

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



Ву Хоанг Иен

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНСЕРВАНТОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ
ПЬЕЗОСЕНСОРАМИ НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-
ИМПРИНТИРОВАННЫХ ПОЛИМЕРОВ**

1.4.2. Аналитическая химия

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук, профессор
Зяблов Александр Николаевич

Воронеж – 2023 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1. Консерванты – сферы их применения.....	9
1.2. Методы анализа консервантов.....	14
1.3. Портативные приборы в анализе пищевых продуктов.....	17
1.3.1. Химические сенсоры в экспресс-измерениях.....	17
1.3.2. Селективные материалы сенсоров.....	21
Заключение к главе 1	27
Глава 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ АНАЛИЗА	28
2.1. Физико-химические свойства консервантов.....	28
2.2. Напитки используемые в работе.....	30
2.3. Метод спектрофотометрии.....	32
2.4. Метод ИК-спектроскопии.....	32
2.5. Метод тонкослойной хроматографии.....	34
2.6. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии.....	34
2.7. Способ определения консервантов в жидкостях пьезосенсорами...	35
2.8. Селективные материалы для модификации пьезосенсоров.....	37
2.9. Метод сканирующей силовой микроскопии.....	40
2.10. Метод электронной микроскопии.....	41
2.11. Сорбция консервантов полимерами.....	41
2.12. Статистическая обработка результатов.....	43
Глава 3. ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ СЕЛЕКТИВНЫХ МАТЕРИАЛОВ СЕНСОРОВ	45
3.1. Изучение некоторых свойств полимеров с отпечатками консервантов.....	45
3.2. Сорбция консервантов молекулярно-импринтированными полимерами.....	52
3.3. Анализ морфологии поверхности пленок полимеров.....	58

Заключение к главе 3	63
Глава 4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНСЕРВАНТОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ ПЬЕЗОСЕНСОРАМИ	65
4.1. Исследование устойчивости пленок молекулярно- импринтированных полимеров.....	65
4.2. Определение консервантов МИП-сенсорами в модельных растворах.....	68
4.3. Определение сорбата калия и бензоата натрия в пищевых продуктах МИП-сенсорами.....	78
Заключение к главе 4	82
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	83
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	86
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	89
ПРИЛОЖЕНИЕ А. Данные ИК-спектроскопии	109
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Данные пьезосенсорных измерений	113
ПРИЛОЖЕНИЕ В. Градуировочные зависимости аналитических сигналов от концентрации для референтных методов и пьезосенсоров	114
ПРИЛОЖЕНИЕ Г. Схема образования Н-связей молекул консерванта и структурного звена полимера	115

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы

Пищевые консерванты являются одними из широко используемых химических веществ, играющих важную роль в различных отраслях и в жизни человека. Их добавляют в продукты питания, фармацевтические препараты, биологические образцы и т.д. с целью защиты от порчи, вызванной микроорганизмами, нарушением условий хранения, температурных режимов, что позволяет предотвратить изменение свойств и качества продуктов и, как следствие, способствует увеличению срока их хранения.

Большинство консервантов не оказывают негативного воздействия на состояние здоровья человека, но избыточное их количество в продуктах питания может привести к аллергическим реакциям, поэтому необходимо контролировать содержание консервантов в пище. Для этого используют методы спектрофотометрии, тонкослойной хроматографии (ТСХ), высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и др. Одним из альтернативных способов определения консервантов являются пьезосенсоры, модифицированные селективными материалами различной природы. Особый интерес представляют молекулярно-импринтированные полимеры (МИП). Среди них перспективными являются полиимиды, которые благодаря своей высокой термо- и химической стойкости способны работать в различных условиях.

Сенсоры, интегрированные с молекулярно-импринтированными полимерами, способны распознавать вещества, которые использовались в качестве темплатов при синтезе МИП. Поэтому перспективным является применение МИП-сенсоров при определении консервантов в пищевых продуктах.

Степень разработанности темы. Молекулярно-импринтированные полимеры – это перспективные материалы, которые широко используются

для разделения и концентрирования аналитов в качестве катализаторов и реагентов в органическом синтезе, а также в качестве селективных материалов химических сенсоров.

Химические сенсоры представляют собой миниатюрные устройства, предназначенные для определения различных веществ в жидкостях и газах при исследовании окружающей среды, в контроле качества пищевых продуктов, в медицинской диагностике заболеваний, в химическом анализе и др., как правило, без дополнительной пробоподготовки.

В научной литературе существует ряд работ, в которых успешно применяли МИП-сенсоры для определения веществ (аминокислот, антибиотиков, ферментов, карбоновых кислот, пестицидов, синтетических красителей и т.д.) в жидких средах, однако данные об использовании молекулярно-импринтированных полиимидов с отпечатками консервантов отсутствуют.

Цель работы

Разработка селективных пьезоэлектрических сенсоров на основе молекулярно-импринтированных полимеров с отпечатками бензоата натрия и сорбата калия для определения этих консервантов в жидких средах.

Задачи работы

1. Обосновать условия получения на основе полиимида молекулярно-импринтированных полимеров с отпечатками сорбата калия и бензоата натрия и исследовать их физико-химические свойства.

2. Оценить способность молекулярно-импринтированных полимеров сорбировать из модельных растворов молекулы-темплаты (сорбат калия и бензоат натрия) по сравнению с неимпринтированным полиимидом.

3. Выбрать оптимальный способ модификации электродов сенсоров молекулярно-импринтированным полимером и исследовать морфологию поверхности полученных покрытий.

4. Апробировать МИП-сенсоры с отпечатками сорбата калия и бензоата натрия для определения этих консервантов в безалкогольных напитках.

Научная новизна

1. Предложены условия синтеза молекулярно-импринтированных полимеров: концентрация темплата 0.1 г/см^3 , соотношение предполимеризационная смесь – темплата = 1:1, позволяющие получить на поверхности пьезосенсоров покрытия селективные к сорбату калия и бензоату натрия.

2. На основании сравнения способности молекулярно-импринтированных и неимпринтированных полимеров сорбировать целевые молекулы-темплаты установлена высокая избирательность двух МИПов к сорбату калия и бензоату натрия соответственно. Показано, что импринтинг-фактор (IF) для МИП имеет значение $IF = 5.4 - 6.0$.

3. Разработаны способы определения сорбата калия и бензоата натрия пьезосенсорами на основе молекулярно-импринтированных полимеров в жидких средах. Предел обнаружения для сорбата калия составляет 1.6 мг/дм^3 , для бензоата натрия – 2.0 мг/дм^3 .

Теоретическая и практическая значимость работы

Предложено для нанесения предполимеризационной смеси на электрод сенсора использовать способ штампования, позволяющий получать воспроизводимые по толщине ($1.0 - 1.1 \text{ мкм}$) и массе полимерные пленки на поверхности сенсора.

Разработанные пьезосенсоры на основе молекулярно-импринтированных полимеров способны работать в течение 21-23 измерительных циклов.

Методология и методы исследования. Для проверки точности определения консервантов в жидких средах пьезосенсорами на основе молекулярно-импринтированных полимеров в качестве референтных методов использовали спектрофотометр BioSpec-mini-SHIMADZU (Япония), хроматограф Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, CA, USA). Для исследования свойств полимерных пленок применяли ИК-спектрометр (VERTEX-75 фирмы «Брукер» Германия), электронный микроскоп (JSM-

6380LV) и сканирующий силовой микроскоп (микроскоп «Solver P47 PRO» производства ЗАО «НТ-МДТ»).

Положения, выносимые на защиту

1. Оценка способности молекулярно-импринтированных полимеров распознавать целевые молекулы: бензоат натрия и сорбат калия в модельных водных растворах.

2. Морфологические характеристики пленок молекулярно-импринтированных и неимпринтированных полимеров и влияние старения пленок на чувствительность пьезосенсоров.

3. Способы определения консервантов в модельных растворах и пищевых продуктах МИП-сенсорами с отпечатками сорбата калия и бензоата натрия.

Степень достоверности результатов работы подтверждается большим объемом статистически обработанных экспериментальных данных, использованием современного сертифицированного оборудования, согласованием результатов с результатами других методов, имеющих в литературе.

Апробация результатов. Основные результаты диссертационной работы представлены на следующих конференциях и симпозиумах: VI Всероссийском симпозиуме «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар, 2021); IX Всероссийской конференции «Физико-химические процессы в конденсированном состоянии и на межфазных границах» ФАГРАН-2021 (Воронеж, 2021); VIII Международных научно-методических конференциях «Фармообразование» (Воронеж, 2022); IX Всероссийском симпозиуме и Школе-конференции молодых ученых «Кинетика и динамика сорбционных процессов» (Сочи, 2022); IV Съезде аналитиков России (Москва, 2022).

Личный вклад автора состоял в постановке цели и задач работы, выполнении теоретической и экспериментальной части, обобщении

результатов эксперимента, написании статей и подготовке докладов на конференциях.

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликовано 8 статей в рекомендованных ВАК РФ рецензируемых научных изданиях, 7 тезисов и материалов конференций.

Структура и объем работы. Работа состоит из введения, четырех глав, заключения, списка цитируемой литературы (170 источников) и приложения (А-Г). Работа изложена на 115 страницах, содержит 24 рисунка, 23 таблицы.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Консерванты – сферы их применения

Консерванты – это химические вещества, которые добавляют во многие продукты питания для замедления или предотвращения процесса порчи и продления срока их хранения [1].

В соответствии с Международной системой классификации (International Numbering System, INS) в Европе все пищевые добавки кодируются буквой E [2]. Согласно системе кодирования Евро Союза (ЕС) консерванту присваивается индекс E200 – E297.

Консерванты можно разделить на натуральные и искусственные. Натуральные консерванты, такие как сахар, соль, уксус, растительное масло и др. используют при приготовлении или консервировании пищи. Они способствуют созданию более приятного вкуса при приготовлении пищи. Механизм их действия заключается в поглощении лишней воды, снижении рН среды и концентрации кислорода. Удаление воды предотвращает окисление, замедляет ферментативный процесс и рост микробов (бактерий, плесени и т.д.), разрушает клеточные мембраны. Высокие концентрации консервантов могут убить бактерии и предотвратить гниение продуктов [3, 4].

Искусственные консерванты – это вещества, используемые для предотвращения изменения вкуса и свойств пищевых продуктов. К ним относятся: нитрат калия, нитрат натрия, бензойная и сорбиновая кислота и их соли и др.

Каждый консервант имеет свой механизм антимикробного действия. Поэтому для повышения эффективности консервирования можно применять несколько различных консервантов одновременно, совмещая их использование с охлаждением, сушкой, нагреванием и т.д. [3, 4].

Консерванты начали применять в конце XIX – начале XX века, но широкое распространение они получили только в конце XX века [1]. В большинстве стран действуют разные правила использования консервантов в пищевых продуктах, так в Российской Федерации (РФ) консерванты можно разделить на три вида [5]:

- консерванты, *разрешенные* к применению при производстве пищевых продуктов;
- консерванты, *не имеющие разрешения* к применению при производстве пищевых продуктов, например, борная кислота [6] (E284), тетраборат натрия (бура) (E285), тиабендазон (E233), диэтил дикарбонат (E243);
- консерванты, *запрещенные* к применению при производстве пищевых продуктов, например, пропилпарабен (E216), пропиловый эфир (E217), натриевая соль, формальдегид (E240).

Смешивание консервантов с пищевыми продуктами увеличивает эффективность их использования. Другими словами, это равномерное распределение консервантов в продуктах питания. Поэтому лучшим условием является растворение консерванта в пище. Стадия внесения консерванта определяется технологией производства, тем не менее, внесение консерванта перед перемешиванием и после термообработки считается оптимальным [4].

При подборе консерванта следует руководствоваться некоторыми общими правилами [1, 7].

1. Консервант должен обладать высокой эффективностью против микроорганизмов, иметь широкий спектр действия, не уменьшаться в процессе хранения продуктов, не оказывать влияния на свойства и качества пищевого продукта, замедлять образование токсинов, быть дешевым и простым в применении [1, 7].

2. Консервант не должен вступать в химическую реакцию с компонентами пищевой системы, оказывать влияния на органолептические свойства продукта, быть токсичным [1, 7].

Для обеспечения безопасности должны использоваться только разрешенные консерванты.

При подборе консервантов и их концентрации необходимо учитывать физико-химические свойства продукта (активность воды, pH), условия хранения, технологию производства, срок годности, степень бактериальной загрязненности и др. [4, 7, 8].

Консерванты запрещены для использования в продуктах детского питания, в изделиях с маркировкой «свежие», «натуральные» и в некоторых других продуктах, таких как сливочное масло, молоко, хлеб, мука и др. [1, 7].

В настоящее время влияние консервантов на организм человека до конца не изучено. Большинство консервантов не оказывают негативного воздействия на состояние здоровья людей, тем не менее, главным условием является соблюдение установленной дозировки, нормативы можно найти в СанПиНе [9, 10].

Стоит отметить, что некоторые консерванты отрицательно воздействуют на витамины: диоксид серы разрушает витамин B1, сорбиновая кислота – витамин B12 [11]. Есть консерванты, которые являются выраженными канцерогенами: производные парабены, ортофенилфенол, формальдегид, нитритные соли, бензоат натрия [12]. Кроме того, многие синтетические консерванты способны вызывать аллергию, головные боли, тошноту и приступ астмы [11].

Нитраты и нитриты, попадая в организм, препятствуют усвоению кислорода клетками организма, что приводит к кислородному голоданию тканей [11]. Кроме того, они участвуют в эндогенном и экзогенном образовании нитрозаминов, которые способны вызывать онкологические заболевания и снижать сопротивляемость организма к инфекциям [13, 14].

Бензойная кислота и ее соли используются во фруктовых соках, безалкогольных напитках и др. для предотвращения роста микроорганизмов в кислой среде. Они считаются аллергенами для чувствительных людей. Другая проблема возникает, когда бензоат натрия используется в напитках,

содержащих аскорбиновую кислоту (витамин С). Два вещества в кислой среде напитка могут взаимодействовать друг с другом с образованием небольших количеств бензола, вызывающего лейкемию и другие виды рака. Хотя количество образующегося бензола невелико, но риск появления раковых клеток существует [15 – 17].

Бензоаты считаются безвредными для человека при допустимых уровнях концентрации. В работах [18 – 20] описаны основные побочные эффекты, вызываемые потреблением бензоата натрия у людей и животных, и показано, что токсичность может варьироваться в зависимости от вида, дозы и воздействия консерванта. Потребление выше допустимой суточной дозы (ДСД > 5 мг/кг) приводит к гиперактивности, дефициту внимания и аллергическим реакциям. Также бензоаты считаются генотоксичными нейротоксинами, вызывающими изменения в структуре ДНК [19, 20].

Многие исследования, проведенные за последние несколько десятилетий, показывают, что регулярное использование пищевых добавок влияет на здоровье человека. Так, в частности, доктор Ben Feingold, проводивший исследования в этой области с 60-х годов прошлого века, установил, что консерванты оказывают токсическое воздействие на организм человека, при этом особенно подвержены этому воздействию дети и люди с различными хроническими заболеваниями [21].

Авторами [22] было установлено, что при высоких концентрациях, большинство пищевых консервантов и вкусовых добавок (бензоат натрия, ванилин, глутамат натрия и нитрит калия) оказывают значительное ингибирующее влияние на выработку свободных кислородных радикалов изолированными нейтрофилами человека.

В работах [23, 24] было показано, что при использовании препаратов против глаукомы, содержащих бензалкония хлорид (БАК) в качестве консерванта, привело к некоторым побочным эффектам, таким как сухость глаз, ощущение жжения и др. Клинические исследования также показали повышение нежелательных явлений при приеме БАК и снижение этих

эффектов без приема консерванта. Поэтому для повышения эффективности лечения заболеваний глаз необходимо ограничить использование или не использовать препараты, содержащие консерванты.

Также в работе [25] проводили исследования влияния консервантов на здоровье человека. Установлено, что пищевые консерванты, такие как бензоаты, нитриты, нитраты натрия и калия, сульфиты, дифенил и др. обладают значительными побочными эффектами (кожной сыпью и зудом, затрудненным дыханием, чиханием или желудочно-кишечными расстройствами). Поэтому должны использоваться в минимально возможных количествах в пищевых продуктах. Такие консерванты, как сорбиновая кислота и сорбаты, уксусная кислота и ацетаты, пропионовая кислота и пропионаты при использовании в пищевых продуктах не оказывают неблагоприятного воздействия для здоровья человека в указанных концентрациях [26].

С древних времен люди использовали специи и травы (например, чеснок, горчицу, корицу, тмин, гвоздику, перец, имбирь, куркума, розмарин и т.д.) для улучшения вкуса и защиты пищевых продуктов. Некоторые специи и травы проявляли антибактериальную активность в отношении различных видов микроорганизмов. Поэтому их можно рассматривать как хорошую альтернативу синтетическим консервантам с натуральными, эффективными и нетоксичными соединениями [27, 28]. Авторами [27, 28] также обсуждалась антимикробная активность специй, трав и некоторых эфирных масел в отношении бактерий и грибков, загрязняющих пищевые продукты.

Таким образом, использование консервантов в допустимых концентрациях безопасно для здоровья человека. Тем не менее для контроля за содержанием консервантов в пищевых продуктах необходимо разрабатывать новые методы и способы анализа.

1.2. Методы анализа консервантов

Для определения содержания консервантов используются: газовая хроматография (ГХ) [29], высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), тонкослойная хроматография (ТСХ), а также спектрофотометрические, электрохимические и титриметрические методы анализа. Все эти методы анализа не являются универсальными для всего спектра консервантов [17, 30].

Титриметрические методы для определения бензойной кислоты используют редко [31, 32]. Спектрофотометрические методы также имеют ограничения применения, связанные с недостаточной избирательностью [33].

Спектрофотометрия является стандартизованным методом определения сорбиновой кислоты и сорбатов в пищевых продуктах, основанным на измерении собственного поглощения сорбиновой кислоты при 256 нм. Оптическую плотность полученного розового раствора сорбиновой кислоты и 2-гиабарбитуровой кислоты измеряют на фотоколориметре или спектрофотометре при длине волны 532 нм [34].

Для определения консервантов в алкогольных и безалкогольных напитках также используют метод капиллярного электрофореза со спектрофотометрическим детектором при 254 нм. Диапазон измеряемых значений массовой концентрации сорбиновой и бензойной кислоты составляет 10 – 1000 мг/дм³. Определению не мешают подсластители (аспартам, цикламат), синтетические пищевые красители, витамины группы В и ванилин в концентрациях, характерных для анализируемых напитков. Однако в условиях проведения анализа невозможно раздельное определение сорбиновой, бензойной, аскорбиновой кислот и сахарина [12, 35].

Наибольшее применение для определения бензойной кислоты получили хроматографические методы: тонкослойная [36], газовая хроматографии [37] и ВЭЖХ [38, 39].

Так для качественного определения бензойной кислоты в соках и безалкогольных напитках авторы [31] использовали тонкослойную хроматографию с подвижной фазой, представляющей собой смесь толуол-ацетонитрил-метанол-муравьиная кислота в соотношении 15:5:1:1. Идентификация бензойной кислоты осуществлялась при появлении красной люминесценции Eu (III) при облучении лампой со светофильтром УФС-2 (365 нм). Количественное определение бензойной кислоты проводили методом градуировочного графика при 612 нм спектра люминесценции. Предел обнаружения при этом составил 0.012 мкг/см³.

В работе [40] методом ТСХ определяли сорбиновую кислоту. Хроматографическую пластинку после выделения сорбиновой кислоты помещали в светонепроницаемую камеру и равномерно освещали источником УФ излучения (254 нм), регистрируя тушение люминесценции анализируемых проб. Предел обнаружения сорбиновой кислоты в пробе – 0.013 г/дм³, что намного ниже допустимого ее содержания в пищевых продуктах.

Наиболее широкое применение получил метод ВЭЖХ. Так ГОСТ 34228-2017 используют для определения консервантов (4-гидроксибензойной кислоты; бензойной кислоты; сорбиновой кислоты; метил-4-гидроксибензоата; этил-4-гидроксибензоата; н-пропил-4-гидроксибензоата; н-бутил-4-гидроксибензоата) в соках и соковой продукции. Для этого используют колонку с обращенно-фазовой хроматографией C8; спектрофотометрический детектор при 235 нм или диодноматричный детектор в диапазоне длин волн 190 – 600 нм. Анализ проводят при комнатной температуре при скорости потока 1.0 см³/мин, время анализа составляет около 32 минут. Пределы обнаружения консервантов составляют 10 – 320 мг/дм³ [41].

Для одновременного определения бензоата натрия и сорбата калия в напитках разработан метод ВЭЖХ с обращенной фазой с использованием высокоскоростной колонки при температуре 25°C. Подвижной фазой служил

ацетонитрил-фосфатный буфер (pH 3.5 – 8.92). Применение УФ-детектора для определения бензоата натрия при 195 нм и определения сорбата калия при 260 нм позволило провести эффективное разделение и количественное определение менее чем за 7.5 минут при скорости потока 1 см³/мин. Диапазон линейности для бензоата натрия составил 6.04 – 200.27 мг/дм³ ($R^2 = 0.999$), а для бензоата калия 12.19 – 406.36 мг/дм³ ($R^2 = 0.999$). Значения относительного стандартного отклонения $S_r \leq 1.03\%$ демонстрируют превосходную точность в течение дня. Предел обнаружения для бензоата натрия и сорбата калия составил 0.004 и 0.003 мг/дм³, а предел количественного определения – 0.012 и 0.009 мг/дм³ соответственно [42].

В работе [43] методом обращенно-фазовой ВЭЖХ определяли бензоат натрия и сорбат калия в томатном соусе, безалкогольных напитках и энергетических напитках, используя кофеин в качестве внутреннего стандарта и УФ-детектор при 235 нм. Температура колонки составляла 40°C. Подвижной фазой была смесь (ацетатный буфер и метанол в соотношении 25:75) при скорости потока 1.2 см³/мин. Определение бензоата натрия и сорбата калия проведено с высокой точностью и достоверностью результатов без предварительной экстракции. Общее время анализа составило менее 6 минут.

Методы газовой хроматографии и твердофазной экстракции были использованы для идентификации некоторых консервантов, таких как бензойная и сорбиновая кислоты, а также метил, этил и пропилпарабен (эферы пара-гидроксibenзойной кислоты) в безалкогольных напитках, соусах и джемах [44].

Также в работах [45, 46] провели определение бензойной, сорбиновой кислот и эфиров п-гидроксibenзоата (метилпропил) в соках, безалкогольных напитках, сыре и мясных продуктах [12] с использованием обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФ-детектором, масс-спектрометрическим детектором (МС) и детектором с диодной матрицей.

Недостатками классических аналитических методов анализа консервантов являются сложная пробоподготовка, длительное время анализа и дорогостоящее оборудование, более того проведение анализа вне лаборатории невозможно. В настоящее время для решения этих задач разработаны простые и дешевые экспресс-методы анализа. Эти методы обладают высокой доступностью и избирательностью [30, 47]. А компактные размеры приборов позволяют использовать их вне лаборатории. Помимо минимизации хроматографов, спектрофотометров, приборов для электрохимических анализов уделяется внимание разработке приборов на чипах, а также химических сенсоров [48].

1.3. Портативные приборы в анализе пищевых продуктов

1.3.1. Химические сенсоры в экспресс-измерениях

Первые химические сенсоры появились в конце XIX и начале XX веков. Тогда под сенсором понимали портативные устройства для определения химического состава среды. Конструкция сенсора включала чувствительный элемент и преобразователь [49].

Химический сенсор – это миниатюрное устройство [50] с селективным слоем химической природы, применяемое для определения концентрации веществ в газах или в жидких средах [30, 51, 52].

Сенсоры просты в эксплуатации, характеризуются высокой избирательностью, чувствительностью, экспрессностью, возможностью автоматизации и невысокой стоимостью.

Сенсор состоит из двух основных элементов: физического преобразователя (транздьюсера) и рецептора (распознающего, селективного слоя), закрепленного непосредственно на поверхности транздьюсера. В зависимости от распознающего элемента (селективного слоя) сенсоры можно разделить на три типа:

1. физические сенсоры (детекторы) – служат для определения деформации, температуры, давления, силы тока и т.д. [53];
2. химические сенсоры – устройства, в которых в качестве распознающего слоя используют различные химические соединения (хроматографические фазы, полимерные покрытия и т.д.) [54];
3. биосенсоры – в этих устройствах селективным слоем служат биоматериалы (бактерии, ферменты, ткани, антитела/антигены и др.) [55, 56].

В зависимости от типа трансдюсера сенсоры делятся на: электрохимические, оптические, акустические, тепло-чувствительные и др. [57].

В настоящее время электрохимические сенсоры, прежде всего амперометрические и потенциометрические, широко применяются для качественного и количественного анализа химических соединений в жидких и газообразных средах. Можно использовать электрохимические сенсоры для определения содержания O_2 , CO_2 , H_2S , оксидов N, C, S, pH растворов в напитках без предварительной пробоподготовки. Потенциометрические сенсоры служат для определения ионов в растворах (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , NH_4^+ , NO_3^- и др.) [58].

Сенсорные системы: «электронный нос» и «электронный язык» [56] используют для определения различных веществ в газовых и жидких средах практически без отбора проб и сложной стадии пробоподготовки.

«Электронный нос» – мультисенсорные системы, используемые для распознавания газообразных веществ. Его применяют в пищевой промышленности с целью контроля качества, процесса мониторинга, оценки свежести продуктов, определения срока годности и т.д. [59].

Мультисенсорные системы «электронный язык» применяются для количественного анализа и контроля качества в пищевой промышленности, фармации и медицине [60].

К электрохимическим сенсорам можно отнести и полупроводниковые сенсоры. Так в работе [61] их использовали для экспресс-оценки качества пищевых продуктов. Применение таких сенсоров в данной области может быть весьма перспективным, особенно в плане оперативности контроля, упрощения подготовки проб и дешевизны анализа.

Еще один тип сенсоров – оптические, принцип их работы основан на поглощении или отражении света, или люминесценции. Оптические сенсоры позволяют передавать оптический сигнал на большие расстояния, что делает их незаменимыми в дистанционном анализе несмотря на их высокую стоимость [48].

Оптические сенсоры применяют для измерения pH, определения O₂, CO₂, NH₃, ионов металлов и некоторых других веществ [62].

Принцип действия пьезоэлектрических сенсоров основан на изменении частоты колебаний кварцевого [56] кристалла в результате воздействия среды (жидкой или газовой фазы) на электрод пьезосенсора [57, 63].

Зависимость между частотой колебаний пьезокварцевого кристалла и массой покрытия на поверхности электрода описывается уравнением Sauerbrey [64]:

$$\Delta f = -2.3 \cdot 10^{-6} \cdot f_0^2 \cdot \frac{\Delta m}{S}, \quad (1.1)$$

где Δf – сдвиг частоты (Гц), f_0 – резонансная частота пьезокристалла (Гц), Δm – прирост массы кристалла (г) за счет адсорбции вещества, S – площадь активной зоны кристалла (см²) [30, 65].

Пьезоэлектрические кварцевые кристаллы применяют для определения газов: SO₂, NH₃, H₂S, Hg, CO, фосфорорганических соединений, а также для определения различных летучих кислот (пропановой кислоты, гексановой кислоты и октановой кислоты), летучих альдегидов, ацетона, уксусной кислоты и др.

В работе [66] было предложено использовать пьезоэлектрические кварцевые кристаллы в качестве иммуносенсора для обнаружения вирусов, бактерий и ДНК.

Кроме того, в работах [67 – 69] успешно использовали пьезоэлектрические кварцевые кристаллы для определения содержания желатина, трипсина, пестицидов (карбарила, профенофоса и карбофурана) в пищевых продуктах.

Применение пьезосенсоров для анализа жидких сред долгое время было ограничено, поскольку пьезокристалл при погружении в раствор прекращал осциллировать. Для решения проблемы сенсор выдерживали в анализируемом растворе в течение некоторого времени для взаимодействия аналита с селективным слоем, затем высушивали и рассчитывали массу (по уравнению Зауэрбрея), измеряя частоту колебаний сенсора в воздушной среде. Этот метод известен как «dip and dry» (окунуть и высушить) [70]. Однако у этого метода есть недостаток. При контакте сенсора с раствором некоторая его часть адсорбировалась на поверхности не только селективного слоя, нанесенного на электрод, но и на поверхности самого пьезокварца, что приводило к большим погрешностям в измерении концентрации веществ.

Однако если одну из сторон пьезосенсора изолировать токонепроводящим лаком, как показано в работе [56], то возможно проводить измерения погружением сенсора в анализируемый раствор. Также можно проводить измерения концентрации аналитов нанесением анализируемого раствора на электрод пьезосенсора (при этом изолировать нижнюю сторону не нужно). В работах [56, 71] показано, что пьезосенсоры при контакте с жидкостями ведут себя не как масс-чувствительные, а как чувствительные к изменению вязкостных характеристик анализируемых растворов.

Авторы [72, 73] применяют пьезокварцевые сенсоры для выявления оксида азота и аммиака в воде. Нижняя граница определяемых содержаний таких соединений составляет 10^{-7} М.

Авторы [74] использовали пьезоэлектрические сенсоры при определении кемпферола в напитках (апельсиновых и яблочных соках) в присутствии кверцетина, мирицетина и апигенина. Диапазон линейности и предел обнаружения составили $2.0 \cdot 10^{-10}$ – $1.5 \cdot 10^{-9}$ М и $6.0 \cdot 10^{-11}$ М соответственно.

Существенно расширить возможности практического использования пьезокварцевых сенсоров стало возможным благодаря модификации поверхности электродов сенсоров селективными материалами.

Создание селективных сенсоров из полимерных материалов является одной из актуальных задач.

1.3.2. Селективные материалы сенсоров

Пьезосенсоры не обладают избирательностью к тем или иным веществам, если поверхность их электродов не модифицирована соответствующим селективным материалом. Поэтому для придания сенсорам селективности используют различные материалы [75].

Среди полимерных материалов, представляющих наибольший интерес, можно назвать молекулярно-импринтированные полимеры (МИПы). Интерес к этим материалам неуклонно растет. Так, МИПы являясь аналогами искусственных рецепторов, оказались эффективными для селективного распознавания молекул [76].

Схема синтеза МИП представлена на рисунке 1.1.

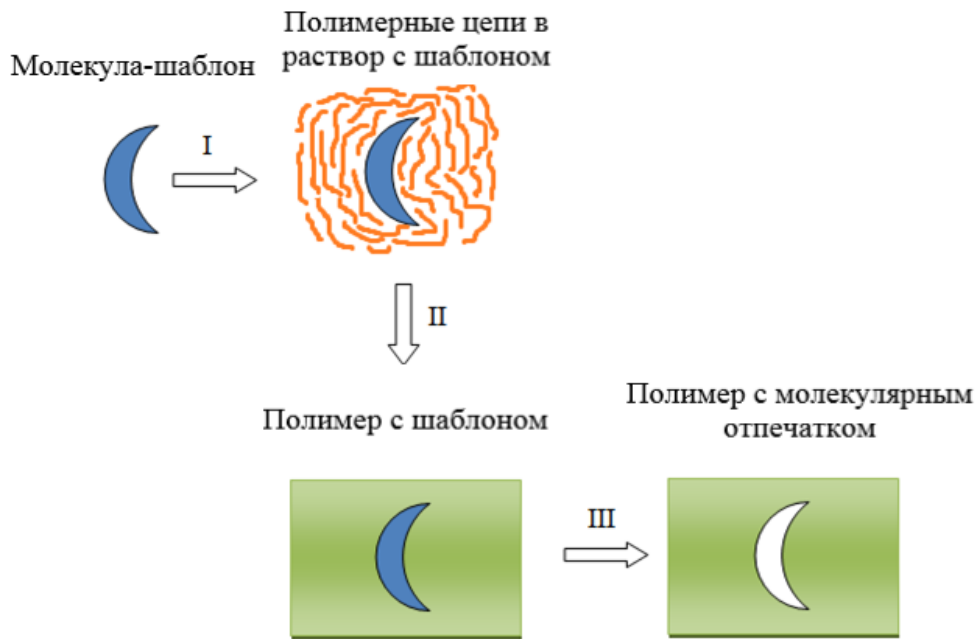


Рис. 1.1. Схема синтеза молекулярно-импринтированного полимера (МИП)

I – образование комплекса между молекулой-шаблоном и полимером,

II – термоимидизация с образованием полимера с шаблоном,

III – удаление молекулы-шаблона с образованием в полимере отпечатков

Молекулярно-импринтированные полимеры получают путем полимеризации мономеров и молекул сшивающих агентов в присутствии темплата. На первом этапе образуется комплекс между темплатом и мономерами. Эти комплексы могут быть основаны на ковалентном или нековалентном взаимодействии [29], т.е. за счет водородных связей, ион-ионных, гидрофобных взаимодействий и т.д. На втором этапе проводят реакцию полимеризации. На третьем этапе темплат удаляют, и в полимерной матрице образуются полости (отпечатки), которые соответствуют по размеру форме молекулам темплата. Полученная полость может работать в качестве селективного сайта связывания для конкретной молекулы-шаблона [50, 76].

Среди методов получения молекулярно-импринтированных полимеров [77] можно выделить следующие.

Полимеризация в массе (bulk polymerization) – проводят добавлением раствора инициатора к мономеру до полного растворения. Реакция

инициируется нагреванием или облучением. По мере протекания реакции смесь становится более вязкой. Реакция является экзотермической, образуется широкий диапазон молекулярных масс. Нерастворимый полимерный монолит измельчают, просеивают для получения частиц микронного размера и удаляют шаблон [78]. Основным недостатком этого метода является частичное разрушение импринтированных полостей во время процесса шлифования, что снижает способность к связыванию МИПов [79]. Тем не менее, это широко распространенный простой метод, который может быть выполнен в мягких условиях (комнатная температура) и для которого не требуется специальное оборудование.

Преципитационная полимеризация – этот метод аналогичен методу полимеризации в массе, но проводится в условиях избыточного разбавления, в результате чего первично сформированные частицы выделяются в виде микрогелевых порошков [80].

Суспензионная полимеризация – в этом методе смесь перемешивают с помощью диспергатора (например, перфторированных жидкостей). Смесь перемешивают до образования микрокапель, в которых происходит полимеризация [78, 81]. Размер частиц можно контролировать путем добавления стабилизатора и настройки скорости перемешивания [82]. У этого метода есть два недостатка: первый – необходимо разрушение матричного комплекса, и второй – это наличие остаточного количества стабилизаторов после промывки полимера [79].

Дисперсионная полимеризация – процесс полимеризации мономера осуществляется в присутствии подходящего полимерного стабилизатора, растворимого в реакционной среде. Растворитель, выбранный в качестве реакционной среды, не является растворителем для образующегося полимера. По мере протекания реакции полимеризации образуются частицы полимера, создавая неоднородный раствор [80, 83].

Многостадийная набухающая полимеризация – этим методом получают монодисперсные частицы в диапазоне 0.5 – 50 мкм. В процессе

синтеза первоначально формируются моодисперсные частицы, которые затем набухают, сливаясь с каплями микроэмульсии. Частицы поглощают внутреннюю фазу эмульсии и затем переносятся в другую эмульсию, содержащую мономеры и матрицу в масляной фазе [78, 84, 85].

Поверхностная полимеризация – в этом методе импринтинга шаблон иммобилизуют на твердой подложке, затем добавляют мономер, заполняющий поры, и инициируют полимеризацию [29]. По окончании реакции подложку и шаблон химически растворяют, в результате чего образуется пористая молекулярно-импринтированная полимерная структура – «негатив» исходной частицы. Такой подход позволяет контролировать ориентацию полостей с участками связывания и форму МИПов, используя носители разной степени пористости [29].

Молекулярно-импринтированные полимеры используют для распознавания анализируемых веществ в многокомпонентных растворах [86 – 88]. Флуоресцентные сенсоры с молекулярно-импринтированными полимерами применяют для определения органических молекул кофеина [89], кокаина [90], белков [91], а также ионов серебра [92]. Также МИП-сенсоры эффективно использовались для обнаружения запрещенных добавок [93], пестицидов [94] и др.

В работе [95] были применены иммуносенсоры для определения пестицидов, аминокислот, антибиотиков в пищевых продуктах. В качестве селективных покрытий использовали материалы биологической природы.

В работах [96 – 98] были созданы пьезокварцевые сенсоры для определения летучих веществ: бензилацетат, этилбензоат, аммиак, муравьиная и уксусная кислота и др.

В работе [99] были созданы электрохимические сенсоры на основе графен-молекулярно-импринтированных полимеров, чувствительные для определения имидаклоприда. Для этого импринтированная пленка с имидаклопридом была иммобилизована на поверхности графена для получения импринтированного полимерного композита. Этот композит был

нанесен на стекло-углеродный электрод для обнаружения имидаклоприда. Разработанный сенсор обладал хорошей селективностью, чувствительностью и воспроизводимостью. Апробацию этого сенсора проводили при определении имидаклоприда в образце коричневого риса. Предел обнаружения и предел количественного определения сенсора были 0.1 и 0.5 мкМ соответственно.

Авторы [100] разработали электрохимический сенсор на основе дифференциальной импульсной вольтамперометрии для одновременного определения 4,4-метиленидифениламина (MDA) и анилина с использованием нанокompозитов графен-МИП.

В работах [101 – 103] представлены результаты использования сенсоров на основе МИПов в иммуноанализе, в анализе продуктов питания, окружающей среды, для распознавания белков в биологических образцах и др.

Были получены молекулярно-импринтированные полимеры с высокой способностью к распознаванию, селективностью и возможностью повторного использования веществ аналогов темплатам [104].

В работе [105] были созданы сенсоры на основе QCM (quartz crystal microbalance) для распознавания запаха различных летучих кислот. А авторы [106] разработали QCM-сенсор на основе золь-геля для обнаружения летучих альдегидов (гексаналя, нонаналя и бензальдегида), которые являются продуктами окислительного стресса и биомаркерами рака.

Авторами [107] проведено определение аминокислот валина, лейцина и изолейцина в водных растворах [56] и в препарате «ВСАА» пьезосенсорами на основе МИП. Оценена способность МИП-сенсоров к распознаванию аминокислот в препарате.

Пьезосенсоры также использовали в качестве детектора в проточно-инжекционном анализе [50, 108]. Проведено определение валина в водных растворах сенсором с отпечатками валина в диапазоне концентраций 10^{-1} – 10^{-6} М, предел обнаружения составил 10^{-5} М. Определена способность

МИП-сенсора к распознаванию валина в бинарных смесях. Также с использованием проточно-инжекционной установки, в которой в качестве детектора были пьезосенсоры на основе ПМО отпечатками олеиновой и пальмитиновой кислот проведен анализ растительных масел по определению жирных кислот [109].

В работе [110] определены красители: тартразин (E102), желтый «Солнечный закат» (E110), азорубин (E122), понсо 4R (E124) в безалкогольных напитках [110] пьезоэлектрическими сенсорами на основе МИП [77]. Предел обнаружения составил $0.02 - 0.2 \text{ мг/дм}^3$. В качестве эталонных методов были выбраны спектрофотометрия и тонкослойная хроматография. Установлено, что разность результатов определения не превышает 10 %.

Методом нековалентного импринтинга на поверхности пьезосенсоров сформированы селективные покрытия, представляющие собой молекулярно-импринтированные полимеры с отпечатками пропионовой и масляной кислот. Показано, что МИП-сенсоры обладают высокой селективностью к той кислоте [111], которая являлась шаблоном при их синтезе. Предел обнаружения пропионовой и масляной кислот в растворах составил $7.40 \cdot 10^{-6}$ и $8.81 \cdot 10^{-6} \text{ г/дм}^3$ соответственно. Относительное стандартное отклонение составило менее 10 %. Разработанные сенсоры были апробированы при определении карбоновых кислот в промежуточных продуктах получения этилового спирта: бражном дистилляте, эппюрате, кубовой жидкости [77, 111 – 113].

Заключение к главе 1

На основании проведенного обзора литературы установлено, что консерванты могут оказывать негативное воздействие на организм человека, поэтому необходимо контролировать их содержание в пищевых продуктах. Широко используемые для определения консервантов электрохимические, спектральные методы, а также тонкослойная и высокоэффективная жидкостная хроматографии имеют недостатки: это сложная пробоподготовка, длительность проведения анализа и дорогостоящее оборудование. Следует также отметить, что необходимость определения консервантов в on-line режиме, без дополнительной пробоподготовки, дорогостоящего оборудования является актуальной задачей. Поэтому перспективным является использование химических сенсоров, в частности, пьезоэлектрических.

Показано, что пьезосенсоры, модифицированные молекулярно-импринтированными полимерами, обладают селективностью к целевым молекулам.

Глава 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ АНАЛИЗА

2.1. Физико-химические свойства консервантов

Консерванты – вещества, затрудняющие жизнедеятельность патогенных микроорганизмов, а также замедляющие окисление органических веществ кислородом. Существуют различные классификации консервантов, в частности, их подразделяют на натуральные (соль, сахар, уксус, лимонная кислота, спирты) и синтетические: ацетаты, бензоаты, нитраты, нитриты, пропионаты, сорбаты, сульфиты, фенилы и др. [114].

В работе использовали сорбат калия и бензоат натрия. Физико-химические свойства данных консервантов представлены в таблице 2.1.

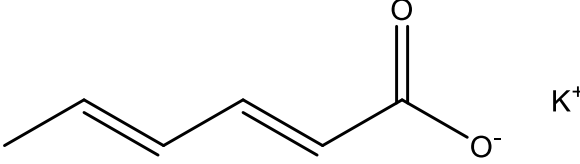
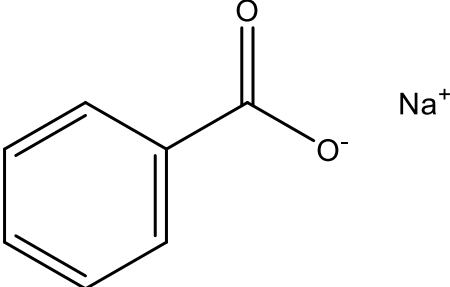
Сорбат калия (**E202**) – порошок белого цвета. Имеет нейтральный вкус, без запаха, поэтому его добавление в пищевые продукты не влияет на их вкус. Хорошо растворим в воде и мало в органических растворителях [13, 115].

Несмотря на две двойные связи в молекуле, в твердом состоянии сорбат калия очень не стабилен. В растворах при наличии кислорода происходит окисление, которое может сопровождаться появлением коричневой окраски. Однако при консервировании пищевых продуктов это не существенно, потому что пищевой продукт портится до того, как окисление сорбиновой кислоты станет заметно, и многие компоненты пищевого продукта (жиры, ароматические составляющие) значительно более чувствительны к окислению, чем сорбиновая кислота [13].

Бензоат натрия (**E211**) – порошок белого цвета без вкуса и запаха. Хорошо растворяется в воде, поэтому его чаще используют, чем бензойную кислоту. Для повышения эффективности бензоата натрия рН продукта должен быть ниже 4.5. Бензоат натрия используется в качестве противогрибкового и антибактериального консерванта в фармацевтических препаратах и пищевых продуктах [7, 116].

Таблица 2.1.

Физико-химические свойства консервантов [117, 118]

Название и код консерванта	Структурная формула	M _r	T _{кип} , °C	T _{пл} , °C	Растворимость в воде, г/100 г	Растворимость в этаноле, г/100 г
Сорбат калия (Potassium sorbate, 2,4-гексадиеноат калия), E202		150.22	133-135	270	58.2 (20°C)	6.5 (20°C)
Бензоат натрия (Sodium benzoate), E211		144.11	249.3	410	62.87 (30°C)	2.3 (25°C)

2.2. Напитки, используемые в работе

Напиток – это жидкость, предназначенная для употребления в пищу человеком. К напиткам относятся: питьевая вода, молоко, соки и безалкогольные напитки, кофе, чай, горячий шоколад, а также алкогольные напитки, такие как пиво, вино, водка и др. В связи с этим напитки можно подразделить на алкогольные, слабоалкогольные и безалкогольные.

Алкогольные напитки (спиртные напитки) – напитки, содержащие этанол, полученные путем брожения зерна, фруктов или других источников сахара [119].

Слабоалкогольные напитки – напитки, содержащие этиловый спирт не менее 1.2% и не более 9.0% объема готовой продукции, общая минерализация не более 1.0 г/дм³ [120].

Безалкогольные напитки – это напитки с общей минерализацией не более 1.0 г/дм³, объемной долей этилового спирта не более 0.5% и напитки на спиртосодержащем сырье не более 1.2% [30, 121].

Безалкогольные напитки можно подразделять на следующие: напитки с соком, ароматизированные и морсовые напитки, напитки на растительном сырье и напитки специального назначения.

В состав напитков входят: питьевая вода, сахар, диоксид углерода, витамины, минеральные вещества, подкислители, усилители вкуса и аромата, красители, консерванты, загустители, ароматические вещества и др. В качестве консервантов применяют бензоат натрия, сорбат калия, диметилдикарбонат и др. [122].

В работе использовали следующие безалкогольные напитки.

Напиток «Yes! Fruit» со вкусом персика (производство ООО «Лидер») [65]: вода питьевая подготовленная; сахар; концентрированный яблочный сок; регулятор кислотности – лимонная кислота; ароматизатор (стабилизаторы: E414, E445, красители: E110, E102, антиокислители: E307,

E320); консерванты – сорбат калия, бензоат натрия; подсластители: аспартам, ацесульфам калия.

Напиток «Чай холодный зеленый» (производство ООО «Здоровые продукты»): вода питьевая подготовленная; регулятор кислотности: лимонная кислота; подсластитель аспартам; ароматизатор «Зеленый чай компаунд» (краситель сахарный колер IV, экстракт зеленого чая), ароматизатор натуральный «Лимон»; консерванты: бензоат натрия, сорбат калия, антиокислитель аскорбиновая кислота.

Напиток «AQUA minerale» со вкусом мяты и лайма (производство ООО «Пепсико Холдингс») [65]: вода; сахар; мультифруктовый концентрированный сок (концентрированный сок лайма, яблочный концентрированный сок, лимонный концентрированный сок, концентрированный сок черешни); регулятор кислотности (E330); консерванты (E202, E211); ароматизатор натуральный; стабилизатор (E414).

Приготовление растворов консервантов

В работе использовали бензоат натрия и сорбат калия производства "Ningbo Wanglong Tech", Китай со степенью чистоты 99% [65].

Исходные растворы с концентрацией 1.0 г/дм³ готовили по навеске, взятой на аналитических весах, а затем методом последовательного разбавления получали серию растворов в диапазоне концентраций 0.5 – 500.0 мг/дм³ [30, 123].

2.3. Метод спектрофотометрии

В работе использовали однолучевой спектрофотометр BioSpec-mini-SHIMADZU, Япония.

Источник излучения – галогенная лампа. Детектор – кремниевый фотодиод. Спектральный диапазон: 190.0 – 1100.0 нм. Ширина щели: 5 нм. Погрешность установки длины волны не более: ± 1.0 нм. Воспроизводимость установки длины волны не более: ± 1.0 нм. Пределы абсолютной погрешности при измерении спектральных коэффициентов направленного пропускания не более ± 0.05 % [30, 110, 123].

При определении оптической плотности растворов консервантов использовали кварцевые кюветы с толщиной поглощающего слоя 1 см [30].

Определение консервантов проводили при следующих длинах волн: сорбата калия при – 254.5 нм, бензоата натрия при – 228 нм [30, 123].

2.4. Метод ИК-спектроскопии

В работе использовали ИК-спектрометр VERTEX-75 фирмы «Брукер», Германия [50, 124].

Характеристики прибора и условия получения спектров:

- детектор DTGS;
- источник Ceramic Source;
- светоделитель из Ge-on-KBr;
- разрешение 4 см^{-1} ;
- спектральный диапазон $4000 - 400 \text{ см}^{-1}$.

Расшифровку полученных результатов проводили с использованием литературы [30, 77, 124, 125].

Структурно-групповой анализ по данным ИК-спектроскопии

В ИК-спектрах бензоата натрия и сорбата калия присутствуют полосы поглощения, характерные для валентных колебаний C=O связей в Ar-COON 1700 – 1580 см⁻¹ и C=O связей [30], в ненасыщенных карбоновых кислотах 1715 – 1690 см⁻¹, взаимодействия колебаний связей C=O и O-H 1440 – 1395 см⁻¹. Полосы в областях 1530 – 1475 см⁻¹ характеризуются скелетными валентными колебаниями C-C связи. Характеристические частоты в областях 1250 – 950 см⁻¹ и 900 – 690 см⁻¹ относятся к плоскостным и внеплоскостным деформационным колебаниям C-H связи в бензольном кольце соответственно [77].

В ИК-спектрах молекулярно-импринтированных полимеров на основе полиимида присутствуют полосы поглощения, характерные для валентных колебаний групп C=O в имидных циклах (1730 – 1690 см⁻¹ и 1790 – 1740 см⁻¹). Присутствие минимума в области 3300 – 2500 см⁻¹, соответствующего колебаниям ассоциированных -COOH групп, обусловлено образованием водородных связей между карбоксильными и иминогруппами в имидогруппировках. Минимум вблизи 620 см⁻¹ характеризует деформационные колебания связи O=C-N (амид IV), обусловленные взаимодействием валентных колебаний связей C-N и C=O. Минимумы в области 1390 – 1360 см⁻¹ свидетельствуют об образовании ассоциатов иминогруппа-карбоксильная группа. Таким образом, для полиимида ПМ минимумы 1780 см⁻¹ (колебания C=O) и 1380 см⁻¹ (колебания C-N) являются характеристическими для имидного цикла, а также полоса 720 см⁻¹, соответствующая деформационным колебаниям имидного цикла [77].

В работе синтез МИПов проводили двухступенчатая температурная обработка при температуре 80⁰C и 180⁰C. В ходе синтеза под воздействием температуры образуются гидрофобные полимеры, в результате на ИК-спектрах существует непрерывное поглощение [77] (в области 3400 – 3000 см⁻¹) [77, 126 – 128].

2.5. Метод тонкослойной хроматографии

Одним из референтных методов при определении сорбата калия и бензоата натрия в пищевых продуктах использовали тонкослойную хроматографию [129].

Приготовление образца для анализа: взяли 10 см³ раствора напитка, добавили 2 г Na₂SO₄ и раствор серной кислоты до pH 2 – 3, интенсивно перемешали и экстрагировали бензоат натрия и сорбат калия не менее 3 раза по 10 см³ этилацетатом. Полученный экстракт 1 г сушили и упаривали в фарфоровой чашке при температуре 45 – 50⁰C до конечного объема 1 см³ [130].

В работе применяли пластины «Сорбфил». В составе элюента использовали смесь растворителей: петролейный эфир – хлороформ – диэтиловый эфир – муравьиная кислота = 20:8:2.8:1.2 в отношении объемов [122, 130, 131]. Нанесение проб на пластинку ТСХ проводили микрошприцем по 2 мкл. Затем пластинку опускали в камеру. После поднятия фронта элюента пластинку вынимали, подсушивали, проявляли в УФ-свете с волной 254 нм и сканировали в формате jpeg. Обработку изображений проводили с помощью программы Sorbfil TLC Videodensitometer.

2.6. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии

Определение консервантов проводили методом ВЭЖХ на приборе Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, CA, USA).

Условия анализа: Колонка Zorbax Extend-C18 (Rapid Resolution HT 2.1x50 мм; 1.8 мкм) в комплексе Agilent 1260 Infinity. В качестве подвижной фазы применяли смесь ацетонитрила и 1% формиатного буферного раствора (30:70) при pH 4.3. Индикацию кислот осуществляли УФ-детектором при 227 нм для бензоата натрия и при 260 нм для сорбата калия. Температура

термостата колонок 25°C. Объем ижектируемой пробы 1 мкл. Скорость потока 0.4 см³ /мин.

Приготовление образца для анализа: 10 см³ образца поместили в центрифужную пробирку вместимостью 50 см³, добавили 40 см³ раствора подвижной фазы и тщательно гомогенизировали. Гомогенат перемешивали в течение 15 мин, а затем центрифугировали 5 мин с центробежным ускорением 4000 д.

Полученный раствор фильтровали через бумажный фильтр «белая лента», а затем через мембранный фильтр с диаметром пор 0.45 мкм в хроматографическую вialу вместимостью 2 см³.

Для построения градуировочного графика измеряли площади пиков, соответствующие концентрациям сорбата калия и бензоата натрия в градуировочных растворах. Рассчитывали концентрации сорбата калия и бензоата натрия в образцах по полученным градуировочным графикам.

2.7. Способ определения консервантов в жидкостях пьезосенсорами

Определение бензоата натрия и сорбата калия в жидкостях проводили на установке, состоящей из пьезосенсора, портативного генератора, USB-частотомера MP732 (Рис. 2.1).

В работе использовали пьезокварцевые резонаторы АТ-среза (угол среза 35'25'') с серебряными электродами толщиной 0.01 мм и диаметром 5 мм, с номинальной резонансной частотой 4.608 МГц производства ОАО «Пьезокварц», г. Москва [110, 112].

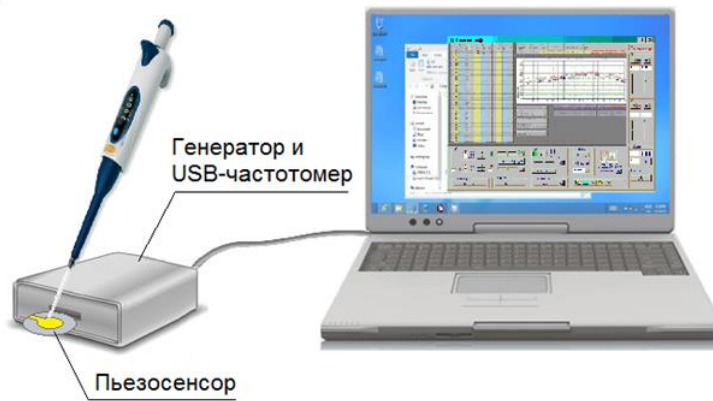


Рис. 2.1. Установка для определения консервантов в жидкостях пьезокварцевым сенсором [110, 112, 132]

Для проведения измерения пьезосенсор закрепляли так, чтобы поверхность электрода была горизонтальной и ровной. Проводили измерение в следующем порядке. Первый шаг: записывали значение частоты колебаний пьезосенсора на воздухе (без нагрузки).

Второй шаг: наносили 1 мкл дистиллированной воды (холостой пробы) на поверхность электрода с помощью микрошприца. Записывали значение частоты колебаний пьезосенсора (f_1) в течение 10 с. Затем удаляли воду фильтровальной бумагой.

Третий шаг: наносили 1 мкл анализируемого раствора и записывали (f_2). Относительный сдвиг частоты (Δf) рассчитывали по формуле:

$$\Delta f = f_1 - f_2, \quad (2.1)$$

где f_1 и f_2 – соответственно частота колебания пьезосенсора с холостой пробой и с анализируемой пробой, кГц [77].

Частоту колебаний пьезосенсора (f_2) проводили, начиная с минимальной концентрации. По полученным результатам строили градуировочный график, зависимость разностной частоты колебаний сенсора (Δf) от $-\lg C$ [112].

После завершения измерений пьезосенсор промывали дистиллированной водой и сушили в сушильном шкафу при 50°C [110, 112].

Для оценки влияния «матрицы» определяемого консерванта на величину аналитического сигнала использовали метод добавок. Неизвестную концентрацию определяемого консерванта в анализируемой пробе определяли по формуле [112, 133]:

$$C_x = \frac{\Delta f_x \cdot V_{\text{доб}} \cdot C_{\text{доб}}}{\Delta f_{x+\text{доб}} \cdot V_{\text{доб}} + (\Delta f_{x+\text{доб}} - \Delta f_x) \cdot V_x}, \quad (2.2)$$

где Δf_x , $\Delta f_{x+\text{доб}}$ – разностная частота колебаний сенсора при контакте с анализируемым раствором и анализируемым раствором с известной добавкой определяемого консерванта соответственно; $V_{\text{доб}}$, $C_{\text{доб}}$ – соответственно объем и концентрация добавленного раствора определяемого консерванта; V_x – объем анализируемого раствора [30, 110, 112].

2.8. Селективные материалы для модификации пьезосенсоров

Для получения селективных пьезосенсоров поверхность их электродов модифицировали молекулярно-импринтированными полимерами на основе полиимидов с отпечатками консервантов [30, 50, 77, 134].

Методика получения молекулярно-импринтированных полимеров

Для модификации электродов сенсоров использовали сополимер 1,2,4,5- бензолтетракарбоновой кислоты и 4,4' диаминодифенилоксида (ОАО МИПП НПО «Пластик»). Среднее молекулярно-массовое распределение сополимера составляет 15 – 55 тыс. у.е. [30, 135].

Полиимид имеет молекулярную массу звена $M = 382$ г/моль, температуру разложения $T_{\text{разл}} = 525^\circ\text{C}$, плотность $\rho = 1$ г/см³ при $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$. Конфигурация скелета цепи имеет вид плоского зигзага [30, 136]. Схема синтеза полиимида представлена на рисунке 2.2 [30, 50, 77].

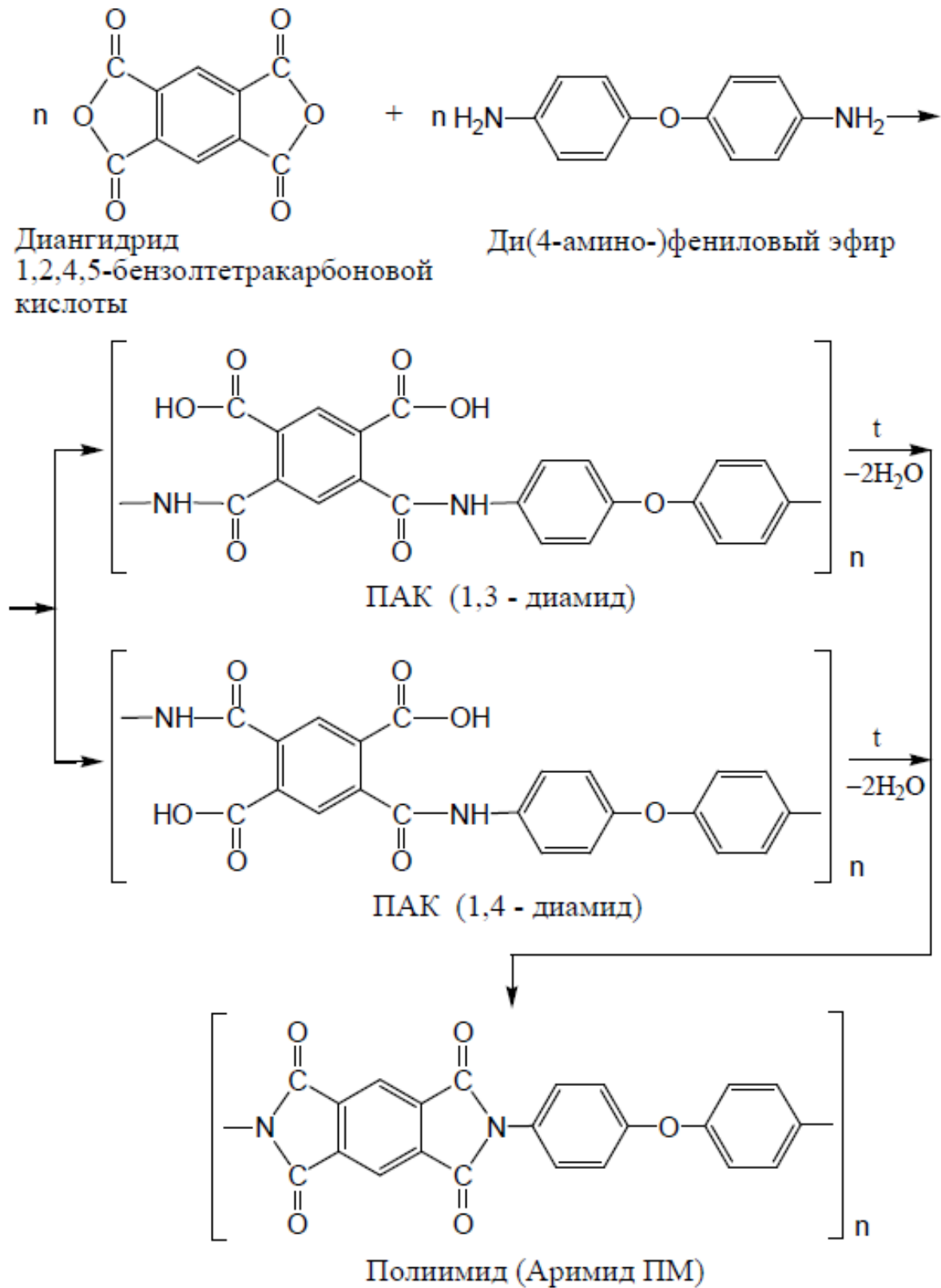


Рис. 2.2. Схема синтеза полиимида [77, 137, 138]

Синтез молекулярно-импринтированных полимеров проводили следующим образом: готовили предполимеризационную смесь, содержащую

сополимер диангида 1,2,4,5-бензолтетракарбоновой кислоты с 4,4'-диаминодифенилоксидом [30] и водно-спиртовой раствор консерванта в соотношении 1:1 по объему, в качестве темплата (консерванта) были бензоат натрия (E211) и сорбат калия (E202). Затем наносили полученную смесь на поверхность пьезосенсора и проводили двухступенчатую термоимидизацию в сушильном шкафу [112]. На первой ступени при температуре 80°C в течение одного часа проходило удаление растворителя из полимеризационной смеси. На второй ступени при температуре 180°C в течение 30 минут проходил процесс отщепления воды и образование имидных связей, а также удаление остатков растворителя.

После синтеза пьезосенсоры охлаждали до комнатной температуры, промывали дистиллированной водой и оставляли на 24 часа в дистиллированной воде для удаления шаблона из полимерной матрицы. После чего сенсор сушили при 50°C в течение 1 часа. В тех же условиях, но без добавления шаблона (темплата) получали неимпринтированный полимер (НИП) или полимеры сравнения (ПС) [17, 110, 139, 140].

Оценка степени имидизации полимеров на основе полиимидов

Степень имидизации полимеров (R_i , %) устанавливали методом потенциометрического титрования. Пленки исходного полиимиды и пленки МИП сушили при 80°C, затем взвешивали 20 мг точной массы пленки на аналитических весах, помещали в стакан и добавляли 10 см³ дистиллированной воды. После чего титровали полученный раствор стандартным раствором 0.01 М NaOH методом потенциометрического титрования на потенциометре ЭВ-74. После добавления порций раствора титранта NaOH равновесие устанавливалось в течение 1 минуты. Общее время проведения анализа составляло около 10 минут. Точку эквивалентности (конечную точку титрования) определяли графическим методом [50]. Объемную емкость E пленок (в ммоль/г) определяли по уравнению [50]:

$$E = \frac{V_{\text{NaOH}} \cdot C_{\text{NaOH}}}{m_{\text{пл}}}, \quad (2.3)$$

где V_{NaOH} – объем щелочи, пошедшей на титрование, см^3 ; C_{NaOH} – концентрация щелочи; $m_{\text{пл}}$ – масса пленки, г [50, 56, 66].

Степень имидизации полимеров (R_i , %) рассчитывали по уравнению:

$$R_i = \frac{E_o - E_i}{E_o} \cdot 100, \quad (2.4)$$

где E_o – обменная емкость исходного полиимида, E_i – обменная емкость продукта ее термической имидизации, при этом $E_o = 4.78$ ммоль/г, рассчитанная из формулы элементарного звена полимера [50, 56].

2.9. Метод сканирующей силовой микроскопии

В работе для анализа морфологии поверхности материалов с нанометровым пространственным разрешением использовали метод зондовой микроскопии – сканирующую силовую микроскопию (ССМ). В основе работы лежит регистрация взаимодействия зонда с исследуемой поверхностью [30, 141, 142].

Сканирование образцов проводили на микроскопе «Solver P47 PRO» производства ЗАО «НТ-МДТ», Зеленоград в полуконтактном режиме [138] зондом NSG03 длиной 150 ± 10 мкм, жесткость 1.74 Н/м. Полученные ССМ-изображения обрабатывали с помощью программы ФемтоСкан-001 [17, 30, 56, 143].

2.10. Метод электронной микроскопии

Определение содержания элементов проводили с помощью электронного микроскопа JSM-6380LV JEOL с системой микроанализа INCA 250 на области полимера 100 мкм [56]. Образцы полимеров наносили на подложку из сплава цинка и серебра для обеспечения отражения электронов [56, 138]. Относительная погрешность в определении содержания элементов не превышала 1% [50, 56].

2.11. Сорбция консервантов полимерами

В работе изучена сорбция сорбата калия и бензоата натрия полимерами в водных растворах. Для определения концентрации растворов использовали метод прямой кондуктометрии (Рис. 2.3.) [144].

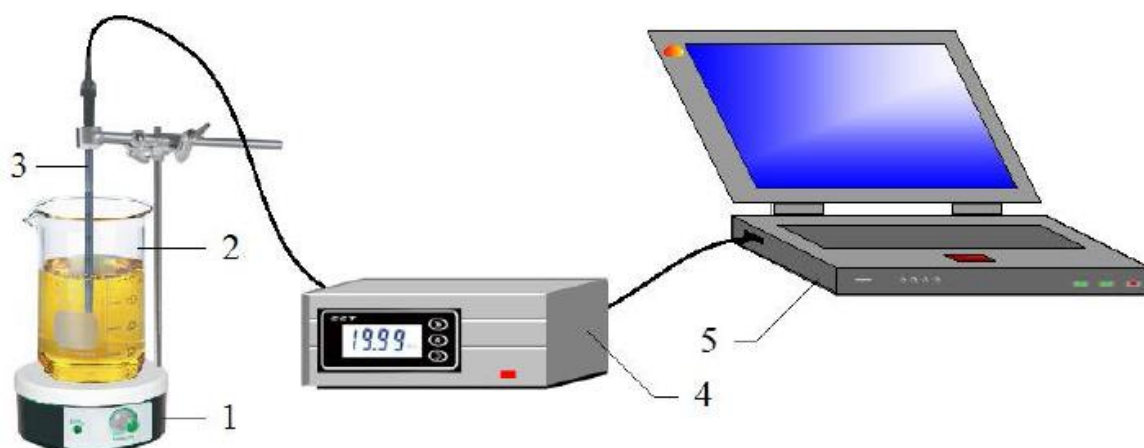


Рис. 2.3. Схема кондуктометрической установки [77, 144]

- 1 – электромагнитная мешалка; 2 – стакан с исследуемым раствором;
3 – электрод; 4 – кондуктометр; 5 – компьютер [50, 77, 144, 145]

Условия проведения сорбции в статическом режиме

Навеску полимера (0.25 ± 0.0002 г) поместили в стакан и добавили 25 см^3 исследуемого раствора, погрузили электрод и включили магнитную мешалку. Электропроводность растворов определяли на кондуктометре ССТ-3320Т при постоянном перемешивании.

Исходные стандартные растворы сорбата калия и бензоата натрия готовили растворением точной навески в дистиллированной воде в диапазоне $5 - 500 \text{ мг/дм}^3$ [56].

По полученным результатам построили градуировочный график зависимости электрической проводимости (Е) от концентрации исследуемого раствора (С) [50, 145].

Количество сорбированного вещества рассчитывали по формуле [30, 145]:

$$A = \frac{(C_o - C_{\text{равн.}}) \cdot V}{m}, \quad (2.5)$$

где А – количество сорбированного на поверхности полимера консерванта мг/г; C_o – исходная концентрация консерванта в растворе, мг/дм^3 ; $C_{\text{равн}}$ – равновесная концентрация консерванта в растворе после сорбции, мг/дм^3 ; m – масса сорбента-полимера, г; V – объем раствора, дм^3 [30, 145].

По полученным результатам высчитывали степени извлечения (R, %):

$$R, \% = \frac{(C_o - C) \cdot 100}{C_o}, \quad (2.6)$$

где C_o – концентрация консервантов в растворе до сорбции, моль/дм^3 ; C – концентрация в растворе после сорбции, моль/дм^3 [50, 111, 145].

Коэффициенты распределения (D) вычисляли по уравнению:

$$D = \frac{R}{(100 - R)} \cdot \frac{V}{m}, \quad (2.7)$$

где m – масса навески сорбента, г; V – объем анализируемого раствора, дм^3 [50, 145, 146].

Для оценки способности пьезосенсоров с МИП распознавать молекулы-шаблоны использовали импринтинг-фактор, который рассчитывались по формуле:

$$IF = \frac{D_{\text{МИП}}}{D_{\text{ПС}}}, \quad (2.8)$$

где $D_{\text{МИП}}$ и $D_{\text{ПС}}$ – соответственно коэффициент распределения вещества для молекулярно-импринтированного полимера и полимера сравнения [50, 145, 146].

2.12. Статистическая обработка результатов

Для оценки точности и надежности полученных результатов использовали метод математической статистики для малых выборок [147].

В качестве меры разброса результатов измерений использовали стандартное отклонение s , которое определяли по формуле [50, 77]:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}, \quad (2.9)$$

где x_i – результат единичного измерения; \bar{x} – среднее арифметическое исследуемой величины; n – количество параллельных измерений [50, 77].

Относительное стандартное отклонения s_r рассчитывали по формуле [50, 77]:

$$s_r = \frac{s}{x} \cdot 100, \quad (2.10)$$

Полуширину доверительного интервала ε рассчитывали по следующей формуле [50, 77]:

$$\varepsilon = \pm \frac{t_{P,f} \cdot s}{\sqrt{n}}, \quad (2.11)$$

где t – коэффициент Стьюдента [77], вероятность $P = 0.95$, $f = n - 1$ – число степеней свободы [50, 77, 148]:

Проводили оценку статистически значимого различия между [30] величинами квадратов стандартных отклонений s_1^2 и s_2^2 с помощью критерия F-тест. Величину F рассчитывали по формуле [50, 77]:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2}. \quad (2.12)$$

При заданной доверительной вероятности, если величина $F < F_{\text{табл.}}$, то различие между дисперсиями незначимо [148]. Тогда использовали t-тест Стьюдента для сравнения двух средних данных [50, 77].

Среднее стандартное отклонение s_p определяли по формуле [50, 77]:

$$s_p = \sqrt{s_p^2} = \sqrt{\frac{f_1 \cdot s_1^2 + f_2 \cdot s_2^2}{f_1 + f_2}}, \quad (2.13)$$

где $f_1 = n_1 - 1$ и $f_2 = n_2 - 1$ – числа степеней свободы соответствующих дисперсий; $f = f_1 + f_2$ – число степеней свободы [50, 77].

t-тест Стьюдента рассчитывали по формуле:

$$t_{p,f} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_p} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}}. \quad (2.14)$$

Если $t_{p,f} > t_{\text{табл.}}$, то имеет значимое различие между \bar{x}_1 и \bar{x}_2 [50, 77].

Глава 3. ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ СЕЛЕКТИВНЫХ МАТЕРИАЛОВ СЕНСОРОВ

3.1. Изучение некоторых свойств полимеров с отпечатками консервантов

Молекулярно-импринтированные полимеры применяются в процессах разделения и концентрирования веществ, в хроматографии, в различных сенсорных системах и др.

Среди многообразия полимерных материалов, способных избирательно сорбировать целевые компоненты, хорошо зарекомендовали себя полиимиды [149 – 152]. В связи с этим представлялось актуальным исследование свойств этих материалов.

В работах [134, 136] показано, что синтез полиимида осуществляется в два этапа. Сильнооштитый ароматический полиимид образуется вместе с небольшим остаточным количеством карбоксильных групп. Поэтому степень имидизации – нормированный коэффициент превращения [50] между ПАК и имидными группами.

По результатам, полученным методом потенциометрического титрования [149], можно рассчитать обменную емкость E и степень имидизации (R) пленки полиимида и пленки МИП (Табл. 3.1) [50].

Таблица 3.1.

Обменная емкость и степень имидизации МИП-202 и МИП-211

Пленка	Обменная емкость, E , ммоль/г	Степень имидизации, R , %
ПС	0.091	98.01
МИП-Е202	0.101	97.89
МИП-Е211	0.096	97.99

Обменная емкость полученных полимеров не превышает 0.101 ммоль/г, что свидетельствует о незначительном содержании в них карбоксильных групп.

При этом степень имидизации полимерных пленок выше 97 %, что характерно для полностью имидизированных полиимидов. Таким образом, в работе получены молекулярно-импринтированные полиимиды.

Эти полимеры, используемые в качестве селективных слоев сенсоров, представляют собой пористые пленки, в которых форма и размеры пор соответствуют структуре молекулы-шаблона (темплата). Несмотря на существование методики получения МИПов на основе полиимидов [139, 140] для каждого конкретного случая требуется подбор условий: соотношение предполимеризационная смесь-темплат (ППС:Т), температуру имидизации, выбор растворителя для удаления темплата из полимера.

В качестве одной из характеристик эффективности МИПов является импринтинг-фактор (IF), показывающий способность МИПа распознавать молекулы-темплата по сравнению с исходным полиимидом (полимером сравнения, ПС). Поэтому в работе был выбор соотношений предполимеризационная смесь-темплат. Значения импринтинг-фактора (IF) для различных соотношений ППС:Т, использованных при синтезе МИП-Е202 и МИП-Е211, представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2.

Значения импринтинг-фактора (IF) для различных соотношений ППС:Т

ППС:Т	IF	
	МИП-Е202	МИП-Е211
1:2	4.5	5.2
1:1	5.4	6.0
2:1	3.6	4.5
3:1	3.2	3.6

Из таблицы 3.2 видно, что наибольшее значение импринтинг-фактора характерно для молекулярно-импринтированных полимеров, полученных при соотношении ППС:Т = 1:1 [65]. При увеличении предполимеризационной смеси в соотношении ППС:Т значение импринтинг-фактора уменьшается.

Методом ИК-спектроскопии проведен структурно-групповой анализ полиимида и молекулярно-импринтированных полиимидов с отпечатками сорбата калия и бензоата натрия [17]. Фрагменты ИК-спектров представлены на рисунках 3.1 и 3.2. (Полные ИК-спектры приведены на рисунках А.1 – А.2 Приложения А), характеристические частоты колебаний групп атомов рассмотренных полимеров представлены в таблице 3.3.

В ИК-спектрах всех полимеров присутствует минимум в области $2368 - 2362 \text{ см}^{-1}$, относящийся к колебаниям ассоциированных $-\text{COOH}$ групп между карбоксильными группами и иминогруппами в имидогруппировках. Полосы в областях $1730 - 1690 \text{ см}^{-1}$ и $1790 - 1740 \text{ см}^{-1}$ (симметричные и асимметричные валентные колебания групп $\text{C}=\text{O}$ в имидных циклах) и в областях $1390 - 1360 \text{ см}^{-1}$ (валентные колебания $\text{C}-\text{N}$ полиимидов) показывают наличие имидных циклов. Для данных полимерных структур, характерно наличие полос поглощения соответствующих колебаниям бензольного кольца в областях $1530 - 1475 \text{ см}^{-1}$ (скелетные валентные колебания $\text{C}-\text{C}$ связи в бензольном кольце), $1250 - 950 \text{ см}^{-1}$ и $900 - 690 \text{ см}^{-1}$ (плоскостные и внеплоскостные деформационные колебания $\text{C}-\text{H}$ связи в бензольном кольце). Для полиимида минимумы в областях $1020 - 890 \text{ см}^{-1}$ и $750 - 650 \text{ см}^{-1}$ характеризуют неплоские и внеплоскостные деформационные колебания $\text{O}-\text{H}$ связи. Полоса в области $1320 - 1210 \text{ см}^{-1}$ соответствует валентным колебаниям $\text{C}-\text{O}$ групп, а $\text{Ar}-\text{O}-\text{Ar}$ в областях $1290 - 1230 \text{ см}^{-1}$. Минимум вблизи 620 см^{-1} характеризует деформационные колебания связи $\text{O}=\text{C}-\text{N}$ (амид IV) и связан с взаимодействием валентных колебаний связей [77] $\text{C}-\text{N}$ и $\text{C}=\text{O}$ [17, 77, 126, 127].

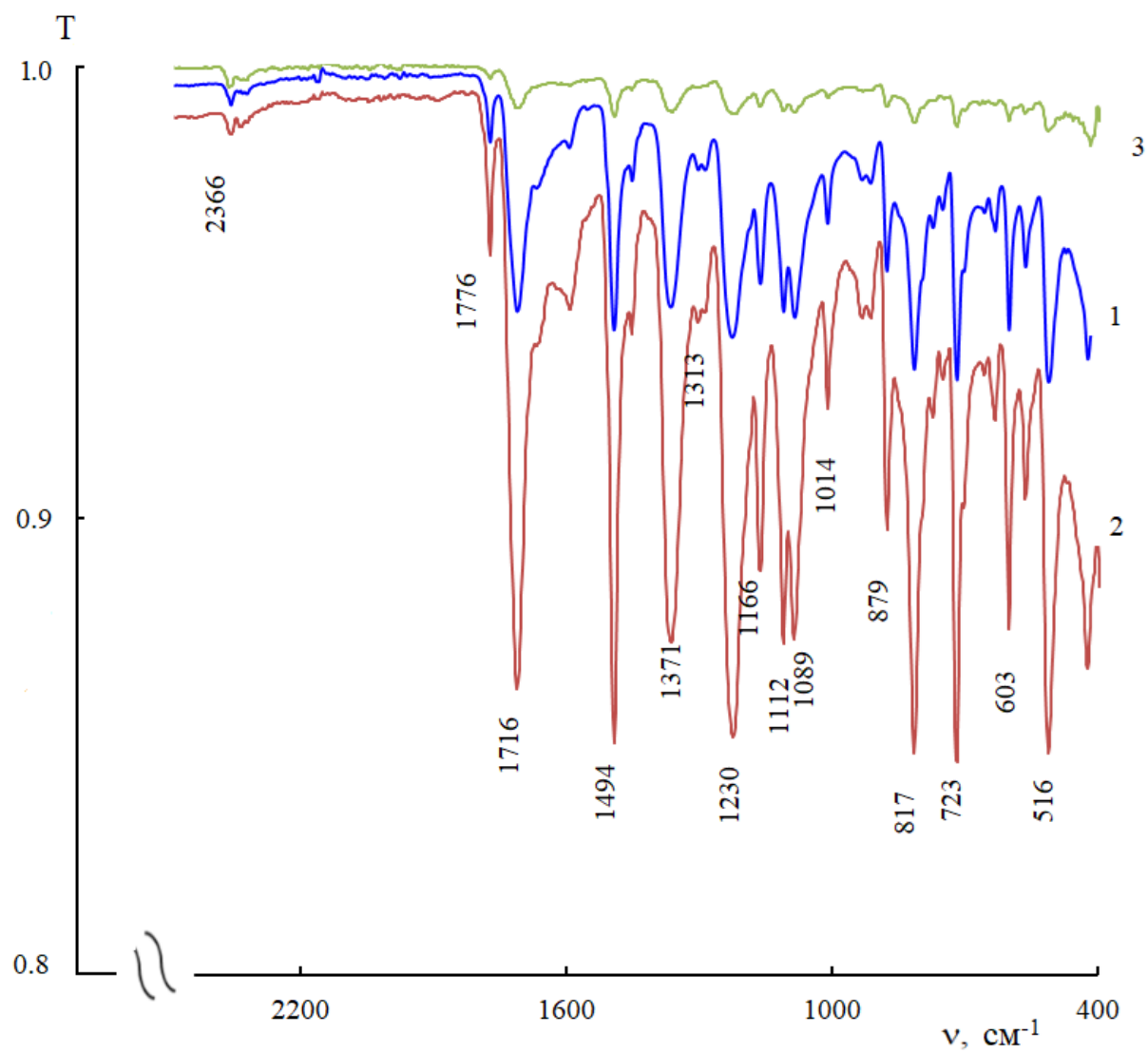


Рис. 3.1. ИК-спектры полимерных пленок

1 – полимер сравнения; 2 – полимер с сорбатом калия;

3 – молекулярно-импринтированный полимер с отпечатком сорбата калия

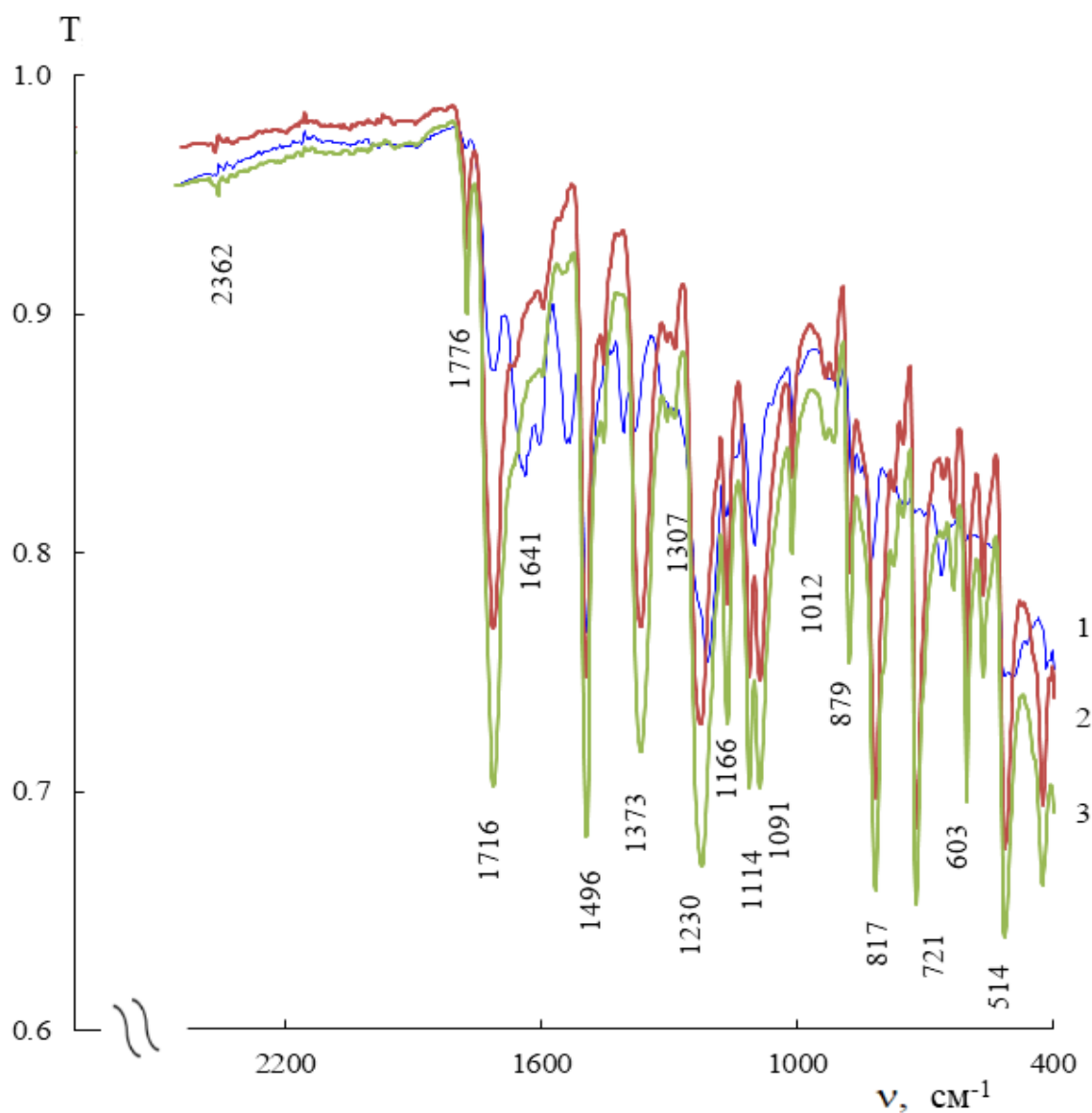


Рис. 3.2. ИК-спектры полимерных пленок

1 – полимер сравнения; 2 – полимер с бензоатом натрия;

3 – молекулярно-импринтированный полимер с отпечатком бензоата натрия

Анализ ИК-спектров полимеров показал, что молекулярно-импринтированные полимеры и неимпринтированный полиимид не имеют существенных изменений. Это свидетельствует о сохранении при синтезе молекулярно-импринтированных полимеров «лестничной» структуры [56, 153], свойственной этому полиимиду. Тем не менее интенсивность характеристических частот для полимеров с отпечатками консервантов увеличивается [17]. Это может быть связано с тем, что полученные отпечатки

легко доступны для молекул гидратной воды, о чем свидетельствуют характеристические частоты для $\text{H}_2\text{O}\dots\text{H}_2\text{O}$ ($3404 - 3402 \text{ см}^{-1}$) и $\text{COO}^-\dots\text{H}_2\text{O}$ ($2368 - 2362 \text{ см}^{-1}$). ИК-спектры представлены на рисунках А.1 и А.2 Приложения А.

Таблица 3.3.

Характеристические частоты групп атомов в полимерах

Отнесение колебаний	Частота колебания ν , см^{-1}					
	[126, 150]	ПС	ПС+E211	ПС-E211	ПС+E202	ПС-E202
Ассоц. COOH группа	3300-2000	2362	2368	2362	2366	2366
$\nu_{\text{as}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1790-1740	1776	1776	1776	1776	1776
$\nu_{\text{s}} \text{C}=\text{O}$ в имидах	1730-1690	1716	1716	1716	1716	1716
Скелетные $\nu \text{C}-\text{C}$ в бензольном кольце	1530-1475	1494	1496	1496	1496	1496
$\nu \text{C}-\text{N}$ полиимидов	1390-1360	1373	1373	1373	1371	1369
$\nu \text{C}-\text{O}$	1320-1210	1307	1307	1307	1313	1313
$\nu \text{Ar}-\text{O}-\text{Ar}$	1290-1230	1234	1232	1230	1230	1232
$\delta_{\text{ip}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	1250-950	1166	1166	1166	1166	1166
$\delta \text{C}-\text{C}$	1125-1090	1089	1114, 1091	1114, 1091	1112, 1089	1112, 1089
Неплоские δOH	1020-890	1014	1014	1012	1014	1014
$\delta_{\text{oop}} \text{C}-\text{H}$ в бензольном кольце	900-690	817	817	817	817	819
$\delta_{\text{oop}} \text{OH}$	750-650	721	721	721	723	723
$\delta \text{O}=\text{C}-\text{N}$ (Амид IV)	~620	603	603	603	603	603

Данные элементного анализа, полученные на приборе JSM-6380LV, также свидетельствуют о том, что составы молекулярно-импринтированных полимеров и их полимеров сравнения совпадают [50]. Остаточное

содержание сорбата калия и бензоата натрия в полученных МИП не превышает 5%.

Поскольку молекулярно-импринтированные полимеры перспективны в качестве селективных материалов сенсоров, то целесообразно оценить влияние количества отпечатков на поверхности селективного слоя на характеристики сенсоров [65].

Методом пьезокварцевого микровзвешивания (Табл. 3.4) определили массу покрытия после формирования пленки МИП (m_1), массу пленки после удаления темплата (m_2) и Δm разность между их массами. Молярную концентрацию поверхностных отпечатков рассчитали по уравнению:

$$R = \Delta m / (S \cdot M),$$

где S – площадь электрода пьезокварцевого сенсора (0.196 см²), M – молярная масса [65, 155].

Таблица 3.4.

Влияние концентрации сорбата калия и бензоата натрия (C , г/см³) на количество поверхностных отпечатков

ППС:Т	C , г/см ³	m_1 , мкг	m_2 , мкг	Δm , мкг	R , мкмоль/см ²
Сорбат калия					
1:2	0.2	27.47	24.37	3.10	0.105
1:1	0.1	27.16	22.83	4.33	0.147
2:1	0.1	27.94	23.67	4.27	0.145
3:1	0.1	28.64	24.58	4.06	0.138
Бензоат натрия					
1:2	0.2	26.22	23.07	3.15	0.111
1:1	0.1	25.62	21.58	4.04	0.143
2:1	0.1	25.83	21.90	3.93	0.139
3:1	0.1	26.15	22.37	3.78	0.134

В ходе работы установлено, что для получения максимального количества молекулярных отпечатков на поверхности пленки МИП требуется 0.1 г/см^3 темплата в предполимеризационной смеси. Увеличение концентрации темплата выше 0.1 г/см^3 приводит к снижению числа поверхностных отпечатков [65]. Кроме того, при концентрации более 0.2 г/см^3 темплат перестает растворяться в предполимеризационной смеси.

Концентрация темплата в предполимеризационной смеси, несомненно, влияет на количество поверхностных сайтов молекулярного распознавания, получаемых после синтеза полимерной пленки. Это может быть использовано при создании сорбентов с заданными свойствами, в частности, для повышения эффективности процессов выделения и разделения веществ [65].

3.2. Сорбция консервантов молекулярно-импринтированными полимерами

Поскольку МИП-сенсор разрабатывался для анализа в жидких средах, была проведена оценка способности МИП и полиимида сорбировать консерванты сорбат калия и бензоат натрия из водных растворов.

Кинетические кривые сорбции для МИП-E202, МИП-E211 и полимеров сравнения представлены на рисунках 3.3 и 3.4. Время установления равновесия составляет для полимера сравнения: 20 мин; для МИП-E202 и МИП-E211: 25 мин.

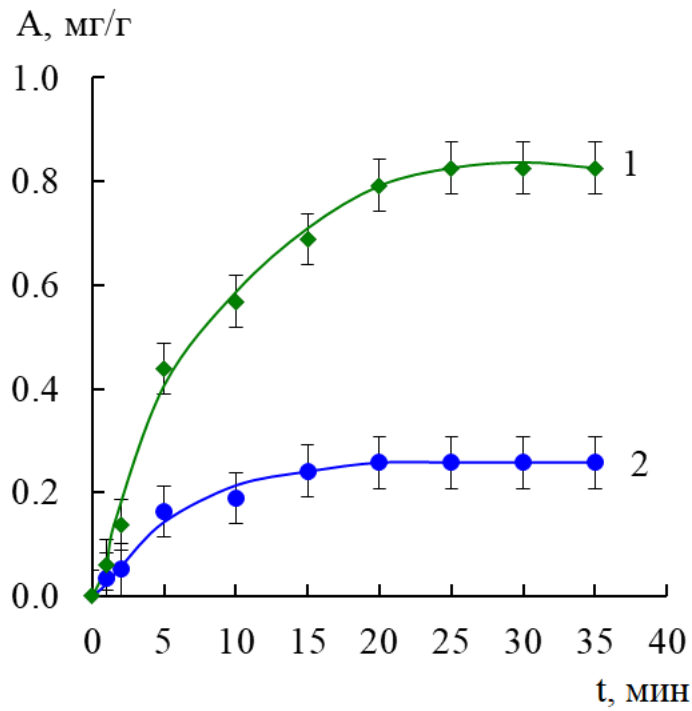


Рис. 3.3. Кинетические кривые сорбции сорбата калия (E202)
1 – МИП-E202; 2 – ПС

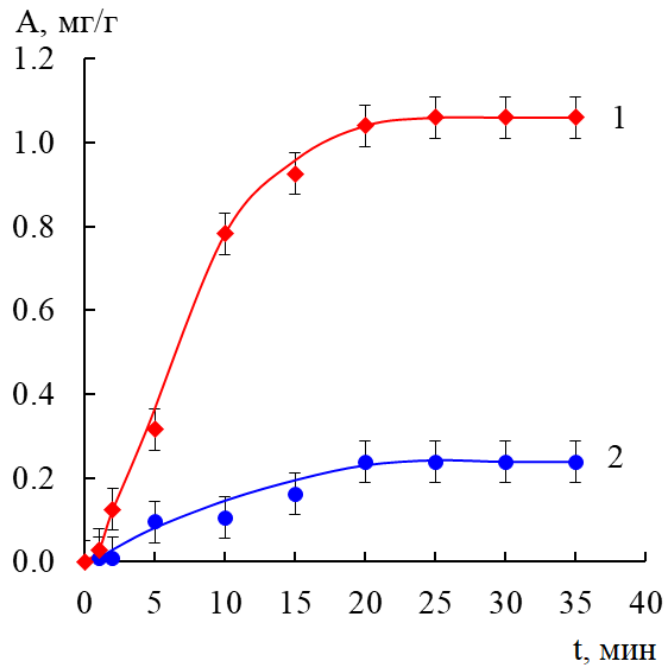


Рис. 3.4. Кинетические кривые сорбции бензоата натрия (E211)
1 – МИП-E211; 2 – ПС

Изотермы сорбции для молекулярно-импринтированных полимеров и полиимида (полимера сравнения) имеют сходный вид. В структуре имидизированных полиамидокислот присутствуют активные атомы водорода

[135] и функциональные группы – OH, – C=O, –NH, поэтому сорбция консервантов может осуществляться за счет электростатических взаимодействий анионных форм консервантов с поверхностью полимера или образования водородных связей с сорбентом [135, 156].

Вид изотерм сорбции E202 и E211 характерен для микропористых сорбентов и относится к L-типу мономолекулярной адсорбции [145]. Изотермы сорбции E202 и E211 представлены на рисунках 3.5 и 3.6. Сорбция консервантов МИПами осуществляется за счет образования Н-связей между карбоксильными группами сорбата и сорбента [111] или карбоксильной группой консервантов и иминогруппой полимера, что подтверждается наличием в ИК-спектрах характеристических частот [77] для $\text{COO}^- \dots \text{H}_2\text{O}$ ($2368 - 2362 \text{ см}^{-1}$) [30] и для $=\text{NH} \dots \text{H}_2\text{O}$ ($1373 - 1369 \text{ см}^{-1}$). Предполагаемый механизм взаимодействия сорбата и сорбента представлен на рисунке 3.7 и рисунке Г.1 Приложения Г.

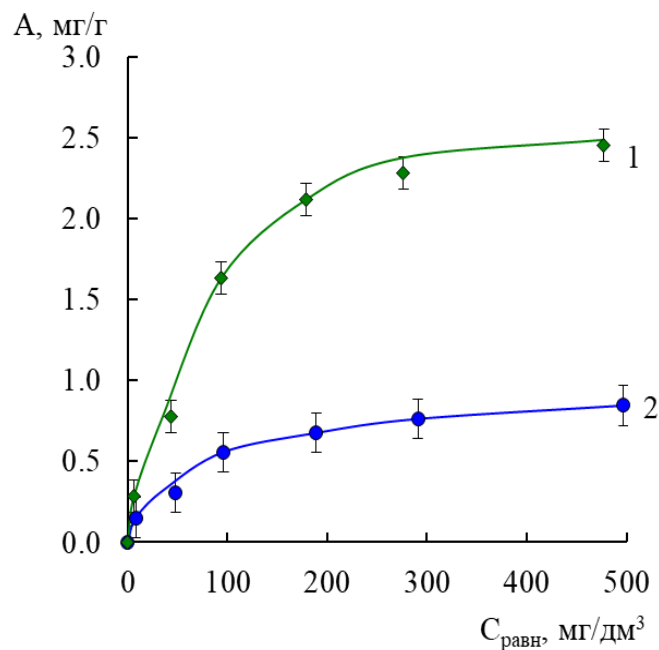


Рис. 3.5. Изотерма сорбции сорбата калия (E202)

1 – МИП-E202; 2 – ПС

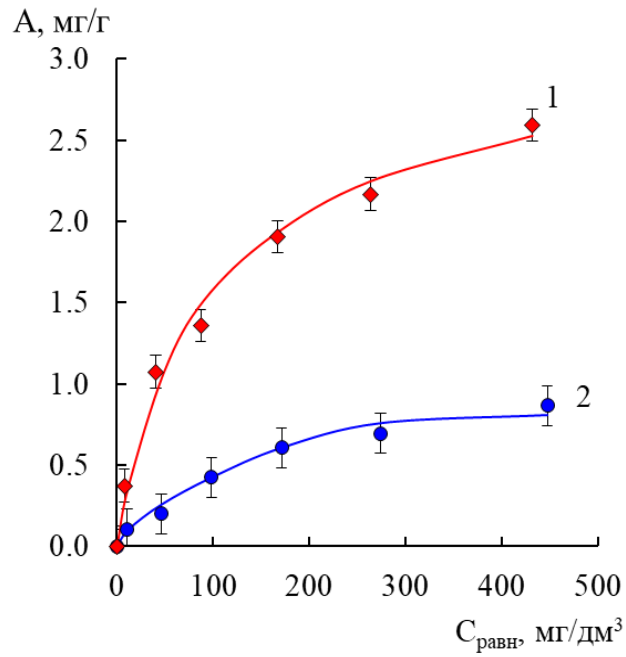


Рис. 3.6. Изотерма сорбции бензоата натрия (E211)

1 – МИП-E211; 2 – ПС

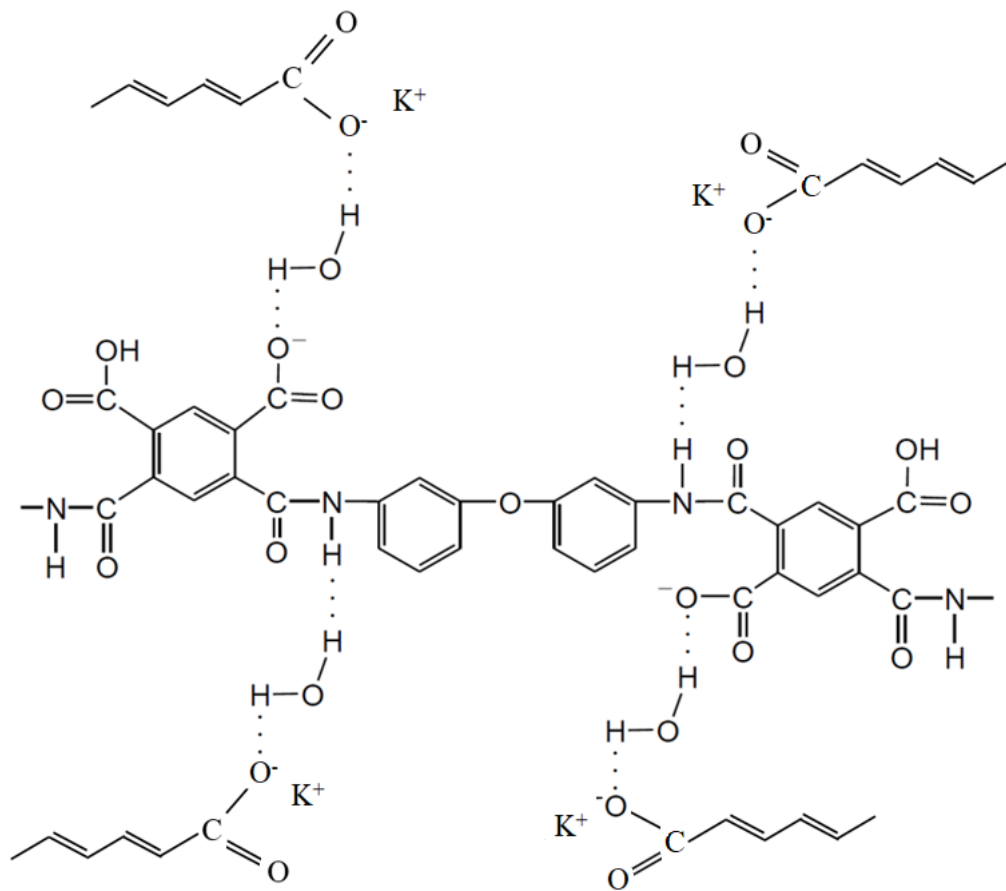


Рис. 3.7. Схема образования Н-связей молекул сорбата калия и структурного звена полиимида

Для изотерм класса L характерна независимость теплоты адсорбции от степени заполнения поверхности и отсутствие конкуренции со стороны растворителя. Также для изотерм этого класса характерен выгнутый относительно оси концентраций начальный участок, так как с увеличением доли занятых адсорбционных мест молекулам адсорбтива сложнее найти вакантное место [157]. Поэтому полное заполнение пор происходило при низкой концентрации [145, 158].

Количество сорбированных консервантов молекулярно-импринтированными полимерами и их полимерами сравнения представлены на рисунке 3.8.

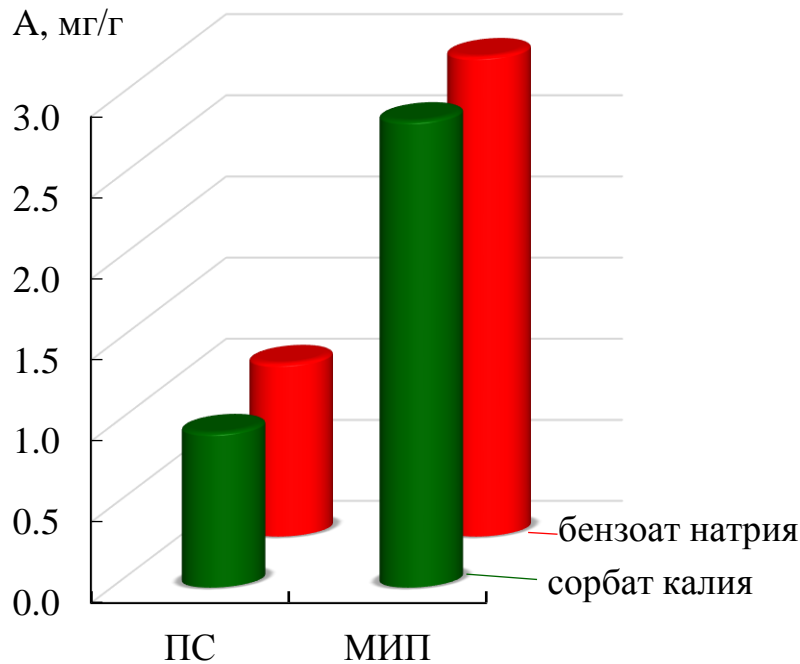


Рис. 3.8. Количество сорбированных консервантов полимерами с отпечатками сорбата калия, бензоата натрия и полимером сравнения

Установлено, что лучшая способность к сорбции наблюдается у молекулярно-импринтированных полимеров с отпечатками E202, E211 по сравнению с их исходными полимерами. Максимальное количество

сорбированного вещества для МИП-Е202 и МИП-Е211 составляет 2.88 мг/г и 2.96 мг/г соответственно.

Для оценки свойств полученных полимеров рассчитаны степени извлечения, коэффициенты распределения и импринтинг-фактор, представленные в таблице 3.5.

Установлены высокие величины степеней извлечения для молекулярно-импринтированных полимеров с отпечатком сорбата калия ($R = 31.8\%$) и отпечатком бензоата натрия ($R = 32.4\%$), свидетельствующие о селективности МИПов к целевым молекулам сорбата калия и бензоата натрия. Значения коэффициентов распределения (D) для МИП-Е202, МИП-Е211 также выше, чем для неимпринтированных полимеров.

Таблица 3.5.

Характеристики адсорбции консервантов молекулярно-импринтированными полимерами (МИП) и полимерами сравнения (ПС) ($n=3$, $P=0.95$)

Сорбент	Консервант	R, %	S_r , %	D, дм ³ /г	S_r , %	IF
ПС	E202	16.2 ± 1.6	4.1	0.019 ± 0.002	4.9	2.5
МИП-Е202		31.8 ± 1.7	2.1	0.047 ± 0.004	3.2	
ПС	E211	9.3 ± 1.1	4.6	0.010 ± 0.001	5.1	4.8
МИП-Е211		32.4 ± 3.9	4.9	0.048 ± 0.009	7.3	

Из полученных значений импринтинг-фактора (IF) молекулярно-импринтированных полимеров с отпечатками сорбата калия и бензоата натрия видно, что $IF_{\text{МИП-Е211}} > IF_{\text{МИП-Е202}}$. Установлено, что молекулярно-импринтированные полимеры с отпечатками E202, E211 обладают лучшей сорбционной способностью, чем их полимеры сравнения [145]. При этом наибольшей сорбционной способностью обладает МИП с отпечатком бензоата натрия [111].

3.3. Анализ морфологии поверхности пленок полимеров

Существуют различные способы нанесения полимеров на поверхность электрода сенсора: посредством капельного литья, осаждения из раствора, электрополимеризации, накатывания, нанесения шпателем и др. У всех этих способов есть ряд недостатков: толстая пленка, неполное удаление темплата, рельеф поверхности с высокой шероховатостью, низкая воспроизводимость характеристик от пленки к пленке и т.д. Поэтому с целью поиска наиболее оптимального способа нанесения селективного слоя на поверхность сенсоров исследовали морфологию поверхности полимерных пленок, полученных после нанесения предполимеризационной смеси на электроды сенсора шпателем и штампом.

Одной из характеристик воспроизводимости получаемых пленок является их масса. Массы полимерных пленок, рассчитанные по уравнению Зауэрбрея, представлены в таблице 3.6.

Таблица 3.6.

Масса пленки наносили на поверхность электродов пьезосенсоров методом штампования и шпателем

Метод нанесения	Масса пленки Δm (мкг)	S_r , %
Штамп	22.88 ± 2.79	9.81
Шпатель	43.47 ± 6.93	12.84

Показано, что полимерные пленки на поверхности пьезосенсора, полученные при нанесении предполимеризационной смеси штампом, имеют меньше массу, чем при нанесении шпателем и, как следствие, штампом можно получить более тонкие пленки.

Поскольку термоимидизация рассмотренных полимеров происходит непосредственно на поверхности электрода сенсора, актуальным считалось исследовать морфологию пленок методом сканирующей силовой

микроскопии (ССМ). ССМ-изображения поверхностей пленок представлены на рисунке 3.9.

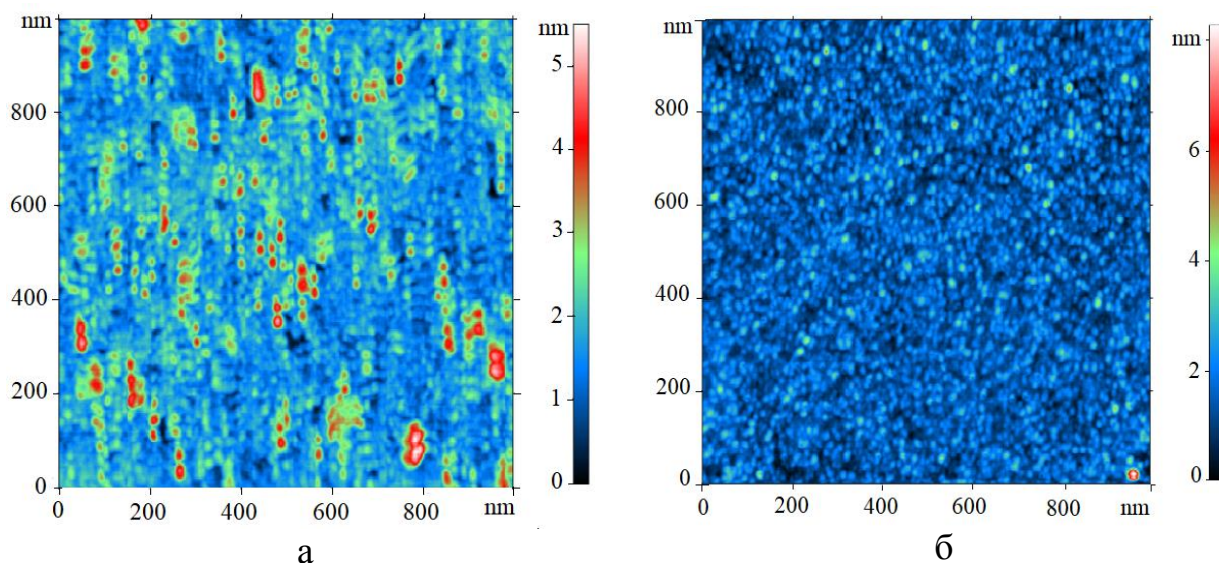


Рис. 3.9. ССМ-изображения поверхностей пьезосенсоров, модифицированных полимерами сравнения

а - нанесение предполимеризационной смеси проводилось шпателем;
б - нанесение предполимеризационной смеси проводилось штампованием

Установлено, что пленка неимпринтированного полиимида имеет однородную поверхность. Пленка, полученная при нанесении предполимеризационной смеси штампованием, обладает более равномерной поверхностью с перепадом высот от 1.4 до 2.6 нм (содержит 88.94% пор радиусом до 10 нм), в то время как с использованием шпателя получена пленка с высотами до 4.0 нм [17, 65, 159].

Ранее авторы [87, 137, 160] исследовали морфологию пленок, полученных после нанесения шпателем предполимеризационной смеси на сенсор, и был установлен большой разброс по высотам (до 60 нм!), а также высокоразвитая шероховатость поверхности [17, 159].

Применение штампования позволяет получать пленки с хорошей воспроизводимостью толщины и морфологии поверхности, по сравнению с получением пленки при использовании шпателя. В связи с этим в дальнейшем исследовали только пленки, полученные штампованием [17, 159].

На рисунках 3.10 и 3.11 представлены ССМ-изображения поверхностей молекулярно-импринтированных полимеров с отпечатками сорбата калия (E202) и бензоатом натрия (E211).

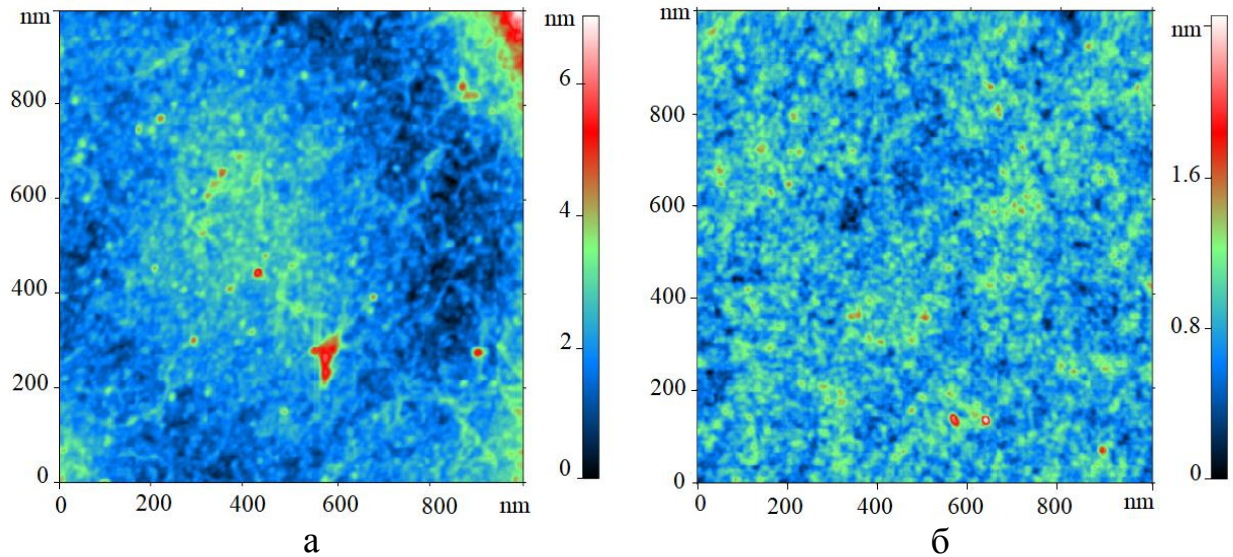


Рис. 3.10. ССМ-изображения поверхностей пленок полиимида с E202 (а) и молекулярно-импринтированный полимер с отпечатком E202 (б)

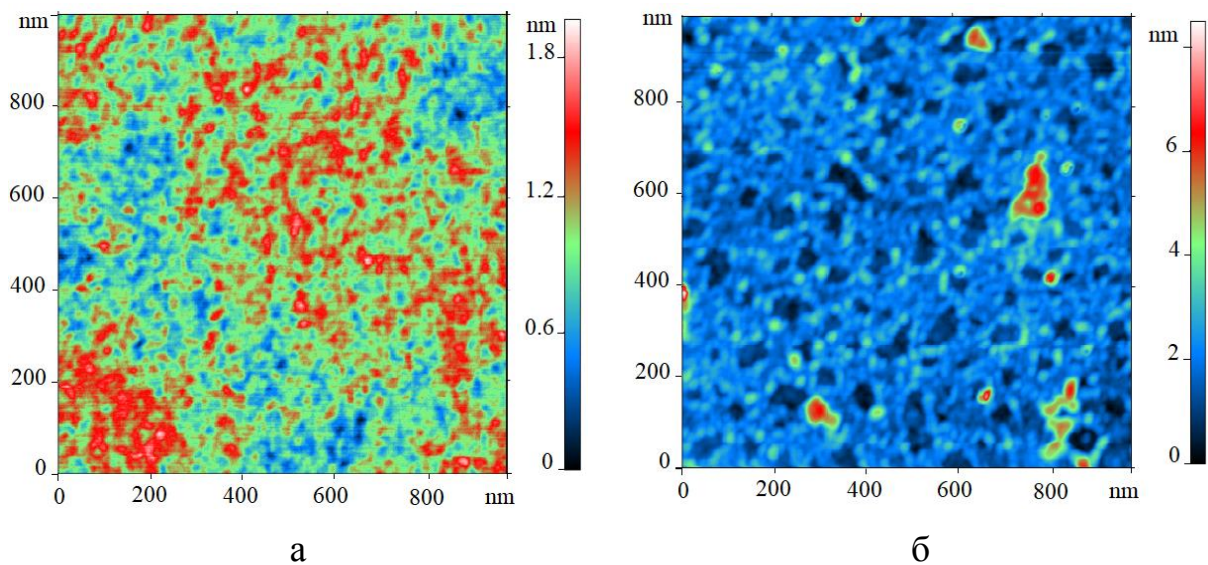


Рис. 3.11. ССМ-изображения поверхностей пленок полиимида с E211 (а) и молекулярно-импринтированный полимер с отпечатком E211 (б) [50]

Таблица 3.7.

Распределение пор в полимерных пленках

Классификация		ПС	П+Е202	МИП-Е202	П+Е211	МИП-Е211
пор r, нм		п, %	п, %	п, %	п, %	п, %
ультра-	< 1	9.55	6.19	8.47	9.45	4.35
микро-	1-10	88.94	79.13	77.16	78.65	56.52
мезо-	10-25	1.51	14.37	13.30	10.76	22.83
макро-	25-50	0.00	0.31	1.07	1.14	16.30

* ПС - полимер сравнения; П+Е202 и П+Е211 - полиимид с сорбатом калия и бензоатом натрия, соответственно; МИП-Е202 и МИП-Е211 - молекулярно-импринтированный полимер с отпечатками сорбатом калия и бензоатом натрия, соответственно

В полиимиде, не содержащем молекулы-шаблоны, присутствует более 80% микропор. В результате молекулярного импринтинга происходит перестройка структуры полимеров МИП-Е202 и МИП-Е211, приводящая к уменьшению количества микропор и увеличению количества мезопор [56] (Табл. 3.7).

При синтезе молекулярно-импринтированных полимеров линейная структура сорбата калия позволяет его молекулам-шаблонам располагаться на поверхности полимера и заглубляться в его матрицу. После удаления шаблона в полимере остаются полости, которые в идеале должны быть комплементарны по форме, размеру и расположению функциональных групп молекулам-шаблонам [17, 65, 80, 161 – 164].

В случае с бензоатом натрия количество ультрамикро- и микропор уменьшилось, в то время как количество мезо- и макропор увеличилось. Вероятно, макропоры следует рассматривать как крупные полости, внутри которых возможны углубления и поры (отпечатки), комплементарные молекулам бензоата натрия, размеры которых – 0.82 нм [17, 65].

Сорбат калия и бензоат натрия сорбируют не только на поверхности пленки, но и на внутренней поверхности крупных пор и трещин (Рис. 3.12).

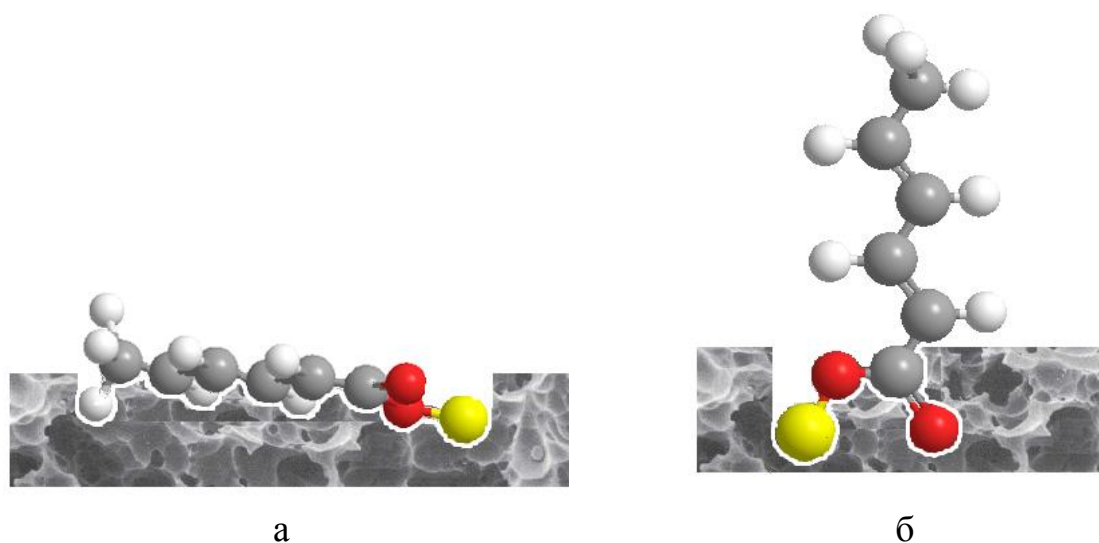


Рис. 3.12. Схема расположения молекулы сорбата калия в поверхности полимерной пленки

а – на поверхности; б – на внутренней поверхности пор и трещин

Заключение к главе 3

Для применения молекулярно-импринтированных полимеров в качестве селективных покрытий пьезосенсоров необходимо исследовать их свойства.

При синтезе МИП на основе полиимидов проводили термоимидизацию в два этапа, при этом происходит ступенчатое удаление растворителя. Образующиеся полимеры имеют степень имидизации 97 – 98 %.

Для подтверждения присутствия имидных циклов в полученных полимерах использовали метод ИК-спектроскопии. Структурно-групповой анализ ИК-спектров полимеров показывал, что для МИП и исходных полимеров нет существенных изменений. Это означает, что при синтезе молекулярно-импринтированных полимеров «лестничная» структура, характерная для полиимидов, сохраняется. Но при этом увеличивается интенсивность характеристических частот для полимеров с отпечатками консервантов, что связано с наличием молекул гидратной воды в полученных отпечатках.

Данные элементного анализа показали, что составы молекулярно-импринтированных полимеров и их полимеров сравнения совпадают. Остаточное содержание сорбата калия и бензоата натрия в полученных МИП не превышает 5%.

Для выбора соотношений ППС:Т необходимо рассчитывать импринтинг-фактор, который обладает способностью распознавать целевые молекулы темплатов. Экспериментально показано, что при соотношении ППС:Т = 1:1 наблюдалось наибольшее значение импринтинг-фактора. Также установили влияние концентрации темплатов на количество поверхностных отпечатков. Максимальное количество молекулярных отпечатков на поверхности пленки МИП образуется при 0.1 г/см³ темплата.

Изучена сорбция консервантов молекулярно-импринтированными и неимпринтированными полимерами. Установлено, что МИПы обладают

лучшей сорбционной способностью, чем их полимеры сравнения, и наибольшей сорбционной способностью обладает МИП с отпечатком бензоата натрия.

Оптимальный способ нанесения селективного слоя на поверхность электрода пьезосенсоров является метод штампования. Исследования морфологии поверхности полимерных пленок методом сканирующей силовой микроскопии показали, что пленка полиимида без добавления темплата имеет однородную поверхность. Пленка, полученная при нанесении предполимеризационной смеси штампованием, обладает более равномерной поверхностью, чем пленка, полученная с использованием шпателя.

Морфология поверхности пленок МИП с отпечатками сорбата калия и бензоата натрия имеет более развитую поверхность, что связано с особенностями формирования отпечатков, и при синтезе МИП происходит перестройка структуры, что приводит к уменьшению количества микропор и увеличению количества мезопор.

Глава 4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНСЕРВАНТОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ ПЬЕЗОСЕНСОРАМИ

4.1. Исследование устойчивости пленок молекулярно-импринтированных полимеров

Устойчивость селективных материалов зависит от многих факторов. Влияние некоторых из них было рассмотрено в этой работе.

Способность полимерных пленок к многократным актам сорбции/десорбции оценивали, сравнивая массы этих пленок после циклов сорбции/десорбции. МИП-сенсор был использован для проведения пяти циклов сорбции/десорбции (один цикл сорбции/десорбции включает следующие этапы:

1 – МИП-сенсор приводили в контакт со стандартным раствором консерванта. Регистрировали частоту колебаний сенсора. На этом этапе происходит сорбция консерванта полимерной пленкой.

2 – Этап десорбции. Промывали сенсор дистиллированной водой для удаления консерванта. Регистрировали частоту колебаний сенсора.

3 – Сушили сенсор в сушильном шкафу и охлаждали до комнатной температуры. Сенсор готов к следующему измерению [50].

Проводили измерение аналитических сигналов сенсора после каждого цикла сорбции/десорбции и рассчитывали массу пленки (m_0 – масса МИП после удаления темплата (консерванта), m_1, m_2, m_3, m_4, m_5 – соответственно масса МИП после первого, второго, третьего, четвертого и пятого цикла сорбции/десорбции консерванта, Δm – изменение массы сенсора после пятого цикла сорбции/десорбции консерванта). Результаты пяти циклов сорбции/десорбции сорбата калия и бензоата натрия представлены в таблице 4.1.

В ходе исследования стабильности полимерных пленок установлено снижение массы молекулярно-импринтированного полимера. Для полимерной пленки, полученной при соотношении ППС:Т = 1:1, установлено

наименьшее изменение массы МИП, что может свидетельствовать о получении более стабильной пленки МИПа.

Таблица 4.1.

Изменение массы пленок после 5 циклов сорбции/десорбции для разных соотношений предполимеризационная смесь – темплат (ППС - Т)

ППС:Т	m ₀ , МКГ	m ₁ , МКГ	m ₂ , МКГ	m ₃ , МКГ	m ₄ , МКГ	m ₅ , МКГ	Изменение массы Δm, МКГ	Отношение Δm/m ₀ , %
Сорбат калия								
1:2	24.37	24.05	23.89	23.65	23.47	23.11	1.26	5.17
1:1	22.83	22.70	22.62	22.46	22.39	22.32	0.51	2.23
2:1	23.67	23.34	23.02	22.96	22.69	22.57	1.10	4.65
3:1	24.58	24.35	24.11	23.64	23.45	23.39	1.19	4.84
Бензоат натрия								
1:2	23.07	23.03	22.82	22.59	22.37	22.05	1.02	4.42
1:1	21.58	21.53	21.50	21.46	21.37	21.31	0.27	1.25
2:1	21.90	21.74	21.65	21.40	21.25	21.03	0.87	3.97
3:1	22.37	22.14	22.00	21.82	21.63	21.41	0.96	4.29

Для пленок, полученных при соотношениях ППС:Т = 1:2, 2:1 и 3:1, наблюдалось большее изменение массы МИП, чем для ППС:Т = 1:1. Это, вероятно, связано с тем, что темплат не только выступает в роли порообразователя, но и упорядочивает структуру полимера.

В работе [165] для выбора соотношения ППС:Т при синтезе молекулярно-импринтированного полимера использовали квантово-химическое моделирование и расчет энергии их взаимодействия. Показано, что оптимальное молярное соотношение ППС:Т составляет 1:1. При этом соотношении получается более стабильная система.

Зависимость чувствительности пьезосенсоров от соотношений предполимеризационной смеси – темплата (ППС:Т) представлены на рисунке 4.1. Видно, что при соотношении ППС:Т = 1:1 наблюдалось высокое значение чувствительности.

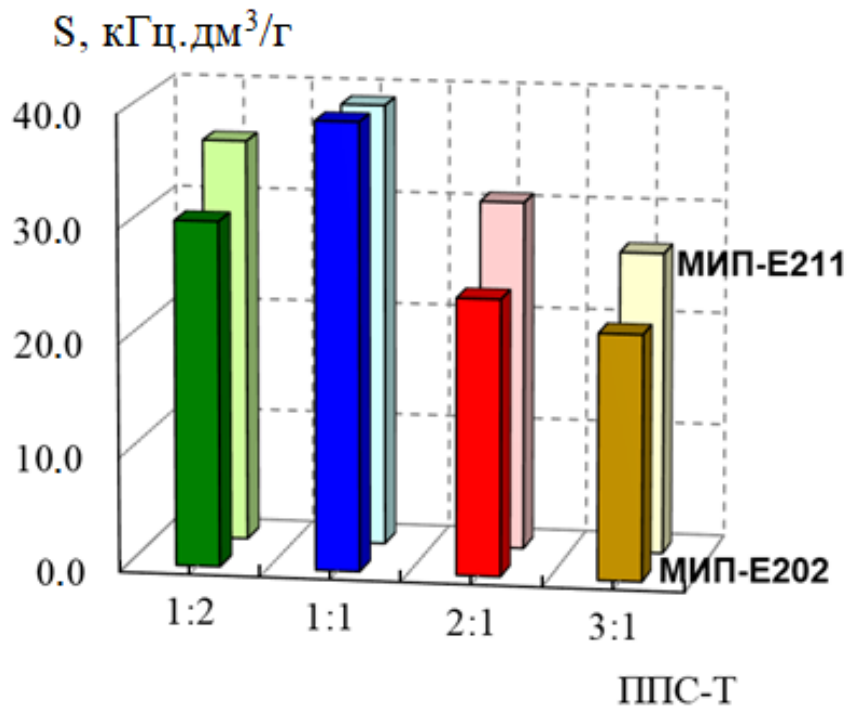


Рис. 4.1. Зависимость чувствительности пьезосенсоров от соотношений предполимеризационной смеси – темплата (ППС:Т) :
МИП-Е202 – на переднем плане; МИП-Е211 – на заднем плане

В процессе использования пьезосенсора на основе МИП показано, что чувствительность пьезосенсора уменьшается при увеличении аналитических серий (n). Зависимости чувствительности пьезосенсоров МИП-Е202 и МИП-Е211 от количества аналитических серий представлены на рисунке 4.2.

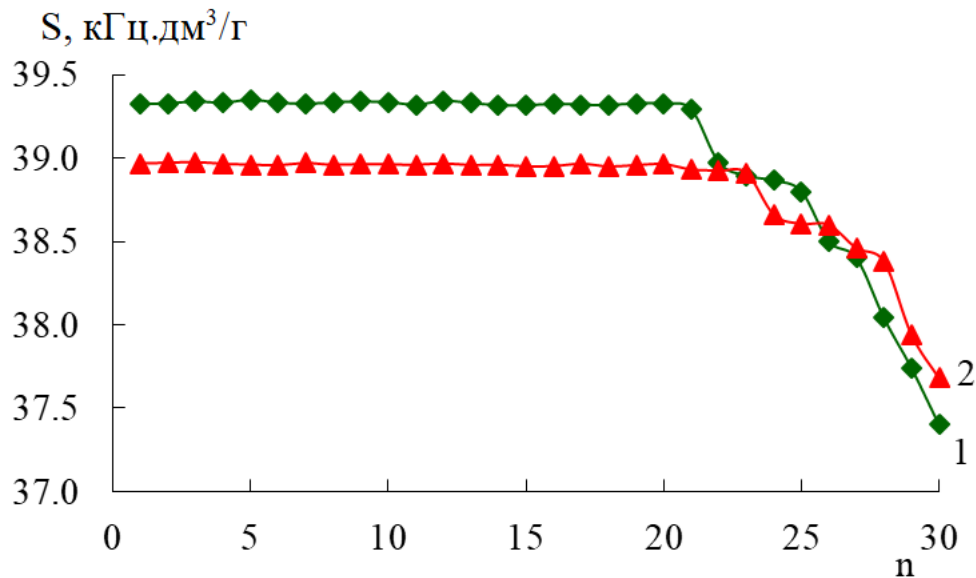


Рис. 4.2. Зависимость чувствительности пьезосенсоров от количества аналитических серий (n)
1 – МИП-Е202; 2 – МИП-Е211

Установлено, что чувствительность снижается после 21 аналитической серии измерений для пьезосенсора МИП-Е202, а для пьезосенсора МИП-Е211 – после 23 аналитической серии [50, 166].

4.2. Определение консервантов МИП-сенсорами в модельных растворах

Консерванты широко применяются в разных областях, особенно в качестве добавок в пищевых продуктах. Их содержание в пищевых продуктах регламентировано Таможенным союзом. Контроль концентрации консервантов в пищевых продуктах считается важной задачей. Одним из способов экспресс-анализа консервантов является использование пьезосенсоров, модифицированных молекулярно-импринтированными полимерами [56].

В этой работе были успешно получены пьезосенсоры МИП-сорбат калия, МИП-бензоат натрия. Для определения концентрации консервантов в пищевых

продуктах использовали метод градуировочного графика (Рис. 4.3). Данные пьезосенсорных измерений представлены в таблице Б.1 Приложения Б. В работе получен градуировочный график, имеющий прямую линию, который описывается уравнением $y = -(0.2023 \pm 0.0209) \cdot x + (0.6372 \pm 0.0614)$, $R^2 = 0.989$ для пьезосенсора МИП-Е202; а для пьезосенсора МИП-Е211: $y = -(0.3542 \pm 0.0398) \cdot x + (1.1045 \pm 0.1128)$, $R^2 = 0.984$ ($n = 5$, $P = 0.95$). Для пьезосенсора модифицированного чистым полиимидом, линейной зависимости не наблюдается (Рис. 4.3) [123, 154, 166].

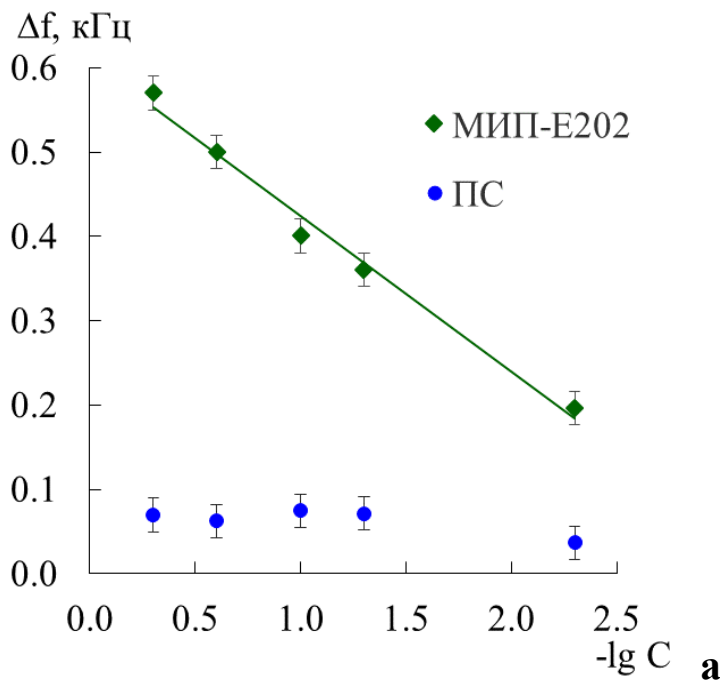
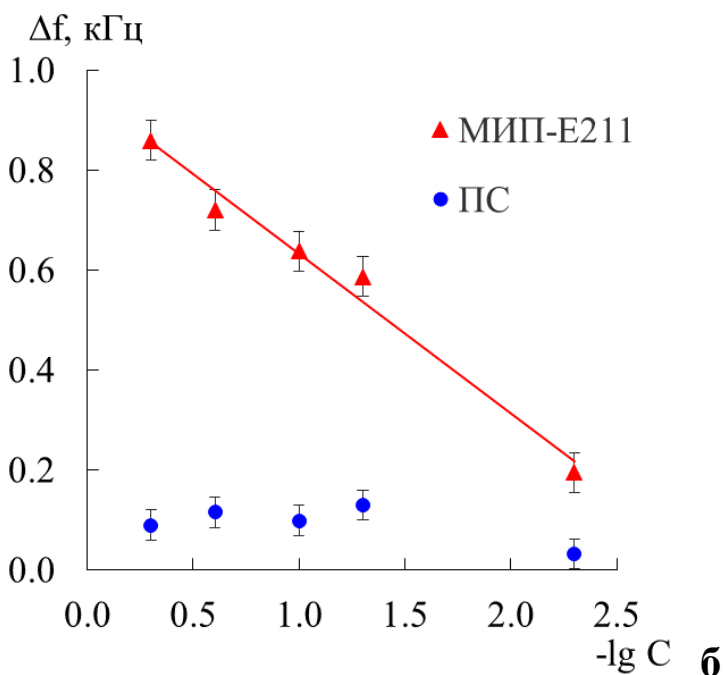


Рис. 4.3. Зависимость между разностной частотой пьезосенсоров и логарифмом концентрации консервантов:
а – сенсор МИП-Е202;
б – сенсор МИП-Е211



Применение импринтинг-фактора (IF) для оценки способности пьезосенсоров с МИП распознавать молекулы-шаблоны [77] по формуле:

$$IF = \frac{\Delta f_{\text{МИП}}}{\Delta f_{\text{ПС}}}, \quad (4.1)$$

где $\Delta f_{\text{МИП}}$ и $\Delta f_{\text{ПС}}$: соответственно сигнал пьезосенсора на основе МИП и полимера сравнения, кГц.

Для расчета коэффициента селективности (k) определяемого консерванта к родственным соединениям использовали уравнение [110]:

$$k = \frac{S_1}{S_2}, \quad (4.2)$$

где S_1 , S_2 – соответственно коэффициент чувствительности МИП-сенсор к постороннему и определяемому консерванту. В этом случае коэффициент чувствительности (S) рассчитывали по формуле:

$$S = \frac{\Delta f_{\text{МИП}}}{C}, \quad (4.3)$$

где $\Delta f_{\text{МИП}}$ – сигнал МИП-сенсора, кГц; C – концентрация определяемого консерванта, г/дм³.

Импринтинг-фактора и коэффициенты селективности пьезосенсора представлены в таблице 4.2. Высокие значения импринтинг-фактора (IF) и коэффициента селективности (k) обнаруживаются для МИП-сенсора при определении того раствора консерванта, который использовали в качестве молекулы-темплата при синтезе МИП.

Это свидетельствует о высокой селективности полученных сенсоров. Сенсор с отпечатком бензоата натрия обладает большей способностью к селективному определению, чем сорбата калия: $IF_{E211} > IF_{E202}$.

Таблица 4.2.

Импринтинг-фактор и коэффициент селективности для сенсоров на основе молекулярно-импринтированного полимера

Анализируемое вещество	IF	k	IF	k
	Сенсор МИП-E202		Сенсор МИП-E211	
Сорбиновая кислота (E200)	0.8	0.27	0.6	0.18
Сорбат калия (E202)	5.4	1	1.0	0.12
Бензойная кислота (E210)	0.6	0.13	1.1	0.22
Бензоат натрия (E211)	0.8	0.13	6.0	1

Метрологические характеристики определения консервантов МИП-сенсорами представлены в таблице 4.3. Диапазон определяемых концентраций составляет 5 – 500 мг/дм³, предел обнаружения C_{\min} сорбата калия 1.6 мг/дм³, а бензоата натрия 2.0 мг/дм³ [110]. В результате относительное стандартное отклонение S_r проведенных измерений не превышает 8 % [110, 123].

Таблица 4.3.

Метрологические характеристики определения консервантов пьезосенсорами на основе МИП (n=3, P=0.95)

Сенсор	Определяемый консервант	Диапазон определяемых концентраций, мг/дм ³	C_{\min} , мг/дм ³	S_r , %
МИП-202	E202	5 – 500	1.6	6.4
МИП-211	E211	5 – 500	2.0	7.9

Для проверки правильности определения консервантов с помощью модифицированных пьезоэлектрических сенсоров в модельных растворах использовали метод «введено – найдено» (Табл. 4.4) [113]. Установлено, что относительное стандартное отклонение определения E202, E211 пьезосенсорами не превышает 8 % [65, 113].

Таблица 4.4.

Определение консервантов в модельных растворах методом
«введено-найдено» (n = 5, P = 0.95)

Сенсор	Анализируемое вещество	Концентрация, мг/дм ³		Sr, %
		Введено	Найдено	
МИП-E202	Сорбат калия (E202)	50.0	49.3 ± 4.5	7.3
		100.0	101.6 ± 8.9	7.1
	Сорбиновая кислота (E200)	50.0	0.9 ± 0.2	14.2
		100.0	1.2 ± 0.2	12.2
	Сорбат натрия (E201)	50.0	0.8 ± 0.2	15.9
		100.0	1.1 ± 0.2	15.2
	Сорбат лития	50.0	0.8 ± 0.2	17.7
		100.0	1.0 ± 0.2	17.4
	Сорбат аммония	50.0	0.8 ± 0.2	16.7
		100.0	0.8 ± 0.1	10.2
	NaOH	40.0	0.7 ± 0.1	17.3
	KOH	56.1	1.0 ± 0.2	15.8
МИП-E211	Бензоат натрия (E211)	50.0	51.8 ± 4.3	6.6
		100.0	100.2 ± 4.7	3.8
	Бензойная кислота (E210)	50.0	1.3 ± 0.2	12.0
		100.0	1.4 ± 0.2	11.2
	Бензоат калия (E212)	50.0	1.5 ± 0.2	11.4
		100.0	1.7 ± 0.2	10.1

Из полученных результатов видно, что пьезосенсоры, модифицированные МИП-E202, МИП-E211, обладают высокой селективностью и способностью к распознаванию целевых молекул-темплатов (E202 и E211) по сравнению с другими веществами.

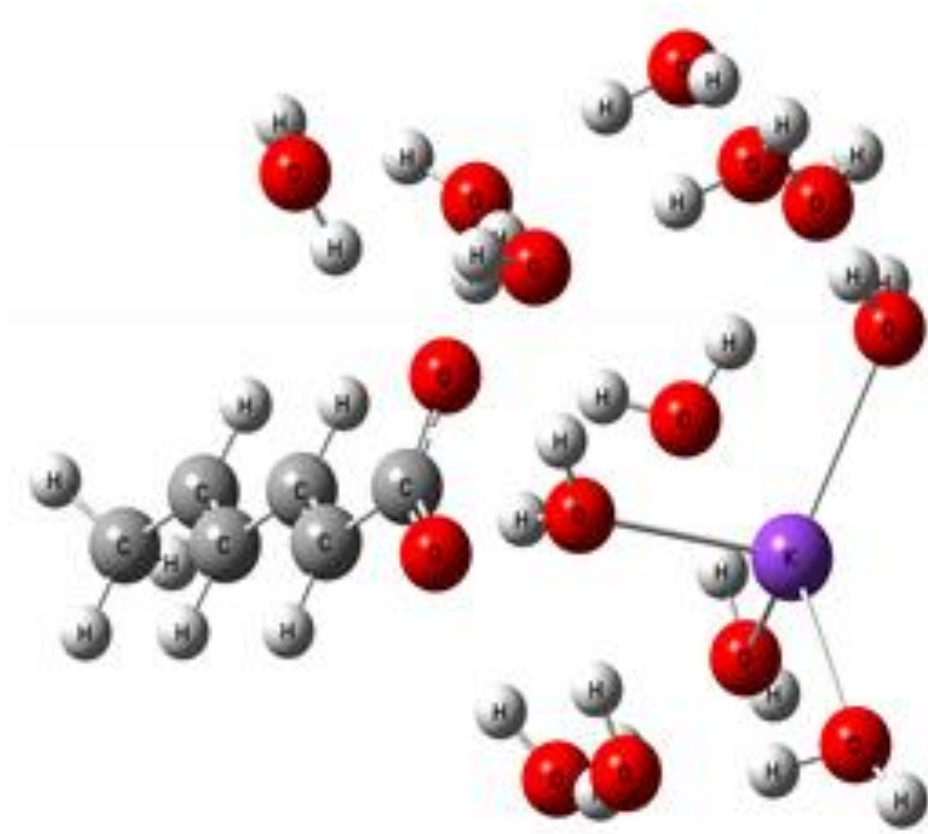


Рис. 4.4. Структура гидратной оболочки сорбата калия

Оптимизация структуры и расчет ИК-спектра сорбата калия проведены в программе Gaussian 16 и Gaussview 5.0 на кластере Воронежского государственного университета [167, 168] с помощью метода гибридного функционала плотности B3LYP в базисе [77] 6-31++G(d,p), показавшем наилучшее согласие с экспериментом. Установлена оптимизированная структура с гидрато-разделенной ионной парой, содержащая 13 молекул воды. Расстояния в оптимизированной структуре между катионом K^+ и атомами кислорода группы COO^- составляют 0.422 нм и 0.493 нм. Наличие молекул воды в оптимизированной структуре говорит о том, что сорбция сорбата калия происходит вместе с молекулами воды. Это подтверждается наличием в ИК-спектрах полос в области $3700 - 3150 \text{ см}^{-1}$, характеризующих валентные колебания ОН-групп. ИК-спектр и характеристические частоты групп атомов в структуре гидратной оболочки сорбата калия представлены на рисунке А.3 и в таблице А.1 Приложения А.

Для оценки способности пьезосенсора на основе МИП распознавать консерванты-темплат проанализировали модельные бинарные смеси методом «введено – найдено». Полученные результаты представлены в таблице 4.5. Из таблицы 4.5 видно, что при определении консервантов в смеси пьезосенсоры, модифицированные МИП, наиболее чувствительны к тому консерванту, который использовали в качестве темплата при синтезе МИП [123].

Таблица 4.5.

Определение консервантов в модельных смесях
методом «введено-найденно» (n = 5, P = 0.95)

Сенсор	Консервант		Концентрация, мг/дм ³		Sr, %
			Введено	Найдено	
МИП-E202	Сорбат калия (E202)		100.0	101.6 ± 8.9	7.1
	Бензоат натрия (E211)		100.0	0.9 ± 0.1	12.1
	Раствор E202 и E211	E202	100.0	101.3 ± 7.6	6.1
		E211	100.0		
МИП-E211	Бензоат натрия (E211)		100.0	100.2 ± 4.7	3.8
	Сорбат калия (E202)		100.0	1.0 ± 0.1	11.0
	Раствор E202 и E211	E211	100.0	100.7 ± 5.9	4.7
		E202	100.0		

Для проверки правильности определения консервантов применяли сравнение методов. В работе в качестве референтных методов использовали методы спектрофотометрии, ВЭЖХ и ТСХ. При этом проводили сравнение результатов определения консервантов трех пар методов: спектрофотометрии и МИП-сенсоров, ВЭЖХ и МИП-сенсоров, ТСХ и МИП-сенсоров. Полученные результаты представлены в таблицах 4.6 – 4.8 [77, 169]. Градуировочные

зависимости аналитических сигналов от концентрации для референтных методов и пьезосенсоров представлены в таблицах В.1 и В.2 Приложения В.

Таблица 4.6.

Сравнение средних двух серий данных определения консервантов методом спектрофотометрии и МИП-сенсорами ($n=5$; $P=0.95$; $F_{\text{табл}} = 6.39$; $t_{\text{табл}} = 2.306$)

Метод определения	Консервант	Объект	C , мг/дм ³	S^2	F	S_p	t_{\pm}
СФ	E202	Модельный раствор	97.7 ± 3.7	8.91	5.78	5.50	1.121
МИП-E202			101.6 ± 8.9	51.5			
СФ		Yes! Fruit	130.4 ± 10.2	67.44	1.61	7.4	0.726
МИП-E202			133.8 ± 8.0	41.98			
СФ		Чай холодный зеленый	170.4 ± 6.7	29.30	1.05	5.49	1.699
МИП-E202			176.3 ± 6.9	30.88			
СФ		AQUA minerale «Мята-Лайм»	124.7 ± 5.5	19.74	1.12	4.58	2.141
МИП-E202			130.9 ± 5.8	22.14			
СФ	E211	Модельный раствор	104.0 ± 3.1	6.30	2.28	3.22	1.907
МИП-E211			100.2 ± 4.7	14.39			
СФ		Yes! Fruit	131.7 ± 9.6	59.49	5.88	5.90	0.736
МИП-E211			134.5 ± 4.0	10.12			
СФ		Чай холодный зеленый	140.6 ± 6.0	23.41	1.21	4.62	1.982
МИП-E211			146.4 ± 5.5	19.36			
СФ		AQUA minerale «Мята-Лайм»	131.2 ± 4.0	10.51	5.60	5.35	0.591
МИП-E211			129.4 ± 8.5	46.73			

Примечание: S^2 – дисперсия; F – критерий Фишера; S_p – средневзвешенное стандартное отклонение; t_{\pm} – критерий Стьюдента.

Таблица 4.7.

Сравнение средних двух серий данных определения консервантов методом ВЭЖХ и МИП-сенсорами ($n=5$; $P=0.95$; $F_{\text{табл}} = 6.39$; $t_{\text{табл}} = 2.306$)

Метод определения	Консервант	Объект	C, мг/дм ³	S ²	F	S _p	t±
ВЭЖХ	E202	Модельный раствор	98.8 ± 4.5	13.00	3.96	5.68	0.791
МИП-E202			101.6 ± 8.9	51.55			
ВЭЖХ		Yes! Fruit	137.9 ± 4.7	14.28	2.94	5.30	1.221
МИП-E202			133.8 ± 8.0	41.98			
ВЭЖХ		Чай холодный зеленый	182.5 ± 4.0	10.38	2.98	4.54	2.157
МИП-E202			176.3 ± 6.9	30.88			
ВЭЖХ		AQUA minerale «Мята-Лайм»	137.8 ± 7.3	34.41	1.55	5.32	2.052
МИП-E202			130.9 ± 5.8	22.14			
ВЭЖХ	E211	Модельный раствор	103.3 ± 2.2	3.17	4.54	2.96	1.659
МИП-E211			100.2 ± 4.7	14.39			
ВЭЖХ		Yes! Fruit	127.7 ± 7.1	32.97	3.26	4.64	2.298
МИП-E211			134.5 ± 4.0	10.12			
ВЭЖХ		Чай холодный зеленый	143.0 ± 2.2	3.12	6.21	3.35	1.603
МИП-E211			146.4 ± 5.5	19.36			
ВЭЖХ		AQUA minerale «Мята-Лайм»	134.9 ± 3.6	8.35	5.60	5.25	1.656
МИП-E211			129.4 ± 8.5	46.73			

Примечание: S² – дисперсия; F – критерий Фишера; S_p – средневзвешенное стандартное отклонение; t± – критерий Стьюдента.

Как известно, критерий Фишера (F-тест) показывает, что если $F > F_{\text{табл}}$, то между стандартными отклонениями имеется значимое различие. Из полученных данных (Табл. 4.6 – 4.8) следует, что $F < F_{\text{табл}}$, значимого различия в воспроизводимости результатов между двумя методами нет, их случайные погрешности одного порядка [30].

Также применяли тест Стьюдента для сравнения средних двух серий данных [30]. Из полученных данных видно (Табл. 4.6, 4.7), что для пар методов спектрофотометрия – МИП-сенсоры и ВЭЖХ – МИП-сенсоры статистически значимое различие в определении консервантов отсутствует ($t_{\pm} < t_{\text{табл}}$).

Таблица 4.8.

Сравнение средних двух серий данных определения консервантов метод ТСХ и МИП-сенсорами ($n=5$; $P=0.95$; $F_{\text{табл}} = 6.39$; $t_{\text{табл}} = 2.306$)

Метод определения	Консервант	Объект	C , мг/дм ³	S^2	F	S_p	t_{\pm}
ТСХ	E202	Модельный раствор	178.4 ± 14.2	131.23	2.20	9.77	2.734
МИП-E202			195.3 ± 9.6	59.56			
ТСХ		Yes! Fruit	119.2 ± 9.3	56.23	1.34	7.01	3.292
МИП-E202			133.8 ± 8.0	41.98			
ТСХ		Чай холодный зеленый	157.6 ± 13.6	119.70	3.88	8.68	3.405
МИП-E202			176.3 ± 6.9	30.88			
ТСХ		AQUA minerale «Мята-Лайм»	112.8 ± 7.2	33.36	1.51	5.27	5.429
МИП-E202			130.9 ± 5.8	22.14			
ТСХ	E211	Модельный раствор	173.7 ± 15.2	153.52	1.87	10.85	2.839
МИП-E211			193.2 ± 11.2	82.11			
ТСХ		Yes! Fruit	124.3 ± 8.6	47.46	4.69	5.37	2.989
МИП-E211			134.5 ± 4.0	10.12			
ТСХ		Чай холодный зеленый	127.7 ± 12.5	4.69	5.37	2.989	3.796
МИП-E211			146.4 ± 5.5	19.36			
ТСХ		AQUA minerale «Мята-Лайм»	106.3 ± 12.0	92.70	1.98	8.35	4.371
МИП-E211			129.4 ± 8.5	46.73			

Примечание: S^2 – дисперсия; F – критерий Фишера; S_p – средневзвешенное стандартное отклонение; t_{\pm} – критерий Стьюдента.

Однако сравнение результатов определения консервантов, полученных МИП-сенсорами и методом ТСХ (Табл. 4.8), показало, что имеется статистически значимое различие при определении консервантов этими методами ($t_{\pm} > t_{\text{табл}}$).

Таким образом, для определения консервантов в безалкогольных напитках существует возможность использования сенсорного метода, который обладает более простой и экспрессной методикой. Этот метод по своим метрологическим характеристикам хорошо согласуется с методами спектрофотометрии и ВЭЖХ.

4.3. Определение сорбата калия и бензоата натрия в пищевых продуктах МИП-сенсорами

Проверку правильности определения сорбата калия и бензоата натрия с помощью модифицированных пьезоэлектрических сенсоров в безалкогольных напитках проводили методом «введено – найдено» (Табл. 4.9). В качестве референтных методов использовали ВЭЖХ и метод спектрофотометрии.

Установлено, что погрешность измерения между двумя методами не превышает 6 %.

В составе напитков, кроме питьевой воды, много других ингредиентов, таких как глюкоза, лимонная кислота, аспартам, аскорбиновая кислота, красители E102 и E112. Для оценки их влияния на величину аналитического сигнала сенсора при определении сорбата калия и бензоата натрия в модельных растворах использовали метод «введено-найденно». Готовили растворы глюкозы, лимонной кислоты, аспартама, аскорбиновой кислоты и красителя E102, E112 с определяемой концентрацией. Затем измерили частоту колебаний модельных растворов пьезосенсорами на основе МИП-E202 и МИП-E211. Экспериментально установлено, что частота колебаний пьезосенсора в этих

растворах была близка к частоте колебаний пьезосенсора для дистиллированной воды. Это значит, что эти вещества не влияют на определение содержания консервантов в растворе. Результаты определения некоторых компонентов безалкогольных напитков в модельных растворах представлены в таблице 4.10.

Таблица 4.9.

Определение консервантов в безалкогольных напитках
методом «введено-найдено» (n = 5, P = 0.95)

Сенсор	Напиток	Концентрация, мг/дм ³		Δ, %
		Введено	Найдено	
МИП-Е202	Yes! Fruit	130.4 ± 10.2*	133.8 ± 8.0	2.5
		137.9 ± 4.7**		3.1
	Чай холодный зеленый	170.4 ± 6.7*	176.3 ± 6.9	3.3
		182.5 ± 4.0**		3.5
	AQUA minerale	124.7 ± 5.5*	130.9 ± 5.8	4.7
		137.8 ± 7.3**		5.3
МИП-Е211	Yes! Fruit	131.7 ± 9.6*	134.5 ± 4.0	2.1
		127.7 ± 7.1**		5.1
	Чай холодный зеленый	140.6 ± 6.0*	146.4 ± 5.5	4.0
		143.0 ± 2.2**		2.3
	AQUA minerale	131.2 ± 4.0*	129.4 ± 8.5	1.4
		134.9 ± 3.6**		4.3

Примечание: *- концентрация установлена методом спектрофотометрически

** - концентрация установлена методом ВЭЖХ

Таблица 4.10.

Определение некоторых компонентов безалкогольных напитков в модельных растворах методом «введено-найдено» ($n = 5$, $P = 0.95$)

Сенсор на основе	Анализируемое вещество	Концентрация, мг/дм ³		S _r , %
		Введено	Найдено	
МИП-E202	Глюкоза	200.0	1.1 ± 0.2	10.9
	Лимонная кислота	100.0	1.3 ± 0.1	7.3
	Аспартам	50.0	1.1 ± 0.1	8.2
	Аскорбиновая кислота	50.0	1.2 ± 0.1	9.1
	Красители E102 и E122	50.0	1.3 ± 0.2	9.9
МИП-E211	Глюкоза	200.0	1.1 ± 0.1	8.7
	Лимонная кислота	100.0	1.1 ± 0.1	9.9
	Аспартам	50.0	1.0 ± 0.1	10.0
	Аскорбиновая кислота	50.0	1.1 ± 0.1	9.2
	Красители E102 и E122	50.0	1.0 ± 0.1	8.2

Также проведена оценка влияния состава «матрицы» на величину аналитического сигнала сенсора при определении сорбата калия и бензоата натрия методом добавок (табл. 4.11).

Неизвестную концентрацию определяемого консерванта рассчитывали по формуле 2.2.

Относительное стандартное отклонение S_r результатов определения E202, E211 двумя методами не превышает 4 % и обладает хорошей воспроизводимостью. Установлено, что состав матрицы безалкогольных напитков не влияет на значение аналитического сигнала пьезосенсора [110].

Также полученные сенсоры были апробированы при анализе безалкогольных напитков [110]: «Yes! Fruit», «Чай холодный зеленый», «AQUA minerale», был обнаружен сорбат калия (E202) и бензоат натрия

(E211). Содержание сорбата калия и бензоата натрия в данных напитках составляет 130 – 176 мг/дм³ и 129 – 146 мг/дм³ соответственно, что не превышает предельно допустимых концентраций [123, 154, 166, 169, 170].

Таблица 4.11.

Определение консервантов в безалкогольных напитках
методом добавок (n = 5, P = 0.95)

Сенсор на основе	Анализируемое вещество		C, мг/дм ³	C _{доб} , мг/дм ³	C _x , мг/дм ³	S _r , %
МИП-E202	Модельный раствор E202		100.0	200.0	98.9 ± 3.7	3.0
	Yes! Fruit	E202	137.9 ± 4.7*	200.0	127.5 ± 4.4	2.8
	Чай холодный зеленый		182.5 ± 4.0*	200.0	173.9 ± 3.0	1.4
	AQUA minerale		137.8 ± 7.3*	200.0	128.4 ± 5.8	3.6
МИП-E211	Модельный раствор E211		100.0	200.0	101.7 ± 3.9	3.1
	Yes! Fruit	E211	127.7 ± 7.1*	200.0	137.4 ± 5.9	3.5
	Чай холодный зеленый		143.0 ± 2.2*	200.0	149.1 ± 4.4	2.4
	AQUA minerale		134.9 ± 3.6*	200.0	130.0 ± 4.4	2.7

Примечание: * - концентрация установлена методом ВЭЖХ

Полученные результаты показывают, что МИП-сенсоры могут успешно применяться для определения содержания консервантов не только в модельных растворах, но и в пищевых продуктах, в частности безалкогольных напитках [30].

Заключение к главе 4

Как было показано, при соотношении предполимеризационная смесь-темплат = 1:1 наблюдались более стабильные пленки МИП и высокое значение чувствительности. При эксплуатации МИП-сенсора происходит уменьшение чувствительности пьезосенсора и, как следствие, уменьшение срока эксплуатации пьезосенсора.

Разработанные пьезосенсоры на основе МИП-E202 обладают высокой селективностью к распознаванию целевой молекулы сорбата калия, а пьезосенсоры МИП-E211 – к распознаванию молекулы бензоата натрия. Значения импринг-фактора (IF) пьезосенсора на основе МИП составили 5.4 – 6.0.

В ходе работы определены метрологические характеристики пьезосенсоров на основе МИП. Диапазон определяемых концентраций консервантов составляет 5.0 – 500 мг/дм³, предел обнаружения сорбата калия составляет 1.6 мг/дм³ и бензоата натрия – 2.0 мг/дм³.

Для оценки влияния мешающих компонентов пьезосенсорами с отпечатками консервантов анализировали их модельные смеси. Показано, что пьезосенсоры на основе МИП в смеси распознают только целевые молекулы консервантов.

МИП-сенсоры апробированы при определении консервантов в безалкогольных напитках: «Yes! Fruit», «Чай холодный зеленый», «AQUA minerale», в которых обнаружены консерванты E202, E211. Данные подтверждены методами: ВЭЖХ, спектрофотометрии и ТСХ. Установлено, что погрешность результатов определения консервантов сенсорным методом, методом спектрофотометрии и ВЭЖХ не превышает 6 %.

Кроме того, с помощью метода добавок установлено, что компоненты, входящие в состав напитка, не влияют на величину частоты пьезосенсора.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании результатов исследования свойств полученных полимеров и результатов экспериментальных данных определения содержания консервантов МИП-сенсорами в безалкогольных напитках сделаны следующие выводы.

1. Методом нековалентного импринтинга синтезированы молекулярно-импринтированные полиимиды с отпечатками сорбата калия и бензоата натрия на основе сополимера диангида 1,2,4,5-бензолтетракарбоновой кислоты с 4,4'-диаминодифенилоксидом. При этом путем планирования эксперимента выбраны оптимальные соотношения предполимеризационная смесь – темплат (ППС:Т). Показано, что наибольшие значения импринтинг-фактора ($IF = 5.4$ и 6.0) наблюдались при соотношении ППС:Т = 1:1. Образующиеся полимеры имеют степень имидизации 97 – 98 %.

Также установлено влияние концентрации темплатов на количество поверхностных отпечатков. Для получения максимального количества молекулярных отпечатков на поверхности пленки МИП требуется 0.1 г/см^3 темплата в предполимеризационной смеси.

2. Методами ИК-спектроскопии, электронной микроскопии с элементным анализом, сканирующей силовой микроскопии исследованы свойства молекулярно-импринтированных полиимидов с отпечатками консервантов. Так структурно-групповой анализ, проведенный методом ИК-спектроскопии, показал, что спектры МИП не имеют существенных изменений по сравнению со спектрами неимпринтированных полимеров. Это свидетельствует о том, что при синтезе молекулярно-импринтированных полимеров «лестничная» структура, характерная для полиимида, сохраняется. Наблюдается лишь увеличение интенсивности характеристических частот для полимеров с отпечатками консервантов. Это связано с тем, что полученные отпечатки легко доступны для молекул гидратной воды. По данным элементного анализа составы молекулярно-

импринтированных полимеров и их полимеров сравнения совпадают. Остаточное содержание сорбата калия и бензоата натрия в полученных МИП не превышает 5%.

3. Проведена оценка способности молекулярно-импринтированных и неимпринтированных полимеров сорбировать из водных растворов молекулы консервантов. Оценена степень извлечения сорбата калия и бензоата натрия из модельного раствора полученными полимерными пленками. Показано, что МИПы с отпечатками консервантов обладают наибольшей сорбционной способностью по отношению к целевым молекулам, чем неимпринтированные полимеры, при этом лучшей сорбционной способностью обладает МИП с отпечатком бензоата натрия.

4. Для получения воспроизводимых поверхностей селективных материалов предполимеризационную смесь наносили на поверхность электродов сенсоров методом штампования.

Морфология поверхности полученных пленок исследована методом сканирующей силовой микроскопии. Показано, что пленка неимпринтированного полимера имеет однородную поверхность с перепадом высот от 1.4 до 2.6 нм (содержит 88.94 % пор радиусом до 10 нм) и обладает хорошей воспроизводимостью толщины пленки. Морфология поверхности пленок молекулярно-импринтированных полимеров с отпечатками сорбата калия и бензоата натрия имеет более развитую поверхность, что связано с особенностями формирования отпечатков.

Установлено влияние соотношения предполимеризационная смесь – темплат (ППС:Т) и интенсивности эксплуатации сенсоров на их чувствительность. Показано, что только при соотношении ППС:Т = 1:1 получают более устойчивые пленки молекулярно-импринтированных полимеров, морфология поверхности не подвергается заметным изменениям, а чувствительность сенсоров начинает уменьшаться только после 23 аналитической серии.

5. Разработан способ определения сорбата калия и бензоата натрия МИП-сенсорами в модельных водных растворах и пищевых продуктах. Экспериментально установлены метрологические характеристики МИП-сенсоров. Диапазон определяемых концентраций консервантов составляет 5.0 – 500 мг/дм³, предел обнаружения сорбата калия – 1.6 мг/дм³ и бензоата натрия – 2.0 мг/дм³.

6. Пьезосенсоры на основе молекулярно-импринтированного полиимида апробированы при анализе содержания сорбата калия и бензоата натрия в безалкогольных напитках. В качестве референтных методов использовали спектрофотометрию и ВЭЖХ. Показано, что погрешность результатов определения содержания консервантов пьезосенсорами и референтными методами не превышает 6 %.

Перспективы дальнейшей разработки темы связаны с определением консервантов не только в безалкогольных напитках, но и в других жидких средах пьезосенсорами на основе молекулярно-импринтированных полимеров.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АТ-срез – срез пьезокварца с ребром, параллельным оси X, и углом между осью Z и ее проекцией Z' на плоскость среза;

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;

ГХ – жидкостная хроматография;

ИК-спектроскопия – инфракрасная спектроскопия;

МИП – молекулярно-импринтированный полимер;

МИП-сенсоры – сенсоры на основе молекулярно-импринтированных полимеров;

МИП-E202 – молекулярно-импринтированный полимер с отпечатком сорбата калия;

МИП-E211 – молекулярно-импринтированный полимер с отпечатком бензоата натрия;

МС – масс-спектрометрия;

ПАК – полиамидокислота;

ПМ – ароматический сополимер 1,2,4,5-бензолтетракарбоновой кислоты с 4,4'-диаминодифенилоксидом;

ПМО – полимер с молекулярными отпечатками;

ППС-Т – предполимеризационная смесь – темплат;

ПС – полимер сравнения;

П+E202 – полиимид с сорбатом калия;

П+E211 – полиимид с бензоатом натрия;

ССМ – сканирующая силовая микроскопия;

ТСХ – тонкослойная хроматография;

A – количество сорбированного на поверхности полимера;

as, s – ассиметричные и симметричные колебания;

C – концентрация;

D – коэффициенты распределения;

E – цифровая система кодификации пищевых добавок; объемная емкость;

E102 – тартразин;

E110 – желтый «Солнечный закат»;

E122 – азорубин;

E124 – понсо 4R;

E200 – сорбиновая кислота;

E201 – сорбат натрия;

E202 – сорбат калия;

E210 – бензойная кислота;

E211 – бензоат натрия;

E212 – бензоат калия;

E307 – альфа-токоферол, витамин E;

E320 – бутилгидроксианизол;

E330 – лимонная кислота;

E414 – гуммиарабик;

E445 – эфиры глицерина и смоляных кислот;

f – частота колебания; число степеней свободы;

INS – International Numbering System;

IF – импринтинг-фактор;

ip – плоские колебания;

k – коэффициент селективности;

lgC – логарифм концентрации раствора;

m – масса;

MDA – 4,4-метилendioфениламин;

M_r – молекулярная масса;

n – количество параллельных измерений; число аналитических серий;

opp – внеплоскостные колебания;

- P – вероятность;
- QCM – quartz crystal microbalance;
- R^2 – коэффициент детерминации;
- R – степень извлечения; молярная концентрация поверхностных отпечатков;
- R_i – степень имидизации;
- S – площадь; стандартное отклонение; коэффициент чувствительности;
- S_r – относительное стандартное отклонение;
- S_p – средневзвешенное стандартное отклонение;
- t – время; коэффициент Стьюдента;
- $T_{\text{кип}}$ – температура кипения;
- $T_{\text{пл}}$ – температура плавления;
- $T_{\text{разл}}$ – температура разложения;
- V – объем;
- x_i – результат единичного измерения;
- \bar{x} – среднее арифметическое исследуемой величины;
- Δf – сдвиг частоты;
- Δm – прирост массы кристалла;
- ε – доверительный интервал;
- λ – длина волны;
- ν – волновое число;
- ν, δ – валентные и деформационные колебания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Нечаев А. П. Пищевые добавки / А. П. Нечаев, А. А. Кочеткова, А. Н. Зайцев. – Москва : Колос, Колос-Пресс, 2002. – 256 с.
2. Булдаков А. С. Пищевые добавки : справочник / А. С. Булдаков. – Москва : ДеЛи принт, 2003. – 435 с.
3. Сарафанова Л. А. Применение пищевых добавок. Технические рекомендации / Л. А. Сарафанова. – Санкт-Петербург : ГИОРД, 2005. – 200 с.
4. Методология обеспечения питания человека : учебное пособие / М. Ф. Цуканов (науч. ред.) [и др.]. – Санкт-Петербург : Издательство СПбГЭУ, 2015. – 189 с.
5. Сарафанова Л. А. Пищевые добавки : энциклопедия / Л. А. Сарафанова. – Санкт-Петербург : ГИОРД, 2004. – 808 с.
6. Магомедов Г. О. Функциональные пищевые ингредиенты и добавки в производстве кондитерских изделий : учеб. пособие / Г. О. Магомедов, А. Я. Олейникова, И. В. Плотникова. – Санкт-петербург : ГИОРД, 2015. – 440 с.
7. Голубев В. А. Пищевые и биологически активные добавки : учебник для студентов высших учебных заведений / В. Н. Голубев, Л. В. Чичева-Филатова, Т. В. Шленская. – Москва : Издательский центр «Академия», 2003. – 208 с.
8. Маюрникова Л. А. Пищевые и биологически активные добавки : учебное пособие / Л. А. Маюрникова, М. С. Куракин. – Кемерово : Кемеровский технологический институт пищевой промышленности, 2006. – 124 с.
9. СанПиН 2.3.2.1293-03. Гигиенические требования по применению пищевых добавок. – Москва : Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. – 416 с.

10. СанПиН 2.3.2.2364-08. Гигиенические требования по применению пищевых добавок. Дополнения и изменения N 1 к СанПиН 2.3.2.1293-03. – Москва : Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. – 18 с.
11. Сидорова Т. А. Влияние пищевых консервантов на здоровье человека / Т. А. Сидорова, Е. А. Полякова // Сборник тезисов научно-практической конференции «ACTIVE STUDENT». – Москва, 2017. – С. 36-37.
12. ГОСТ Р 53193-2008. Напитки алкогольные и безалкогольные. Определение кофеина, аскорбиновой кислоты и ее солей, консервантов и подсластителей методом капиллярного электрофореза. – Введен. 2010-01-01. – Москва : Стандартинформ, 2010. – 22 с.
13. Люк Э. Консерванты в пищевой промышленности / Э. Люк, М. Ягер. – Санкт-Петербург : ГИОРД, 1998. – 256 с.
14. Antinoro L. EN Rates 12 Common Food Additives As Safe Or Sorry Ingredients / L. Antinoro // Environmental Nutrition. – 2008. – Vol. 31, № 5. – P. 1-4.
15. Yehia El-Samragy. Food Additive / Yehia El-Samragy. – Rijeka : InTech, 2012. – 256 p.
16. Kumar H. A Study On Consumer Awareness, Safety Perceptions & Practices About Food Preservatives And Flavoring Agents Used In Packed/Canned Foods From South India / H. Kumar, A. Jha, K. K. Taneja [et al.] // National Journal of Community Medicine. – 2013. – Vol. 4, № 3. – P. 402-406.
17. Ву Хоанг Иен. Анализ свойств пленок молекулярно-импринтированных полимеров на основе полиимида / Ву Хоанг Иен, Као Ньят Линь, А. Н. Зяблов // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2021. – Т. 21, № 3. – С. 360-368.
18. Bruna G. O. L. Food additives and their health effects: A review on preservative sodium benzoate / G. O. L. Bruna, A. C. C. Thais, A. C. C. Lígia // African Journal of Biotechnology. – 2018. – Vol. 17(10). – P. 306-310.

19. Mpountoukas P. Cytogenetic study in cultured human lymphocytes treated with three / P. Mpountoukas, A. Vantarakis, E. Sivridis [et al.] // *Food and Chemical Toxicology*. – 2008. – Vol. 46(7). – P. 2390-2393.
20. Zengin N. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: Sodium benzoate and potassium benzoate / N. Zengin, D. Yüzbaşoğlu, F. Ünal [et al.] // *Food and Chemical Toxicology*. – 2011. – Vol. 49(4). – P. 763-769.
21. Feingold B. F. Recognition of food additives as a cause of symptoms of allergy / B. F. Feingold // *Annals of Allergy*. – 1968. – Vol. 26. – P. 309-313.
22. Al-Shammari E. The effect of preservatives and flavour additive on the production of oxygen-free radicals by isolated human neutrophils / E. Al-Shammari, R. Bano, S. Khan [et al.] // *International Journal of Nutrition and Food Sciences*. – 2014. – Vol. 3, № 3. – P. 210-215.
23. Kaštelan S. How Ocular Surface Disease Impacts the Glaucoma Treatment Outcome / S. Kaštelan, M. Tomić, K. Metež Soldo [et al.] // *BioMed Research International*. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1-7.
24. Baudouin C. Detrimental effect of preservatives in eyedrops: implications for the treatment of glaucoma / C. Baudouin // *Acta Ophthalmologica*. – 2008. – Vol. 86(7). – P. 716-726.
25. Silva M. M. Food preservatives – An overview on applications and side effects / M. M. Silva, F. C. Lidon // *Emirates Journal of Food and Agriculture*. – 2016. – Vol. 28(6). – P. 366-373.
26. Savin M. Additives in Children's Nutrition – A Review of Current Events / M. Savin, A. Vrkić, D. Dedić [et al.] // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2022. – Vol. 19(20). – P. 1-18.
27. Garg N. *Microbes in Food and Health*. / N. Garg, S. M. Abdel-Aziz, A. Aeron. – Switzerland : Springer, 2016. 372 p.
28. Kumari PV. K. Alternative to Artificial Preservatives / PV. K. Kumari, S. Akhila, Y. S. Rao [et al.] // *Systematic Reviews in Pharmacy*. – 2019. – Vol. 10, Issue 1. – P. 99-102.

29. Попов С. А. Синтез, исследование сорбционных свойств и аналитическое использование материалов с молекулярными отпечатками 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты : дисс.... канд. хим. наук / С. А. Попов. – Москва, 2009. – 146 с.
30. Хальзова С. А. Определение синтетических красителей в жидких средах пьезоэлектрическими сенсорами, модифицированными полимерами с молекулярными отпечатками : дисс.... канд. хим. наук / С. А. Хальзова. – Воронеж, 2017. – 157 с.
31. Ливенцова Е. О. Определение консерванта Е210 в соках и безалкогольных напитках методом тонкослойной хроматографии / Е. О. Ливенцова, С. В. Бельтюкова, О. И. Теслюк // Науковий вісник Ужгородського національного університету. – 2010. – № 23. – С. 45-51.
32. ГОСТ 27001-86. Икра и пресервы из рыбы и морепродуктов. Методы определения консервантов. – Введен. 01.01.88. – Москва : Стандартиформ, 2012. – 8 с.
33. Костюковский Я. Л. Методы определения химических консервантов и антиоксидантов в пищевых продуктах / Я. Л. Костюковский, Д. Б. Меламед // Журнал аналитической химии. – 1989. – Т. 44, № 1. – С. 5-44.
34. ГОСТ 26181-84. Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения сорбиновой кислоты. – Введен. 1985-07-01. – Москва : Стандартиформ, 2010. – 29 с.
35. Frazier R. A. Development of a capillary electrophoresis method for the simultaneous analysis of artificial sweeteners, preservatives and colours in soft drinks / R. A. Frazier, E. L. Inns, N. Dossi [et al.] // Journal of Chromatography A. – 2000. – Vol. 876. – P. 213-220.
36. Беяева Л. Ю. Определение бензоат-иона методом бумажной хроматографии с детектированием по ингибирующему действию в реакции фотосенсибилизированного автоокисления пирогаллола А / Л. Ю. Беяева, А. Ф. Прохорова, М. К. Беклемишев // Журнал аналитической химии. – 2010. – Т. 65, № 1. – С. 66-72.

37. Dong Ch. Headspace solid-phase microextraction applied to the simultaneous determination of sorbic and benzoic acid in beverages / Ch. Dong, W. Wang // *Analytica Chimica Acta*. – 2006. – Vol. 562. – P. 23-29.
38. Techakriengkrai I. Analysis of benzoic acid and sorbic acid in Thai wines and distillates by solid-phase sorbent extraction and performance liquid chromatography / I. Techakriengkrai, R. Surakarnkul // *Journal Food Composition and Analysis*. – 2007. – Vol. 20. – P. 220-225.
39. Дулина Е. Определение консервантов в пищевых продуктах и продовольственном сырье методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Е. Дулина, В. Литинская // *Вісник Харківського національного університету*. – 2005. – Вып. 13, № 669. – С. 134-138.
40. Пиль Л. И. Определение сорбиновой кислоты в пищевых продуктах / Л. И. Пиль, С. Д. Бурлака // *Известия вузов. Пищевая технология*. – 2007. – № 2. – С. 99.
41. ГОСТ 34228-2017. Продукция соковая. Определение консервантов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. – Введен. 2019-01-01. – Москва : Стандартинформ, 2018. – 29 с.
42. Petanovska-Ilievska B. Development of Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography Method for Simultaneous Determination of Sodium Benzoate and Potassium Sorbate in Beverages / B. Petanovska-Ilievska, L. Velkoska-Markovska, M. S. Jankulovska // *Acta Chromatographica*. – 2017. – Vol. 29, № 3. – P. 345-358.
43. Antakli S. Simultaneous Determination of Sodium Benzoate and Potassium Sorbate Preservatives in Foodstuffs Using High Performance Liquid Chromatography / S. Antakli, A. Alahmad, H. Badinjki // *Asian Journal of Chemistry*. – 2010. – Vol. 22, № 4. – P. 3275-3282.
44. Lili W. Simultaneous determination of preservatives in soft drinks, yogurts and sauces by a novel solid-phase extraction element and thermal desorption-gas chromatography / W. Lili, Z. Xiao, W. Yipin [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2006. – Vol. 577. – P. 62-67.

45. Tfouni S. A. V. Determination of benzoic and sorbic acids in Brazilian food / S. A. V. Tfouni, M. C. F. Toledo // *Food Control*. – 2002. – Vol. 13. – P. 117-123.
46. Sher M Ali. Rapid Quantitative Method for Simultaneous Determination of Benzoic Acid, Sorbic Acid, and Four Parabens in Meat and Nonmeat Products by Liquid Chromatography / Sher M Ali // *Journal Association of Official Analytical Chemists*. – 1985. – Vol. 68. – P. 488-492.
47. Майстренко В. Н. Эколого-аналитический мониторинг супертоксиантов / В. Н. Майстренко, Р. З. Хамитов, Г. К. Будников. – Москва : Химия, 1996. – 319 с.
48. Gründler P. Chemical sensor: An Introduction for Scientists and Engineers / P. Gründler. – Berlin : Springer, 2007. – 274 p.
49. Gopel W. Sensors: a comprehensive survey / W. Gopel; J. Hesse; J. N. Zemel. – Weinheim : Wiley-VCH, 1989. – 641 p.
50. Дуванова О. В. Определение олеиновой и пальмитиновой кислот пьезоэлектрическими сенсорами, модифицированными полимерами с молекулярными отпечатками : дисс.... канд. хим. наук / О. В. Дуванова. – Воронеж, 2016. – 152 с.
51. Баника Ф. -Г. Химические и биологические сенсоры: основы и применения / Ф. -Г. Баника. – Москва : Техносфера, 2014. – 880 с.
52. Власов Ю. Г. Химические сенсоры: история создания и тенденции развития / Ю. Г. Власов // *Журнал аналитической химии*. – 1992. – Т. 47, № 1. – С. 114-117.
53. Малов В. В. Пьезорезонансные датчики / В. В. Малов. – Москва : Энергия, 1978. – 248 с.
54. Мясоедов Б.Ф. Химические сенсоры: возможности и перспективы / Б. Ф. Мясоедов, А. В. Давыдов // *Журнал аналитической химии*. – 1990. – Т. 45, № 7. – С. 1259-1278.

55. Туманов А. А. Биосенсоры в анализе объектов окружающей среды / А. А. Туманов, Е. А. Коростылева // Журнал аналитической химии. – 1990. – Т. 45, № 7. – С. 1304-1312.
56. Зяблов А. Н. Определение аминокислот в водных растворах пьезоэлектрическими сенсорами на основе молекулярно-импринтированных полимеров : дисс. ... док. хим. наук: 02.00.02./ А. Н. Зяблов. – Воронеж, 2014. – 371 с.
57. Каттралл Р. В. Химические сенсоры / Р. В. Каттралл. – Москва : Научный мир, 2000. – 144 с.
58. Шведене Н. В. Ионоселективные электроды / Н. В. Шведене // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 5. – С. 60-65.
59. Кечкина Н. И. Обзор применения современных систем типа «электронный нос» для анализа качества пищевых продуктов / Н. И. Кечкина [и др.] // Современные наукоемкие технологии. – 2015. – № 2. – С. 77-81.
60. Власов Ю. Г. Электронный язык – системы химических сенсоров для анализа водных сред / Ю. Г. Власов, А. В. Легин, А. М. Рудницкая // Российский химический. – 2008. – Т. LI, № 2. – С. 101-112.
61. Лугин В. Г. Экспресс-оценка качества пищевых продуктов с применением полупроводниковых сенсоров / В. Г. Лугин, В. Г. Зарапин // Вестник Белорусского государственного экономического университета. – 2011. – № 3. – С. 84-89.
62. Чехлова Т. К. Волноводные датчики концентраций веществ в газообразных смесях и жидкостях / Т. К. Чехлова, А. Г. Тимакин, К. А. Попов // Приборы и техника эксперимента. – 2002. – № 45. – С. 145-148.
63. Эггинс Б. Р. Химические и биологические сенсоры / Б. Р. Эггинс. – Москва : Техносфера, 2005. – 336 с.
64. Sauerbrey G. Verwendung von schwingquarzen zur wägung dünner schichten und zur mikrowägung / G. Sauerbrey // Zeitschrift für Physik. – 1959. – № 155. – P. 206-222.

65. Ву Хоанг Иен. Определение консервантов в жидких средах пьезосенсорами / Ву Хоанг Иен, А. Н. Зяблов // Аналитика и контроль. – 2022. – Т. 26, № 2. – С. 134-140.
66. Bajwa S. Z. Nanostructured materials with biomimetic recognition abilities for chemical sensing / S. Z. Bajwa, G. Mustafa, R. Samardzic [et al.] // *Nanoscale Research Letters*. – 2012. – Vol. 7(1). – P. 328-333.
67. Karaseva N. A. Synthesis and application of molecularly imprinted polymers for trypsin piezoelectric sensors / N. A. Karaseva, B. Pluhar, E. A. Beliaeva [et al.] // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2019. – Vol. 280. – P. 272-279.
68. Yao W. Quartz crystal microbalance for the detection of carbaryl using molecularly imprinted polymers as recognition element / W. Yao, Z. Gao, Y. Cheng // *Journal of Separation Science*. – 2009. – Vol. 32(19). – P. 3334-3339.
69. Sroysee W. Molecularly imprinted polymers to detect profenofos and carbofuran selectively with QCM sensors / W. Sroysee, S. Suticha Chunta, M. Amatatongchai [et al.] // *Physics in Medicine*. – 2019. – Vol. 6. – P. 1-7.
70. Minunni M. A piezoelectric quartz crystal as a direct affinity sensor / M. Minunni, P. Skladal, M. Mascini // *Analytical Letters*. – 1994. – Vol. 27. – P. 1475-1487.
71. Зяблов А. Н. Импедансная модель функционирования пьезокварцевого сенсора в системе «сенсор–селективное покрытие-жидкая фаза» / А. Н. Зяблов, В. Ф. Селеменев // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2013. – Т. 13, Вып. 5. – С. 695-703.
72. Xu Y. Impedance sensor for dissolved nitrogen oxide using a series piezoelectric crystal device / Y. Xu, C. Lu, Y. Hu [et al.] // *Analyst*. – 1996. – Vol. 121, № 6. – P. 883-886.
73. Xu Y. A novel bulk acoustic wave sensor for dissolved ammonia / Y. Xu, C. Lu, K. Chen [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 1996. – Vol. 325, № 1-2. – P. 65-71.

74. Gupta V. K. A novel molecular imprinted nanosensor based quartz crystal microbalance for determination of kaempferol / V. K. Gupta, M. L. Yola, N. Atar // *Sensors and Actuators B : Chemical*. – 2014. – Vol. 194. – P. 79-85.
75. Борзенкова Н. В. Возможности искусственных рецепторов в повышении селективности определения субстратов оксидоредуктаз / Н. В. Борзенкова, И. А. Веселова, Т. Н. Шеховцова // *Вестник Московского университета. Серия 2. Химия*. – 2012. – Т. 53, № 5. – С. 291-311.
76. Дмитриенко С. Г. Использование полимеров с молекулярными отпечатками в процессах разделения и концентрирования органических соединений / С. Г. Дмитриенко, В. В. Ирха, А. Ю. Кузнецова, Ю. А. Золотов // *Журнал аналитической химии*. – 2004. – Т. 59, № 9. – С. 902-912.
77. Као Ньят Линь. Определение карбоновых кислот в производственных растворах модифицированными пьезоэлектрическими сенсорами : дисс.... канд. хим. наук / Као Ньят Линь. – Воронеж, 2019. – 128 с.
78. Beltran A. Molecularly-imprinted polymers: useful sorbents for selective extractions / A. Beltran, F. Borrull, P. A. G. Cormack [et al.] // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2010. – Vol. 29, № 11. – P. 1363-1375.
79. Kryscio D. R. Review: Critical review and perspective of macromolecularly imprinted polymers / D. R. Kryscio, N. A. Peppas // *Acta Biomaterialia*. – 2012. – Vol. 8, № 2. – P. 461-473.
80. Гендриксон О. Д. Молекулярно-импринтированные полимеры и их применение в биохимическом анализе / О. Д. Гендриксон, А. В. Жердев, Б. Б. Дзантиев // *Успехи биологической химии*. – 2006. – Т. 46. – С. 149-192.
81. Daniel S. Investigation of different polymerization methods on the analytical performance of palladium (II) ion imprinted polymer materials / S. Daniel, P. P. Rao, T. P. Rao // *Analytica Chimica Acta*. – 2005. – Vol. 536, № 1-2. – P. 197-206.

82. Hong S. Preparation and characterization of colloidal dispersions of vinyl alcohol–vinyl acetate copolymers: application as stabilizers for vinyl chloride suspension polymerization / S. Hong, R. Albu, C. Labbe [et al.] // *Polymer International*. – 2006. – Vol. 55, № 12. – P. 1426-1434.
83. Kawaguchi S. Dispersion Polymerization / S. Kawaguchi, K. Ito // *Advances in Polymer Science*. – 2005. – Vol. 175. – P. 299-328.
84. Nerín C. Critical review on recent developments in solventless techniques for extraction of analytes / C. Nerín, J. Salafranca, M. Aznar [et al.] // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2009. – Vol. 393, № 3. – P. 809-833.
85. Haginaka J. Uniformly sized molecularly imprinted polymer for d-chlorpheniramine: Evaluation of retention and molecular recognition properties in an aqueous mobile phase / J. Haginaka, C. Kagawa // *Journal of Chromatography A*. – 2002. – Vol. 948, № 1-2. – P. 77-84.
86. Зяблов А. Н. Определение глицина в водных растворах пьезосенсором, модифицированным полимером с молекулярным отпечатком / А. Н. Зяблов [и др.] // *Журнал аналитической химии*. – 2010. – Т. 65, № 1. – С. 93-95.
87. Жиброва Ю. А. Полимеры с молекулярными отпечатками для пьезокварцевых сенсоров. Сообщение 2. Анализ морфологии поверхности пленки коллоксилина / Ю. А. Жиброва, А. Н. Зяблов, В. Ф. Селеменев, О. В. Дьяконова, С. А. Соколова // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2008. – Т. 8, Вып. 5. – С. 853-857.
88. Бондаревский А. С. Биохимические сенсоры с рецепторными покрытиями на основе полимеров с молекулярными отпечатками / А. С. Бондаревский, Т. Н. Ермолаева // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2007. – Т. 7, Вып. 1. – С. 171-179.
89. Rouhani S. Molecular imprinting-based fluorescent optosensor using a polymerizable 1, 8-naphthalimide dye as a fluorescence functional monomer / S. Rouhani, F. Nahavandifard // *Sensors and Actuators B : Chemical*. – 2014. – Vol. 197. – P. 185-192.

90. Nguyen T. H. Intrinsic fluorescence-based optical fiber sensor for cocaine using a molecularly imprinted polymer as the recognition element / T. H. Nguyen, S. A. Hardwick, T. Sun [et al.] // *IEEE Sensors Journal*. – 2012. – Vol. 12, № 1. – P. 255-260.
91. Lee M. -H. Optical recognition of salivary proteins by use of molecularly imprinted poly (ethylene-co-vinyl alcohol) / quantum dot composite nanoparticles/ M. -H. Lee, Y. -C. Chen, M. -H. Ho [et al.] // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2010. – Vol. 397. – P. 1457-1466.
92. Sun H. A novel fluorescent multi-functional monomer for preparation of silver ion-imprinted fluorescent on–off chemosensor / H. Sun, J. -P. Lai, D. - S. Lin [et al.] // *Sensors and Actuators B : Chemical*. 2016. – Vol. 224. – P. 485-491.
93. Shaikh H. Molecularly imprinted surface plasmon resonance (SPR) based sensing of bisphenol A for its selective detection in aqueous systems / H. Shaikh, G. Sener, N. Memon [et al.] // *Analytical Methods*. – 2015. – Vol. 7. – P. 4661-4670.
94. Zhao N. Surface plasmon resonance detection of ametryn using a molecularly imprinted sensing film prepared by surface-initiated atom transfer radical polymerization / N. Zhao, C. Chen, J. Zhou // *Sensors and Actuators B : Chemical*. – 2012. – Vol. 166-167. – P. 473-479.
95. Ермолаева Т. Н. Пьезокварцевые биосенсоры для анализа объектов окружающей среды, пищевых продуктов и для клинической диагностики / Т. Н. Ермолаева, Е. Н. Калмыкова, О. Ю. Шашканова // *Российский химический журнал*. – 2008. – Т. 52, № 2. – С. 17-27.
96. Нифталиев С. И. Искусственные нейронные сети в мультисенсорном анализе двухкомпонентной смеси бензилацетат – этилбензоат / С. И. Нифталиев, С. Е. Плотникова // *Вестник ВГУ, Серия: Химия, биология, фармация*. – 2013. – № 1. – С. 41-46.

97. Нифталиев С. И. Пьезосенсорное детектирование аммиака / С. И. Нифталиев, А. В. Астапов, Ю. В. Бакаева // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2013. – Т. 13, Вып. 2. – С. 245-250.
98. Коренман Я. И. Пьезосенсорный детектор для отдельного определения муравьиной и уксусной кислот в воздухе / Я. И. Коренман, Н. Н. Попова, Т. А. Кучменко // Фундаментальные исследования. – 2007. – № 2. – С. 17-20.
99. Zhang M. Molecularly imprinted polymer on graphene surface for selective and sensitive electrochemical sensing imidacloprid / M. Zhang, H. T. Zhao, T. J. Xie [et al.] // Sensors and Actuators B : Chemical. – 2017. – Vol. 252. – P. 991-1002.
100. Chen N. Molecularly imprinted polymer grafted graphene for simultaneous electrochemical sensing of 4, 4-methylene diphenylamine and aniline by differential pulse voltammetry / N. Chen, L. Chen, Y. Cheng [et al.] // Talanta. – 2015. – Vol. 132. – P. 155-161.
101. Bueno L. MIP-based electrochemical protein profiling / L. Bueno, H. F. El-Sharif, M. O. Salles [et al.] // Sensors and Actuators B : Chemical. – 2014. – Vol. 204. – P. 88-95.
102. Евтюгин Г. А. Электрохимические ДНК-сенсоры для определения биологически активных низкомолекулярных соединений / Г. А. Евтюгин, Г. К. Будников, А. В. Порфирьева // Российский химический журнал (Журнал Российского химического общества им. Д.И. Менделеева). – 2008. – Т. LII, № 2. – С. 66-79.
103. Майстренко В. Н. Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры / В. Н. Майстренко, Г. А. Евтюгин, Р. А. Зильберг – Уфа : БашГУ, 2018. – 189 с.
104. Iqbal N. Mass sensitive multi-sensor platform for receptor screening and quantification purposes / N. Iqbal, G. Mustafa, P. A Lieberzeit // Journal of the Chinese Advanced Materials Society. – 2013. – Vol. 1, № 3. – P. 200-209.

105. Jha S. K. Molecular imprinted polyacrylic acids based QCM sensor array for recognition of organic acids in body odor / S. K. Jha, C. Liu, K. Hayashi // *Sensors and Actuators B : Chemical*. – 2014. – Vol. 204. – P. 74-87.
106. Liu C. Molecularly imprinted sol-gel-based QCM sensor arrays for the detection and recognition of volatile aldehydes / C. Liu, B. Wyszynski, R. Yatabe [et al.] // *Sensors*. – 2017. – Vol. 17. – P. 382-391.
107. Зяблов А. Н. Детектирование аминокислот в препарате «ВСАА» пьезокварцевыми сенсорами, модифицированными полимерами с молекулярными отпечатками / А. Н. Зяблов, Т. С. Моничева, В. Ф. Селеменев // *Аналитика и контроль*. – 2012. – Т. 16, № 4. – С. 406-409.
108. Зяблов А. Н. Проточно-инжекционное определение валина пьезокварцевым сенсором, модифицированным полимером с молекулярными отпечатками / А. Н. Зяблов, С. И. Говорухин, О. В. Дуванова [и др.] // *Аналитика и контроль*. – 2014. – Т. 18, № 4. – С. 438-440.
109. Дуванова О. В. Проточно-инжекционное определение олеиновой и пальмитиновой кислот модифицированными пьезоэлектрическими сенсорами / О. В. Дуванова, А. Н. Зяблов, А. В. Фалалеев // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2014. – Т. 14, Вып. 4. – С. 691-695.
110. Хальзова С. А. Определение синтетических красителей E102, E110, E122 и E124 в безалкогольных напитках модифицированными пьезосенсорами / С. А. Хальзова, Д. А. Кривоносова, А. Н. Зяблов, О. В. Дуванова // *Аналитика и контроль*. – 2017. – Т. 21, № 2. – С.85-92.
111. Као Ньят Линь. Сорбция карбоновых кислот молекулярно-импринтированными полимерами / Као Ньят Линь, А. Н. Зяблов, О. В. Дуванова, В. Ф. Селеменев // *Известия высших учебных заведений. Серия «Химия и химическая технология»*. – 2020. – Т. 63, Вып. 2. – С. 71-76.

112. Као Ньят Линь. Применение пьезосенсоров для определения карбоновых кислот в промежуточных продуктах производства пищевого этанола / Као Ньят Линь, О. В. Дуванова, С. Ю. Никитина, А. Н. Зяблов // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2019. – Т. 85, № 4. – С. 11-16.
113. Као Ньят Линь. Определение карбоновых кислот в производственных растворах модифицированными пьезоэлектрическими сенсорами : автореф. дисс.... канд. хим. наук / Као Ньят Линь. – Воронеж, 2019. – 18 с.
114. Плетнев М. Ю. Консерванты и современные способы защиты продукции / М. Ю. Плетнев. – Долгопрудный : Издательский Дом «Интеллект», 2013. – 216 с.
115. Хуснутдинова Н. Ю. Влияние консервантов на гематологические показатели лабораторных животных / Н. Ю. Хуснутдинова [и др.] // Материалы межрегиональной научно-практической интернет-конференции молодых ученых и специалистов с международным участием «Гигиена, экология и риски здоровью в современных условиях», 14-16 апреля 2021 г. Саратов: ООО Издательство «КУБиК», 2021. – С. 185-187.
116. Донченко Л. В. Безопасность пищевой продукции : учебник / Л. В. Донченко, В. Д. Надыкта. – Москва : ДеЛи Принт, 2007. – 539 с.
117. O'Neil M. J. The Merck Index – An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals / M. J. O'Neil. – Cambridge, UK : Royal Society of Chemistry, 2013. – 1613 p.
118. Wypych A. Databook of Preservatives / A. Wypych, G. Wypych. – ChemTec Publishing, 2015. – 526 p.
119. ГОСТ 33880-2016. Напитки спиртные. Термины и определения. – Введен. 2017-08-01. – Москва : Стандартинформ, 2016. – 8 с.
120. ГОСТ Р 52700-2018. Напитки слабоалкогольные. Общие технические условия. – Введен. 2019-07-01. – Москва : Стандартинформ, 2018. – 8 с.

121. ГОСТ 28188-2014. Напитки безалкогольные. Общие технические условия. – Введен. 2016-01-01. – Москва : Стандартинформ, 2019. – 11 с.
122. Сарафанова Л. А. Применение пищевых добавок в индустрии напитков / Л. А. Сарафанова. – Санкт-Петербург : Профессия, 2007. – 240 с.
123. Vu Хоанг Иен. Определение сорбата калия и бензоата натрия в безалкогольных напитках пьезосенсорами на основе молекулярно-импринтированных полимеров / Vu Хоанг Иен, А. Н. Зяблов // Известия вузов. Химия и химическая технология. – 2022. – Т. 65, Вып. 10. – С. 14-20.
124. Казицына Л. А. Применение УФ, ИК и ЯМР спектроскопии в органической химии / Л. А. Казицына, Н. Б. Куплетская. – Москва : Высшая школа, 1971. – 264 с.
125. Roeges N. P. G. A guide to the complete interpretation of infrared spectra of organic structures / N. P. G. Roeges. – Chichester ; New York : John Wiley & Sons, 1994. – 340 p.
126. Тарасевич Б. Н. ИК спектры основных классов органических веществ : справочные материалы / Б. Н. Тарасевич. – Москва : МГУ, 2012. – 55 с.
127. Шимако Н. А. Инфракрасные ультрафиолетовые спектры поглощения ароматических эфиров / Н. А. Шимако, М. В. Шишкина. – Москва : Наука, 1987. – 125 с.
128. Углянская В. А. Инфракрасная спектроскопия ионообменных материалов / В. А. Углянская [и др.]. – Воронеж : Издательство Воронежского государственного университета, 1989. – 208 с.
129. СТБ 1181-99. Продукты переработки плодов и овощей. Методики определения содержания сорбиновой и бензойной кислот при их совместном присутствии спектрофотометрическим и хроматографическим методами. – Введен. 2000-03-01 – Минск : Госстандарт, 1999. – 13 с.

130. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. – Москва : Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 240 с.
131. Мельникова Е. И. Современные методы исследования свойств сырья и продуктов животного происхождения. Лабораторный практикум : учебное пособие / Е. И. Мельникова, Е. С. Рудниченко, Е. В. Богданова. – Воронеж : Воронежский государственный университет инженерных технологий, 2014. – 95 с.
132. Меренкова А. А. Определение формальдегида в производственных растворах пьезоэлектрическими сенсорами. / А. А. Меренкова, К. В. Жужукин, А. Н. Зяблов, Л. И. Бельчинская // Аналитика и контроль. – 2021. – Т. 25, № 2. – С. 140-145.
133. Дворкин В. И. Метрология и обеспечение качества количественного химического анализа / В. И. Дворкин. – Москва : Химия, 2001. – 263 с.
134. Бессонов М. И. Полиимиды – новый класс термостойких полимеров / М. И. Бессонов [и др.]. – Ленинград : Наука, 1983. – 328 с.
135. Зяблов А. Н. Сорбция красных пищевых красителей полимерами с молекулярными отпечатками / А. Н. Зяблов, С. А. Хальзова, В. Ф. Селеменев // Известия высших учебных заведений. Серия «Химия и химическая технология». – 2017. – Т. 60, Вып. 7. – С. 42-47.
136. Бюллер К. У. Тепло- и термостойкие полимеры / К. У. Бюллер. – Москва : Химия, 1984. – 1056 с.
137. Исследование состояния поверхности мембран на основе полиамидокислоты / О. В. Дьяконова, А. Н. Зяблов, В. В. Котов, Т. В. Елисеева, В. Ф. Селеменев, В. В. Фролова // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2005. – Т. 5, № 4. – С. 501-506.
138. Оценка свойств молекулярно-импринтированных полимеров для определения жирных кислот в жидкостях пьезоэлектрическими сенсорами / О. В. Дуванова [и др.] // Вестник Воронежского аграрного университета. Технические науки. – 2014. – № 3 (42). – С. 147-157.

139. Пат. 137946 Российская Федерация, МПК H01L41/08. Пьезоэлектрический сенсор на основе молекулярно-импринтированного полимера для определения олеиновой кислоты / Зяблов А. Н., Дуванова О. В. [и др.]; заявитель и патентообладатель Воронежский госуниверситет. – № 2013144500/28, заявл. 03.10.2013; опубл. 27.02.2014, Бюл. № 6. – 6 с.
140. Пат. 138636 Российская Федерация, МПК G01N27/406, G01N27/12. Пьезоэлектрический сенсор на основе молекулярно-импринтированного полимера для определения пальмитиновой кислоты / Зяблов А. Н., Дуванова О. В. [и др.]; заявитель и патентообладатель Воронежский госуниверситет. – № 2013144501/28, заявл. 03.10.2013; опубл. 20.03.2014, Бюл. № 8. – 6 с.
141. Миронов В. Л. Основы сканирующей зондовой микроскопии / В. Л. Миронов. – Москва : Техносфера, 2004. – 143 с.
142. Аверко-Антонович И. Ю. Методы исследования структуры и свойств полимеров / И. Ю. Аверко-Антонович. – Казань : КГТУ, 2002. – 604 с.
143. Scanning Probe Microscopy Image Processing Software «FemtoScan Online». M. Advanced Technologies Center. spm@nanoscopy.org
144. Пат. 156900 Российская федерация, МПК G01N30/00. Установка с кондуктометрическим детектором для исследования процессов сорбции / Зяблов А. Н., Дуванова О. В. [и др.]; заявитель и патентообладатель Воронежский госуниверситет. – № 2014154569/28, заявл. 31.12.2014; опубл. 20.11.2015; Бюл. № 32. – 7 с.
145. Ву Хоанг Иен. Анализ сорбционной способности полимеров с молекулярными отпечатками сорбата калия / Ву Хоанг Иен, А. Г. Данковцева, А. Н. Зяблов // Сборник трудов 8-й Международной научно-методической конференции «Фармобразование – 2022». – Воронеж, 2022. – С. 112-117.
146. Кудринская В. А. Влияние растворителя на сорбционные свойства полимеров с молекулярными отпечатками кверцетина / В. А.

- Кудринская, С. Г. Дмитриенко // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2009. – Т. 9, Вып. 6. – С. 824-829.
147. Дерффель К. Статистика в аналитической химии / К. Дерффель. – Москва : Мир, 1994. – 267 с.
148. Чарыков А. К. Математическая обработка результатов химического анализа : Методы обнаружения и оценки ошибок / А. К. Чарыков. – Ленинград : Химия, 1984. – 168 с.
149. Дьяконова О. В. Структура и электрохимические свойства частично имидизированных полиамидокислотных мембран : дисс.... канд. хим. наук / О. В. Дьяконова. – Воронеж, 1999. – 158 с.
150. Соколова С. А. Особенности структуры ионообменных полиамидокислотных мембран, синтезированных при различных температурах / С. А. Соколова, О. В. Дьяконова, А. Н. Зяблов // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2009. – Т. 9, Вып. 6. – С. 1002-1007.
151. Полимеры с молекулярными отпечатками для пьезокварцевых сенсоров
Сообщение 1. Анализ лекарственных препаратов, содержащих глицин / Ю. А. Жиброва, А. Н. Зяблов, Н. А. Щеглова, О. П. Красникова, В. Ф. Селеменев // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т. 8, Вып. 4. – С.686-688.
152. Cao Nhat Linh. The Use of Piezosensors for Determination of Carboxylic Acids in the Intermediate Products of Edible Ethanol Production / Cao Nhat Linh, O. V. Duvanova, S. Yu. Nikitina, A. N. Zyablov // Inorganic Materials. – 2020. – Vol. 56, № 14. – P. 1379-1383.
153. Дьяконова О. В. Особенности формирования структуры полиамидокислотных мембран в зависимости от температуры синтеза / О. В. Дьяконова, С. А. Соколова, А. Н. Зяблов, Ю. А. Жиброва // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2007. – Т. 7, № 5. – С. 873-877.

154. Silverstein R. M. Spectrometric Identification of Organic Compounds / R. M. Silverstein, F. X. Webster. – New York : John Wiley & Sons, 1997. – 326 p.
155. Фарафонова О. В. Синтез методом фотополимеризации и применение тонких пленок полимеров с молекулярными отпечатками для молекулярного распознавания цефалоспоринов / О. В. Фарафонова, А. Ю. Потанина, Н. В. Тарасова, Т. Н. Ермолаева // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2018. – Т. 18, № 4. – С. 495-504.
156. Коршак В. В. Термостойкие полимеры / В. В. Коршак. – Москва : Наука, 1969. – 414 с.
157. Нецкина О. В. Адсорбция из растворов на твердой поверхности / О. В. Нецкина – Новосибирск : РИЦ НГУ, 2015. – 17 с.
158. Вячеславов А. С. Определение площади поверхности и пористости материалов методом сорбции газов / А. С. Вячеславов, М. Е. Ефремова. – Москва : МГУ, 2011. – 65 с.
159. Меренкова А. А. Морфология поверхности полимеров с молекулярными отпечатками на основе полиимида / А. А. Меренкова, Ву Хоанг Иен, М. В. Гречкина, А. Н. Зяблов // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2020. – Т. 20, № 6. – С. 760-764.
160. Зяблов А. Н. Анализ морфологии поверхности молекулярно-импринтированных полимеров // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т. 8, № 1. – С. 172-175.
161. Као Ньят Линь. Анализ морфологии поверхности пленок на основе полиимида / Као Ньят Линь, А. Н. Зяблов, О. В. Дуванова [и др.] // Бутлеровские сообщения. – 2018. – Т. 53, № 2. – С.127-133.
162. Дуванова О. В. Анализ морфологии поверхности полимеров с молекулярными отпечатками олеиновой и пальмитиновой кислот / О. В. Дуванова, Л. В. Володина, А. Н. Зяблов [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2013. – Т. 13, № 6. – С. 884-890.

163. Синтез и исследование сорбционных свойств полимеров с отпечатками 4-гидроксibenзойной кислоты / С. Г. Дмитриенко [и др.] // Журнал аналитической химии. – 2006. – Т.61, № 1. – С.18-23.
164. Дьяконова О. В. Структурные характеристики поверхностей мембранных материалов различной химической природы по данным сканирующей зондовой микроскопии / О. В. Дьяконова, С. А. Соколова, А. Н. Зяблов // Вестник Воронежского аграрного университета. – 2011. – Вып. 4 (31). – С.55-58.
165. Као Ньят Линь. Modeling of butyric acid recognition by molecular imprinted polyimide / Cao Nhat Linh, O. V. Duvanova, Vu Hoang Yen, A. N. Zyablov, P. N. Nesterenko // Journal of Molecular Modeling. – 2020. – Vol. 26:194, Issue 8. – P. 1-7.
166. Ву Хоанг Иен. Применение МИП-сенсоров для определения консервантов в безалкогольных напитках / Ву Хоанг Иен, А. Н. Зяблов // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2022. – Т. 88, № 8. – С. 10-16.
167. Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B. [et al.] GAUSSIAN 16, Revision B.01. Gaussian Inc. : Wallingford CT, 2016.
168. Dennington R., Keith T., Millam J. Semichem Inc., Shawnee Mission KS, GaussView, Version 5, 2009.
169. Зяблов А. Н. Определение бензоата натрия в жидкостях пьезоэлектрическим сенсором, модифицированным молекулярно-импринтированным полимером / А. Н. Зяблова, Ву Хоанг Иен // Журнал аналитической химии. – 2022. – Т. 77, № 12. – С. 1133-1137.
170. Ву Хоанг Иен. Определение бензоата натрия в безалкогольных напитках пьезосенсорами / Ву Хоанг Иен, А. Г. Данковцева, А. Н. Зяблов // Тезисы докладов, представленных на IV Съезде аналитиков России. 26-30 сентября 2022 г. г. Москва. – Москва, 2022. – С. 503.

Данные ИК-спектроскопии

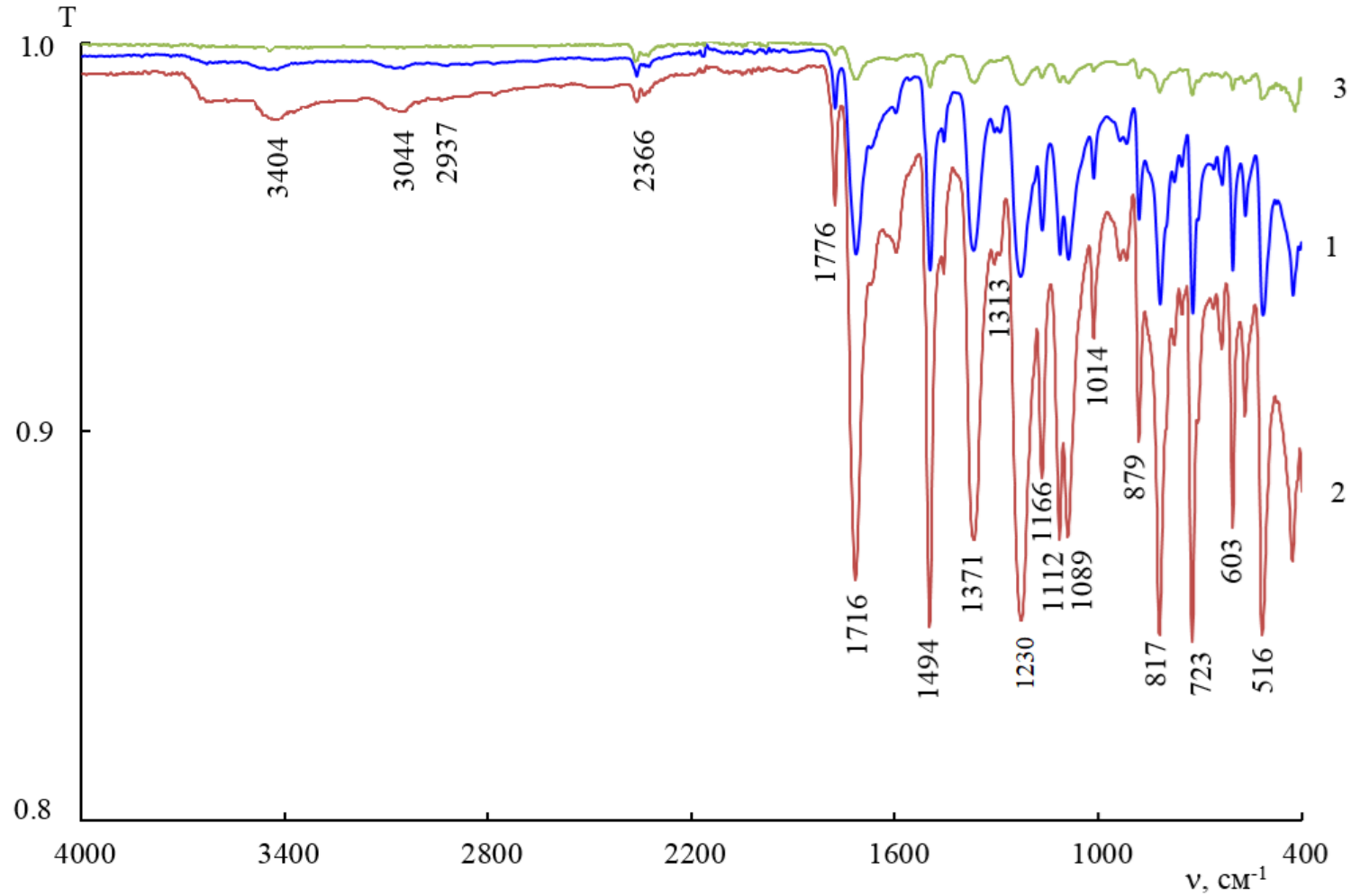


Рис. А.1. ИК-спектры полимеров
 1 – полимер сравнения; 2 – полимер с сорбатом калия;
 3 – молекулярно-импринтированный полимер с отпечатком сорбата калия

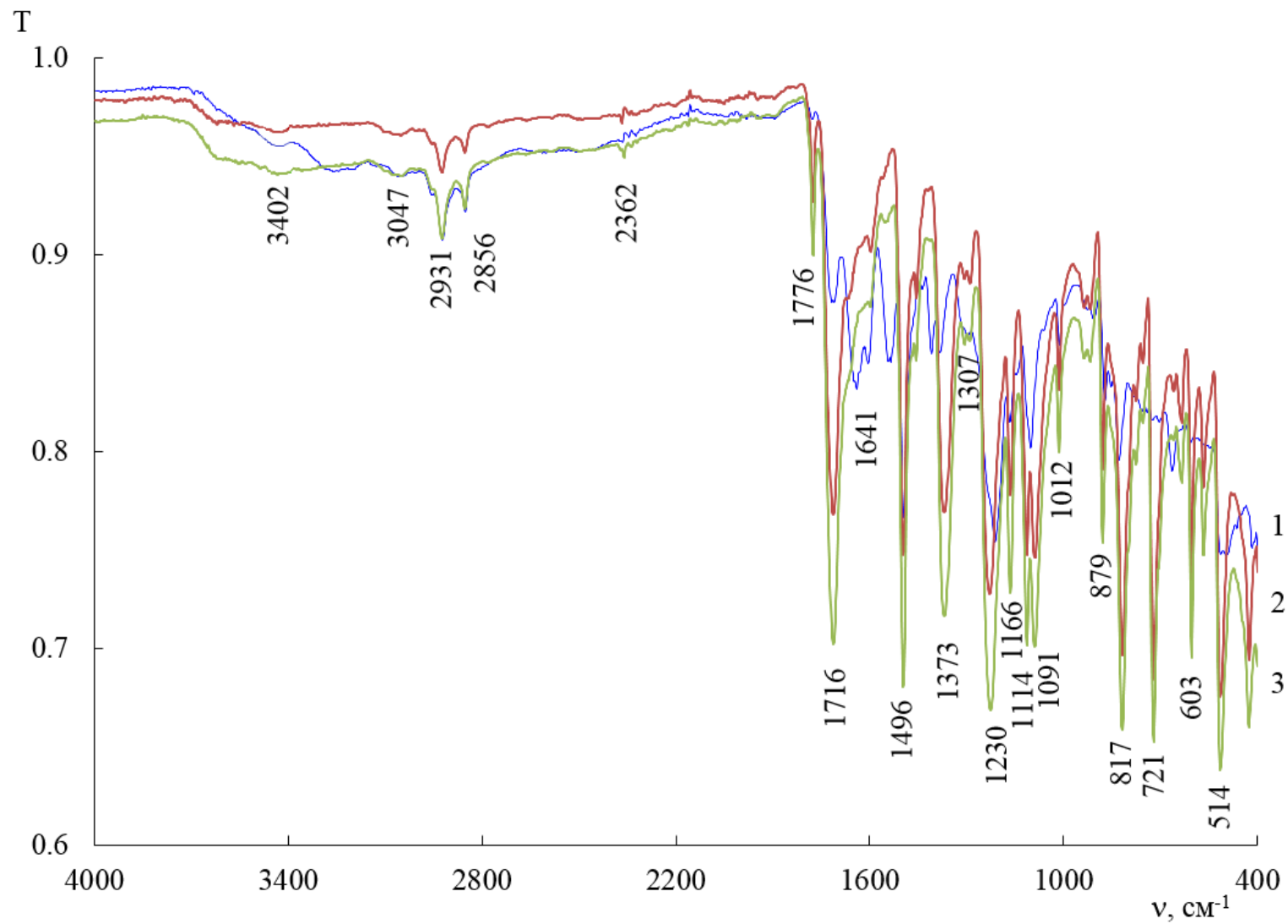


Рис. А.2. ИК-спектры полимеров
 1 – полимер сравнения; 2 – полимер с бензоатом натрия;
 3 – молекулярно-импринтированный полимер с отпечатком бензоата натрия

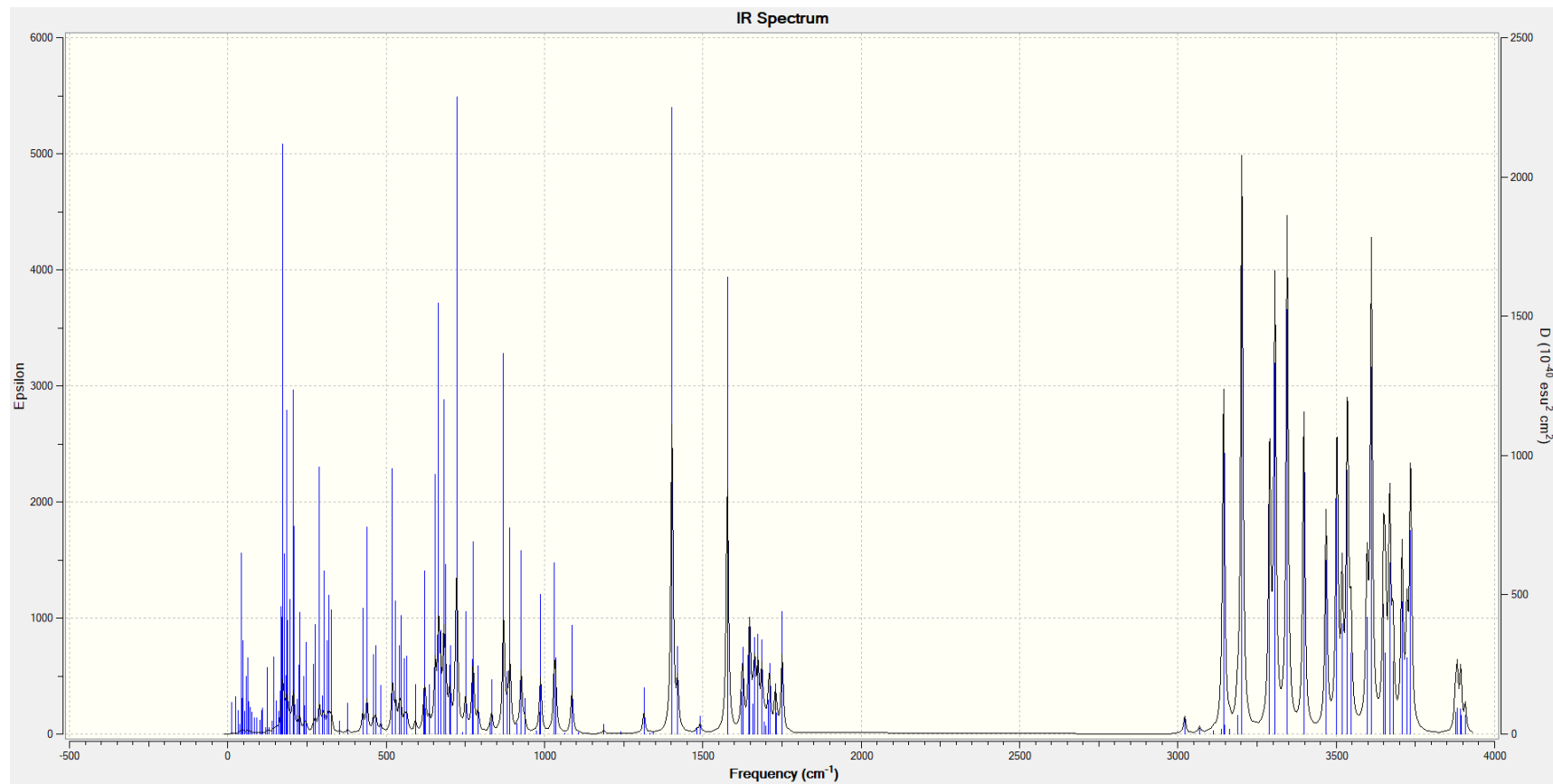


Рис. А.3. ИК-спектры гидратной оболочки сорбата калия

Таблица А.1. Частоты колебаний групп атомов гидратированного сорбата калия

Отнесение колебаний	ν , см^{-1}
ОН в воде	3700 – 3150
ν_{as} C-H (C=C-H)	3137
ν_{as} CH ₃	3068
ν_{a} CH в CH ₃	3021
ν_{s} C=O	1750

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Данные пьезосенсорных измерений

Таблица Б.1. Результаты измерения разностной частоты колебаний модифицированных сенсоров для различных концентраций сорбата калия и бензоата натрия ($n = 5$, $P = 0.95$)

Консервант	Сенсор	C , г/дм ³	Δf , кГц	S_r , %
Сорбат калия (E202)	ПС	0.5	0.070 ± 0.007	8.2
		0.25	0.062 ± 0.007	8.8
		0.1	0.074 ± 0.006	6.6
		0.05	0.071 ± 0.005	5.8
		0.005	0.036 ± 0.004	8.3
	МИП-E202	0.5	0.570 ± 0.029	4.1
		0.25	0.500 ± 0.047	7.5
		0.1	0.401 ± 0.023	4.5
		0.05	0.361 ± 0.030	6.8
		0.005	0.197 ± 0.021	8.7
Бензоат натрия (E211)	ПС	0.5	0.090 ± 0.008	7.4
		0.25	0.116 ± 0.007	5.1
		0.1	0.099 ± 0.008	6.4
		0.05	0.131 ± 0.013	8.1
		0.005	0.033 ± 0.003	6.8
	МИП-E211	0.5	0.859 ± 0.067	6.3
		0.25	0.720 ± 0.037	4.2
		0.1	0.637 ± 0.054	6.8
		0.05	0.587 ± 0.041	5.6
		0.005	0.195 ± 0.019	7.8

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Градуировочные зависимости аналитических сигналов от концентрации для референтных методов и пьезосенсоров

Таблица В.1. Градуировочные зависимости разностной частоты колебаний МИП-сенсоров от $-\lg C$ консервантов при разных соотношениях предполимеризационная смесь – темплат

Сенсор	Консервант	ППС:Т	Уравнение градуировки	R ²
МИП-Е202	Е202	1:2	$y = -0.1635x + 0.527$	0.998
		1:1	$y = -0.1841x + 0.6081$	0.987
		2:1	$y = -0.145x + 0.4464$	0.986
		3:1	$y = -0.1108x + 0.356$	0.989
МИП-Е211	Е211	1:2	$y = -0.1711x + 0.5657$	0.994
		1:1	$y = -0.3192x + 1.0508$	0.981
		2:1	$y = -0.2057x + 0.6321$	0.992
		3:1	$y = -0.1722x + 0.5483$	0.972

Таблица В.2. Градуировочные зависимости аналитического сигнала от концентрации консервантов для методов спектрофотометрии, ВЭЖХ, ТСХ и кондуктометрии

Метод	Консервант	Уравнение градуировки	R ²
Спектрофотометрия	Е202	$y = 0.1712x - 0.0031$	0.99
	Е211	$y = 0.0786x + 0.0143$	0.998
ВЭЖХ	Е202	$y = 251.39x + 58.799$	1
	Е211	$y = 58.426x - 13.266$	0.999
ТСХ	Е202	$y = 4351.5x + 117$	0.985
	Е211	$y = 350.92x + 469.9$	0.977
Кондуктометрия	Е202	$y = 1.1789x + 9.175$	0.999
	Е211	$y = 1.1549x + 5.4397$	0.999

**Схема образования Н-связей молекул консерванта и
структурного звена полимера**

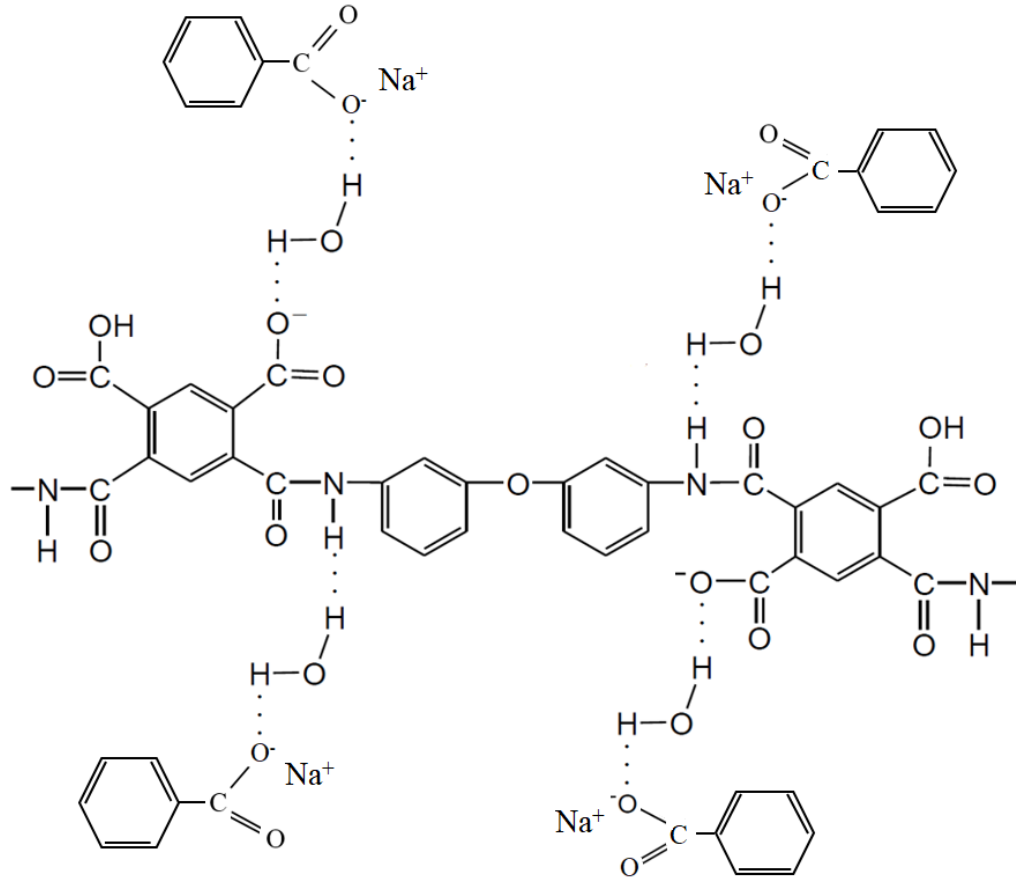


Рис. Г.1. Схема образования Н-связей молекул бензоата натрия и структурного звена полиимида