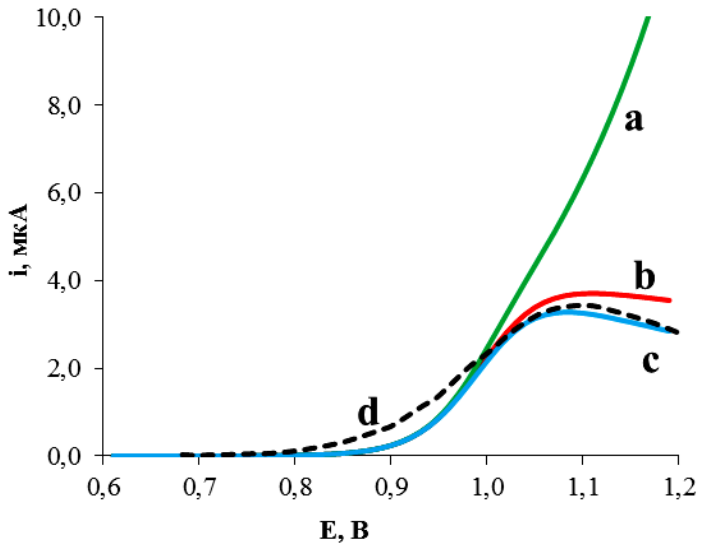


Рисунок 3.3 – Рассчитанные (**a**–**c**) и экспериментальная (**d**) вольтамперограммы электроокисления NO_2^- на ТУЭ. **a** – ЕС-механизм ($k_{хим}$=10^9 $с^{-1}моль^{-1}$, r_{NO2}=0), **b** – Е-механизм ($k_{хим}$=0, r_{NO2}=0), **c** – ЕР-механизм ($k_{хим}$=0, r_{NO2}=149 пм). Фон: 0.002 М Na_2SO_4, ν =0.05 В/с. Другие параметры приведены в Таблице 3.1

На рисунках 3.1 – 3.3 приведены вольтамперограммы, полученные с использованием разных электродов и рассчитанные в предположении протекания процессов по разным механизмам при одной и той же концентрации нитрит-ионов в растворе[3].

Формы анодных вольтамперограмм при реализации каждого из перечисленных выше случаев различны. В первом случае (Е) это волна с медленно спадающим предельным током, обусловленным распространением диффузионного слоя в глубину раствора, что иллюстрируется рассчитанными кривыми **b**. Однако форма приведённой экспериментальной кривой в области предельного тока отличается от формы рассчитанных кривых, что свидетельствует о реализации другого механизма процесса.

Второй случай (ЕС) представлен рассчитанными кривыми, приведёнными на рисунках 3.1 – 3.3 под буквой **a**. Форма вольтамперограмм описывает возрастание тока с увеличением концентрации электроактивного вещества $C_{пов}$ на

[3] Автор выражает благодарность за проведенные математические расчеты д. т. н, проф. Гальперну Л. Г.

поверхности электрода в результате каталитической реакции и одновременно протекающего диффузионного подвода новых порций NO_2^- из объема раствора. Однако форма рассчитанных кривых также не согласуется с экспериментальными данными. Отсюда следует, что часто упоминаемый механизм процесса, включающий каталитическую стадию, не наблюдается в действительности.

При рассмотрении случая, включающего пассивацию поверхности электрода адсорбированным продуктом реакции (EP), форма рассчитанных кривых достаточно хорошо отражает экспериментальную зависимость. Естественно, величина максимального тока и скорость спада после его достижения зависит от размера пассивирующей молекулы (рисунок 3.4). Максимально близки результаты в случае, когда радиус молекулы задан равным 149 пм, что равно сумме радиусов атомов азота и кислорода в молекуле NO_2.

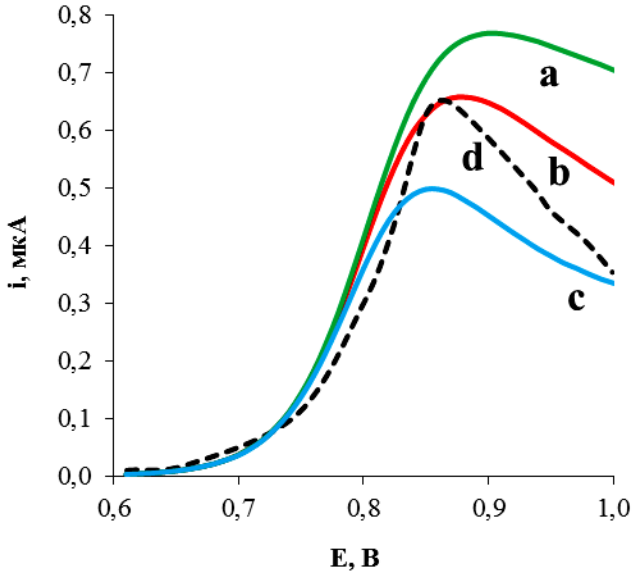


Рисунок 3.4 – Экспериментальная (**d**) вольтамперограмма электроокисления NO_2^- на Au-диск и рассчитанные для EP-случая (**a**–**c**) с учетом разного размера пассивирующей молекулы r_{NO_2}: 0 пм (**a**), 149 пм (**b**), 300 пм (**c**). Фон: 0.002 М Na_2SO_4, ν =0.05 В/с. Другие параметры приведены в Таблице 3.1

Приведённые данные, действительно, свидетельствуют о реализации третьего случая, что согласуется с результатами, описанными в [142]. Авторы наблюдали пики или плато, сопровождающееся глубоким спадом вместо

ожидаемой волны тока окисления нитрит-ионов, если бы процесс не был осложнён пассивацией [142].

Установлено, что в ряду Au-диск – СУЭ – ТУЭ наблюдается сдвиг потенциала полуволны ($E_{1/2}$) окисления нитрит-ионов в сторону более положительных потенциалов (Таблица 3.2). При этом уменьшается величина удельного максимального тока (I_m/S) и константа скорости электродного процесса.

Таблица 3.2 – Рассчитанные и экспериментальные параметры электрохимического окисления нитрит-ионов на различных электродах

Электрод	$E_{1/2}$, В	I_m/S (теор.), мкА/см^2	I_m/S (эксперим.), мкА/см^2	k_s, см/с
Au-диск	0.806	14.62	14.44	1.5×10^{-3}
СУЭ	0.827	13.88	13.94	5.0×10^{-4}
ТУЭ	0.964	11.92	12.51	4.75×10^{-6}

На рисунке 3.5 представлены экспериментально полученные вольтамперограммы и кривые, рассчитанные без (ΔG_0 = 0) и с учетом наноэффектов (ΔG_0 отлично от нуля). Как видно из рисунка 3.5, наноэффекты должны проявляться в сдвиге кривой в сторону более отрицательных потенциалов. Потенциалы полуволны окисления нитрит-ионов, зарегистрированные с использованием объемного электрода и ансамбля наночастиц, практически совпадают, что свидетельствует об отсутствии наноэффекта в этом процессе. Этот вывод совпадает с заключением Wang с соавт. [132], также не обнаружившим влияния наноструктуры электрода на кинетику процесса электроокисления нитрит-ионов.

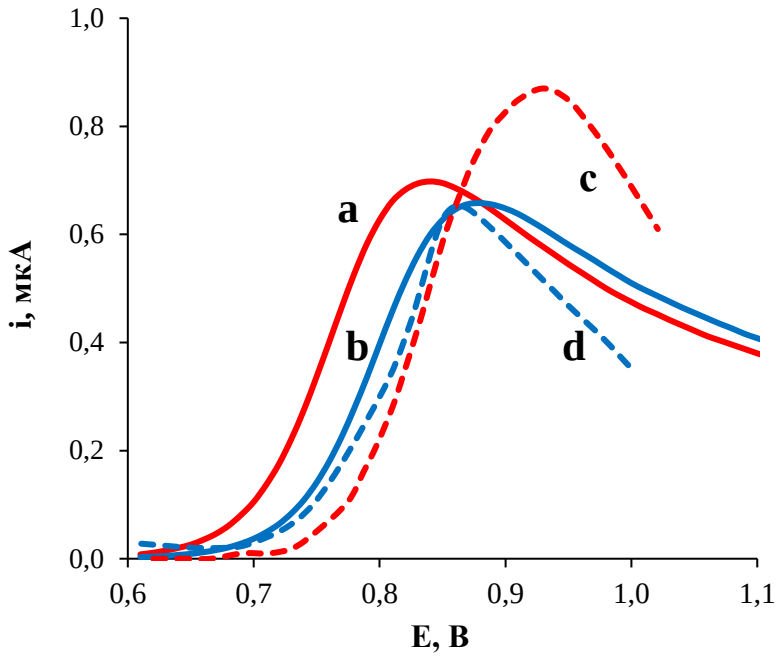


Рисунок 3.5 – Рассчитанные по ЕР-механизму (**a, b**) и экспериментальные (**c, d**) вольтамперограммы электроокисления NO_2^- на $Au_{нч}$(5нм)/ТУЭ (**a**, **c**) и Au-диск (**b**, **d**). Фон: 0.002 М Na_2SO_4, ν=0.05 В/с. Другие параметры приведены в Таблице 3.1

3.2 Процессы электроокисления аскорбиновой кислоты

В качестве примера, в котором наноэффекты нашли проявление, был рассмотрен процесс окисления АК. В работах [132, 143] наблюдалось смещение вольтамперограмм окисления АК на наноструктурированном электроде в сторону отрицательных потенциалов.

В литературных источниках существуют различные взгляды на процесс окисления АК. Некоторые исследователи говорят о прямом окислении АК до ДГАК с участием двух электронов и двух протонов по схеме, представленной на рисунке 3.6 [73, 113].

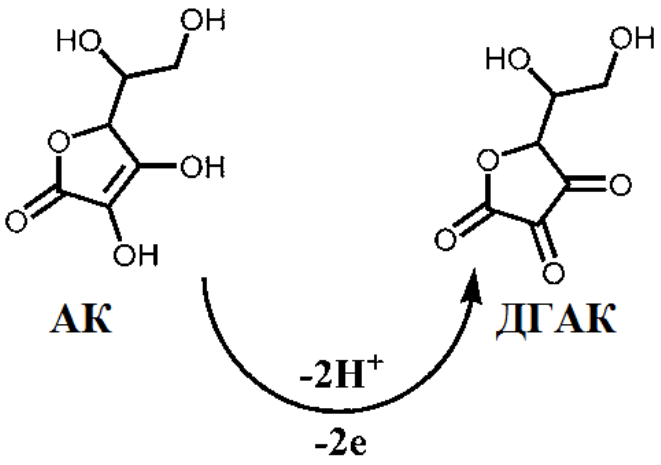


Рисунок 3.6 – Схема механизма прямого электроокисления АК

В других работах окисление аскорбиновой кислоты представляет собой сложный процесс, протекающий в несколько стадий [132, 144, 145] (рисунок 3.7):

$$АК \leftrightarrow R^{\bullet-} + H^{+} + e^{-} \qquad (I)$$

$$R^{\bullet-} \rightarrow ДГАК + e^{-} \qquad (II)$$

$$ДГАК + H_2O \rightarrow Hy \qquad (III)$$

Одноэлектронное, однопротонное окисление АК на стадии (I) приводит к образованию промежуточного анионного аскорбат-радикала ($R^{\bullet-}$), который в дальнейшем подвергается одноэлектронному окислению до ДГАК кислоты (II). В свою очередь, дигидро-L-аскорбиновая кислота гидратируется по карбоксильным группам (продукт может дальше окисляться) (III) [132, 145, 146]. Необратимая химическая реакция определяет общий необратимый характер процесса. Скорость протекания процесса определяется наиболее медленной стадией, т. е. стадией образования анионного радикала (I). Отсюда следует, что в уравнениях для расчётов анодного процесса можно полагать n = 1.

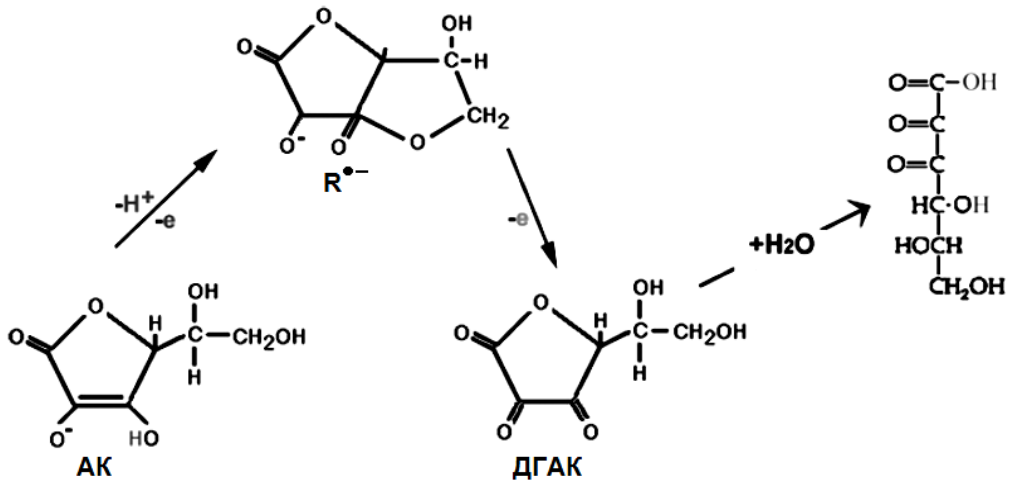


Рисунок 3.7 – Схема механизма электроокисления АК, протекающего в несколько стадий

В расчетах были использованы параметры, приведенные в таблице 3.3 и литературные данные.

Таблица 3.3 – Параметры, используемые для расчета вольтамперограмм окисления АК

Параметр	Величина
1	2
D, коэффициент диффузии	1.75×10^{-5} см^2/с
$C_{раств}$, концентрация АК	5.0×10^{-4} М
α, коэффициент переноса катодного процесса	0.58 [147]
β, коэффициент переноса анодного процесса	0.42
k_s, константа скорости электрохимического процесса Au-диск UT СУЭ	 1×10^{-5}см/с 1×10^{-5}см/с 5×10^{-6} см/с
$E_{нач}$, начальный потенциал	0.20 В

Окончание таблицы 3.3

1	2
$E°$, стандартный окислительно-восстановительный потенциал системы АК/ДГАК	0.194 В [148]
Q, количество электричества, соответствующее количеству золота, локализованному на поверхности электрода	411 мкКл
M, молярная масса золота	197 г/моль
ρ, плотность золота	19.3 г/см^3
σ, поверхностное натяжение золота на границе с воздухом при температуре 700 °С	1200 дин/см [140]
$\Delta G°$, свободная поверхностная энергия Гиббса наночастиц золота радиусом 20 нм радиусом 5 нм	1828.16 Дж/моль 7349.20 Дж/моль

Величину k_s выбирали так же как описано нами ранее [46]. В качестве источника информации использовали вольтамперограммы окисления АК на немодифицированных электродах. $\Delta G°$ была рассчитана из уравнения (16), взятого из [49]

$$\Delta G^{\circ} = \frac{3\sigma M}{\rho r} \tag{16}$$

Электрохимическое окисление аскорбиновой кислоты описывается вольтамперограммами, приведенными на рисунке 3.8, которые были зарегистрированы с использованием Au-диск и Au-диск, модифицированного наночастицами золота. Сдвиг кривых, зарегистрированных с использованием наноструктурированного электрода, относительно объемного золотого четко выражен.

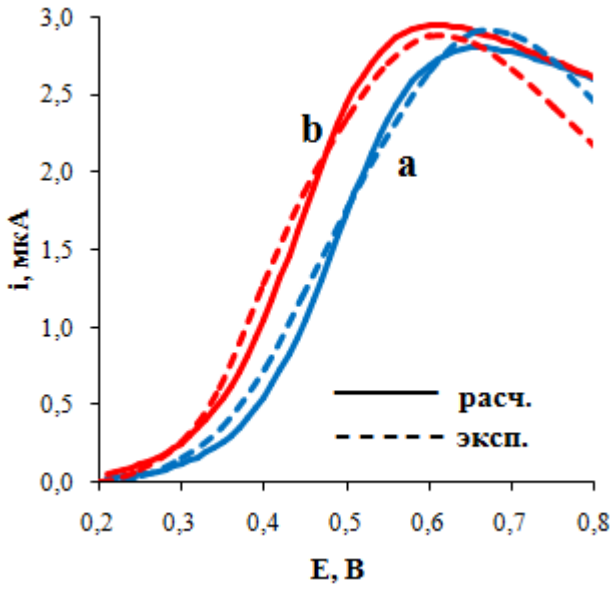


Рисунок 3.8 – Рассчитанные и экспериментальные вольтамперограммы электроокисления АК, на Au-диск (**a**) и Au-диск, модифицированном наночастицами золота (**b**). Фон: 0.001 М H_2SO_4, ν=0.05 В/с. Расчетные параметры приведены в таблице 3.3

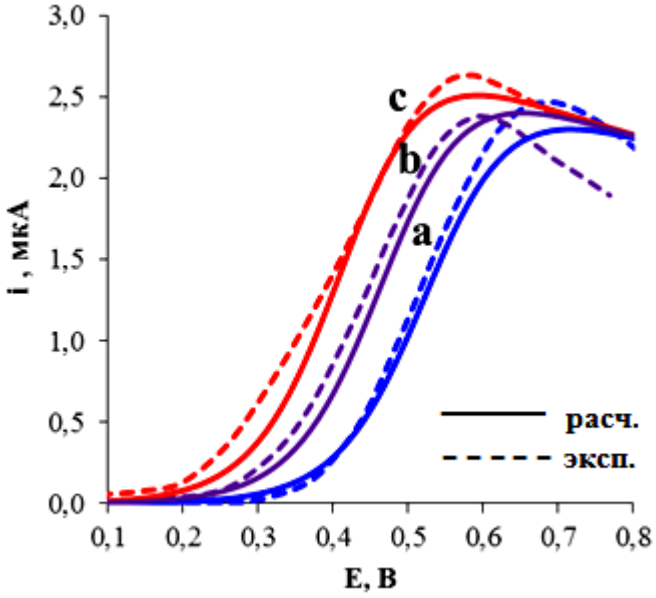


Рисунок 3.9 – Рассчитанные и эксперимeтальные вольтамперограммы электроокисления АК, на СУЭ (**a**) и СУЭ, модифицированном наночастицами разного размера: r(Au-v)=20нм (**b**), r(Au-r)=5нм (**c**). Фон: 0.001 М H_2SO_4, ν=0.05 В/с. Расчетные параметры приведены в таблице 3.3

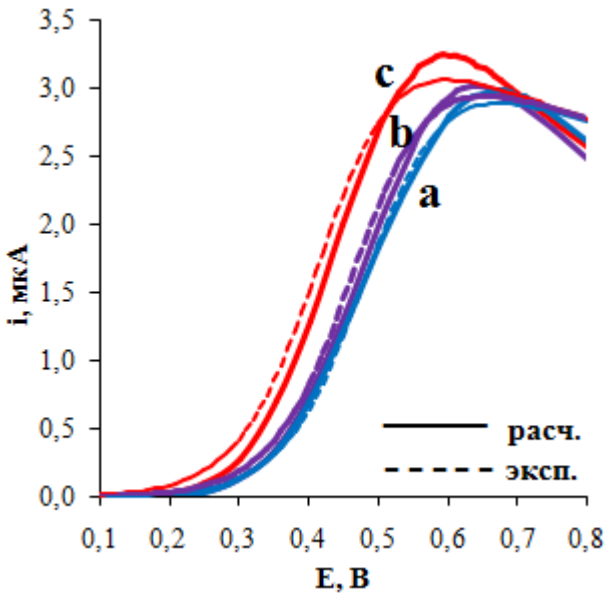


Рисунок 3.10 – Рассчитанные и эксперимeтальные вольтамперограммы электроокисления АК на UT (**a**) и UT, модифицированном наночастицами разного размера: r(Au-v)=20нм (**b**), r(Au-r)=5 нм (**c**). Фон: 0.001 М H_2SO_4, ν=0.05 В/с. Расчетные параметры приведены в таблице 3.3

На рисунке 3.9 и 3.10 показаны рассчитанные и экспериментальные вольтамперограммы окисления АК, зарегистрированные с использованием немодифицированного СУЭ и UT и этих же электродов, модифицированных наночастицами золота (ансамбль наноэлектродов) разного размера. Необходимо отметить, что для процесса, происходящего на ансамбле наноэлектродов, расположенных на СУЭ, вместо значения, указанного в таблице 3.3, использовалось значение k_s, соответствующее золотому электроду k_s=1×10^{-5} см/с, так как общая площадь наночастиц, иммобилизованных на поверхности электрода, была близка или превышали геометрическую площадь СУЭ. Очевидно, что с уменьшением размера наночастиц и возрастанием их свободной поверхностной энергии, сдвиг вольтамперограмм в сторону отрицательных потенциалов становится больше, что и наблюдается на рисунке 3.8.

Как было показано ранее, пассивация проявляется в падении тока, которое происходит после достижения предельного значения. Однако отсутствие информации о размере молекулы продукта электродной реакции, в частности

дегидроаскорбиновой кислоты, и ее ориентации на поверхности не позволяет сделать правильные расчеты. Таким образом, следует предположить, что блокировка поверхности электрода продуктами окисления АК является причиной уменьшения тока, наблюдаемого на экспериментальной кривой. Поскольку пассивация не прослеживается в области потенциалов, где наблюдаются наноэффекты, в дальнейших расчетах она не принималась в расчет. Совпадение экспериментальных и рассчитанных кривых подтверждает проявление наноэффектов в рассматриваемом случае.

Константы скорости электродных процессов (таблица 3.3) окисления АК на Au-диск и UT электродах практически совпадают. Окисление АК на СУЭ происходит при более положительных потенциалах. Это свидетельствует о том, что процесс в последнем случае является более медленным по сравнению с процессами на Au-диск и UT электродах, о чём также свидетельствует меньшая величина k_s, полученная для этого случая (таблица 3.3).

На рисунке 3.11 показана рассчитанная зависимость сдвига потенциала максимума тока и полуволны окисления АК на наноструктурированном СУЭ относительно немодифицированного СУЭ, в зависимости от радиуса наночастиц и их свободной поверхностной энергии Гиббса. Из рисунка 3.11 видно, что наиболее сильно размерные эффекты проявляются для наночастиц, радиус которых не превышает 5 нм.

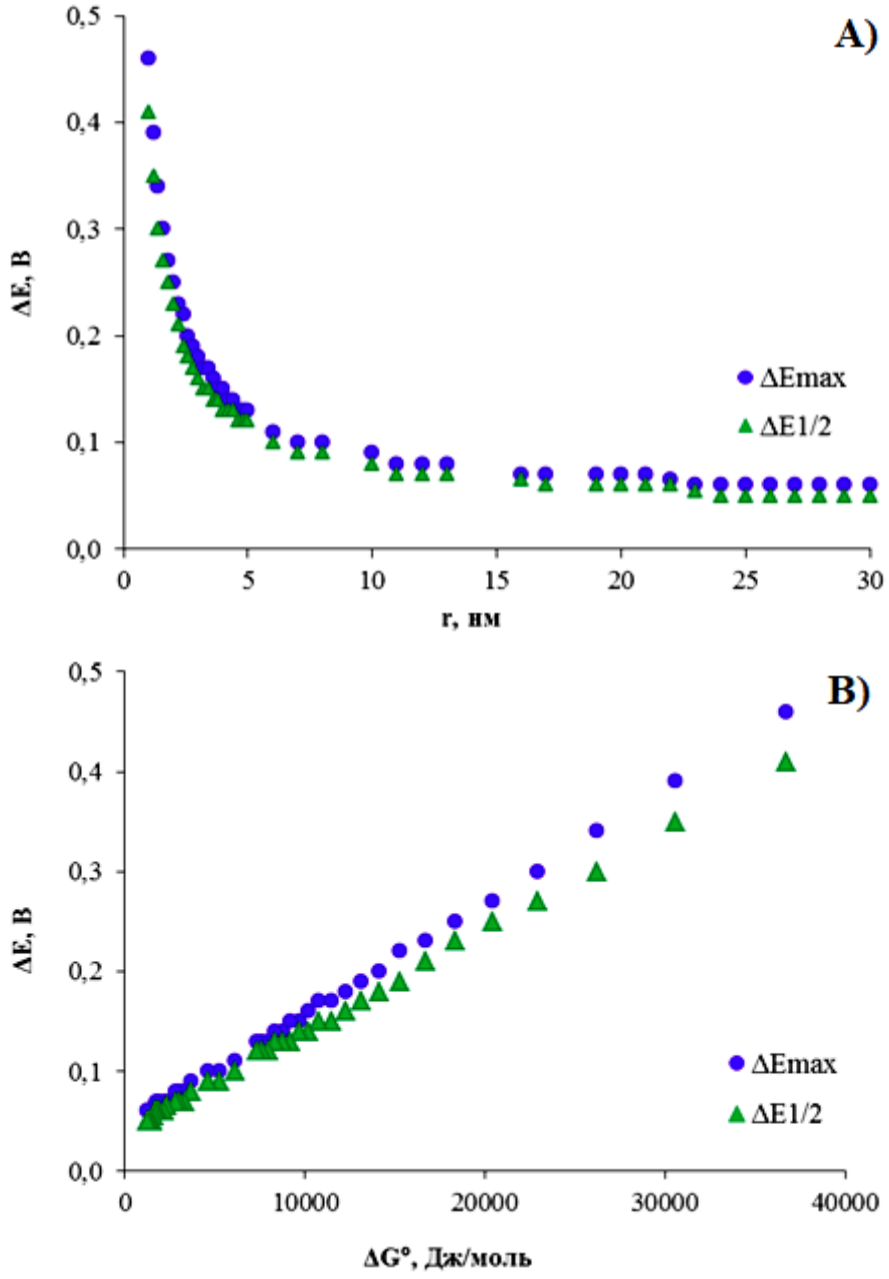


Рисунок 3.11 – Рассчитанные зависимости сдвига потенциал максимального тока и полуволны электроокисления АК на $Au_{нч}$/СУЭ и немодифицированном СУЭ от радиуса золотых наночастиц (**A**) и их свободной поверхностной энергии (**B**)

3.3 Процессы электроокисления мочевой кислоты

В ряде работ электроокисление МК рассматривается как электрокаталитический процесс. При этом в качестве катализатора по мнению авторов выступают гибридные материалы на основе углеродных нанотрубоки наночастиц [149], востановленный оксид графена [150], β-циклодекстрин [151], наночастицы золота [152, 153]. Ниже приведены исследования электроокисления мочевой кислоты с точки зрения протекания процесса по двум механизмам:

1. E – электрохимический процесс, без промежуточных химических стадий;
2. EC – электрохимический процесс, включающий каталитическую стадию, в которой естественно ожидать образование и распада промежуточных продуктов.

Принять интерпретацию процесса, протекающего на золотых наночастицах как процесса, включающего каталитическую стадию, достаточно сложно. Для установления механизма протекающего электрохимического процесса были проведены экспериментальные исследования и сравнение их с рассчитанными по предлагаемой математической модели [124, 154].

Проведены теоретические расчеты с использованием параметров, представленных в таблице 3.4, и сравнение полученных данных с экспериментальными. Соответствие формы экспериментальных кривых рассчитанным для процесса, протекающего в соответствии с определенным механизмом, указывает, что процесс такого типа имеет место в данном случае. Сравнивая вольтамперограммы, представленные на рисунке 3.12, следует вывод о том, что окисление МК на макро- и наноструктурированных электродах не осложняется каталитической стадией.

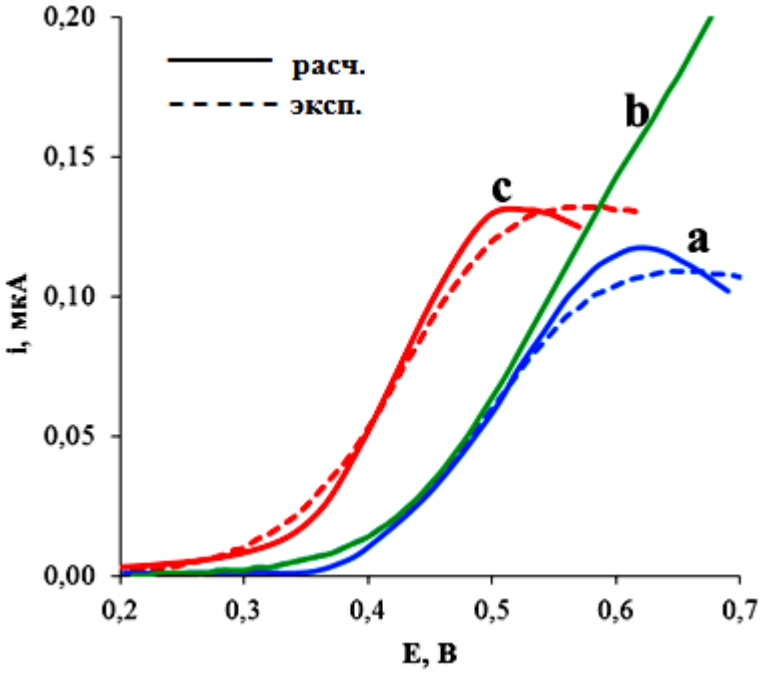


Рисунок 3.12 – Рассчитанные и экспериментальные вольтамперограммы окисления МК на СУЭ (**a** – Е-механизм, **b** – ЕС-механизм) и $Au_{нч}$/СУЭ (**c** – Е-механизм). Фон: ФБР pH 7, ν=0.05 В/с. Расчетные параметры приведены в таблице 3.4

На рисунке 3.13 представлены экспериментальные и рассчитанные вольтамперограммы окисления МК, зарегистрированные с использованием макро- и наноструктурированных электродов. Наблюдается сдвиг вольтамперограмм, полученных на электродах, модифицированных наночастицами, в катодную область по сравнению с немодифицированным электродом. Этот сдвиг обусловлен увеличением свободной поверхностной энергии Гиббса наноструктурированного электрода относительно макроэлектрода и свидетельствует о проявлении наноэффектов. Причем, чем меньше размер наночастиц, тем больше наноэффекты. Если площадь поверхности наночастиц различных размеров почти такая же, как площадь электрода, то токи окисления МК на этих наночастицах будут соизмеримыми (рисунок 3.13).

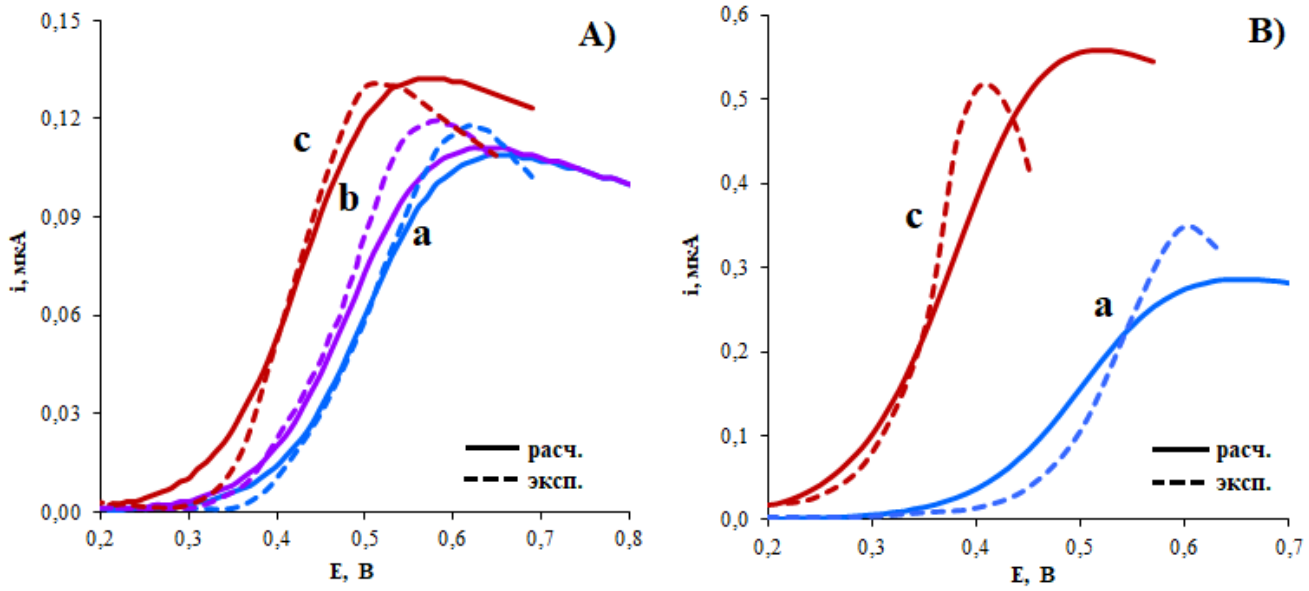


Рисунок 3.13 – Рассчитанные и эксперимeтальные вольтамперограммы окисления МК на немодифицированных (**a**) и модифицированных наночастицами разного размера СУЭ (**A**) и Au-диск (**B**). r(Au-v)=20нм (**b**), r(Au-r)=5 нм (**c**). Фон: ФБР pH 7, ν=0.05 В/с. Расчетные параметры приведены в таблице 3.4

Приведённые экспериментальные и рассчитанные данные достаточно хорошо согласуются, что подтверждает адекватность предлагаемой физико-математической модели.

Как видно из таблицы 3.4 константы скорости электродного процесса окисления МК равны, из чего следует вывод о том, что в данном случае подложка не оказывает влияния на скорость процесса.

Таблица 3.4 – Параметры, использованные для расчетов вольтамперограмм электроокисления МК

Параметр	Величина
1	2
D, коэффициент диффузии	1.56×10^{-5} см^2/с [155]
$C_{раств}$, концентрация МК	2×10^{-5} М
α, коэффициент переноса катодного процесса	0.51 [156]
β, коэффициент переноса анодного процесса	0.49 [156]

Окончание таблицы 3.4

1	2
k_s, константа скорости электрохимического процесса СУЭ Au-диск	 1.00×10^{-4} см/с 1.00×10^{-4} см/с
$E_{нач}$, начальный потенциал	0.2 В
$E°^{*}$, стандартный окислительно-восстановительный потенциал МК	0.370 В [157]
M, молярная масса золота	197 г/моль
ρ, плотность золота	19.3 г/см$^{-3}$
σ, поверхностное натяжение золота на границе с воздухом (при 700 °С)	1.200 дин/см [140]
Q, количество электричества, соответствующее количеству золота, локализованному на поверхности электрода	79 мкКл

*Окислительно-восстановительный потенциал рассчитан с использованием величины $E°$=0.59 В [157] для pH 7, относительно нормального водородного электрода.

На рисунке 3.14 представлена рассчитанная зависимость сдвига потенциала максимума тока и полуволны окисления МК на наноструктурированном Au-диск относительно немодифицированного Au-диск, в зависимости от радиуса наночастиц и их свободной поверхностной энергии Гиббса. Из рисунка 3.14 видно, что проявление размерных эффектов при электроокислении МК происходит в меньшей степени по сравнению с АК (рисунок 3.11). Размерный эффект более заметен для наночастиц, радиус которых не превышает 7 нм.

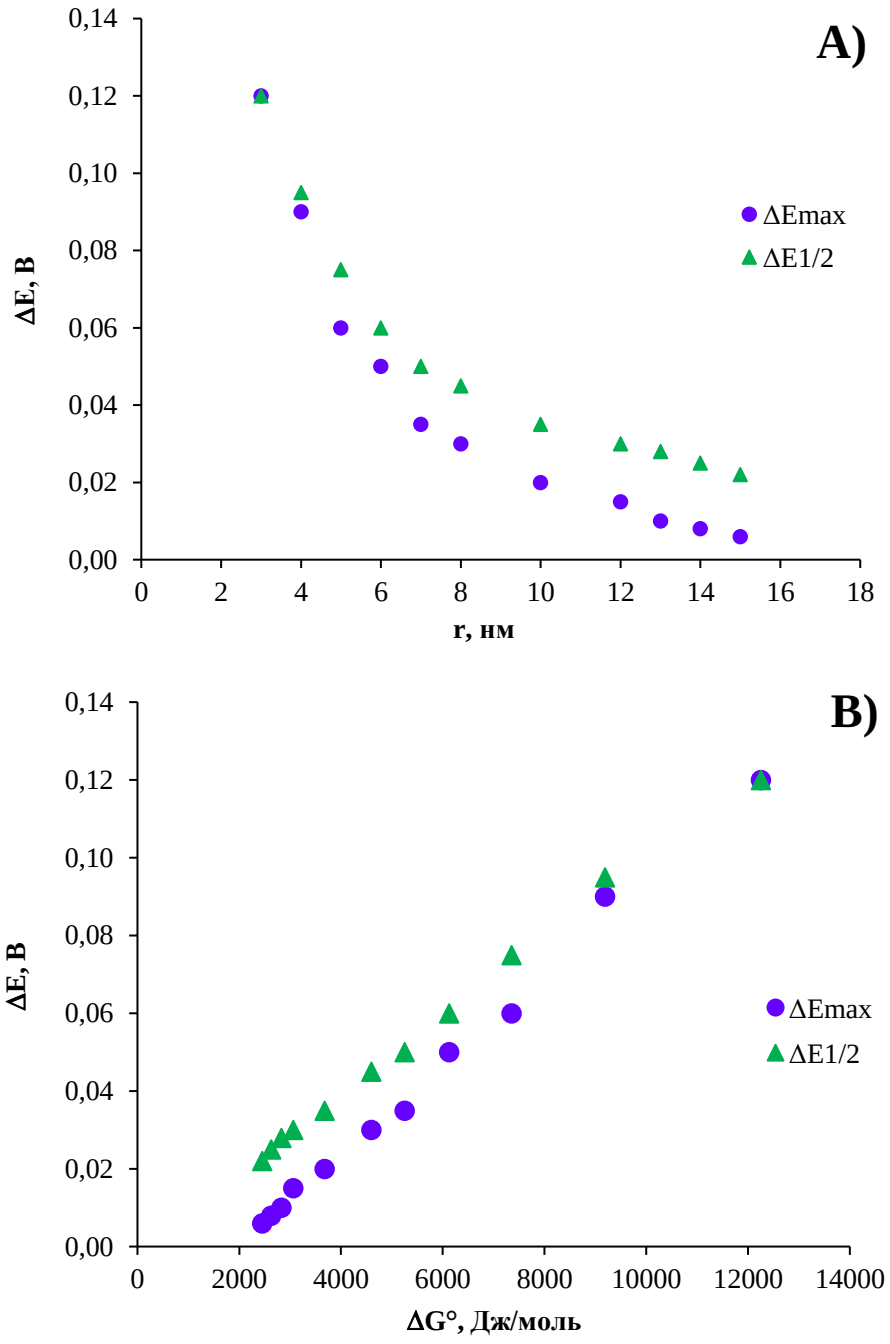


Рисунок 3.14 – Рассчитанные зависимости сдвига потенциал максимального тока и потенциала полуволны электроокисления МК на $Au_{нч}$/Au-диск и немодифицированного Au-диск от радиуса золотых наночастиц (**A**) и их свободной поверхностной энергии (**B**)

Математическое моделирование электрохимических процессов, протекающих на поверхности наноэлектродов, и экспериментальные исследования электроокисления АК и МК на различных электродах,

модифицированных наночастицами золота, показало, что наноэффекты проявляются в уменьшении перенапряжения электродного процесса (сдвиге потенциала окисления вещества в катодную сторону). Эффекты выражены тем сильнее, чем меньше размер наночастиц, что обусловлено вкладом свободной поверхностной энергии Гиббса наночастиц в кинетику электроокисления вещества. Принимая во внимание тот факт, что увеличение скорости реакции обусловлено снижением энергетического барьера, естественно заключить, что свободная поверхностная энергия Гиббса наночастиц снижает этот барьер. Таким образом, прослеживается связь нано- и кинетических эффектов.

Теоретически полученные зависимости сдвигов потенциала окисления АК и МК на наноструктурированных электродах показывают, что для АК по сравнению с МК размерные эффекты выражены более значительно. Этот факт может быть использован для управления селективностью определения индивидуальных аналитов и будет весьма полезен при разработке сенсоров для определения АК или МК при их совместном присутствии. Основываясь на полученных данных, возможно осуществить выбор оптимального размера наночастиц золота, с целью повышения разрешающей способности сенсора.

ГЛАВА 4. СЕНСОР НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ

Реальные образцы, в частности биологические жидкости, наряду с МК содержат АК, которая может оказывать мешающее влияние ввиду близких потенциалов окисления МК и АК на макроэлектродах. Поэтому основной проблемой при разработке сенсора на МК является обеспечение селективности ее определения. Для решения этой проблемы необходимо модифицирование электрода.

В качестве подложки для сенсора был взят ТУЭ. Основываясь на теоретических исследованиях, с использованием предложенной математической модели разумно было выбрать в качестве модификатора наночастицы золота, полученные цитратным методом Туркевича с радиусом 5 нм (цит-Au). При использовании данных наночастиц происходит удовлетворительное разделение сигналов МК и АК.

Были проведены исследования процесса электроокисления МК в присутствии АК на различных электродах. На рисунке 4.1 представлены производные вольтамперограммы индивидуального окисления МК и АК и в смеси на немодифицированном ТУЭ. Отдельные сигналы окисления АК и МК на ТУЭ регистрируются при потенциалах 0.62 и 0.69 В соответственно, в ФБР pH 5 с разностью потенциалов (ΔE) 0.07 В. Как видно из рисунка 4.1, при совместном присутствии МК и АК их сигналы перекрываются и регистрируется один широкий сигнал в диапазоне потенциалов 0.5 – 0.8 В, который растет при увеличении как концентрации АК, так и концентрации МК.

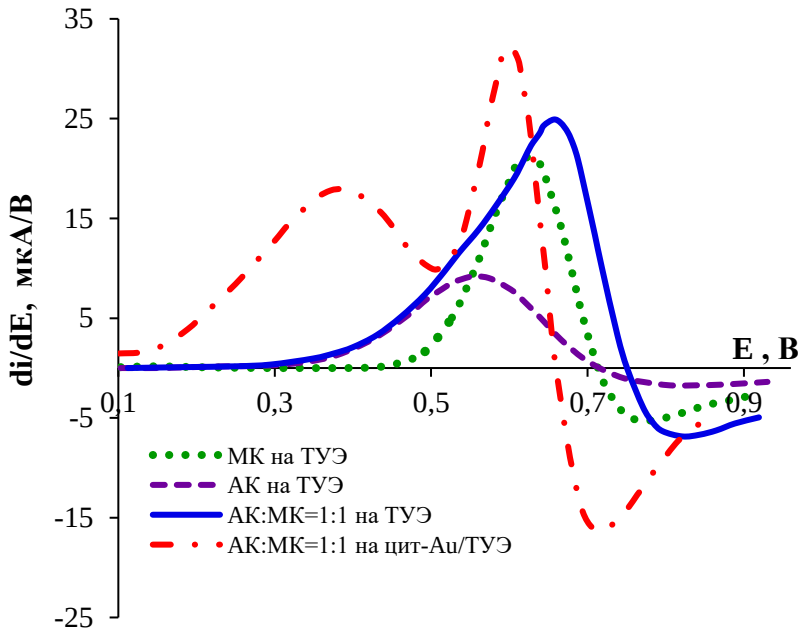


Рисунок 4.1 – Производные анодные вольтамперограммы 0.1 мМ МК, 0.1 мМ АК на ТУЭ и их смеси на ТУЭ и цит-Au/ТУЭ. Фон: ФБР pH 5, ν=0.05 В/с

Раздельные сигналы АК и МК, соответствующие эквимолярному отношению их концентраций, зарегистрированы на производных вольтамперограммах с использованием цит-Au/ТУЭ. ΔE между сигналами при этом составила 0.22 В. Однако при пятикратном избытке АК сигналы начинают перекрываться. Для устранения влияния АК поверхность цит-Au/ТУЭ была покрыта раствором нафиона (Nf) – катионообменного полимера [158]. Оптимальная концентрация Nf была выбрана исходя из величины ΔE (рисунок 4.2). Максимальная разность потенциалов окисления АК и МК (ΔE = 0.34 В) была получена при 2.5 % концентрации Nf при pH 5. Это можно объяснить тем фактом, что при pH 5 проницаемость пленки Nf максимальна для МК и минимальна для АК за счет разной степени диссоциации кислот. Значение показателя кислотности (pKa) АК равное 4.17 (25 °C) указывает на то, что при pH от 5 до 9 АК будет почти полностью существовать в анионной форме [159]. pKa для МК составляет 5.4 и при pH 5 МК находится не в анионной форме [160, 161].

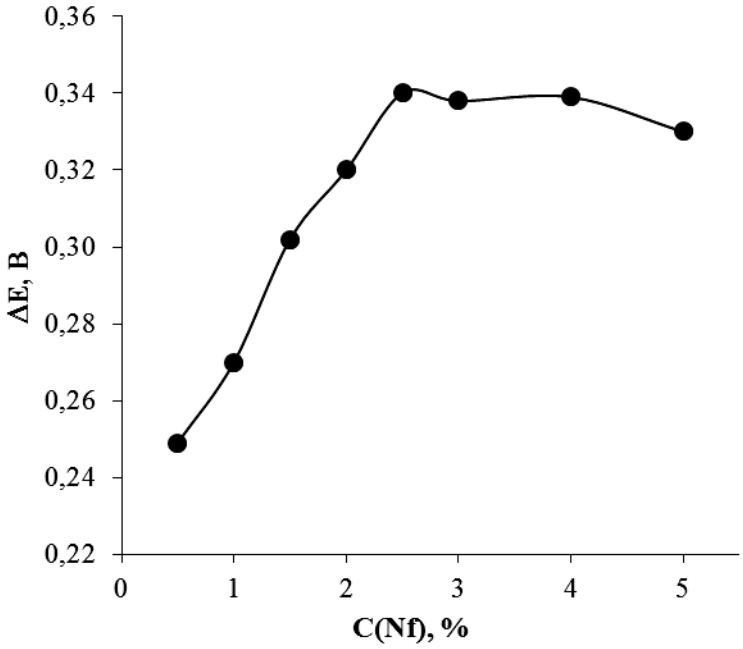


Рисунок 4.2 – Влияние концентрации нафиона на разность потенциалов максимальных токов окисления МК и АК на цит-Au/ТУЭ, покрытых нафионом разной концентрации. Фон: ФБР pH 5, $C_{МК}$:$C_{АК}$ = 1:5

Данные, приведенные на рисунке 4.3, показывают, что эти условия являются оптимальными для регистрации раздельных сигналов МК при пятикратном избытке АК (pH < 5 не использовался из-за большого фонового тока в области 0.0 – 0.9 В). Кроме того, Nf играет роль в стабилизации наночастиц золота на поверхности электрода.

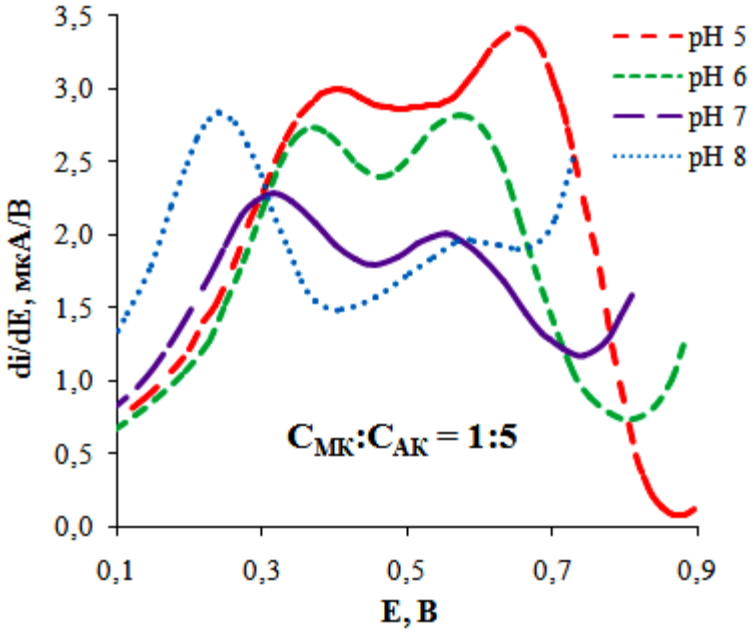


Рисунок 4.3 – Производные анодные вольтамперограммы смеси 0.1 мМ МК и 0.5 мМ АК, полученные с использованием 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ в фоновом растворе с различным pH. ν=0.05 В/с

Для установления природы процесса электроокисления МК на предлагаемом модифицированном электроде были проведены кинетические исследования. Влияние скорости развертки было рассмотрено в диапазоне от 0.05 до 0.40 В/с. Соответствующие зависимости приведены на рисунке 4.4. Как видно из рисунка 4.4a, с увеличением скорости развертки происходит сдвиг потенциала (E_m) в анодную область, что говорит о необратимом характере электродного процесса [162] и может быть выражено уравнением (17)

$$E_m(B) = 0.6046+0.0295\ln \nu\ (B/c),\ R^2= 0.9115 \qquad (17)$$

Линейность зависимости максимального тока окисления (I_m) МК от корня квадратного из скорости (рисунок 4.4b) свидетельствует о том, что рассматриваемый электрохимический процесс является диффузионно-контролируемым. Этот вывод также следует из зависимости натурального логарифма тока окисления МК от натурального логарифма скорости развертки потенциала (рисунок 4.4c). Наклон зависимости $\ln I_m = f(\ln \nu)$ равен 0.48 и близок

к теоретическому значению 0.5, что доказывает диффузионную природу процесса [163].

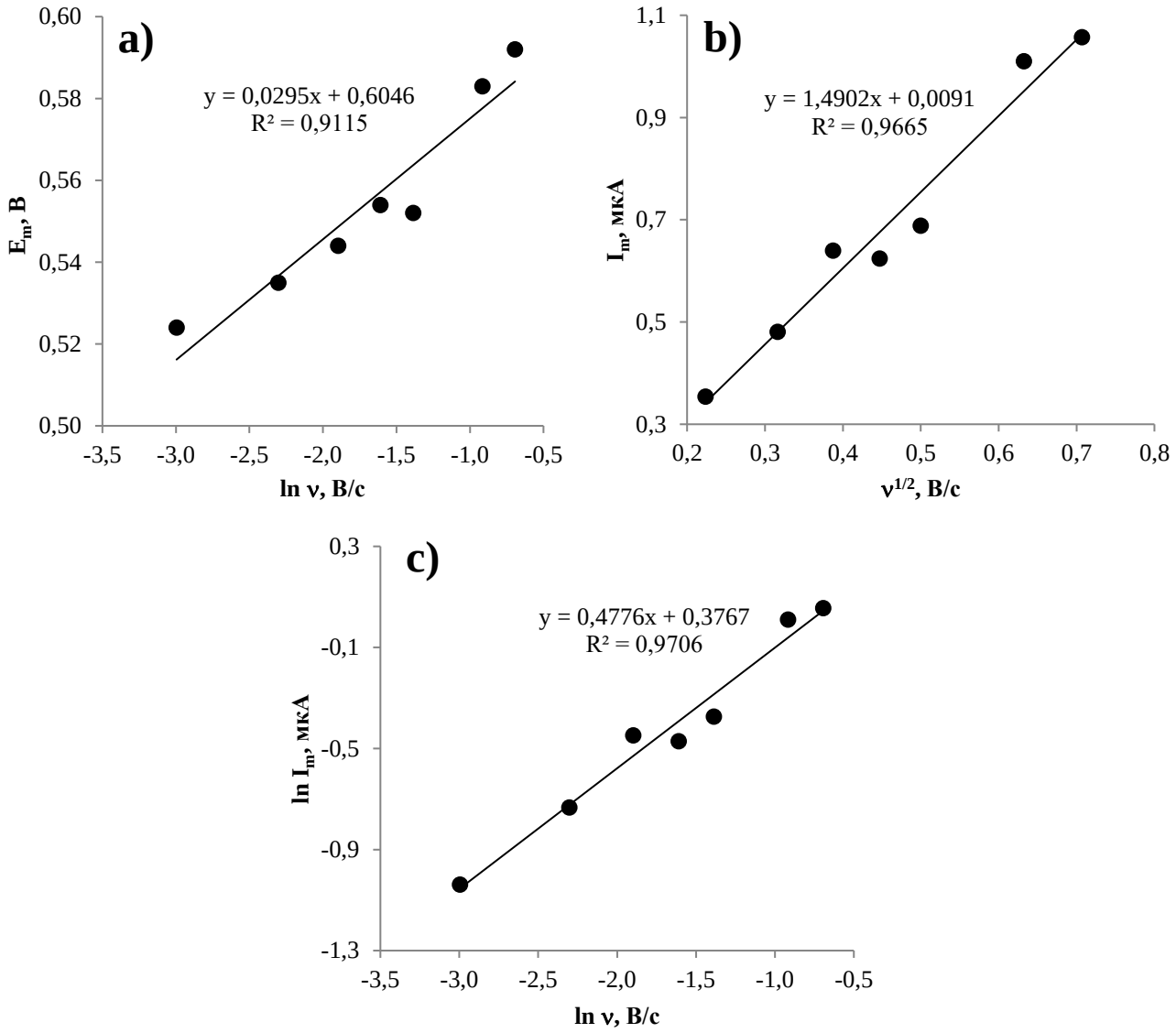


Рисунок 4.4 – Кинетические зависимости E_m=f(ln ν) (**a**), I_m=f($\nu^{1/2}$) (**b**), ln I_m=f(ln ν) (**c**), полученные с использованием 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ в ФБР pH 5 в присутствии 0.1 мМ МК в диапазоне скоростей развертки потенциала 0.05–0.40 В/с

На рисунке 4.5 представлены производные вольтамперограммы окисления МК разной концентрации с использованием 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ. Величина сигнала МК линейно зависит от её концентрации в диапазоне от 0.5 до 600.0 мкМ и описывается уравнением регрессии (18)

$$di/dE(мкА/В) = 0.0294C_{МК}(мкМ) + 0.0359 \quad (18)$$

с показателем аппроксимации R^2=0.9966 (рисунок 4.5). ПО (МК) для предлагаемого сенсора 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ составляет 0.25 мкМ. ПКО – 0.77 мкМ. Относительное стандартное отклонение (S_r) для сигнала 5 мкМ МК составляет 1.9 %.

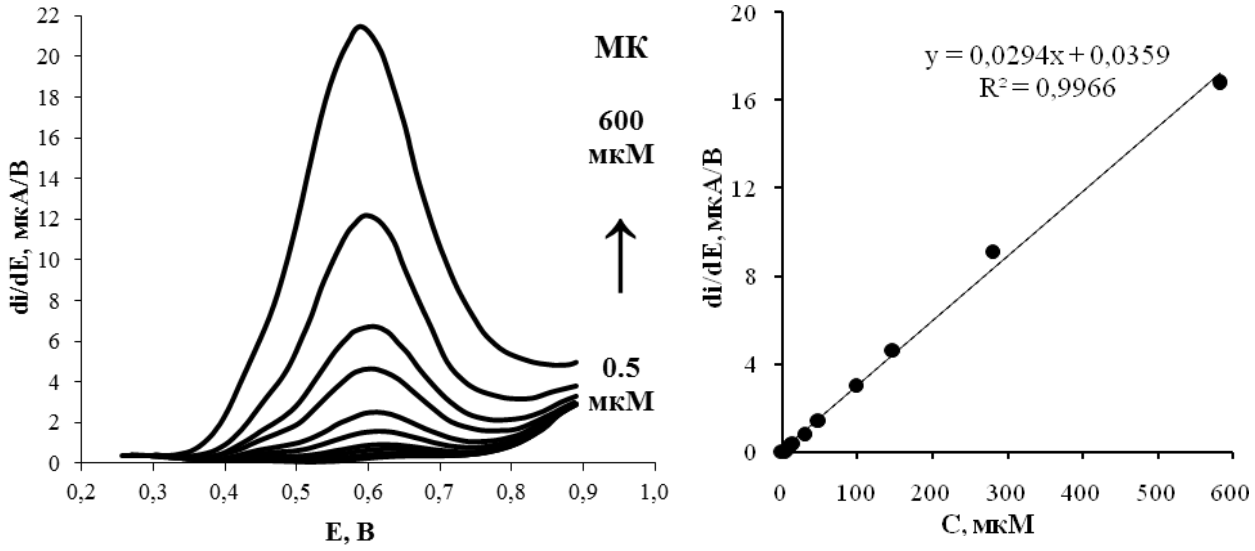


Рисунок 4.5 – Производные вольтамперограммы окисления МК разной концентрации (0.5–600.0 мкМ), полученные с использованием 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ, и соответствующая линейная зависимость di/dE=f(C). Фон: ФБР pH 5, ν=0.05 мВ/с

В таблице 4.1 представлены результаты исследования мешающего влияния некоторых веществ на определение МК. Установлено, что 100-кратный избыток глюкозы и мочевины, 70-кратный креатинина, 10-кратный избыток триптофана и 5-кратный избыток АК не оказывают существенного влияния на сигнал МК.

Таблица 4.1 – Влияние некоторых веществ на сигнал МК (сигнал 3 мкМ МК принят за 100%)

Мешающее вещество	Концентрация, мкМ	Изменение сигнала
АК	15	+1.3%
L-триптофан	30	–2.6%
Мочевина	300	+2.8%
Глюкоза	300	+4.8%
Креатинин	200	–4.4%

Аналитические характеристики 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ не изменяются в течение месяца в условиях хранения при комнатной температуре. В таблице 4.2 представлены аналитические характеристики предложенного сенсора и других модифицированных ТУЭ, используемых для определения МК.

Преимущества разработанного сенсора перед другими модифицированными электродами, используемыми для определения МК, состоят в том, что при его использовании не требуются предварительные время затратные операции адсорбционного концентрирования [164–166]. Предлагаемый сенсор не содержит быстро деградирующих ферментов [167, 168], не требует длительных процедур подготовки модификатора и модифицирования [169, 170]. В отличие от большинства известных модифицированных, ТУЭ [164, 166–170], использованных только в анализе урины, разработанный сенсор позволяет анализировать сыворотку крови в более широком диапазоне определяемых концентраций, чем в [151]. 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ обладает хорошей селективностью определения МК в присутствии избытка АК. Важным преимуществом разработанного сенсора является возможность определения МК в молоке без предварительных операций разделения и концентрирования. Планарность конструкции обеспечивает возможность использования в портативных устройствах для on site и in-situ анализа.

Таблица 4.2 – Аналитические характеристики определения МК с использованием различных модифицированных ТУЭ

Электрод	ЛД, мкМ	ПО, мкМ	Условия формирования сигнала, метод детекции	pH	Объект исследования	Ссылка
β-ЦД/RGO/ТУЭ	0.08–150	0.026	ДИВ	7	сыворотка крови	[151]
$Au_{нч}$/ТУЭ	0.0005–5000	0.0005	ПИА, Амп	1	модельный р-р	[153]
МУНТ/ТУЭ	1–100	0.86	$t_{нак.}$= 300 с в разомкнутой цепи, ЛВА	5	урина	[164]
ПАК-МУНТ/ТУЭ	0.5–30	0.458	$t_{нак.}$= 1500 с, в разомкнутой цепи, ДИВ	7.5	модельный р-р	[165]
CS-ОУНТ-ИЖ/ТУЭ	0.5–1000	0.17	$t_{нак.}$ = 100 с, $E_{нак.}$=-0.1В, ЛВА	2.4	урина	[166]
UOx-поли(4-АСК)-БЛ/ТУЭ	10–200	3	ПИА, Амп	8.27	урина	[167]
ПК-UOx-АЦ-CoPC/ТУЭ	15–250	15	ХрА	9.2	урина	[168]
GO/Fe_3O_4@SiO_2/ТУЭ	0.75–300	0.57	ДИВ	7	урина	[169]
RGO/ТУЭ	10–3000	0.35	ДИВ	7	урина	[170]
2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ	0.5–600	0.25	ЛВА	5	сыворотка крови, молоко	данная работа

$t(E)_{нак.}$ – время (потенциал) накопления; ПАК – полиакриловая кислота, ОУНТ – однослойные нанотрубки, ИЖ – ионная жидкость, UOx – уриказа, поли(4-АСК) – поли(4-аминосалициловая кислота), БЛ – берлинская лазурь, ПК – поликарбонат, АЦ – ацетат целлюлозы, CoPC – фталоцианин кобальта. Остальные сокращения см. под табл. 1.1 и 1.2

В качестве исследуемых образцов использовали пробы сыворотки крови, взятые из клинической лаборатории многопрофильного медицинского центра АО «Медицинские технологии» в замороженном виде. Размораживание образцов осуществляли в мини-инкубаторе при 37 °С в течение 20 минут. Вольтамперометрический анализ проводили после разбавления пробы сыворотки крови в 100 раз. В клинике пробы сыворотки крови были проанализированы с помощью независимой ферментативной спектрофотометрической методики.

В таблице 4.3 приведены результаты анализа образцов сыворотки крови. Правильность определения оценивали по методу «введено-найдено». Величина степени извлечения (R) не превышает 110 %, что подтверждает правильность и хорошую воспроизводимость полученных результатов определения МК в образцах сыворотки крови с помощью 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ. Найденное содержание МК во всех образцах сыворотки крови соответствует норме (0.15 – 0.42 мМ).

Таблица 4.3 – Определение МК в образцах сыворотки крови с использованием 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ в ФБР pH 5, (n=3, P=0.95)

Образец	Найдено в образце, мМ	Введено, мМ	Найдено в образце с добавкой, мМ	R, %
Образец 1	0.36±0.02	0.50	0.91±0.05	109
Образец 2	0.24±0.02	0.30	0.57±0.12	110
Образец 3	0.58±0.05	0.25	0.84±0.09	103
Образец 4	0.21±0.02	0.30	0.54±0.06	110
Образец 5	0.16±0.02	0.30	0.49±0.07	107

Валидация определения МК в образцах сыворотки крови с использованием разработанного сенсора 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ проводилась по результатам сравнения данных со стандартным ферментативным спектрофотометрическим методом [97].

Результаты анализа сыворотки крови вольтамперометрическим методом с использованием предлагаемого бесферментного сенсора 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ и референтным ферментативным спектрофотометрическим методом представлены в таблице 4.4. Как видно из таблицы 4.4, величина S_r для 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ не превышает 3.2 %. Результаты определения МК двумя рассматриваемыми методами хорошо согласуются. Значения *F*- и *t*-критериев меньше критических при P = 0.95, что подтверждает отсутствие систематических ошибок и точность определения.

Таблица 4.4 – Результаты определения МК в образцах сыворотки крови вольтамперометрическим методом с помощью 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ и ферментативным спектрофотометрическим методом (n=3, P=0.95)

Образец	Вольтамперометрия с использованием 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ, мМ	S_r, %	Спектро-фотометрия, мМ	S_r, %	*F*-тест	*t*-тест
Образец 1	0.198±0.006	3.0	0.204±0.005	2.3	1.63	0.90
Образец 2	0.304±0.004	1.4	0.308±0.008	2.5	3.07	0.48
Образец 3	0.336±0.002	0.5	0.333±0.004	1.1	5.29	1.10
Образец 4	0.370±0.006	1.6	0.37±0.01	2.9	3.39	0.25
Образец 5	0.47±0.02	3.2	0.48±0.01	2.7	1.33	0.52

$F_{крит.}$=19.00 при P=0.95 и df_1=2, df_2=2; $t_{крит.}$=2.78, P=0.95 и df=4

Предложенный сенсор был использован для определения МК в образцах молока без предварительной пробоподготовки при 50-кратном разбавлении (см. таблицу 4.5). Контроль правильности результатов анализа осуществляли по методу «введено-найдено». Величина степени извлечения (R) и S_r не превышают 102 % и 2.5 % соответственно, что подтверждает правильность и хорошую воспроизводимость результатов определения МК в образцах молока, полученных с помощью 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ.

Таблица 4.5 – Результаты анализа образцов молока с использованием 2.5%Nf/цит-Au/ТУЭ (n=3, P=0.95)

Образец	Введено, мкМ	Найдено, мкМ	R, %	S_r, %
Образец 1	20.0	20.3	101.5	2.5
Образец 2	20.0	19.9	99.5	1.6
Образец 3	20.0	19.3	96.5	1.9

Разработанный сенсор на основе ТУЭ, модифицированного наночастицами золота и нафиона, показал хорошие аналитические характеристики: низкий предел обнаружения, широкий диапазон линейности, высокую селективность определения МК в присутствии АК. Это позволило успешно использовать сенсор для анализа образцов сыворотки крови и молока без их предварительной подготовки. По сравнению с референтным спектрофотометрическим методом, предложенный сенсор не использует быстродеградирующих ферментов, что является существенным преимуществом.

Правильность результатов анализа сыворотки крови вольтамперометрическим методом с помощью разработанного сенсора подтверждается хорошим согласием с результатами стандартного ферментативного спектрофотометрического метода.

ГЛАВА 5. СЕНСОР НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ

В качесвте подложки при разработке сенсора была выбрана углеродная вуаль, которая представляет собой доступный, недорогой, гибкий и электропроводный материал. Поверхность субстрата была исследована с помощью метода сканирующей электронной микроскопии. На рисунке 5.1 приведены микрофотографии поверхности УВЭ и фито-Au/УВЭ.

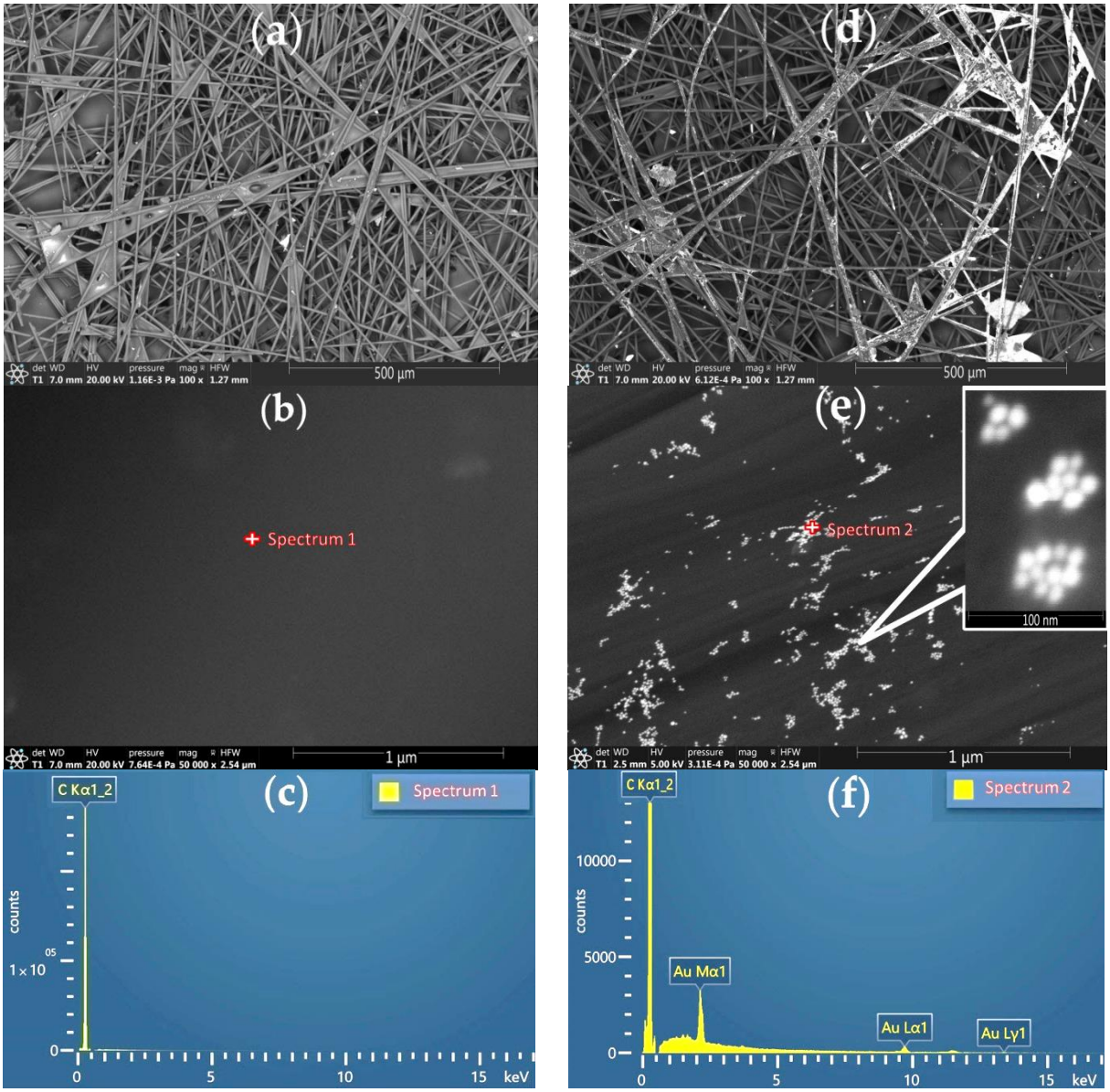


Рисунок 5.1 – Микрофотографии поверхности УВЭ (a, b) и фито-Au/УВЭ (d, e) и EDX-спектры УВЭ (c) и фито-Au/УВЭ (f)

Как видно из рисунка 5.1, поверхность УВЭ представляет собой хаотично переплетенные между собой волокна (диаметром от 5 до 10 мкм), на отдельных участках которого присутствует связующее. Как видно из спектра EDX, основным элементом УВЭ является углерод (рисунок 5.1c). Поверхность фито-Au/УВЭ представляет собой волокна, со светлым покрытием (рисунок 5.1d), которое при большем увеличении идентифицируется в виде отдельных мелких ярких точек размером 10-15 нм и их ассоциаты размером 30-40 нм (рисунок 5.1e). Наличие золота подтверждает EDX-спектр, зарегистрированный в светлом участке поверхности исследуемого образца фито-Au/УВЭ (рисунок 5.1f). На рисунке 5.2 представлены спектры комбинационного рассеяния для образцов УВЭ и сажи для сравнения. На обоих спектрах присутствуют полосы комбинационного сдвига 1360, 1590 см$^{-1}$, соответствующие углероду.

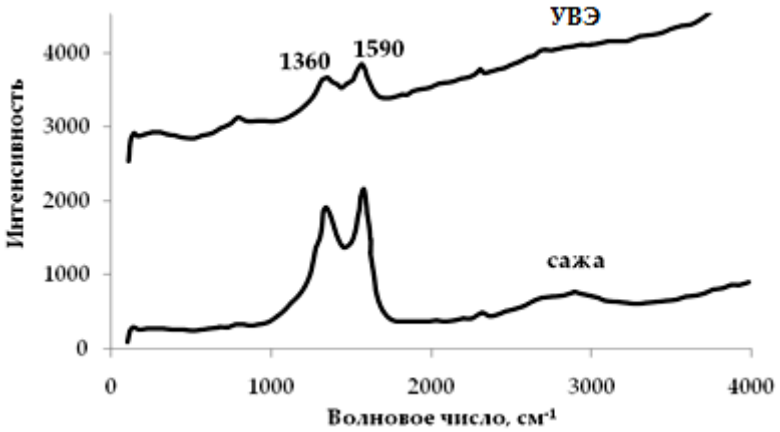


Рисунок 5.2 – Спектры комбинационного рассеяния УВЭ и сажи

На рисунке 5.3 представлен спектр нарушенного полного внутреннего отражения УВЭ, в котором наблюдается набор полос поглощения 690, 760, 850, 870, 1020, 1080, 1150, 1170, 1360, 1450, 1500, 1600, 1750, 2850, 2920, 2950 см$^{-1}$, характерных для колебаний связи углеводородного соединени типа полиакрилонитрильного волокна.

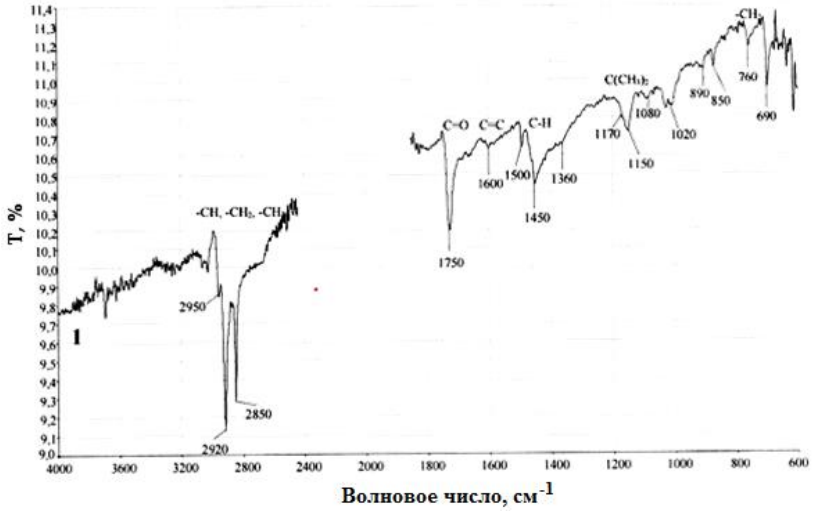


Рисунок 5.3 – Спектр нарушенного полного внутреннего отражения для УВ

Выбор модификатора – наночастиц золота осуществляли путем сравнения характеристик цит-Au/УВЭ и фито-Au/УВЭ. Во-первых, использование в сенсоре наночастиц фито-Au, полученных экологичным методом «зеленого» синтеза, является преимуществом, поскольку такие наночастицы являются биосовместимыми и низкотоксичными [171]. Во-вторых, показано, что фито-Au/УВЭ является электрохимически инертным. При снятии вольтамперограмм в фоновом растворе (ФБР pH 7) в диапазоне потенциалов от 0.0 до 0.6 В в случае использования фито-Au/УВЭ не было отмечено наличия каких-либо сигналов, в отличие от цит-Au/УВЭ (рисунок 5.4).

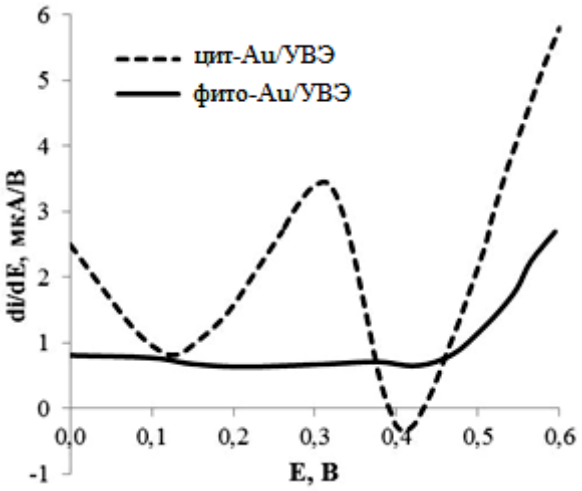


Рисунок 5.4 – Вольтамперограммы, зарегистрированные с использованием цит-Au/УВЭ и фито-Au/УВЭ в фоновом растворе ФБР pH 7, ν=0.05 В/с

Проведены электрохимические исследования УВЭ и фито-Au/УВЭ в ФБР, pH 7, не содержащем и содержащем 0.1 мМ АК в широком диапазоне потенциалов от -0.1 до 1.2 В (рисунок 5.5). Из рисунка 5.5 видно, что на циклической вольтамперограмме, зарегистрированной с помощью УВЭ в ФБР, отсутствуют анодные и катодные сигналы, что подтверждает электрохимическую инертность УВЭ. Введение в фоновый электролит АК приводит к появлению плохо выраженного, небольшого анодного сигнала АК при использовании УВЭ. В то время как при использовании фито-Au/УВЭ наблюдается четкий сигнал в три раза больший по величине. При этом потенциал тока окисления АК на фито-Au/УВЭ сдвинут более, чем на 0.4 В в катодную область, по сравнению с УВЭ.

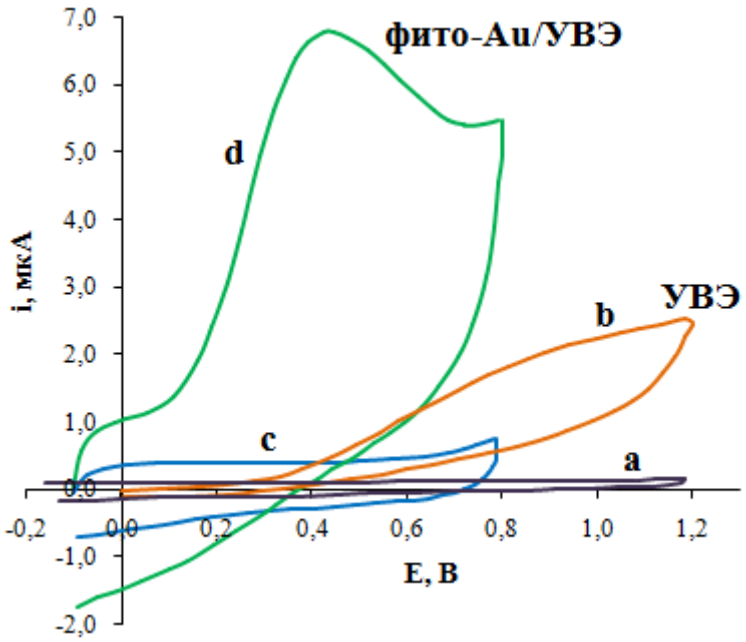


Рисунок 5.5 – Циклические вольтамперограммы на УВЭ (**a, b**) и фито-Au/УВЭ (**c**, **d**) в ФБР, pH 7, в отсутствии (**a**, **c**) и присутствии 0.1 мМ АК (**b**, **d**), ν=0.05 В/с

Для оптимизации количества фито-Au на УВЭ была изучена зависимость максимального тока окисления АК на фито-Au/УВЭ от числа слоев фито-Au, наносимых на поверхность УВЭ, которая представлена на рисунке 5.6. Из рисунка 5.6 видно, что наибольший анодный сигнал АК получен при использовании УВЭ, модифицированного двумя слоями фито-Au. Очевидно, что одного слоя фито-Au недостаточно для получения максимального тока окисления АК, а

последовательное нанесение более двух фито-Au слоев приводит к постепенному формированию макрозолотого покрытия на УВЭ и уменьшению активной золотой поверхности, что вызывает уменьшение анодного сигнала АК. В дальнейшем УВЭ модифицировали двумя слоями фито-Au [172].

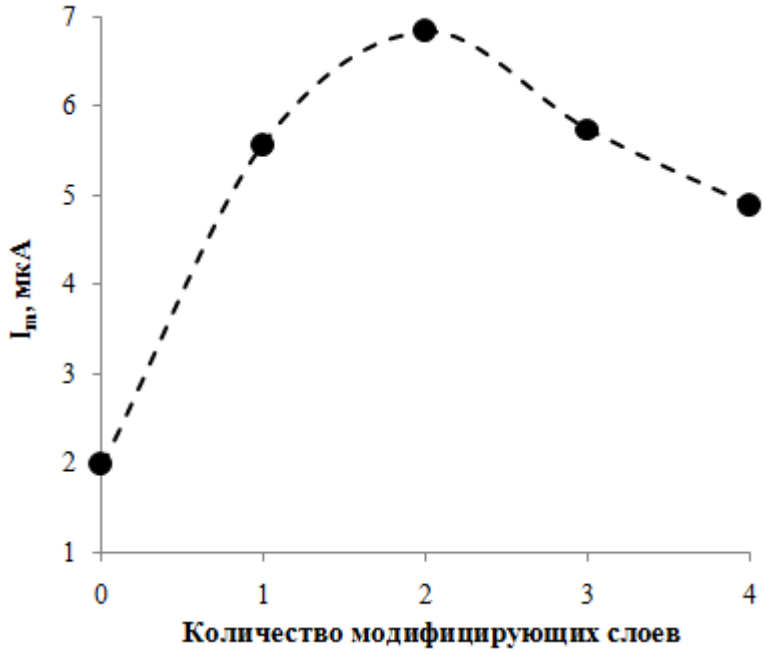


Рисунок 5.6 – Влияние количества модификатора на величину сигнала окисления 0.1 мМ АК на фито-Au/УВЭ в ФБР pH 7

Для характеристики эффективной площади поверхности немодифицированной и модифицированной наночастицами золота УВЭ использовали электрохимические методы: циклическую вольтамперометрию и хроноамперометрию. На рисунке 5.7 представлены циклические вольтамперограммы, зарегистрированные с помощью УВЭ и фито-Au/УВЭ в 0.1 М KCl, содержащем 1 мМ $K_4[Fe(CN)_6]$. Наблюдается увеличение токов окисления-восстановления $K_4[Fe(CN)_6]/K_3[Fe(CN)_6]$ для фито-Au/УВЭ по сравнению с УВЭ. Разность потенциалов между катодными и анодными пиками составила 0.88 В для фито-Au/УВЭ и 1.19 В для УВЭ. При этом соотношение максимальных анодных и катодных токов (I_{pa}/I_{pc}) составляет 2.21 для УВЭ и 1.33 для фито-Au/УВЭ. Уменьшение разности потенциалов и соотношения величин

анодного и катодного токов электропревращения $K_4[Fe(CN)_6]/K_3[Fe(CN)_6]$ подтверждает бóльшую обратимость электрохимических процессов на фито-Au/УВЭ по сравнению с УВЭ.

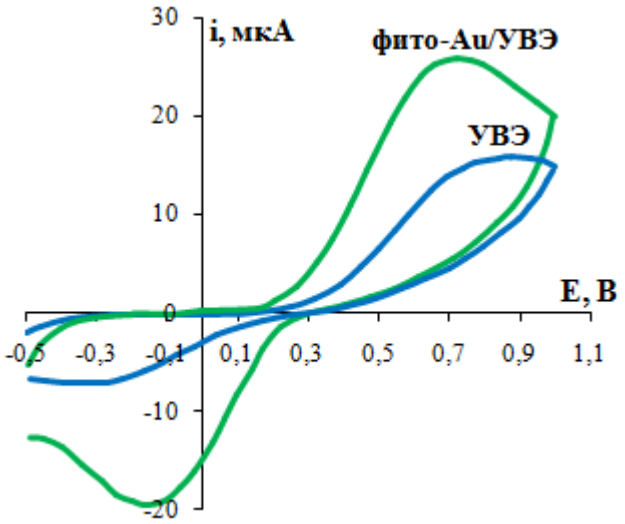


Рисунок 5.7 – Циклические вольтамперограммы 1.0 мМ $K_4[Fe(CN)_6]$ на УВЭ и фито-Au/УВЭ в 0.1 М KCl, ν=0.05 В/с

Для оценки эффективной площади поверхности электродов использовали хроноамперометричекский отклик 1.0 мМ $K_4[Fe(CN)_6]$ (рисунок 5.8). На рисунке 5.8 приведены хроноамперограммы окисления 1.0 мМ $K_4[Fe(CN)_6]$, зарегистрированные при потенциале 0.7 В на УВЭ и фито-Au/УВЭ, а также полученные из них соответсвтующие зависимости $i=f(t^{-1/2})$, используемые для оценки эффективной площади поверхности. Как видно из рисунка 5.8В, крутизна наклона линейной зависимости $i=f(t^{-1/2})$ для фито-Au/УВЭ в два раза больше, чем для УВЭ. Значения наклонов этих графиков использованы для оценки эффективной площади поверхности электродов с помощью уравнения Коттрелла. Площадь рабочей поверхности УВЭ составила 15.6 мм^2, а фито-Au/УВЭ – 32 мм^2 [171]. Полученные результаты показывают, что модифицирование УВ наночастицами золота, полученными «зеленым» синтезом, приводит к увеличению рабочей площади поверхности. Это способствует возрастанию электрохимической активности и чувствительности предлагаемого сенсора.

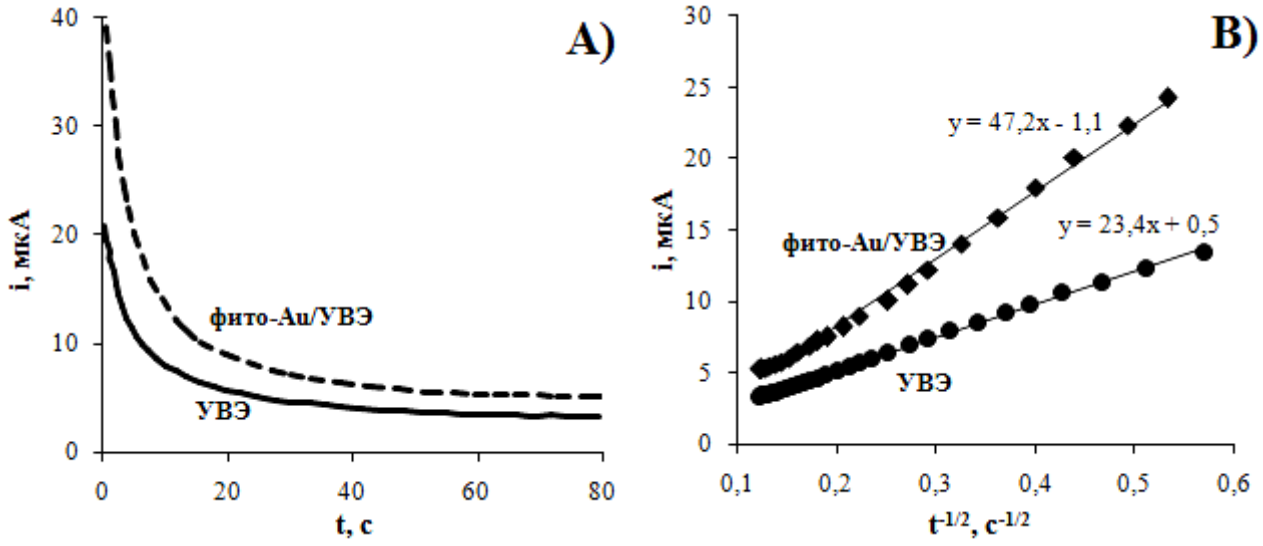


Рисунок 5.8 – Хроноамперограммы, полученные с использованием УВЭ и фито-Au/УВЭ в 1.0 мМ $K_4[Fe(CN)_6]$+0.1 М KCl, E=0.7 В (**А**). Зависимости $i=f(t^{-1/2})$, полученные из хроноамперограмм 1.0 мМ $K_4[Fe(CN)_6]$ с использованием соответствующих электродов (**В**)

Проведены исследования электрохимического поведения АК на предложенном модифицированном электроде фито-Au/УВЭ. Оценено влияние pH фонового электролита на окисление АК на фито-Au/УВЭ (рисунок 5.9). Происходит резкое смещение потенциала окисления АК в катодную сторону с увеличением pH от 3 до 5. В диапазоне pH от 5 до 8 величина максимального анодного тока АК, зарегистрированного с использованием фито-Au/УВЭ, остается практически одинаковой. Зависимость величины потенциала пика тока АК от pH в диапазоне от 3 до 5 описывается линейным уравнением (19):

$$E_m(В) = (0.7643\pm0.0458)-(0.0590\pm0.0030)pH,\ R^2 = 0.9976, \quad (19)$$

Полученное значение наклона совпадает с теоретическим и составляет 0.059 В, что свидетельствует об одинаковом количестве протонов и электронов, участвующих в электродной реакции. Как видно из рисунка 5.9, максимальная величина тока окисления АК наблюдается при pH 6, поэтому для дальнейших исследований в качестве фонового электролита использовали ФБР с pH 6.

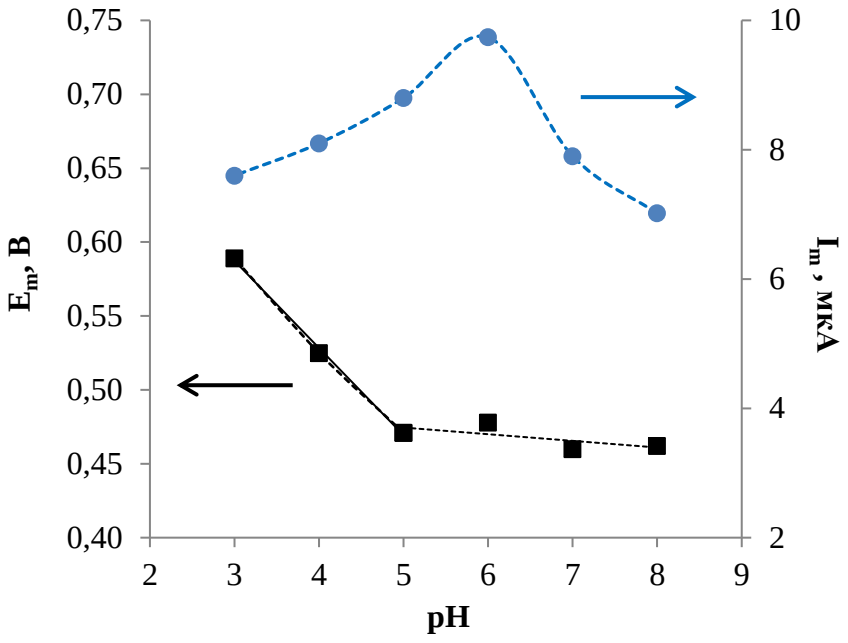


Рисунок 5.9 – Влияние pH фонового электролита на максимальный ток и потенциал электроокисления 0.1 мМ АК на фито-Au/УВЭ

На рисунке 5.10a представлено влияние скорости развертки потенциала на ток и потенциал окисления АК в диапазоне от 0.05 до 0.40 В/с. Как видно из рисунка 5.10c, максимальный ток окисления АК (I_m) увеличивается, а его потенциал (E_m) смещается в анодную область с увеличением скорости развертки потенциала. Смещение потенциала окисления АК в анодную область с увеличением скорости развертки (рис. 5.10b) доказывает необратимость электродного процесса [162] и может быть выражено соответствующим уравнением (20).

$$E_m(B) = (0.8527\pm0.0350)+(0.1446\pm0.0121)\ln \nu \text{ (В/с)}, R^2= 0.9664 \qquad (20)$$

Линейный характер зависимости максимального тока окисления АК от корня квадратного из скорости (рисунок 5.10c) свидетельствует о том, что рассматриваемый электрохимический процесс является диффузионно-контролируемым. Этот вывод также следует из зависимости натурального логарифма тока окисления АК от натурального логарифма скорости развертки потенциала (рисунок 5.10d). Наклон зависимости $\ln I_m = f(\ln \nu)$ равен 0.54 и близок

к теоретическому значению 0.5, что характерно для процесса, контролируемого диффузией [163].

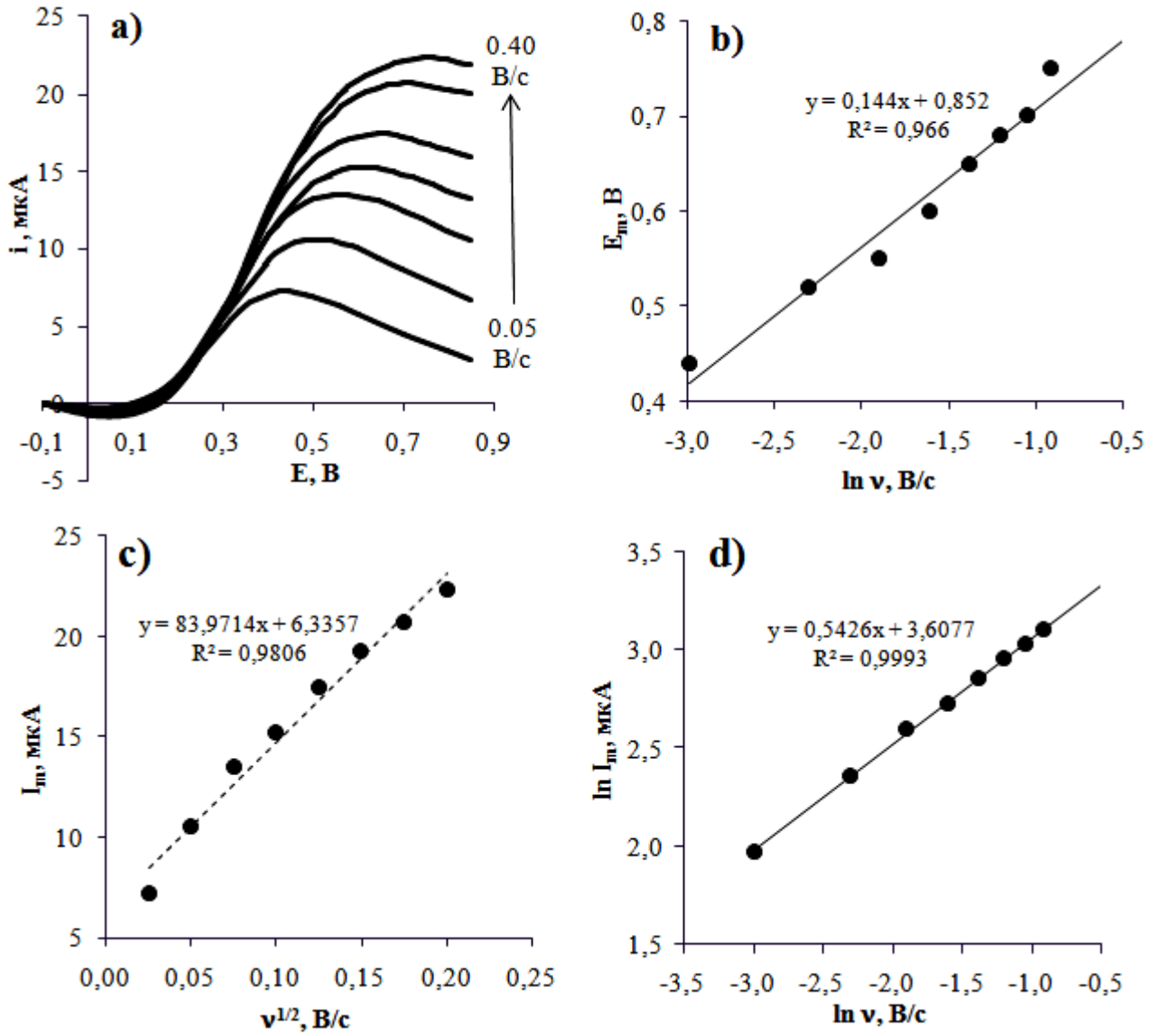


Рисунок 5.10 – Анодные вольтамперограммы 0.1 мМ АК на фито-Au/УВЭ в ФБР pH 6 при разных скоростях развертки потенциала (0.05–0.40 В/с) (**a**) и полученные кинетические зависимости E_m=f(ln ν) (**b**), I_m=f($\nu^{1/2}$) (**c**), ln I_m=f(ln ν) (**d**)

Коэффициент диффузии АК был рассчитан по уравнению Коттрелла на основании хроноамперограммы, зарегистрированной при E=0.45 В, и соответствующей зависимости I_m=f($t^{-1/2}$) (Рисунок 5.11). Найденная величина коэффициента диффузии АК составила 3.39×10^{-6} см^2/с [171].

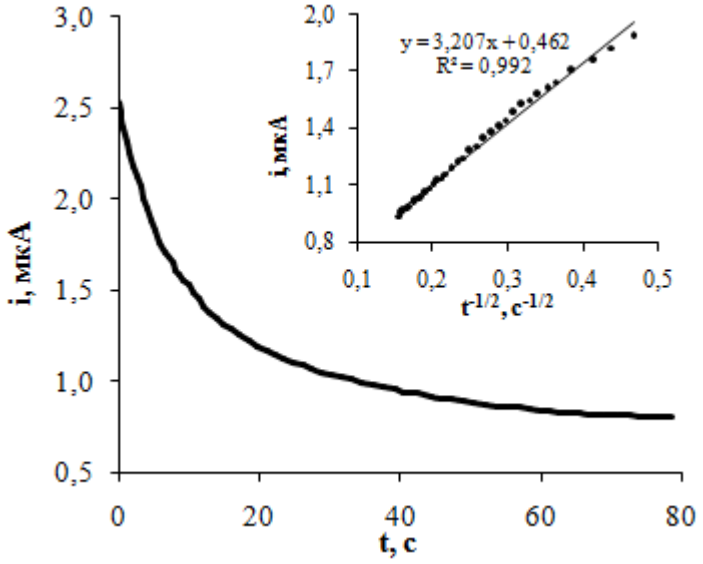


Рисунок 5.11 – Хроноамперограмма 0.1 мМ АК, полученная с использованием фито-Au/УВЭ в ФБР pH 7 при E=0.45 В, и соответствующая зависимость $i=f(t^{-1/2})$ (вставка)

Разработанный фито-Au/УВЭ имеет два линейных диапазона (ЛД): 1–10 мкМ и 10–5730 мкМ (уравнения (21) и (22) соответственно). Предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО) составляют 0.05 мкМ и 0.15 мкМ соответственно.

$$I_m(\text{мкА}) = (0.0075\pm0.0007)+(0.1300\pm0.0091)C(\text{мкМ}),\ R^2 = 0.9982 \quad (21)$$

$$I_m(\text{мкА}) = (1.2266\pm0.0613)+(0.0505\pm0.0030)C(\text{мкМ}),\ R^2 = 0.9987 \quad (22)$$

Результаты исследований мешающего влияния ряда соединений, входящих в состав реальных образцов соков [173], на сигнал АК, регистрируемый с использованием фито-Au/УВЭ, представлены в таблице 5.1. Установлено, что определению АК не мешает 100-кратный избыток глюкозы, 500-кратный избыток сахарозы, 600-кратный избыток лимонной кислоты и фруктозы, 800-кратный избыток винной и 1000-кратный избыток яблочной кислот.

Таблица 5.1 – Мешающее влияние некоторых веществ на сигнал АК (сигнал 0.01 мМ АК принят за 100 %)

Вещество	Концентрация, мМ	$C_{МВ} : C_{АК}$	Изменение сигнала АК, %
Глюкоза	1	100	-9.5
Сахароза	5	500	+4.2
Фруктоза	6	600	+4.8
Лимонная кислота	6	600	-0.5
Винная кислота	8	800	-1.6
Яблочная кислота	10	1000	-0.5

$C_{МВ}$ – концентрация мешающего вещества, мМ; $C_{АК}$ – концентрация АК, мМ

Проведено сравнение аналитических характеристик фито-Au/УВЭ с электродом цит-Au/УВЭ, модифицированным наночастицами золота, полученными цитратным методом Туркевича. На рисунке 5.12 представлены вольтамперограммы АК при разных концентрациях на фито-Au/УВЭ и цит-Au/УВЭ и полученные при их использовании соответствующие линейные графики зависимости I_m от двух диапазонов концентрации АК (1–10 мкМ и 10–12000 мкМ). Как видно из рисунка 5.12, тангенс угла наклона градуировочной зависимости для фито-Au/УВЭ выше, чем для цит-Au/УВЭ.

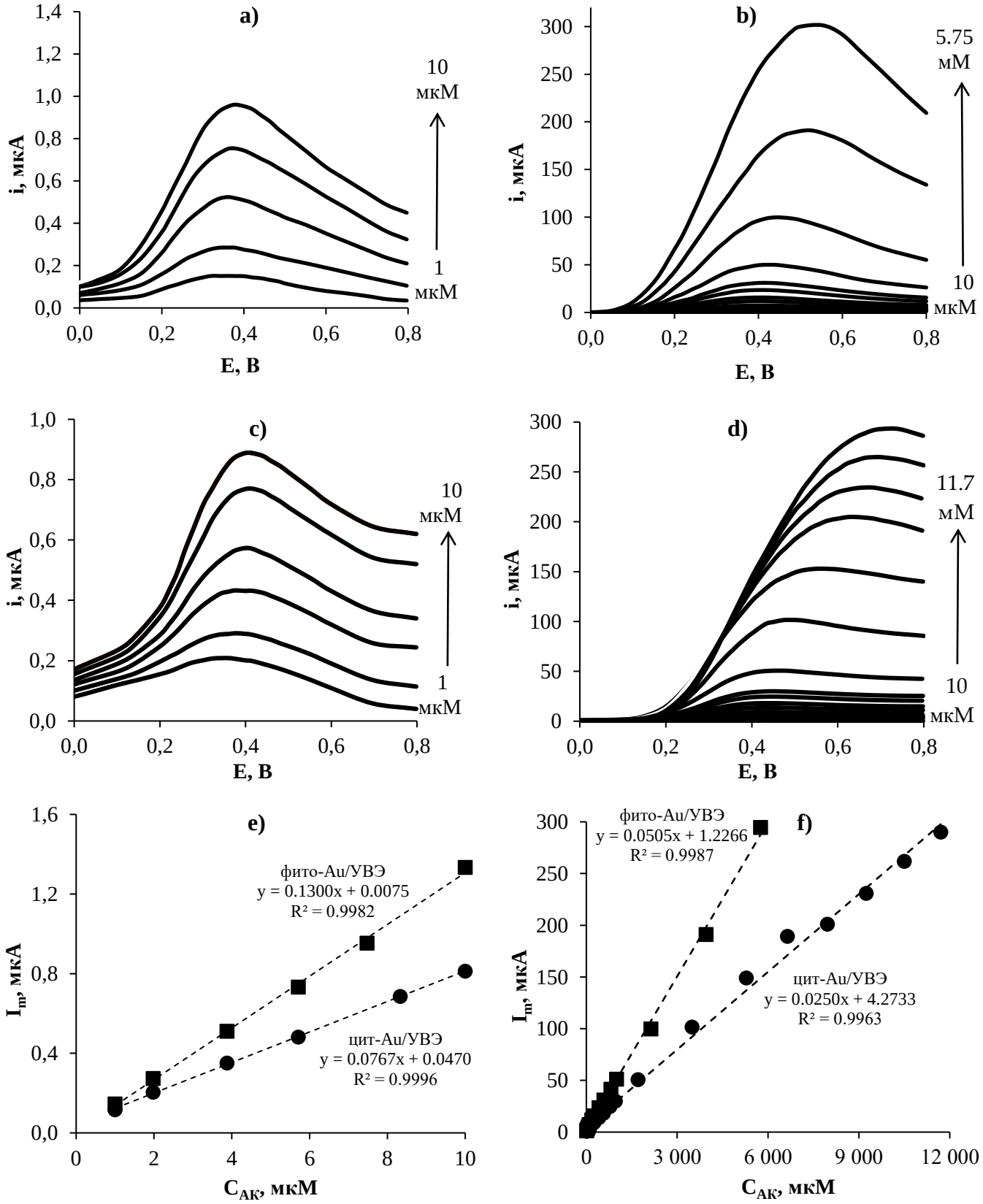


Рисунок 5.12 – Вольтамперограммы АК на фито-Au/УВЭ (a, b) и цит-Au/УВЭ (c, d) при различных концентрациях и соответствующие линейные зависимости I_m от $C_{АК}$ (e, f)

Сравнение других аналитических характеристик фито-Au/УВЭ и цит-Au/УВЭ, представленных в таблице 5.2, показывает, что фито-Au/УВЭ обладает в 4 раза более низкими ПО и ПКО и в полтора раза более высокой чувствительностью, но меньшим линейным диапазоном по сравнению с цит-Au/УВЭ. Как видно из таблицы 5.2, фито-Au/УВЭ обладает более хорошей воспроизводимостью сигнала при минимальной концентрации АК (1 мкМ) по сравнению с цит-Au/УВЭ.

Таблица 5.2 – Сравнение аналитических характеристик фито-Au/УВЭ и цит-Au/УВЭ

Параметр	фито-Au/УВЭ	цит-Au/УВЭ
ЛД, мкМ	1–10, 10–5750	1–10, 10–11700
ПО, мкМ	0.05, 0.26	0.20, 0.71
ПКО, мкМ	0.15, 0.79	0.60, 2.16
Чувствительность, мкА/мкМ	0.130, 0.050	0.077, 0.025
S_r сигнала 1 мкМ АК, %	1.4	3.6

Как видно из рисунка 5.13, сигнала 0.1 мМ АК на предлагаемом сенсоре фито-Au/УВЭ стабилен в течение 6 недель. К 7-й неделе ток окисления 0.1 мМ АК на фито-Au/УВЭ уменьшается на 8%. На цит-Au/УВЭ величина сигнала 0.1 мМ АК стабильна в течение 3.5 недель и снижается почти на 50% к 6-й неделе.

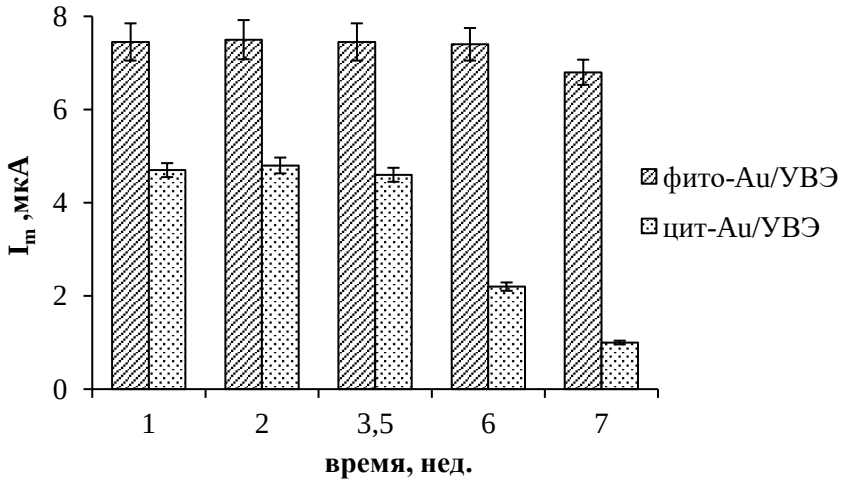


Рисунок 5.13 – Стабильность сигнала 0.1 мМ АК на фито-Au/УВЭ и цит-Au/УВЭ

В таблице 5.3 приведены аналитические характеристики разных сенсоров при определении АК в пищевых продуктах и фармацевтических препаратах. Можно видеть, что у разработанного сенсора предел обнаружения и диапазон линейности не только сопоставимы, но и лучше по сравнению со многими другими модифицированными электродами.

Таблица 5.3 – Аналитические характеристики определения АК в реальных образцах с использованием разных сенсоров

Сенсор	ПО, мкМ	ЛД, мкМ	Метод	Объект	Ссылка
1	2	3	4	5	6
$Au_{нч}$-PAN/СУЭ	8.20	10–12000	Амп	таблетированный витамин С	[77]
$Au_{нч}$-ZnO-PPy-RGO/СУЭ	0.16	2–950	ДИВ	таблетированный витамин С	[79]
TiO_2-$Au_{нч}$-МУНТ-ДГФ/СУЭ	1.20	5–51	Амп	фармпрепарат, апельсиновый сок	[83]
$Au_{нч}$-L-аланин/СУЭ	10.00	12–160	ЦВ	–	[174]
Pt-электрод	87.00	310–20000	ДИВ	фруктовые соки, вино	[175]
УПЭ	20.00	70–20000	ДИВ	–	[175]
PEDOT/СУЭ	23.30	50–90	КВВ	апельсиновый и ананасовый соки	[176]
ТУЭ	1360.00	0–10000	ЦВ	апельсиновый сок	[177]
УПЭ	1.76	10–100	КВВ	фармпрепараты	[178]
ПоФДоАФ /СУЭ	36.40	100–1000	ДИВ	таблетированный витамин С, апельсиновый сок	[179]

Окончание таблицы 5.3

1	2	3	4	5	6
ПП/Au-макро	5.00	10–2200	КВВ	лимонный сок, таблетки Celin	[180]
СУЭ	11.50	8–80	ЦВ, КВВ	напитки, свежие овощи	[181]
Fe(III)-Y-цеолит/УПЭ	0.02	0.4-1200	КВВ	цитрусовый сок	[182]
УПЭ	22.10	-	ЦВ	фруктовые соки	[183]
фито-Au/УВЭ	0.05, 0.26	1–10, 10–5750	АВ	фруктовые соки	[наст. работа]

МУНТ – многослойные углеродные нанотрубки, ДГФ – дигексадецилфосфатная пленка, УПЭ – угольно-пастовый электрод, PEDOT – поли-(3,4-этилендиокситиофен), ПоФДоАФ – поли(о-фенилендиамин-со-о-аминофенол), ПП – полипиррол, ТУЭ – толстопленочный углеродсодержащий электрод. Остальные сокращения см. под табл. 1.1 и 1.2

Разработанный сенсор был использован для определения АК в образцах фруктовых соков. Результаты представлены в Таблице 5.4.

Таблица 5.4 – Результаты определения содержания АК в напитках с использованием фито-Au/УВЭ в ФБР pH 6.0 (n=3, P=0.95)

Образец	Найдено в образце, мМ	Введено, мМ	Найдено в образце с добавкой, мМ	Найдено, мМ	R, %
Сок вишня-яблоко	0.81±0.06	1.94	2.96±0.21	2.15±0.23	111
Сок детский яблочный	0.47±0.01	0.97	1.43±0.03	0.96±0.02	99
Сок яблочный	0.16±0.01	0.25	0.418±0.003	0.26±0.01	104
Нектар яблочный осветленный	0.09±0.01	0.12	0.21±0.02	0.120±0.003	100

Как видно из таблицы 5.4 величина степени извлечения (R) находится в диапазоне от 99 до 111 %, что подтверждает корректность полученных результатов определения АК.

Дозировка АК в готовой продукции, предназначенной для потребления, установлена на уровне 0.25 г/л (1.42 мМ) [184]. Полученные результаты определения содержания АК в исследуемых образцах свидетельствуют о соответствии соковой продукции требованиям, установленным техническим регламентом.

Валидация определения АК в соках с использованием разработанного сенсора фито-Au/УВЭ проводилась по результатам сравнения данных со стандартным методом потенциометрического титрования [185], в котором в качестве титранта использовался раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия.

Результаты анализа соков вольтамперометрическим методом с использованием предлагаемого сенсора фито-Au/УВЭ и референтным методом потенциометрического титрования представлены в таблице 5.5.

Таблица 5.5 – Результаты определения АК во фруктовых соках вольтамперометрическим методом с использованием фито-Au/УВЭ и методом потенциометрического титрования (n=3, P=0.95)

Образец	Вольтамперометрия с использованием фито-Au/УВЭ, мМ	S_r, %	Потенциометрическое титрование, мМ	S_r, %	*F*-тест	*t*-тест
Сок вишня-яблоко	0.81±0.06	6.8	0.76±0.07	8.7	1.43	0.67
Сок детский яблочный	0.47±0.01	2.2	0.42±0.03	7.6	9.00	1.82
Сок яблочный	0.16±0.01	5.0	0.16±0.01	4.5	1.18	0.49
Нектар яблочный осветленный	0.09±0.01	6.5	0.09±0.01	9.0	1.97	0.19

$F_{крит.}$=19.00 при P=0.95 и df_1=2, df_2=2; $t_{крит.}$=2.78, P=0.95 и df=4

Как видно из таблицы 5.5, величина S_r для фито-Au/УВЭ не превышает 6.8 %. Результаты определения АК двумя рассматриваемыми методами достаточно близки. Значения *F*- и *t*-критериев меньше критических при P=0.95, что подтверждает отсутствие систематических ошибок и точность определения.

Взаимосвязь содержания АК в образцах напитков с их АОА представлена на рисунке 5.14. Оценку АОА напитков проводили потенциометрическим методом, описанным в работе [186]. Наблюдается хорошая корреляция между результатами определения АК вольтамперометрическим методом с использованием фито-Au/УВЭ и величиной АОА образцов. Коэффициент корреляции составил 0.9867 (рисунок 5.14).

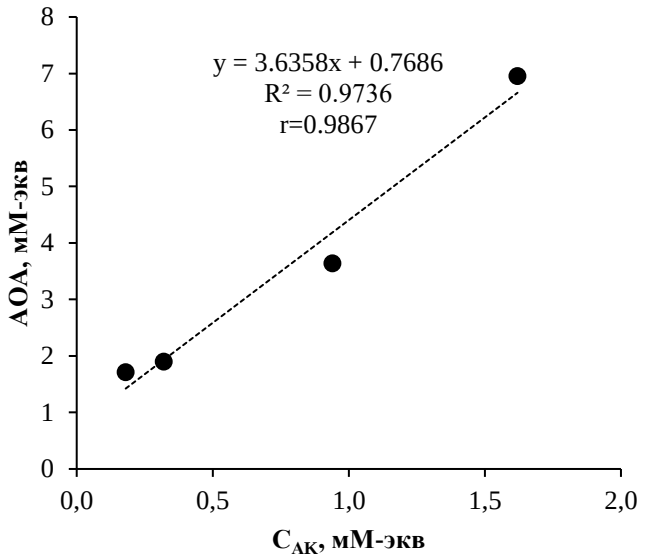


Рисунок 5.14 – Корреляция между содержанием АК и величиной АОА в напитках

Описанный сенсор на основе углеродной вуали, модифицированной наночастицами золота, полученными «зеленым» синтезом, обладает достаточно высокой проводимостью, большой активной поверхностью и характеризуется высокими аналитическим характеристиками: низким пределом обнаружения, широким линейным диапазоном и хорошей воспроизводимостью сигнала АК. Высокая селективность сенсора обеспечила его успешное применение при анализе фруктовых соков без дополнительной пробоподготовки, что является преимуществом описанного метода по сравнению с референтным методом

потенциометрического титрования, в котором требуется предварительное экстрагирование АК раствором соляной кислоты.

Правильность результатов анализа соков вольтамперометрическим методом с использованием разработанного сенсора подтверждается хорошим согласием с данными потенциометрического титрования. Высокая селективность сенсора обеспечила его успешное применение при анализе фруктовых соков без дополнительной пробоподготовки. Простота и меньшая трудоемкость определения АК вольтамперометрическим методом с использованием фито-Au/УВЭ являются существенными преимуществами по сравнению с методом потенциометрического титрования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Предложена математическая модель для теоретического описания особенностей процессов электроокисления вещества, диффундирующего из объема раствора к поверхности макро- и наноструктурированного электрода, основанная на термодинамическом подходе, предложенном Х. З. Брайниной. Адекватность предложенной модели и обоснованность ее использования в практике аналитической химии подтверждена хорошим соответствием между рассчитанными и экспериментальными данными.

2. В результате сопоставления рассчитанных в соответствии с предложенной моделью и экспериментальных вольтамперограмм установлено, что процесс электроокисления нитрит-ионов на макро- и наноструктурированной поверхности включает пассивацию электрода адсорбированным продуктом электроокисления, при этом химические стадии и наноэффекты не наблюдаются; окисление АК и МК протекает по чисто электрохимическому механизму, без каталитической стадии и с наноэффектами.

3. На основании теоретических и экспериментальных исследований установлено влияние размера наночастиц золота, иммобилизованных на индифферентной подложке, на процессы электроокисления АК и МК, которое нашло отражение в сдвиге потенциала максимума тока и полуволны окисления вещества в катодную область тем большем, чем меньше размер наночастиц. Наноэффекты наиболее выражены для АК по сравнению с МК (особенно при $r_{Au_{нч}} \leq 5$ нм).

4. Разработан бесферментный сенсор на основе наночастиц золота и нафиона для определения МК. Предел обнаружения составил 0.25 мкМ, диапазон линейности – 0.5–600 мкМ. Селективность сенсора достигнута с помощью модифицирования электрода наночастицами золота цит-Au и 2.5% раствором нафиона и использования фонового раствора с pH 5, при котором проницаемость пленки нафиона максимальна для МК и минимальна для АК. Разработана методика определения МК в сыворотке крови и молоке с использованием разработанного сенсора. Степень извлечения (R) в образцах сыворотки крови

находится в диапазоне 103–110 %, а в молоке 96.5–101.5 %. Корректность результатов определения МК в сыворотке крови с использованием бесферментного сенсора подтверждена соответствием с результатами спектрофотометрического метода. Величины *F* и *t*-критериев меньше критических значений, что подтверждает отсутствие систематических ошибок определения и равноточность обоих методов.

5. Предложен сенсор на основе перспективного углеволоконного материала и наночастиц золота, полученных методом «зеленого» синтеза для определения АК, работающий в двух диапазонах линейности 1–10, 10–5750 мкМ с пределами обнаружения 0.05 и 0.26 мкМ. Разработана методика определения АК в образцах фруктовых соков без их предварительной пробоподготовки. Валидация методики проведена путем сравнения полученных результатов с данными определения АК в образцах соков референтным методом потенциометрического титрования в соответствии с ГОСТ 24556-89 с использованием *F* и *t*-критериев. Найденные значения *F* и *t*-критериев не превышают критических, что говорит об отсутствии систематических ошибок и точности определения. Показана хорошая корреляция (r=0.9867) между содержанием АК в исследуемых образцах соков и их АОА.

Перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в использовании предложенной универсальной математической модели для установления особенностей электропревращения аналитов на наноструктурированной поверхности и прогнозирования сенсорных свойств модифицированных электродов, в создании нового поколения электрохимических сенсоров на основе перспективных углеволоконных материалов и «зеленых» технологий с улучшенными аналитическими и эксплуатационными характеристиками для in-situ и on site анализа широкого круга объектов.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АВ – анодная вольтамперометрия

АК – аскорбиновая кислота

Амп – амперометрия

АОА – антиоксидантная активность

АС – аналитический сигнал

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ДГАК – дегидроаскорбиновая кислота

ДИВ – дифференциально-импульсная вольтамперометрия

ДРС – метод динамического рассеяния света

ИП – индекс полидисперсности

КВВ – квадратно-волновая вольтамперометрия

ЛВА – линейная вольтамперометрия

ЛД – линейный диапазон

МК – мочевая кислота

н.в.э. – нормальный водородный электрод

ПИА – проточно-инжекционный анализ

ПКО – предел количественного определения

ПО – предел обнаружения

ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия

ППР – поверхностный плазмонный резонанс

СУЭ – стеклоуглеродный электрод

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

ТУЭ – толстопленочный углеродсодержащий электрод

УВ – углеродная вуаль

УФ – ультрафиолетовый

ФБР – фосфатный буферный раствор

фито-Au – наночастицы золота, полученные «зеленым» синтезом

ХрА – хроноамперометрия

ЦВ – циклическая вольтамперометрия

цит-Au – наночастицы золота, полученные цитратным методом Туркевича

Au-диск – золотой дисковый электрод

$Au_{нч}$ – наночастицы золота

Au-r – наночастицы золота с радиусом 5 нм

Au-v – наночастицы золота с радиусом 20 нм

pK_a – показатель кислотности

r – коэффициент корреляции

R – показатель правильности определения

R^2 – коэффициент аппроксимации

S_r – относительное стандартное отклонение

screen-printed – трафаретно-печатный

SERS – (Surface-enhanced Raman spectroscopy) поверхностно-усиленная рамановская спектроскопия

UT – электрод типа Ultra Trace

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Одинцов, А. А. Каталитические свойства наноструктурированных пленок золота в реакциях с участием водорода / А. А. Одинцов, М. С. Пахомова, К. Н. Жаворонкова, О. А. Боева // Успехи в химии и химической технологии. – 2015. – Т. XXIX. – № 6. – С. 33 – 35.

2. Одинцов, А. А. Размерный эффект в каталитических свойствах наночастиц золота / А. А. Одинцов, М. О. Сергеев, А. А. Ревина, О. А. Боева // Успехи в химии и химической технологии. – 2014. – Т. XXVIII. – № 6. – С. 118 – 121.

3. Correia, L. S. Catalytic oxidation kinetics of arabinose on supported gold nanoparticles / L. S. Correia, H. Grenman, J, Warna, T. Salmi, D. Y. Murzin // Chemical Engineering Journal. – 2019. – V. 370. – P. 952 – 961.

4. Курапов, П. Б. Наночастицы золота для диагностики и терапии онкологических заболеваний / П. Б. Курапов, Е. Ю. Бахтенко // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2018. – № 6. – С. 86 – 93.

5. Usman, A. I. Application of green synthesis of gold nanoparticles: A review / A. I. Usman, A. A. Aziz, O. A. Noqta // Jurnal Teknologi. – 2019. – V. 81. – № 1.–P. 171–182.

6. Zhang, Z. Noble metal nanoparticles: Synthesis, and biomedical implementations: Book chapter / Z. Zhang, P.-C. Lin. – USA: Elsevier Inc., 2018. – P. 177 – 233.

7. Markina, M. Nanoparticle-based paper sensor for thiols evaluation in human skin / M. Markina, N. Stozhko, V. Krylov, M. Vidrevich, K. Brainina // Talanta. – 2017. – V. 165. – P. 563 – 569.

8. Song, Y. Colorimetric detection of low dose gamma radiation based on the aggregation of gold nanoparticles and its application for the blood irradiation / Y. Song, D. Feng, S. Shao, J. Liang // Talanta. – 2018. – V. 187. – P. 308 – 313.

9. Jeyasekaran, E. Colorimetric detection of cysteine based on dispersion-aggregation mechanism of chitosan stabilized gold nanoparticles / E. Jeyasekaran, S. Venkatachalam // Canadian Journal of Chemistry. – 2019. – V. 97. – № 3. – P. 233 – 237.

10. Singh, K. Exceptionally stable green-sythesized gold nanoparticles for highly sensitive and selective colorimetric detection of trace metal ions and volatile aromatic compounds / K. Singh, D. Kukkar, R. Singh, P. Kukkar, K.-H. Kim // Journal of Industrial and Engineering Chemistry. – 2018. – V. 68. – P. 33 – 41.

11. Li, X. A simple colorimetric and fluorescent sensor to detect organophosphate pesticides based on adenosine triphosphate-modified gold nanoparticles / X. Li, H. Cui, Z. Zeng // Sensors. – 2018. – V. 18. – № 12. – 4302.

12. Liu, G. Application of gold-nanoparticle colorimetric sensing to rapid food safety screening / G. Liu, M. Lu, X. Huang, T. Li, D. Xu // Sensors. – 2018. – V. 18. – № 12. – 4166.

13. Alonso-Lomillo, M. A. Determination of ascorbic acid in serum samples by screen-printed carbon electrodes modified with gold nanoparticles / M. A. Alonso-Lomillo, O. Domínguez-Renedo, A. Saldaña-Botín, M. J. Arcos-Martínez // Talanta. – 2017. – V. 174. – P. 733–737.

14. Lee, C.-S. One-step electrochemical fabrication of reduced graphene oxide/gold nanoparticles nanocomposite-modified electrode for simultaneous detection of dopamine, ascorbic acid, and uric acid / C.-S. Lee, S. H. Yu, T. H. Kim // Nanomaterials. – 2018. – V. 8. – № 1. – 17.

15. Vinoth, V. Simultaneous detection of dopamine and ascorbic acid using silicate network interlinked gold nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes / V. Vinoth, J. J. Wu, A. M. Asiri, S. Anandan // Sens. Actuators, B. – 2015. – V. 210. – P. 731–741.

16. Salahandish, R. A novel graphene-grafted gold nanoparticles composite for highly sensitive electrochemical biosensing / R. Salahandish, A. Ghaffarinejad, S. M. Naghib, K. Majidzadeh-A, A. Sanati-Nezhad // IEEE Sens. J. – 2017. – V. 18. – № 6. – P. 2513 – 2519.

17. Liu, J. A nanocomposite consisting of carbon nanotubes and gold nanoparticles in an amphilic copolymer for voltammetric determination of dopamine, paracetamol and uric acid / J. Liu, Y. Xie, K. Wang, Q. Zeng, R. Liu, X. Liu // Microchimica Acta. – 2017. – V. 184. – № 6. – P. 1739 – 1745.

18. Yang, C. Y. Simultaneous electrochemical determination of dopamine, uric acid, tryptophan on electropolymerized aminothiazole and gold nanoparticles modified carbon nanotubes modified electrode / C. Y. Yang, S.-M. Chen, S. Palanisamy // Int. J. Electrochem. Sci. – 2016. – V. 11. – № 4. – P. 2638–2649.

19. Shah, M. Gold nanoparticles: Various methods of synthesis and antibacterial applications / M. Shah, V. Badwaik, Y. Kherde et al. // Frontiers in Bioscience – Landmark. – 2014. – V. 19. –№ 8. – P. 1320 – 1344.

20. Eustis, S. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes / S. Eustis, M. A. El-Sayed // Chemical Society Reviews. – 2006 – V. 35. – № 3. – P. 209 – 217.

21. Turkevich, J. A Study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold / J. Turkevich, P. C. Stevenson, J. Hillier // Discussions of the Faraday Society. – 1951. – V. 11. – P. 55 – 75.

22. Макаров, В. В. «Зеленые» нанотехнологии: синтез металлических наночастиц с использованием растений / В. В. Макаров, А. Лав, О. В. Синицына и др. // Acta Nature. – 2014. – Т. 6. – № 1. – С. 37 – 47.

23. Shah, M. Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities / M. Shah, D. Fawcett, S. Sharma, S. K. Tripathy, G. E. J. Poinern // Materials. – 2015. – V. 8. – № 11. – P. 7278 – 7308.

24. Nadeem, M. A review of the green syntheses and anti-microbal applications of gold nanoparticles / M. Nadeem, B. H. Abbasi, M. Younas, W. Ahmad, T. Khan // Green Chemistry letters and reviews. – 2017. – V. 10. – № 4. – P. 216 – 227.

25. Teimouri, M. Gold nanoparticles fabrication by plant extracts: synthesis, characterization, degradation of 4-nitrophenol from industrial wastewater, and insecticidal activity – A review / M. Teimouri, F. Khosravi-Nejad, F. Attar, A. A. Saboury, I. Kostova, G. Benelli, M. Falahati // Journal of Cleaner Production. – 2018. – V. 184. – P. 740 – 753.

26. Sdobnyakov, N. Y. Size dependence of the entropies of melting and crystallisation of metal nanoparticles / N. Y. Sdobnyakov, A. D. Veselov, P. M.

Ershove, D. N. Sokolov, V. M. Samsonov, S. A. Vasilyev, V. S. Myasnichenko. // Computational Materials Science. – 2018. – V. 153. – P. 153 – 158.

27. Bhatt, S. Effect of size and shape on melting and superheating of free standing and embedded nanoparticles / S. Bhatt, M. Kumar // Journal of Physics and Chemistry of Solids. – 2017. – V. 106. – P. 112 – 117.

28. Shafiqa, A. R. Nanoparticle Optical Properties: Size Dependence of a Single Gold Spherical Nanoparticle / A. R. Shafiqa, A. Abdul Aziz, B. Mehrdel // Journal of Physics: Conference Series. – 2018. – V. 1083. – № 1. – 012040.

29. Brainina Kh. Ch.6 Nanomaterials: Electrochemical Properties and Application in Sensors / Kh. Brainina, N. Stozhko, M. Bukharinova, E. Vikulova // Nanoanalytics. Nanoobjects and Nanotechnologies in Analytical Chemistry: Monograph./ De Gruyter; Shtykov, S. (Ed.). – Berlin, Boston, 2018. – P. 165–223.

30. Gomez Viloria, M. Orbital magnetism in ensembles of gold nanoparticles / M. Gomez Viloria, G. Weick, D. Weinmann, R. A. Jalabert // Physical Review B. – 2018. – V. 98. – № 19. – 195417.

31. Agrachev, M. Magnetic ordering in gold nanoclusters / M. Agrachev, S. Antonello, T. Dainese et al. // ACS Omega. – 2017. – V. 2. – № 6. – P. 2607 – 2617.

32. Font, F. Spherically symmetric nanoparticle melting with a variable phase change temperature / F. Font, T. G. Myers // Journal of Nanoparticle Research. – 2013. – V. 15. – № 12.

33. Font, F. A mathematical model for nanoparticle melting with density change / F. Font, T. G. Myers, S. L. Mitchell // Microfluidics and Nanofluidics. – 2014. – V. 18. – № 2. – P. 233–243.

34. Duan, H. Influence of particle size on electrochemical thermodynamics of Nano-Au electrodes: Mechanism, factors, range and degree / H. Duan, Z. Cui, Y. Xue, Q. Fu, X. Chen, R. Zhang // Electrochimica Acta. – 2018. – V. 281. – P. 292 – 298.

35. Проблемы аналитической химии. Т. 20: Нанообъекты и нанотехнологии в химическом анализе / под ред. С. Н. Штыкова. – М.: Наука, 2015. – 431 с.

36. Ковтун, Г. П. Наноматериалы: технологии и материаловедение: обзор / Г. П. Ковтун, А. А. Веревкин. – Харьков: ННЦ ХФТИ, 2010. – 73 с.

37. Belding, S. R. Nanoparticle-modified electrodes / S. R. Belding, F. W. Campbell, E. J. F. Dicksons, R. G. Compton // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2010. – V. 12. - № 37. – 11208.

38. Ward Jones, S. E. Particle size and surface coverage effects in the stripping voltammetry of silver nanoparticles: theory and experiment / S. E. Ward Jones, F. W. Campbell, R. Baron, L. Xiao, R. G. Compton // The Journal of Physical Chemistry C. – 2008. – V. 112. – № 46. – P. 17820–17827.

39. Plieth, W. J. Electrochemical properties of small clusters of metal atoms and their role in the surface enhanced Raman scattering / W. J. Plieth // Journal of Physical Chemistry. – 1982. – V. 86. – № 16. – P. 3166 – 3170.

40. Plieth, W. J. The work function of small metal particles and its relation to electrochemical properties / W. J. Plieth // Surface Science. – 1985. – V. 156. – № Part 1. – P. 530 – 535.

41. Ng, K. H. Subnanometer silver clusters exhibiting unexpected electrochemical metastability on graphite / K. H. Ng, H. Liu, R. M. Penner // Langmuir. – 2000. – V. 16. – № 8. – P. 4016 – 4023.

42. Ivanova, O. S. Size-dependent electrochemical oxidation of silver nanoparticles / O. S. Ivanova, F. P. Zamborini // Journal of the American Chemical Society. – 2010. – V. 132. –№ 1. – P. 70 – 72.

43. Redmond, P. L. Electrochemical Ostwald ripening of colloidal Ag particles on conductive substrates / P. L. Redmond, A. J. Hallock, L. E. Brus // Nano Letters. – 2005. – V. 5. – № 1. – P. 131–135.

44. Henglein, A. Chemistry of Agn aggregates in aqueous solution: Non-metallic oligomeric clusters and metallic particles / A. Henglein, P. Mulvaney, T. Linnert // Faraday Discussions. – 1991. – V. 92. – P. 31 – 44.

45. Brainina, Kh. Z. Mathematical modeling and numerical simulation of metal nanoparticles electrooxidation / Kh. Z. Brainina, L. G. Galperin, A. L. Galperin // Journal of Solid State Electrochemistry. – 2010. – V. 14. – № 6. – P. 981–988.

46. Brainina, Kh. Z. Gold nanoparticles electrooxidation: comparison of theory and experiment / Kh. Z. Brainina, L. G. Galperin, E. V. Vikulova, N. Yu. Stozhko, A. M.

Murzakaev, O. R. Timoshenkova, Y. A. Kotov // Journal of Solid State Electrochemistry. – 2011. – V. 15. – № 5. – P. 1049–1056.

47. Brainina, Kh. Z. Bismuth nanoparticles electrooxidation: theory and experiment / Kh. Z. Brainina, L. G. Galperin, L. A. Piankova, N. Yu. Stozhko, A. M. Murzakaev, O. R. Timoshenkova // Journal of Solid State Electrochemistry. – 2011. – V. 15. – № 11-12. – P. 2469–2475.

48. Brainina, Kh. Z. Silver nanoparticles electrooxidation: theory and experiment / Kh. Z. Brainina, L. G.Galperin, T. Y.Kiryuhina, A. L.Galperin, N. Yu.Stozhko, A. M.Murzakaev, O. R.Timoshenkova // Journal of Solid State Electrochemistry. – 2012. – V. 16. – № 7. – P. 2365–2372.

49. Brainina, Kh. Z. The effect of the system polydispersity on voltammograms of nanoparticles electrooxidation / Kh. Z. Brainina, L. G. Galperin, E. V. Vikulova, A. L. Galperin // Journal of Solid State Electrochemistry. – 2013. – V. 17. – № 1. – P. 43–53.

50. Pisoschi, A. M. Electrochemical methods for ascorbic acid determination / Pisoschi A. M., Serban A. I., Fafaneata C. // Electrochim. Acta. – 2014. – V. 121. – P. 443–460.

51. Brainina, K. Contact hybrid potentiometric method for on-site and in situ estimation of the antioxidant activity of fruits and vegetables / K. Brainina, A. Tarasov, E. Khamzina, N. Stozhko, M. Vidrevich // Food Chemistry. – 2020. – V. 309. – 125703.

52. Majidi, M. I. H. A. L. Determination of vitamin C (ascorbic acid) contents in various fruit and vegetable by UV-spectrophotometry and titration methods / M. I. H. A. L. Majidi, H. Y. Al-Guburny // J. Chem. Pharm. Sci. – 2016. – V. 9. – № 4. – P. 2972 – 2974.

53. da Silva, T. L. Comparison between titrimetric and spectrophotometric methods for quantification of vitamin C / T. L. da Silva,E.Aguiar-Oliveira, M. R. Mazalli, E. S. Kamimura, R. R. Maldonado // Food Chem. – 2017. – V. 224. – P. 92 – 96.

54. Fatin Najwa, R. Comparison of vitamin C content in citrus fruits by titration and high performance liquid chromatography (HPLC) methods / R. Fatin Najwa, A. Azrina // Int. Food Res. J. – 2017. – V. 24. – № 2. – P. 726 – 733.

55. Cunha-Santos, E. C. E. Vitamin C in camu-camu [Myrciaria dubia (H. B. K.) McVaugh]: evaluation of extraction and analytical methods / E. C. E. Cunha-Santos, J. Viganó, D. A. Neves, J. Martinez, H. T. Godoy // Food Res. Int. – 2019. – V. 115. – P. 160 – 166.

56. Liu, Z. Determination of vitamine C in fruits and vegetables by ultra performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry. / Z. Liu, P. Qi, X. Wang, W. Chen, L. Wu, Q. Wang // Chin. J. Chromatogr. (SePu). – 2016. – V. 34. – № 11. – P. 1048 – 1054.

57. Skrovankova, S. Determination of ascorbic acid by electrochemical techniques and other methods / S. Skrovankova, J. Mlcek, J. Sochor, M. Baron, J. Kynicky, T. Jurikova // Int. J. Electrochem. Sci. – 2015. – V. 10. – P. 2421 – 2431.

58. Chang S. K. Ascorbic acid: properties, determination and uses / S. K. Chang, A. Ismail, Z. A. M. Daud // (book Chapter) 2016, Encyclopedia of food and health. P. 275 – 284.

59. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 240 с. 59

60. ГОСТ 30627.2-98 Продукты молочные для детского питания. Методы измерений массовой доли витамина С (аскорбиновой кислоты). – М. Стандартинформ, 2009. – 8 с.

61. Salkic, M. Spectrophotometric determination of L-ascorbic acid in pharmaceuticals based on its oxidation by potassium peroxymonosulfate and hydrogen peroxide / M. Salkic, A. Selimovic // Croatia Chemica Acta. – 2015. – V. 88. – № 1. – P. 73 – 79.

62. ГОСТ 31717-2012 Соки и соковая продукция. Идентификация. Определение аскорбиновой кислоты ферментативным методом. – М.: Стандартинформ, 2013. – 12 с.

63. Таубэ, А. А. Разработка флуориметрической методики количественного определения кислоты аскорбиновой в растительном сырье / А. А. Таубэ, Е.

И.Саканян // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – № 2. – С. 20 – 22.

64. Kong, W. A facile carbon dots based fluorescent probe for ultrasensitive detection of ascorbic acid in biological fluids via non-oxidation reduction strategy / W. Kong, D. Wu, G. Li, X. Chen, P. Gong, Z. Sun, G. Chen, L. Xia, J. You, Y. Wu // Talanta. – 2017. – V. 165. – P. 677 – 684.

65. Koshiishi, I. Measurement of ascorbate and dehydroascorbate contents in biological fluids / Koshiishi I., Toshio I. // Anal. Chem. – 1997. – V. 69. – P. 216–220.

66. Хасанов В. В. Определение аскорбиновой кислоты в крови методом ВЭЖХ / В. В. Хасанов, К. А. Дычко, Т. Т. Куряева, Е. В. Нестерова // Аналитика и контроль. – 2013. – Т. 13. –№ 3. – С. 322 – 325.

67. Kim, Y. HPLC-UV method for the simultaneous determinations of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in human plasma / Y. Kim, M.-G. Kim // Translat. Clin.Pharmacol. – 2016. – V. 24. – № 1. – P. 37 – 42.

68. Zuo, R. Determination of creatinine, uric and ascorbic acid in bovine milk and orange juice by hydrophilic interaction HPLC. / R. Zuo, S. Zhou, Y. Zuo, Y. Deng // Food Chem. – 2015. – V. 182. – P. 242 – 245.

69. ГОСТ 31643-2012. Продукция соковая. Определение аскорбиновой кислоты методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. – М.: Стандартинформ, 2013. – 14 с.

70. Тринеева, О. В. Разработка методики количественного определения аскорбиновой кислоты методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии / О. В. Тринеева, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин // Химико-фармацевтический журнал. – 2017. – Т. 51. – № 10. – С. 58–64.

71. ГОСТ 34133-2017. Мясо и мясные продукты. Метод определения аскорбиновой кислоты и аскорбатов высокоэффективной жидкостной хроматографией. – М.: Стандартинформ, 2017. – 10 с.

72. Tadesse, T. A comparative study on electrochemical determination of vitamin C in liver and tomato using platinum and glassy carbon electrodes (original article) / T. Tadesse, A. Sirgawie // Biochem. Mol. Biol. – 2017. – V. 2. – № 3. – P. 25–36.

73. Song, J. Synthesis of Au/Graphene Oxide Composites for Selective and Sensitive Electrochemical Detection of Ascorbic Acid / J. Song, L. Xu, R. Xing, Q. Li, C. Zhou, D. Liu, H. Song // Sci. Rep. – 2014. – V. 4. – P. 1–7.

74. Madrakian, T. Simultaneous determination of tyrosine, acetaminophen and ascorbic acid using gold nanoparticles/multiwalled carbon nanotube/glassy carbon electrode by differential pulse voltammetric method / T. Madrakian, E. Haghshenas, A. Afkhami // Sens. Actuators, B. – 2014. – V. 193. – P. 451–460.

75. Wang, C. A facile electrochemical sensor based on reduced graphene oxide and Au nanoplates modified glassy carbon electrode for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid / C. Wang, J. Du, H. Wang, C. Zou, F. Jiang, P. Yang, Y. Du // Sens. Actuators, B. – 2014. – V. 204. – P. 302–309.

76. Li, H. Electrochemical application of titanium dioxide nanoparticle/gold nanoparticle/multiwalled carbon nanotube nanocomposites for nonenzymatic detection of ascorbic acid / H. Li, M. Li, W. Guo, H..Di, C. Fang, B. Yang // J. Solid State Electrochem. – 2014. – V. 18. – P. 477–485.

77. Zhang, H. Fabrication of nanoflower-like dendritic Au and polyaniline composite nanosheets at gas/liquid interface for electrocatalytic oxidation and sensing of ascorbic acid / H. Zhang, F. Huang, S. Xu., Y. Xia, W. Huang, Z. Li // Electrochem. Commun. – 2013. – V. 30. – P. 46–50.

78. Zhang, H. Fabrication of nanoflower-like dendritic Au and polyaniline composite nanosheets at gas/liquid interface for electrocatalytic oxidation and sensing of ascorbic acid / H. Zhang, F. Huang, S. Xu, Y. Xia, W. Huang, Z. Li // Electrochem. Commun. – 2013. – V. 30. – P. 46–50.

79. Ghanbari, K. Electrochemical characterization of Au/ZnO/PPy/RGO nanocomposite and its application for simultaneous determination of ascorbic acid, epinephrine, and uric acid / K. Ghanbari, A. Hajian // J. Electroanal. Chem. – 2017. – V. 801. – P. 466–479.

80. Tıg, G. A. A selective sensor based on Au nanoparticles-graphene oxide poly(2,6-pyridinedicarboxylic acid) composite for simultaneous electrochemical determination of

ascorbic acid, dopamine, and uric acid / G. A. Tıg, G. Gunendi, Ş. Pekyardımcı // J. Appl. Electrochem. – 2017. – V. 47. – № 5. – P. 607–618.

81. Hsu, S.-C. Electrochemical sensor constructed using a carbon paste electrode modified with mesoporous silica encapsulating PANI chains decorated with GNPs for detection of ascorbic acid / S.-C. Hsu, H.-T. Cheng, P.-X. Wu, C.-J. Weng, K. S. Santiago, J.-M. Yeh // Electrochim. Acta – 2017. – V. 238. – P. 246–256.

82. Wang, H. Rational design of gold nanoparticle/graphene hybrids for simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid / H. Wang, L.-G. Xiao, X.-F. Chu, Y.-D. Chi, X.-T. Yang // Chin. J. Anal. Chem. – 2016. – V. 44. – №12. – P. e1617–e1625.

83. Scremin, J. Amperometric determination of ascorbic acid with a glassy carbon electrode modified with TiO_2-gold nanoparticles integrated into carbon nanotubes / J. Scremin, E. C. M. Barbosa, C. A. R. Salamanca-Neto, P. H. C. Camargo, E. R. Sartori // Microchim. Acta. – 2018. – V. 185. – № 5. – 251.

84. Yadav, D. K. Individual and simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, uric acid and folic acid by using a glassy carbon electrode modified with gold nanoparticles linked to bentonite via cysteine groups / D. K. Yadav, R. Gupta, V. Ganesan, P. K. Sonkar // MicrochimActa. – 2017. – V. 184. – №7. – P. 1951–1957.

85. Chang, Z., Simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid using β-cyclodextrin/Au nanoparticles/graphene-modified electrodes / Z. Chang, Y. L. Zhou, L. J. Hao, Y. Q. Hao, X. Zhu, M. T. Xu // Anal. Methods. – 2017. – V. 9. – № 4. – P. 664–671.

86. Edris, N. M. M. A. Electrochemical reduced graphene oxide-poly (eriochrome black T)/gold nanoparticles modified glassy carbon electrode for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid / N. M. M. A. Edris, J. Abdullah, S. Kamaruzaman, M. I. Saiman, Y. Sulaiman // Arabian J. Chem. – 2018. – V. 11. – № 8. – P. 1301–1312.

87. Zhao, Y. A. In-situ growth of gold nanoparticles on a 3D-network consisting of a MoS_2/rGO nanocomposite for simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid / Y. A. Zhao, J. Zhou, Z. M. Jia, D. Q. Huo, Q. Y. Liu, D.

Q. Zhong, Y.Hu, M. Yang, M. H. Bian, C. J. Hou // Microchimica Acta. – 2019. – V. 186. – № 2. – 92.

88. Ji, D. Z. Smartphone-based integrated voltammetry system for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine, and uric acid with graphene and gold nanoparticles modified screen-printed electrodes / D. Z. Ji, Z. X. Liu, L. Liu, S. S. Low, Y. L. Lu, X. J. Yu, L. Zhu, C. D. Li, Q. J. Liu // Biosensors and Bioelectronics. – 2018. – V. 119. – P. 55–62.

89. Sadanandhan, N. K. Gold nanoparticle patterned on PANI nanowire modified transducer for simultaneous determination of neurotransmitters in presence of ascorbic acid and uric acid / N. K.Sadanandhan, S. J. Devaki // Journal of Applied Polymer Science. – 2017. – V. 134. – № 1. – 44351.

90. Zhu, Q. 3D Graphene hydrogel-gold nanoparticles nanocomposite modified glassy carbon electrode for the simultaneous determination of ascorbic, dopamine and uric acid / Q. Zhu, J. Bao, D. Q. Huo, M. Yang, C. J. Hou, J. F. Guo, M. Chen, H. B. Fa, X. G. Luo, Y. Ma // Sensors and Actuators, B: Chemical. – 2017. – V. 238. – P. 1316–1323.

91. Khajehsharifi, H. The comparison of partial least squares and principal component regression in simultaneous spectrophotometric determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid in real samples / H. Khajehsharifi, E. Pourbasheer, H. Tavallali, S. Sarvi, M. Sadeghi // Arabian Journal of Chemistry. – 2017. – V.10. – P. S3451–S3458.

92. Dong, X. Study on detection methods for uric acid in biological samples / X. Dong // International Journal of Pharmaceutical Science and Research. – 2017. – V. 8. – № 2. – P. 925 – 929.

93. Кудаева, И. В. Методы оценки оксидативного статуса в лабораторной практике / И. В. Кудаева, Л. Б. Маснавиева // Медицинский алфавит. – 2015. – Т. 1. – № 2. – С. 14 – 18.

94. Бузановский, В. А. Определение мочевой кислоты в крови / В. А. Бузановский // Обзорный журнал по химии. – 2015. – Т. 5. – № 4. – С. 317–359.

95. Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике в 2 т. / В. В. Алексеев и др.; Под ред. А. И. Карпищенко – 3-е изд., перераб. и доп. – Т. 2. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 792 с.

96. Zhao, Y. Uricase based methods for determination of uric acid in serum / Y. Zhao, X. Yang, W. Lu, H. Liao, F. Liao // Microchimica Acta. – 2008. – V. 164. – P. 1-6.

97. «Spinreact» Испания Биохимические реактивы. Инструкция по применению SPINREACT, S.A. Ctra. Santa Coloma, 7 E-17176 SantEsteve De Bas (Gi) Spain www: spinreact.ru

98. Pleskacova, A. Simultaneous determination of uric acid, xanthine and hypoxanthine in human plasma and serum by HPLC-UV: uric acid metabolism tracking / A. Pleskacova, S. Brejcha, L. Pacal, K. Kankova, J. Tomandl // Chromatographia. – 2017. – V. 80. – № 4. – P. 529–536.

99. Wen, S. An improved UPLC method for determining uric acid in rat serum and comparison study with commercial colorimetric kits / S. Wen, Z. Zhang, X. Chen, J. Liu, H. Yu, L. Han, L. Jin, Y. Zhang, T. Wang // Acta Chromatographica. – 2018. – P. 1 – 5.

100. Li, X.-L. Uric acid quantification in fingernail of gout patients and healthy volunteers using HPLC-UV / X.-L. Li, Q. Shi, W. Jin, G. Li, K. Todoroki, H. Mizuno, T. Toyo’oka, J. Z. Min // Biomedical Chromatogrphy. – 2016. – V. 30. – № 8. – P. 1338 – 1342.

101. Westley, C. Absolute quantification of uric acid in human urine using surface enhanced Raman scattering with the standard addition method / C. Westley, Y. Xu, B. Thilaganathan, A. J. Carnell, N. J. Turner, R. Goodacre // Analytical Chemistry. – 2017. – V. 89. – № 4. – P. 2472 – 2477.

102. Pucetaite, M. Uric acid detection by means of SERS spectroscopy on dried Ag colloidal drops / M. Pucetaite, M. Velicka, J. Pilipavicius, A. Beganskiene, J. Ceponkus, V. Sablinskas // Journal of Raman spectroscopy. – 2016. – V. 47. – № 6. – P. 681 – 686.

103. Villa, J. E. L. A portable SERS method for the determination of uric acid using a paper-based substrate and multivariate curve resolution / J. E. L. Villa, R. J. Poppi // Analyst. – 2016. – V. 141. – № 6. – P. 1966 – 1972.

104. Huang, B. A free-standing electrochemical sensor based on graphene foam-carbon nanotube composite coupled with gold nanoparticles and its sensing application for electrochemical determination of dopamine and uric acid / B. Huang, J. Liu, L. Lai, F. Yu, X. Ying, B.-C. Ye, Y. Li // Journal of Electroanalytical Chemistry. – 2017. – V. 801. – P. 129 – 134.

105. Shahamirifard, S. A. A simple ultrasensitive electrochemical sensor for simultaneous determination of gallic acid and uric acid in human urine and fruit juices based on zirconia-choline chloride-gold nanoparticles- modified carbon paste electrode / S. A. Shahamirifard, M. Ghaedi, Z. Razmi, S. Hajati // Biosensors and Bioelectronics. – 2018. – V. 114. – P. 30 – 36.

106. Wang, Z. Simultaneous and selective measurement of dopamine and uric acid using glassy carbon electrodes modified with a complex of gold nanoparticles and multiwall carbon nanotubes / Z. Wang, H. Guo, R. Gui, H. Jin, J. Xia, F. Zhang // Sensors and Actuators, B: Chemical. – 2018. – V. 255. – P. 2069–2077.

107. Taei, M. Simultaneous electrochemical sensing of cysteine, uric acid and tyrosine using a novel Au-nanoparticles/poly-Trypan Blue modified glassy carbon electrode / M. Taei, F. Hasanpour, S. Habibollahi, L. Shahidi // Journal of Electroanalytical Chemistry. – 2017. – V. 789. – P. 140 – 147.

108. Shi, Y. The enhanced photo-electrochemical detection of uric acid on Au nanoparticles modified glassy carbon electrode / Y. Shi, J. Wang, S. Li, B. Yan, H. Xu, K. Zhang, Y. Du // Nanoscale Research Letters. – 2017. – V. 12. – 455.

109. Wang, C. A facile electrochemical sensor based on reduced graphene oxide and Au nanoplates modified glassy carbon electrode for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid / C. Wang, J. Du, H. Wang, C. Zou, F. Jiang, P. Yang, Y. Du // Sensors and Actuators, B: Chemical. – 2014. –V. – 204. – P. 302–309.

110. Filik, H. Simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine, uric acid and tryptophan with Azure A-interlinked multi-walled carbon nanotube/gold nanoparticles

composite modified electrode / H. Filik, A. A. Avan, S. Aydar // Arabian Journal of Chemistry. –2016. – V. 9. – № 3. – P. 471–480.

111. Dorraji, P. S. Novel sensitive electrochemical sensor for simultaneous determination of epinephrine and uric acid by using a nanocomposite of MWCNTs–chitosan and gold nanoparticles attached to thioglycolic acid / P. S. Dorraji, F. Jalali // Sensors and Actuators, B: Chemical. – V. 200. – P. 251–258.

112. Liu, X. Electrochemical biosensor based on reduced graphene oxide and Au nanoparticles entrapped in chitosan/silica sol–gel hybrid membranes for determination of dopamine and uric acid / X. Liu, L. Xie L, H. Li // Journal of Electroanalytical Chemistry. – 2012. – V. 682. P. 158–163.

113. Tian, X. Simultaneous determination of L-ascorbic acid, dopamine and uric acid with gold nanoparticles–β-cyclodextrin–graphene-modified electrode by square wave voltammetry / X. Tian, C. Cheng, H. Yuan, J. Du, D. Xiao, S. Xie, M. M. F. Choi // Talanta. – 2012. – V. 93. – P. 79–85.

114. Li, F. Simultaneous Determination of Ascorbic Acid, Dopamine and Uric Acid Based on Gold Nanoparticles-PTCA-Cys Composites Modified Electrodes / F. Li,Y. Chai, R. Yuan, X. Li, Y. Yang // Journal of the Chinese Chemical Society. –2015. – V. 62. – № 8. – P. 739–746.

115. Ghoreishi, S. M. Electrochemical determination of tryptophan, uric acid and ascorbic acid at a gold nanoparticles modified carbon paste electrode / S. M. Ghoreishi, M. Behpour, F. Saeidinejad // Analytical Methods. – 2012. – V. 4. – № 8. – P. 2447–2453.

116. Hou, C. Synthesis of ZnO nanorods-Au nanoparticles hybrids via in-situ plasma sputtering-assisted method for simultaneous electrochemical sensing of ascorbic acid and uric acid / C. Hou, H. Liu, D. Zhang, C. Yang, M. Zhang // Journal of Alloys and Compounds. – 2016. – V. 666. – P. 178–184.

117. Stozhko, N. Yu. The effect of the antioxidant activity of plant extracts on the properties of gold nanoparticles / N. Yu. Stozhko, M. A. Bukharinova, E. I. Khamzina, A. V. Tarasov, M. B. Vidrevich, Kh. Z. Brainina // Nanomaterials. – 2019. – V. 9. – № 12. – P. 1655–1671.

118. Brainina, K. Potentiometric method of plant microsuspensions antioxidant activity determination / K. Brainina, N. Stozhko, M. Bukharinova, E. Khamzina, M. Vidrevich // Food Chemistry. – 2019. – V. 278. – P. 653-658.

119. Burns, D.T. Use of the terms “recovery” and “apparent recovery” in analytical procedures (IUPAC Recommendations 2002) / D. T. Burns, K. Danzer, A. Townshend // Pure Applied Chemistry. – 2003. – V. 74. – P. 2201–2205.

120. Основы аналитической химии. В 2 т.Т. 1 : учебн. для студ. Учреждений высш. проф. Образования / Т. А. Большова и др.; под ред. Ю. А. Золотова. – 5-е изд., стер. – М. : Издательский центр «Академия», 2012. – 384 с.

121. Martínez, J. C. Alternative Metodology for Gold Nanoparticles Diameter Characterization Using PCA Technique and UV-VIS Spectrophotometry / J. C. Martínez, N. A. Chequer, J. L. González, T. Cordova // Nanoscience and Nanotechnology. – 2012. – V. 2. – № 6. –P. 184–189.

122. Kaszuba, M. Measuring sub nanometer sizes using dynamic light scattering / M. Kaszuba, D. McKnight, M. T. Connah, F. K. McNeil-Watson, U. Nobbmann // Journal of Nanoparticle Research. – 2008. – V. 10. – № 5. – P. 823–829.

123. Zabetakis, K. Effect of high gold salt concentrations on the size and polydispersity of gold nanoparticles prepared by an extended Turkevich-Frens method / K. Zabetakis, W. E. Ghann, S. Kumar, M.-C. Daniel // Gold Bulletin. – 2012. – V. 45. – № 4. – P. 203–211.

124. Brainina, K. Z. Mathematical modeling and experimental study of electrode processes / K. Z. Brainina, L. G. Galperin, M. A. Bukharinova, N. Y. Stozhko // Journal of Solid State Electrochemistry. – 2015. – V. 19. – № 2. – P. 599 – 606.

125. Брайнина, Х. З. Инверсионные электроаналитические методы / Х. З. Брайнина, Е. Я. Нейман, В. В. Слепушкин. – Москва : Химия, 1988. – 240 с.

126. Carslow H. S. Conduction of heat in solids / H. S. Carslow, J. C. Jaeger. – 2nd ed. – Oxford University Press, 1959. – p. 510.

127. Бабенко Ю.И., Метод дробного дифференцирования в прикладных задачах теории тепломассообмена СПб.: НПО «Профессионал», 2009. — 584 с.

128. Spataru, N. Determination of nitrite and nitrogen oxides by anodic voltammetry at conductive diamond electrodes / N. Spataru, T. N. Rao, D. A. Tryk, A. J. Fujishima // Journal of the Electrochemical Society. – 2001. – V. 148. – № 3.P. E112–E117.

129. Kalimuthu, P. Highly sensitive and selective amperometric determination of nitrite using electropolymerized film of functionalized thiadiazole modified glassy carbon electrode / P. Kalimuthi, S. Abraham John // Electrochemistry Communications. – 2009. – V. 11. – № 5. – P. 1065–1068.

130. Wu, Z. F. Adsorption and surface reaction of NO_2 on a stepped Au (997): surface Enhanced reactivity of low-coordinated Au atoms / Z. F. Wu, Y. S. Ma, Y. L. Zhang, L. S. Xu, B. H. Chen, Q. Yuan, W. X. Huang // Journal of Physical Chemistry C. – 2012. – V. 116. – № 5.P. – 3608–3617.

131. Wickham, D. T. Adsorption of nitrogen dioxide on polycrystalline gold / D. T. Wickham, B. A. Banse, B. E .Koel. // Cataysis Letters. – 1990. – V. 6. – № 2. – P. 163–172.

132. Wang, Y. A join experimental and computational search for authentic nano-electrocatalytic effects: electrooxidation of nitrite and L-ascorbate on gold nanoparticle-modified glassy carbon electrodes / Y. Wang, K. R. Ward, E. Laborda, C. Salter, A. Crossley, R. M. J. Jacobs, R. G. Compton // Small. – 2013. V. 9. – № 3. – P. 478–486.

133. Wang, Y. Electrochemical oxidation of nitrite: Kinetic, mechanistic and analytical study by square wave voltammetry / Y. Wang, E. Laborda, R. G. Compton // Journal of Electroanalytical Chemistry. – 2012. – V. 670. – P. 56–61.

134. Li, J. Electrocatalytic Oxidation of nitrite at gold nanoparticle-polypyrrole nanowire modified glassy carbon electrode / J. Li // Chinese Journal of Chemistry. – 2009. –V. 27. – №12. – P. 2373–2378.

135. Huang, X. Electrochemical determination of nitrite and iodate by use of gold nanoparticles/poly(3-methylthiophene) composites coated glassy carbon electrode / X. Huang, Y. Li, Y. Chen, L. Wang // Sensors and Actuators, B: Chemical. – 2008. – V. 134. – № 2. – P. 780–786.

136. Wang, X. Simultaneous electrochemical determination of sulphite and nitrite by a gold nanoparticle/graphene-chitosan modified electrode /X. Wang, H. Li, M. Wu, S.-L.

Ge, Y. Zhu, Q.-J. Wang, P.-G. He, Y.-Z. Fang // Chinese Journal of Analytical Chemistry. – 2013. – V. 41. – № 8. – P. 1232–1237.

137. Cui, Y. Electrochemical determination of nitrite using a gold nanoparticles-modified glassy carbon electrode prepared by the seed-mediated growth technique / Y. Cui, C. Yang, W. Zeng, M. Oyama, W. Pu, J. Zhang // Analytical Sciences. – 2007. – V. 23. – №12. – P. 1421–1425.

138. Oyama, M. Gold nanoparticle arrays directly grown on nanostructured indium tin oxide electrodes: characterization and electroanalytical application / J. Zhang, M. Oyama // Analytica Chimica Acta. – 2005. – V. 540. – № 2. – P. 299–306.

139. Karimi, M. A. Determination of iron(III) in N-methyldiethanol amine media utilized in sweetening plant of gas treating industry by using self-assembled monolayer on gold electrode / M. A. Karimi, M. Hasheminasab // International Journal of Electrochemical Science. – 2013. – V. 8. – №4. – P. 4560–4570.

140. Справочник химика. Том 1. Общие сведения, строение вещества, свойства важнейших веществ, лабораторная техника. / Под ред. Б.П. Никольского — М.-Л.: Химия, 1966 – 1071 с (стр. 383)

141. Jiang, Y. N. Determination of nitrite with a nano-gold modified glassy carbon electrode by cyclic voltammetry / Y. N. Jiang, H. Q. Luo, N. B. Li // International Journal of Environmental Analytical Chemistry. – 2007. – V. 87. – № 4. – P. 295–306.

142. Piela, B. Oxidation of nitrites on solid electrodes-I. Determination of the reaction mechanism on the pure electrode surface / B. Piela, P. K. Wrona // Journal of the Electrochemical Society. – 2002. – V. 149. – № 2. – P. E55–E63.

143. Prieto, F. Mechanistic determination using arrays of variable-sized channel microband electrodes: the oxidation of ascorbic acid in aqueous solution / F. Prieto, B. A. Coles, R. G. Compton // Journal of Physical Chemistry B. – 1998. – V. 102. – № 38. – P. 7442–7447.

144. Compton, R. G. Sonovoltammetric behavior of ascorbic acid and dehydroascorbic acid at glassy carbon electrodes: analysis using pulsed sonovoltammetry / R. G. Compton, F.-M. Matysi // Electroanalysis. – 1996. – V. 8. – № 3. – P. 218–222.

145. Ferreira, V. C. Progress in the understanding of surface structure and surfactant influence on the electrocatalytic activity of gold nanoparticles / V. C. Ferreira, J. Solla-Gullón, A. Aldaz, F. Silva, L. M. Abrantes // Electrochimica Acta. – 2011. – V. 56. – № 26. – P. 9568–9574.

146. Kannan, P. Direct growth of gold nanorods on gold and indium tin oxide surfaces: spectral, electrochemical, and electrocatalytic studies / P. Kannan, S. Sampath, S. A. John // Journal of Physical Chemistry C. – 2010. – V. 114. – № 49. – P. 21114–21122.

147. Sivanesan, A. Electrocatalytic oxidation of ascorbic acid using a single layer of gold nanoparticles immobilized on 1,6-hexanedithiol modified gold electrode / A. Sivanesan, P. Kannan, S. A. John // Electrochimica Acta. –2007. – V. 52. – №28. – P. 8118–8124.

148. Крешков, А. П. Основы аналитической химии. Теоретические основы. Химический анализ / А. П. Крешков. – М: Химия, 1971 – 2 т.

149. Filik, H. Simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine, uric acid and tryptophan with Azure A-interlinked multi-walled carbon nanotube/gold nanoparticles composite modified electrode / H. Filik, A. A. Avan, S. Aydar// Arabian Journal of Chemistry. –2016. – V. 9. – № 3. – P. 471–480.

150. Kanyong, P. A voltammetric sensor based on chemically reduced graphene oxide-modified screen-printed carbon electrode for the simultaneous analysis of uric acid, ascorbic acid and dopamine / P. Kanyong, S. Rawlinson, J. Davis // Chemosensors. – 2016. – V. 4. – № 4. – 25.

151. Qin, Q. Electropolymerization of a conductive beta-cyclodextrin polymer on reduced graphene oxide modified screen-printed electrode for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid / Q. Qin, X. Bai, Z. L. Hua // Journal of Electroanalytical Chemistry. –2016. – V. 782. – P. 50–58.

152. Liu, X. Electrochemical biosensor based on reduced graphene oxide and Au nanoparticles entrapped in chitosan/silica sol–gel hybrid membranes for determination of dopamine and uric acid / X. Liu, L. Xie, H. Li // Journal of Electroanalytical Chemistry. –2012. – V. 682. –P. 158–163.

153. Shaidarova, L. G. Amperometric detection of creatinine and uric acid at the screen-printed electrode modified by gold nanoparticles in flow-injection analysis / L. G. Shaidarova, I. A. Chelnokova, M. A. Ilina, Y. A. Leksina, A. V. Gedmina, H. K. Budnikov // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2015. – V. 6. – № 5. – P. 1629–1635.

154. Brainina, K. Z. Mathematical modeling and experimental data of the oxidation of ascorbic acid on electrodes modified by nanoparticles / K. Z. Brainina, N. Y. Stozhko, M. A. Bukharinova, L. G. Galperin, M. B. Vidrevich, A. M. Murzakaev // Journal of Solid State Electrochemistry. – 2016. – V. 20. – № 8. – P. 2323–2330.

155. Hudari, F. F. Voltammetric method optimized by multi-response assays for the simultaneous measurements of uric acid and acetaminophen in urine in the presence of surfactant using MWCNT paste electrode / F. F. Hudari, E. H. Duarte, A. C. Pereira, L. H. Dall'Antonia, L. T. Kubota, C. R. T. Tarley // Journal of Electroanalytical Chemistry. – 2013. – V. 696. P. 52–58.

156. Ardakani, M. M. Electrocatalytic characteristics of uric acid oxidation at graphite–zeolite-modified electrode doped with iron (III) / M. M. Ardakani, Z. Akrami, H. Kazemian, H. R. Zare // Journal of Electroanalytical Chemistry. – 2006. – V. 586. – № 1. – P. 31–38.

157. Simic, M. G. Antioxidant Mechanisms of Uric Acid / M. G. Simic, S. V. Jovanovic // Journal of American Chemical Society. – 1989. – V. 111. – № 15. – P. 5778 – 5782.

158. Stozhko, N. A nanostructured sensor based on gold nanoparticles and nafion for determination of uric acid / N. Stozhko, M. Bukharinova, L. Galperin, Kh. Brainina // Biosensors. – 2018. – V. 8. – № 1. – 21.

159. Kortum, G. Dissociation Constants of Organic Acids in Aqueous Solution. International Union of Pure and Applied Chemistry / G. Kortum, W. Vogel, K. Andrussow // London: Butterworth (1961), 536 p.

160. Zen, J.-M. Selective voltammetric method for uric acid detection using pre-anodized Nafion-coated glassy carbon electrodes / J.-M. Zen, J.-J. Jou, G. Ilangovan // Analyst. – 1998. – V. 123. – P. 1345–1350.

161. Oral Health Care: Prosthodontics, Periodontology, Biology, Research and Systemic Conditions / Mandeep Virdi. – Norderstedt : BoD – Books on Demand, 2012. – 384 p.

162. Bard, A. J., Faulkner L. R. Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications / A. J. Bard, L. R. Faulkner. – 2nd ed. – New York, USA: John Wiley & Sons Inc., 2001. – 864.

163. Gowda, J. I. Electrochemical behavior of paclitaxel and its determination at glassy carbon electrode / J. I. Gowda, S. T. Nandibewoor // Asian Journal of Pharmaceutical Science. – 2014. – V. 9. – № 1. – P. 42–49.

164. Fanjul-Bolado, P. Uric Acid Determination by Adsorptive Stripping Voltammetry on Multiwall Carbon Nanotubes Based Screen-Printed Electrodes / P. Fanjul-Bolado, D. H. Santos, V. M. Montoya, A. Costa-García // Electroanalysis. – 2015. – V. 27. – № 5. – P. 1276–1281.

165. Huang, S.-H. Simultaneous determination of norepinephrine, uric acid, and ascorbic acid at a screen printed carbon electrode modified with polyacrylic acid-coated multi-wall carbon nanotubes / S.-H. Huang, H.-H. Liao, D.-H. Chen // Biosensors and Bioelectronics. – 2010. – V. 25. – № 10. – P. 2351–2355.

166. Nagles, E. Evaluation of the usefulness of a novel electrochemical sensor in detecting uric acid and dopamine in the presence of ascorbic acid using a screen-printed carbon electrode modified with single walled carbon nanotubes and ionic liquids / E. Nagles, O. García-Beltrán, J. A. Calderón // Electrochimica Acta. – 2017. – V. 258. – P. 512–523.

167. da Cruz, F. S. Electrochemical detection of uric acid using graphite screen-printed electrodes modified with Prussian blue/poly(4-aminosalicylicacid)/Uricase / F. S. da Cruz, F.D. S. Paula, D. L. Franco, W.T. P. dos Santos, L.F. Ferreira, // Journal of Electroanalytical Chemistry. – 2017. – V. 806. – P. 172–179.

168. Kanyong, P. Development of a sandwich format, amperometric screen-printed uric acid biosensor for urine analysis / P. Kanyong, R. M. Pemberton, S.K. Jackson, J.P. Hart // Analytical Biochemistry. – 2012. – V. 428.–№ 1. – P. 39–43.

169. Beitollahi, H. GO/Fe_3O_4@SiO_2 core-shell nanocomposite-modified graphite screen-printed electrode for sensitive and selective electrochemical sensing of dopamine and uric acid / H. Beitollahi, F. G. Nejad, S. Shakeri // Analytical Methods. – 2017. – V. 9. – № 37. – P. 5541–5549.

170. Kanyong, P. A voltammetric sensor based on chemically reduced graphene oxide-modified screen-printed carbon electrode for the simultaneous analysis of uric acid, ascorbic acid and dopamine / P. Kanyong,; S. Rawlinson, J. Davis // Chemosensors. – 2016. – V. 4. – № 4. – 25.

171. Ahmed, S. Biosynthesis of gold nanoparticles: A green approach / S. Ahmed, Annu, S. Ikram, S. Yudha Salprima // Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology. – 2016. – V. 161. – P. 141–153.

172. Brainina, Khiena Z. Electrochemical Sensor Based on Carbon Veil Modified by Phytosynthesized Gold Nanoparticles for Determination of Ascorbic Acid / Khiena Z. Brainina, Maria A. Bukharinova, Natalia Yu. Stozhko, Sergey V. Sokolkov, Aleksey V. Tarasov, Marina B. Vidrevich // Sensors. – 2020. – V. 20 – 1800.

173. Eisele, T. A. The partial compositional characteristics of apple juice from 175 apple varieties / T. A. Eisele, S. R. Drake // Journal of Food Composition and Analysis. – 2005. – V. 18. – № 2-3. – P. 213–221.

174. Kuang, H. Y. Determination of Ascorbic Acid Based on Gold Nanoparticles-L-Alanine/GCE / H. Y. Kuang, J. H. He, Q. Xu, Z. R. Song // Advanced Materials Research. – 2011. – V. 214. – P. 498–502.

175. Pisoschi, A. M. Determination of ascorbic acid content of some fruit juices and wine by voltammetry performed at Pt and carbon paste electrodes / A. M. Pisoschi, A. Pop, G. P. Negulescu, A. Pisoschi // Molecules. – 2011. – V. 16. – №. 16. – P. 1349–1365.

176. Haile Reda, A. Determination of Ascorbic Acid in Citrus Sinensis and Ananas Comosus Using Poly(3, 4-Ethylenedioxythiophene) Modified Glassy Carbon Electrode / A. Haile Reda, F. Guesh // American Journal of Applied Chemistry. – 2016. – V. 4. – № 1. – P. 1-7.

177. Wonsawat, W. Determination of Vitamin C (ascorbic acid) in orange juices product / W. Wonsawat // International Journal of Materials and Metallurgical Engineering. – 2014. – V. 8. – № 6. – P. 623-625.

178. Bitew, Z. Electrochemical determination of ascorbic acid in pharmaceutical tablets using carbon paste electrode / Z. Bitew, M. Amare // Organic and Medicinal Chemistry International Journal. – 2019. – V. 8. – № 5. – 555749.

179. Kong, Y. A novel voltammetric sensor for ascorbic acid based on molecularly imprinted poly(*o*-phenylenediamine-*co*-*o*-aminophenol) / Y. Kong, X. Shan, J. Ma, M. Chen, Z. Chen // Analytica Chimica Acta. – 2014. – V. 809. – P. 54–60.

180. Samseya, J. Fabrication and characterization of high performance polypyrrole modified microarray sensor for ascorbic acid determination / J. Samseya, R. Srinivasan, Y.-T. Chang, C.-W. Tsao, V. S. Vasantha // Analytica Chimica Acta. – 2013. – V. 793. – P. 11–18.

181. Abraha, T. Assessment of some selected beverages and fresh edible vegetables as nutritional source of vitamin C (ascorbic acid) by cyclic and square wave voltammetry / T. Abraha, A. Sergawie // International Journal of Science and Engineering Investigations. – 2014. – V. 3. – № 26. – P. 39–49.

182. Nezamzaden, A. Square-wave voltammetric determination of ascorbic acid based on its electrocatalytic oxidation at zeolite-modified carbon-paste electrode / A. Nezamzaden,; M. K. Amini,; Faghihian, H. // International Journal of Electrochemical Science. – 2007. – V. 2. – P. 583–594.

183. Tadese, A. Electrochemical determination and comparison of ascorbic acid in freshly prepared and bottled fruit juices: A cyclic voltammetric study / A. Tadese, P. A. Subramanian, A. Woldu, R. Pal // Journal of Chemical a3d Pharmaceutical Research. – 2014. – V. 6. – № 5. – P. 880–888.

184. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 023/2011 «Технический регламент на соковую продукцию из фруктов и овощей» УТВЕРЖДЕН Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 г. № 882.

185. ГОСТ 24556-89 Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витамина С. – М.: ИПК Издательство стандартов, 2003. – 11 с.

186. Brainina Kh. Z. Potentiometry as a method of antioxidant activity investigation / Kh. Z. Brainina, A. V. Ivanova, E. N. Sharafutdinova, E. L. Lozovskaya, E. I. Shkarina // Talanta. – 2007. – V. 71. – № 1. – P. 13–18.