

УДК 543.554.6

Янкович Г.Є., асп.; Студеняк Я.І., к.х.н., доц.

ВИКОРИСТАННЯ ТІОЦАНАТ-СЕЛЕКТИВНОГО ЕЛЕКТРОДУ В АНАЛІЗІ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», 88000, м. Ужгород, вул. Підгірна 46
e-mail: halynayankovych@gmail.com

Тіоціанати (роданіди) – солі/сполуки тіоціанатної кислоти є помітно поширеними у природі та техніці речовинами. Розчинні тіоціанати застосовують як аналітичні реактиви для виявлення та визначення Fe(III), Co(II) та деяких інших іонів металів, для екстракційного розділення цирконію та гафнію у технології [1], при одержанні тіосечовини, в синтетичній органічній хімії, як інсектициди, для протруювання тканин, як морозостійкі добавки до бетонів, тощо. У організмі тіоціанати утворюються в результаті метаболізму ціанідів та деяких інших речовин в печінці [2]. Так, наприклад, їх вміст у людській слині зростає при вживанні деяких овочів роду *Brassica* (капуста, редька, хрін, цибуля), а також при палінні від 10-20 мг/дм³ – для осіб що не палять, до 60-120 мг/дм³ у курців [3]. Проте біологічна роль та функції тіоціанату, як і низки інших тіосполук, остаточно ще не з'ясовані, що в значній мірі пов'язано з недоліками відомих методів їх визначення, і про що свідчить ріст наукових публікацій за останні роки [4-12].

Тіоціанат-іони, зазвичай, визначають спектрофотометричними [13], тест-методами [14], спектрофлюориметричними [15], вольтамперометричними [16], газохроматографічними [17], атомно-абсорбційними [18], іонно-хроматографічними [19] методами, однак, їх аналітичні, експлуатаційні чи економічні характеристики не завжди відповідають необхідним вимогам. Відомі й потенціометричні методи визначення тіоціанатів на основі іон-селективних електродів (ISE). Грунтовний літературний огляд щодо ефективності використання електрохімічних сенсорів для визначення тіоціанатів опубліковано в [20]. Як зазначено в огляді, в ролі іонофорів активно використовують металокомплексні сполуки

Cu(II), Zn(II), Rh(III), Ni(II), Mn(II), Hg(II) з порфіринами, основами Шиффа, фталоціанінами, імідопіридинами й іншими органічними сполуками та хімічно модифіковані цеоліти.

Комерційно-доступні тіоціанат-селективні електроди, які виготовляють на базі кристалічних сульфід-срібних матеріалів, наприклад: Orion 9458BN, ELIT 8229, тощо, володіють низькою селективністю до сульфід-, тіосульфат- та деяких галогенід-іонів, і в т.ч. до хлоридів, а також щодо протеїнів та деяких інших біологічних сполук, які присутні в біологічних матеріалах [21]. Тому їх пряме застосування при аналізі біологічних об'єктів може супроводжуватись появою похибок.

Кращу селективність відносно вказаних інтерферентів проявляють раніш описані пластифіковані тіоціанатні сенсори на основі іонних асоціатів органічних та комплексних сполук, проте, і вони не позбавлені певних недоліків, а саме таких як: дрейф потенціалу, обмежений «час життя» – 2-3 місяці, низька доступність чи складність синтезу активних речовин, тощо [20].

У даній роботі було виготовлено лабораторні зразки ISE і досліджено основні аналітичні та метрологічні характеристики ПВХ-пластифікованих тіоціанат – селективних електродів на основі синтезованих солей 5-(5,6-диметил-1,3-бензотіазол-2-іл) піримідин-2-аміну. Структура іонофору підтверджена ¹H ЯМР спектрометрично (Mercury-400, 400 МГц).

Виготовлений електрод було застосовано для потенціометричного (іонометричного) визначення тіоціанат-іонів в слині.

Експериментальна частина

0,1 М розчин тіоціанату амонію готували шляхом розчинення точної наважки в фосфатному буфері (0,1 М розчини K_2HPO_4 та NaH_2PO_4) при $pH=6,0$. Розчини меншої концентрації готували в день експерименту шляхом послідовного розведення вихідного вказаним фосфатним буфером. Розчини аніонів та органічних сполук готували з наважок їх натрієвих та калієвих солей. При виготовленні мембрани використовували тетрагідрофуран (ТГФ) «ч.», о-нітрофенілоктиловий ефір (о-НФОЕ) «ч.» та полівінілхлорид (ПВХ) для іон-селективних електродів фірми Selectofor (Fluka).

Методика виготовлення іон-селективного електроду майже не відрізнялася від загальноприйнятої [22]. Для цього на аналітичних вагах в кільце ($d=12$ мм) зважували 0,005 г іонофору, 0,1 г ПВХ та 0,2 г пластифікатору о-НФОЕ. Отриману суміш розчиняли в ТГФ та ретельно перемішували до отримання прозорої однорідної консистенції. Після повного випаровування розчинника, з отриманої мембрани коркорізом вирізали плівку необхідного діаметру та за допомогою клею на основі ПВХ та ТГФ приклеювали її до корпусу. Масова частка компонентів у мембрані складала: 1,7% електроактивної речовини, 32,3% ПВХ та 66,0% о-НФОЕ. Отриманий електрод заповнювали внутрішнім розчином калій хлориду з концентрацією $1,0 \times 10^{-3}$ М КСІ. Перед використанням електрод добу кондиціювали в 0,1 М розчині Na_2HPO_4 .

Вимірювання електрорушійної сили (ЕРС) проводили при кімнатній температурі. Для реєстрації величин ЕРС гальванічного елемента $Ag/AgCl, KCl \text{ нас.} | \text{досліджуваний розчин} | \text{пластифікована мембрана} | 1,0 \times 10^{-3}$ М КСІ, $Ag/AgCl$ використовували високоомний потенціометр Radelkis OP-208/1 (Угорщина). Підключення потенціометра до ПК проводили з допомогою 8-канального аналогово-цифрового перетворювача (АЦП) ADA-1406 (HOLIT Data Systems, Україна) з дискретністю в 14 біт. Реєстрацію та обробку даних проводили з допомогою програм PowerGraph 3.3., Excel та Origin.

Для отримання градуовальної залежності в комірку послідовно вводили добавки стандартних розчинів аналіту та реєстрували зміну ЕРС. Концентрацію

аналіту в комірці після кожної добавки обчислювали за відомими рівняннями.

Результати та їх обговорення

Як відомо, кислотність розчинів відіграє важливу роль у хімічних та фізико-хімічних дослідженнях. Вона може впливати як на форму знаходження аналіту у розчині, так і на стан активної речовини та асоціатів у фазі мембрани. На рис. 1 представлено залежність відгуку отриманого сенсора від pH при різних концентраціях тіоціанат-іонів.

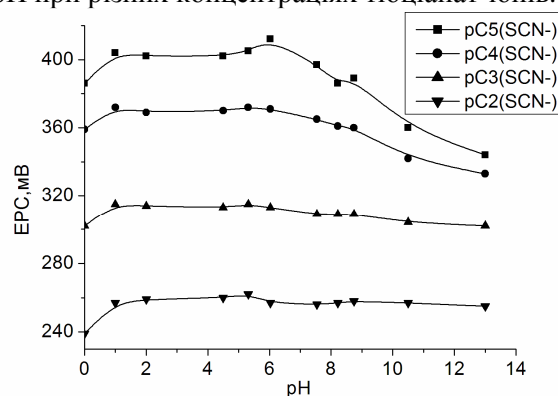


Рис. 1. Вплив pH на відгук сенсора при різних концентраціях тіоціанат-іонів ($pC=2-5$).

Як видно з даного рисунку, максимальний відгук сенсора проявляє в діапазоні $pH=3-8$. При $pH < 3$ абсолютні значення потенціалу зменшуються імовірно внаслідок відсутнього впливу транспорту іонів гідроксонію в мембрані. При $pH > 8$ значний вплив на відгук сенсора справляють гідроксид-іони, що імовірно пов'язано з утворенням незарядженої форми іонофору чи конкурентною реакцією іонного обміну. Для подальших досліджень вибрано $pH=6,0$, яке є близьким до pH більшості біологічних рідин, наприклад, слини.

Для визначення основних метрологічних характеристик виготовленого сенсора (крутизни електродної функції, діапазону лінійності та межі виявлення) було побудовано градуовальний графік (рис. 2). Як можна побачити, лінійність відгуку електроду щодо активності тіоціанат-іонів лежить в межах $1,0 \times 10^{-1} - 4,0 \times 10^{-6}$ М тіоціанату. Крутизна електродної функції є близькою до теоретичної ($56,85 \text{ мВ/}pC$ ($t=20^\circ\text{C}$)), а межа виявлення рівна $5,0 \times 10^{-7}$ М.

Встановлення «часу життя» електроду базувалося на періодичній перевірці крутизни

електродної функції протягом двох місяців шляхом побудови градувального графіку. Результати свідчать про відсутність суттєвих змін у поведінці сенсору ($\Delta E=1-2$ мВ) і його придатності для більш тривалого використання.

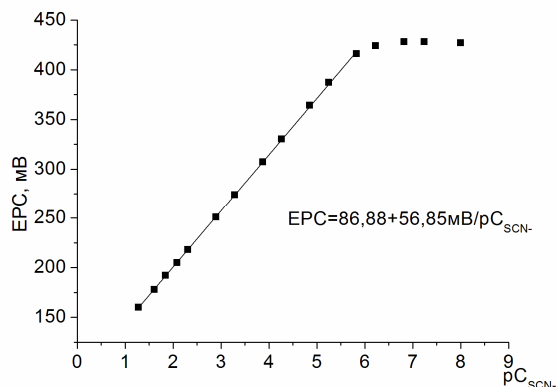


Рис. 2. Градувальний графік потенціометричного визначення тіоціанату (0,1 М фосфатний буфер з рН=6,0).

Одним з важливих параметрів оцінки можливостей сенсору та областей його застосування є селективність [23]. У даній роботі для визначення логарифмічних коефіцієнтів потенціометричної селективності використовували метод змішаних розчинів при фіксованій концентрації/активності інтерференту [24].

Як приклад, на рис. 3. наведені графічні залежності, що ілюструють вплив деяких аніонів на відгук сенсору до тіоціанат-іонів. Найбільший вплив на відгук сенсора проявляють йодид-іони, і майже не впливають сульфати та фосфати. Отримані коефіцієнти селективності для аніонів різної природи наведені у табл. 1.

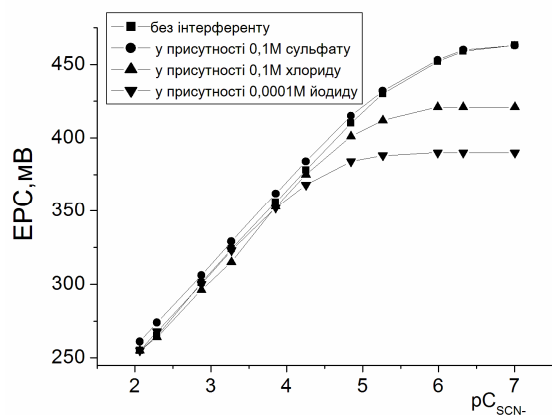


Рис. 3. Відгук сенсору у присутності деяких аніонів (рН=6,0) на введення тіоціанату.

У фосфатних буферних розчинах визначенню тіоціанату майже не перешкоджають значні надлишки низки аніонів та трилону Б, а також катіонів амонію, натрію, калію, кальцію та магнію. Визначення тіоціанатів можна проводити у присутності 0,1 моль/л сполук молекулярного характеру – сечовини, глюкози та гліцину. Значний вплив на потенціал сенсора проявляють перхлорати та перйодати, коефіцієнти селективності яких близькі до 1, проте концентрація у біологічних об'єктах зазвичай є на порядки меншою за концентрацію тіоціанатів.

Таблиця 1. Коефіцієнти селективності, отримані методом змішаних розчинів

Аніон	C (An-), М	lg K _{SCN-/An}
H ₂ PO ₄ ⁻	0,1	-5,2
HPO ₄ ²⁻	0,1	-5,2
SO ₄ ²⁻	0,1	-5,2
аскорбат	0,1	-5,2
лактат	0,1	-5,2
цитрат	0,1	-4,7
тарtrat	0,1	-4,7
F ⁻	0,01	-4,5
Cl ⁻	0,1	-4,0
піруват	0,1	-4,0
GSH	0,01	-3,8
HCO ₃ ⁻	0,01	-3,8
ЕДТА ²⁻	0,1	-3,7
C ₂ O ₄ ²⁻	0,01	-3,6
NO ₂ ⁻	0,001	-3,3
BrO ₃ ⁻	0,1	-3,2
Br ⁻	0,01	-2,6
S ₂ O ₃ ²⁻	0,01	-2,4
HS ⁻	0,001	-1,8
NO ₃ ⁻	0,001	-1,7
CrO ₄ ²⁻	0,001	-1,7
саліцилат	0,001	-0,7
I ⁻	0,0001	-0,6

Примітка. GSH – глутатіон

Отримані результати дозволили застосувати розроблений електрод для потенціометричного визначення тіоціанатів у слині. Методика аналізу передбачає наступне: до зразку слини, об'ємом 0,5 мл добавляли 9,5 мл фосфатного буферного

розчину, і отриманий розчин поміщали в потенціометричну комірку із електродами та мішалкою. Вимірювали ЕРС ланцюга, що складався з селективного електроду та хлорид-срібного електроду порівняння. Для врахування можливого дрейфу значень потенціалу до одержаного розчину порціями вводили дві стандартні добавки тіоціанат-іонів, записуючи відповідні значення ЕРС після кожної добавки. Отримані дані обробляли за відомими алгоритмами [25, 26], а результати аналізу зразків добровольців наведено у табл. 2.

Таблиця 2. Результати визначення тіоціанатів у слині (n=3)

№	М-д станд. добавок (МСД), мг/л	Пряма потенціометрія (ПП), мг/л	Похибка (МСД /ПП), %
1	71,2±0,2	77,1±0,1	-8,4
2	57,3±0,3	58,5±0,2	-2,0
3	24,9±0,1	25,4±0,1	-2,2
4	56,8±0,3	56,8±0,2	0,09
5	37,3±0,7	37,3±0,6	0,01
6	23,6±0,7	23,7±0,6	-0,11

Як можна побачити з наведених даних, відмінність між результатами прямої потенціометрії та методу добавок знаходяться у межах допустимої похибки іонометричного аналізу.

Висновки

1. Розроблено тіоціанат-селективний електрод, що виявився придатним для визначення тіоціанат-іонів в області рН рН=3-8, з крутизною $S=(56\pm 1)$ мВ/декаду, діапазоном лінійності $1,0\times 10^{-1} - 4,0\times 10^{-6}$ М та межею виявлення $\sim 5,0\times 10^{-7}$ М.

2. Серед більш як 25 досліджених аніонів та катіонів суттєвий вплив проявляють перхлорати, періодати, йодиди та саліцилати, причому, вплив аніонів в основному підпорядковується ряду ліофільності Гофмейстера.

3. Розроблений електрод використано для визначення тіоціанатів у слині. Отримані результати свідчать про можливість застосування сенсору для експресного аналізу біологічних рідин.

Список використаних джерел

1. Трохименко А.Ю., Запорожець О.А. Застосування тіоціанатів у хімічному аналізі. *Методи та об'єкти хімічного аналізу*. 2013, 8 (4), 168–185.
2. Hol W.G.J., Lijk L.J., Kalk K.H. Soaking in Cs_2SO_4 reveals a caesium-aromatic interaction in bovine-liver rhodanese. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1988, 177(2), 345–349.
3. Tsuge K., Kataoka M., Seto Y. Cyanide and thiocyanate levels in blood and saliva of healthy adult volunteers. *J. Health Sci.*, 2000, 46(5), 343–350.
4. Aslan N., Kenar A., Atakol O., Kiliç E. Iodide-, thiocyanate- and perchlorate-selective liquid membrane electrodes based on tris (2, 2', 2''-salicylidene-imino) triethylamine-Iron (III). *Erciyes University Journal Of Institute of Science and Technology*. 2016, 25(1-2), 237–250.
4. Cubuk O., Caglar B., Topcu C., Coldur F., Sarp G., Tabak A., Sahin E. Structural characterization of hexadecyltrimethylammonium - smectite composites and their potentiometric electrode applications. *Appl. Surf. Sci.* 2015, 338, 99–112.
5. Chandra S., Tomar P. K., Kumar A., Malik A., Singh A. Novel thiocyanate ion-selective electrodes based on a copper (II) complex of p-hydroxyacetophenone thiosemicarbazone as a carrier. *Monatsh. Chem.* 2013, 144(5), 573–579.
6. Afkhami A., Soltani-Felehgari F., Madrakian T. Highly sensitive and selective determination of thiocyanate using gold nanoparticles surface decorated multi-walled carbon nanotubes modified carbon paste electrode. *Sens. Actuators, B.* 2014, 196, 467–474.
7. Benvidi A., Ghanbarzadeh M. T., Dehghan M., Mazloum-Ardakani M., Vafazadeh R. Thiocyanate ion selective electrode based on bis (N-3-methylphenyl salicylidenaminato) copper (II) ionophore. *Chin. Chem. Lett.* 2014, 25(12), 1639–1642.
8. Abdel-Haleem F. M., Rizk M. S. Highly selective thiocyanate optochemical sensor based on manganese (III)-salophen ionophore. *Mater. Sci. Eng., C.* 2017, 75, 682–687.
9. Deng H.H., Wu C.L., Liu A.L., Li G.W., Chen W., Lin X.H. Colorimetric sensor for thiocyanate based on anti-aggregation of citrate-capped gold nanoparticles. *Sens. Actuators, B.* 2014, 191, 479–484.
10. Chandra S., Hooda S., Tomar P. K., Malik A., Kumar A., Malik S., Gautam S. Synthesis and characterization of bis nitrate [4-hydroxyacetophenonesemicarbazone) nickel (II) complex as ionophore for thiocyanate-selective electrode. *Mater. Sci. Eng., B.* 2016, 62, 18–27.
11. Badri A., Pouladsaz P. Highly selective and sensitive thiocyanate PVC-membrane electrodes

- based on modified zeolite ZSM-5. *Int. J. Electrochem. Sci.* 2011, 6, 3178–3195.
12. Shirmardi A., Shamsipur M., Akhond M., Monjezi J. Electronic tongue for simultaneous determination of cyanide, thiocyanate and iodide. *Meas.* 2016, 88, 27–33.
13. Van Staden J.F., Botha A. Spectrophotometric determination of thiocyanate by sequential injection analysis. *Anal. Chim. Acta.* 2000, 403(1), 279–286.
14. Butts W.C., Kuehneman M., Widdowson G.M. Automated method for determining serum thiocyanate to distinguish smokers from nonsmokers. *Clin. Chem.* 1974, 20(10), 1344–1348.
15. Gong B., Gong G. Fluorimetric method for the determination of thiocyanate with 2', 7'-dichlorofluorescein and iodine. *Anal. Chim. Acta.* 1999, 394(2), 171–175.
16. Lee K., Kang D.H., Choe J.E., Yun M., You J.M., Go M.J., Jeon S. The novel SCN-ion-selective electrode based on the 1-benzyl-3-(4-nitrophenyl) thio-urea ionophore. *Bull. Korean Chem. Soc.* 2014, 35(11), 3175.
17. Kage S., Nagata T., Kudo K. Determination of cyanide and thiocyanate in blood by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Biom. Sci. Appl.* 1996, 675(1), 27–32.
18. Danchick R.S., Boltz D.F. Indirect spectrophotometric and atomic absorption spectrometric methods for determination of thiocyanate. *Anal. Chem.* 1968, 40(14), 2215–2216.
19. Michigami Y., Fujii K., Ueda K., Yamamoto Y. Determination of thiocyanate in human saliva and urine by ion chromatography. *Analyst.* 1992, 117(12), 1855–1858.
20. Трохименко А., Запорожець О., Сухан В. Визначення тиоціанату у фізіологічних рідинах і об'єктах довкілля електрохімічними сенсорами. *Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки.* 2013, 23 (272), 6–16.
21. Umezawa Y. CRC Hand Book of Ion-selective Electrodes: Selectivity Coefficients. *CRC Press.* Boston, 1990.
22. Camman K. Working with ion-selective electrodes: chemical laboratory practice. *Springer-Verlag:* Berlin, Heidelberg, New York, 1979, P. 127.
23. Студеняк Я.І. Селективність методів та методик аналізу як основний фактор їх надійності. *VIII Українська конференція з аналітичної хімії. Одеса, Україна.* 2008, С.149.
24. Umezawa Y., Umezawa K., Sato H. Selectivity coefficients for ion-selective electrodes: recommended methods for reporting $K_{potA/B}$ values (technical report). *Pure Appl. Chem.* 1995, 67(3), 507–518.
25. Morrison G.H. General aspects of trace analytical methods I. Methods of calibration in trace analysis. *Pure and Applied Chemistry.* 1975, 41(3), 395–402.
26. James N.M. Basic statistical methods for analytical chemistry. Part 2. Calibration and regression methods. A review. *Analyst.* 1991, 116(1), 3–14.

Стаття надійшла до редакції: 10.10.2017.

THE USE OF THIOCYANATE-SELECTIVE ELECTRODE IN ANALYSIS OF BIOLOGICAL OBJECTS

Yankovych H.Ye., Studenyak Ya.I.

Thiocyanate-selective electrode based on salts of 5-(5,6-dimethyl-1,3-benzothiazol-2-yl)pyrimidin-2-amine is described. The electrode was prepared by incorporating the ionophore into plasticized poly(vinyl chloride) membrane. The electrode demonstrate near-Nernstian response (56 ± 1 mV/pC) over a wide linear range ($1,0 \times 10^{-1} - 4,0 \times 10^{-6}$ M) of thiocyanate concentration. The electrode has a fast response time, submicromolar detection limit ($\sim 5,0 \times 10^{-7}$ M thiocyanate) and could be used over a wide pH range of 3–8. The proposed sensor revealed high selectivity for thiocyanate over a number of common organic and inorganic anions. Application of the electrode for direct potentiometric determination of thiocyanate in saliva samples is reported.