

Анализ вещества

Substances analysis

DOI: <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2022-88-12-5-13>**ПРОТОЧНО-ИНЖЕКЦИОННОЕ АМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ
ОПРЕДЕЛЕНИЕ АДРЕНАЛИНА, МЕЛАТОНИНА И КОРТИЗОЛА
НА ЭЛЕКТРОДЕ, МОДИФИЦИРОВАННОМ БИНАРНОЙ СИСТЕМОЙ
ЗОЛОТО – ПАЛЛАДИЙ И НАФИОНОВОЙ ПЛЕНКОЙ**

© Лариса Геннадиевна Шайдарова*, Ирина Александровна Челнокова,
Юлия Александровна Лексина, Дарина Юрьевна Хайруллина,
Герман Константинович Будников

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Химический институт им. А. М. Бутлерова, Россия, 420008, г. Казань, Кремлевская ул., д. 18; *e-mail: larisashaidarova@mail.ru

*Статья поступила 1 октября 2022 г. Поступила после доработки 15 октября 2022 г.
Принята к публикации 27 октября 2022 г.*

Контроль точного содержания стероидных гормонов и их синтетических аналогов в объектах биомедицины является актуальной аналитической задачей. Разработан способ одно-временного селективного и высокочувствительного амперометрического определения адреналина, мелатонина и кортизола с использованием двухдетекторной проточно-инжекционной системы. Детекторами служили планарные углеродные электроды с одним или двумя рабочими электродами, модифицированными бинарной системой золото – палладий, которая проявляет каталитическую активность при электроокислении рассматриваемых органических соединений. Высокая чувствительность определения связана с каталитическими свойствами металлического модификатора: переход от металла к бинарной системе привел к росту каталитического тока окисления гормонов. Различие потенциалов окисления гормонов на предложенном электроде обеспечивает селективность определения адреналина в присутствии мелатонина и кортизола. Для селективного определения мелатонина и кортизола поверхность модифицированного рабочего электрода покрыли нафионовой пленкой. Разность потенциалов пиков окисления адреналина, мелатонина и кортизола на таком электроде составила 300 мВ. Предложенный способ апробирован при анализе образцов урины. Для устранения мешающего влияния электрофильных соединений проточно-инжекционную схему дополнили диализатором и хроматографической мини-колонкой. Линейная билогарифмическая зависимость аналитического сигнала от концентрации адреналина, мелатонина и кортизола наблюдается в интервалах $5,0 \cdot 10^{-10} - 5,0 \cdot 10^{-3}$, $5,0 \cdot 10^{-11} - 5,0 \cdot 10^{-3}$ и $5,0 \cdot 10^{-12} - 5,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л соответственно. Амперометрическое определение гормонов в проточно-инжекционной системе приводит к повышению производительности анализа, уменьшению расхода пробы и позволяет автоматизировать процесс.

Ключевые слова: химически модифицированные электроды; бинарная система золото – палладий; нафионовая пленка; планарный электрод; проточно-инжекционный анализ; амперометрическое определение адреналина; мелатонина и кортизола.

**FLOW-INJECTION AMPEROMETRIC DETERMINATION OF ADRENALIN,
MELATONIN, AND CORTISOL ON THE ELECTRODE MODIFIED
BY GOLD – PALLADIUM BINARY SYSTEM AND NAFION FILM**

© Larisa G. Shaidarova*, Irina A. Chelnokova, Yulia A. Leksina,
Darina Yu. Khairullina, Herman C. Budnikov

Kazan Federal University, Alexander Butlerov Institute of Chemistry, 18, Kremlyovskaya str., Kazan, 420008, Russia;
*e-mail: larisashaidarova@mail.ru

Received October 1, 2022. Revised October 15, 2022. Accepted October 27, 2022.

Pharmaceuticals containing steroid hormones and their synthetic analogues are widely used in medicine. Accurate determination of the hormone content in biomedical objects is an urgent problem in modern analytical chemistry. A method for the selective and highly sensitive amperometric determination of adrenaline, melatonin, and cortisol in a flow-injection system has been developed. A scheme of a two-detector flow-injection system was proposed for the simultaneous determination of the adrenaline, melatonin, and cortisol content. Screen-printed carbon electrodes (SPE) with one or two working electrodes modified by gold-palladium binary system, which exhibited catalytic activity upon electrooxidation of organic compounds under study were used as detectors. A high sensitivity of the determination is attributed to the catalytic properties of the metal modifier: the transition between the metal and binary system leads to an increase in the catalytic current of hormones oxidation. The selectivity of the adrenaline determination in the presence of melatonin and cortisol is provided by the difference in the potentials of hormone oxidation at the developed electrode. For the selective determination of melatonin and cortisol the surface of the working electrode was modified by the Nafion film. The potential difference between the oxidation peaks of adrenaline, melatonin and cortisol on the modified electrode was 300 mV. The proposed method was tested in analysis of real urine samples. The flow-injection scheme was supplemented with a dialyzer and a chromatographic mini-column to eliminate the interfering effect of electrophilic compounds. The linear logarithmic dependence of the analytical signal on the concentration of adrenaline, melatonin and cortisol is observed in the range from 5.0×10^{-10} to 5.0×10^{-3} M, from 5.0×10^{-11} to 5.0×10^{-3} M, and from 5.0×10^{-12} to 5.0×10^{-3} M, respectively. Amperometric determination of hormones in a flow-injection system leads to an increase in the productivity of analysis, decrease in the sample consumption and provides for automation of the process.

Keywords: chemically modified electrodes; gold-palladium binary system; Nafion film; screen-printed electrode; flow-injection analysis; amperometric determination of adrenaline; melatonin and cortisol.

Введение

Адреналин (АД) (*L*-1-(3,4-дигидроксифенил)-2-метиламиноэтанол) — это гормон, вырабатываемый надпочечниками, который играет важную роль во время физических или психических нагрузок [1]. Высокий уровень АД может привести к феохромоцитоме, гипогликемии, инфаркту миокарда, а низкий уровень — к болезни Паркинсона [2].

Мелатонин (МТ) (*N*-ацетил-5-метокситриптамиин), производное 5-гидрокситриптофана, является эндогенным гормоном, главным образом ответственным за поддержание циркадного ритма организмов [3, 4]. Ритм секреции МТ носит четко выраженный циркадианный характер. Расстройства сна возникают тогда, когда секреция МТ десинхронизируется с циклом дня и ночи [5]. МТ не только отвечает за регулирование циркадных и сезонных ритмов, но также оказывает выраженное влияние на иммунную систему, а также используется как противовоспалительное и антиоксидантное средство. Помимо этого, он влияет на течение психических расстройств и применяется при лечении рака молочной железы [6–8].

Кортизол или гидрокортизон (ГК) (11,17,21-тригидрокси-4-прегнен-3,20-дион) в организме человека вырабатывается корой надпочечников в ответ на стрессовое воздействие, поэтому его называют гормоном стресса [9]. Помимо своих иммунологических функций, ГК участвует в глюконеогенезе и обмене жиров, белков и углеводов [10]. Снижение концентрации ГК в крови может привести к болезни Аддисона, которая вызывает потерю веса, хроническую усталость и потемнение кожи, тогда как повышенный уровень ГК

приводит к синдрому Кушинга [11]. Определение свободного ГК в суточной моче — информативный маркер для диагностики состояний гипо- и гиперкортицизма [12].

Острый стресс активизирует симпатическую нервную систему и приводит к повышению уровня катехоламинов и глюкокортикоидов. Помимо регуляции циркадных ритмов и сна, вырабатываемый эпифизом МТ напрямую регулирует уровень катехоламинов и кортизола [13].

Поскольку интересующие нас гормоны стресса АД и ГК влияют на кодирование, консолидацию и извлечение воспоминаний, а модуляция стрессовой реакции МТ сопровождается изменениями в обработке памяти, важно найти способ одновременного определения всех компонентов системы АД/МТ/ГК.

В настоящее время методы электроаналитической химии широко используют в сочетании с проточно-инжекционным анализом (ПИА) [14], что позволяет обеспечить ряд преимуществ при определении органических соединений. В ряде случаев проточные системы применяют в сочетании с амперометрическими детекторами, в качестве которых выступают планарные электроды (ПЭ). Замена традиционных электрохимических ячеек с объемными электродами на миниатюризированные ячейки малых объемов с ПЭ позволяет решить ряд проблем, связанных с портативностью и эффективностью расхода реактивов. Модифицирование рабочих электродов металлами и бинарными металлическими системами улучшает перенос заряда и за счет каталитических свойств модификатора увеличивает селек-

тивность и чувствительность определения в проточных методах.

В настоящей работе оценена возможность использования каталитического отклика модифицированных ПЭ с электроосажденной бинарной системой золото – палладий (Au – Pd), в том числе покрытых нафионовой пленкой (НФ-пленкой), для проточно-инжекционного амперометрического определения АД, ГК и МТ в моче.

Экспериментальная часть

Циклические вольтамперограммы регистрировали с использованием бипотенциостата DropSens μ STAT400 (Испания) с электрохимической ячейкой объемом 10 мл, содержащей ПЭ производства DropSens (Испания), на поверхности которого размещены один или два рабочих электрода с площадью поверхности 0,1 см², вспомогательный электрод из углеродной пасты и электрод сравнения из серебряной пасты. Скорость наложения потенциала (v) составляла 10 – 100 мВ/с.

Поверхность рабочих электродов модифицировали электроосажденными частицами золота, палладия или бинарной системой Au – Pd. Электроосаждение металлов на поверхности планарных электродов проводили потенциостатически из растворов, содержащих тетрахлорозолотую кислоту (хч, Aldrich, Германия) и хлорид палладия (хч, Экофарм, Россия), при $E = -0,30$ В в течение 240 с. Электроосаждение бинарной системы проводили потенциодинамически, сканируя в диапазоне потенциалов от $-0,20$ до $0,30$ В в течение 5 циклов, из раствора, содержащего тетрахлорозолотую кислоту и хлорид палладия в равных соотношениях. Растворы этих соединений готовили растворением их точных навесок.

Нанесение НФ-пленки на поверхность модифицированных ПЭ проводили методом капельного испарения из 5 %-ного раствора полимера (Aldrich, Германия).

Растворы АД, МТ и ГК готовили по точным навескам реактивов (хч, Aldrich, Германия). Растворы меньших концентраций получали разбавлением исходного непосредственно перед измерениями. В качестве фоновой электролиты использовали 0,1 М H₂SO₄.

ПИА проводили по схеме, представленной в работе [15].

Обсуждение результатов

Вольтамперометрическое определение адреналина, мелатонина и кортизола на планарных электродах, модифицированных частицами Au, Pd и системой Au – Pd и покрытых нафионовой пленкой. В условиях циклической вольтамперометрии на поверхности углеродных электродов с иммобилизованными металлами

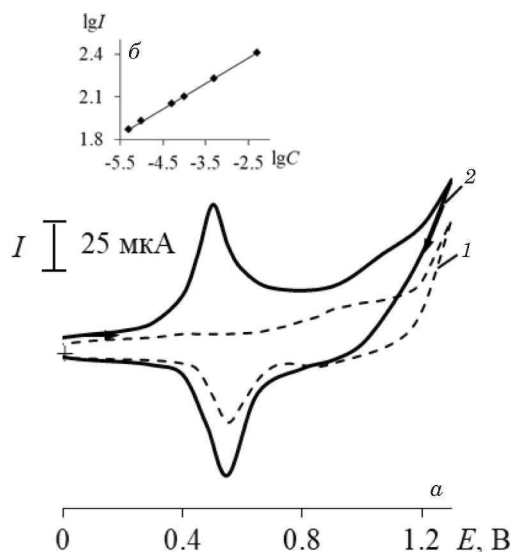


Рис. 1. Циклические вольтамперограммы, полученные на электроде Au – Pd – ПЭ в отсутствие (1) и в присутствии (2) $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л адреналина на фоне 0,1 М H₂SO₄ (а) (скорость изменения потенциала — 20 мВ/с); зависимость $\lg I$ от $\lg C$ (б)

Fig. 1. Cyclic voltammograms obtained on electrode Au – Pd – SPE in the absence (1) and in the presence (2) of adrenaline ($C = 5 \times 10^{-4}$ M) against a background of 0.1 M H₂SO₄ (a) (potential change rate 20 mV/sec; dependence of $\log I$ on $\log C$ (b))

происходит электрохимическое окисление металлов с образованием их оксидов: золото окисляется до степени окисления +3, палладий — +2. Для планарных электродов с бинарной системой Au – Pd характерно наличие на вольтамперограммах нескольких максимумов тока, соответствующих этим процессам. При этом проявляется аддитивный эффект.

Таблица 1. Вольтамперные характеристики электроокисления адреналина, кортизола и мелатонина на модифицированных планарных электродах на фоне 0,1 М H₂SO₄

Table 1. Current-voltage characteristics of electrooxidation of adrenaline, cortisol, and melatonin on chemically modified electrodes against a background of 0.1 M H₂SO₄ solution

Субстрат	Электрод	$E_{кат}$, В	$I_{кат}$, мкА	$I_{кат}/I_{mod}$
Адреналин	Au – ПЭ	0,50	40	4,6
	Pd – ПЭ	0,70	128	6,4
	Au – Pd – ПЭ	0,50	135	7,2
Мелатонин	Au – ПЭ	0,70	56	2,0
	Pd – ПЭ	0,85	50	2,5
	Au – Pd – ПЭ	0,80	72	3,8
Кортизол	Au – ПЭ	1,10	18	1,4
	Pd – ПЭ	—	—	—
	Au – Pd – ПЭ	1,00	20	2,6

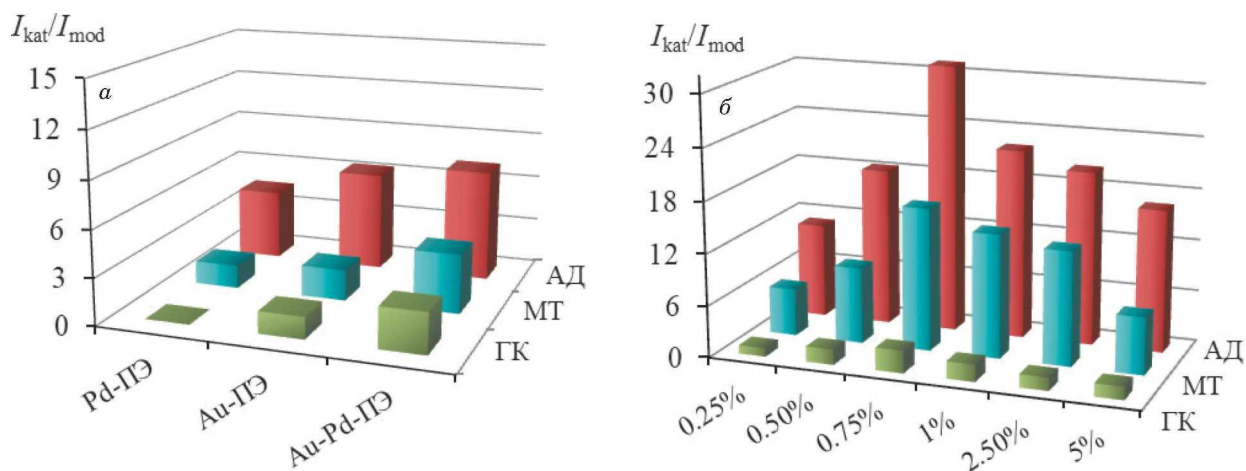


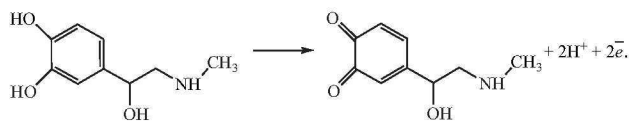
Рис. 2. Зависимость каталитического эффекта от природы модификатора (а) и от концентрации нафiona (б) при окислении АД, МТ и ГК ($C = 5 \cdot 10^{-3}$ моль/л) на электроде Au – Pd – ПЭ

Fig. 2. Dependence of the catalytic effect on the nature of the modifier (a) and on the concentration of Nafion (b) during oxidation of AD, MT, and HC ($C = 5 \times 10^{-3}$ mol/liter) on the Au – Pd – SPE electrode

На вольтамперограммах окисления АД, МТ и ГК в кислой среде на ПЭ, модифицированных осадками золота (Au – ПЭ), палладия (Pd – ПЭ) или их бинарной системой Au – Pd (Au – Pd – ПЭ), на анодной ветви наблюдается один пик (табл. 1). Следует отметить, что ГК окисляется только на модифицированных электродах Au – ПЭ и Au – Pd – ПЭ. Вольтамперограммы окисления ГК, регистрируемые на ПЭ и Pd – ПЭ в области потенциалов от 0 до 1,30 В, повторяют форму фоновой кривой.

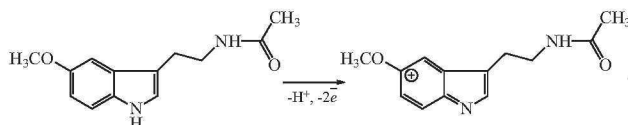
В качестве примера на рис. 1, а приведена циклическая вольтамперограмма, полученная при окислении АД на электроде Au – Pd – ПЭ. Высота пика окисления АД в несколько раз превышает высоту пика окисления модификатора и растет с увеличением концентрации органического соединения (см. рис. 1, б). Все эти факторы указывают на каталитическое окисление субстрата. Каталитический эффект рассчитывали по соотношению I_{kat}/I_{mod} , где I_{kat} — каталитический ток окисления субстрата, мкА; I_{mod} — ток окисления модификатора, мкА.

При этом электродные реакции, протекающие при электроокислении АД, включают двух-электронный процесс, который сопровождается переносом двух протонов, и соответствуют следующему уравнению [14]:

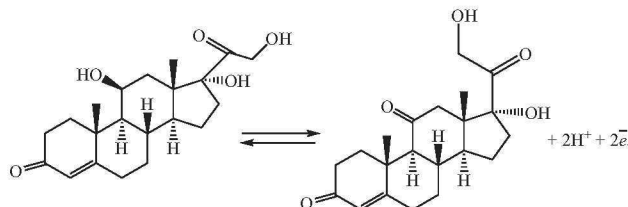


Электроокисление МТ включает двухэлектронный однопротонный перенос с образованием катиона в положении 5 индольного кольца. Схе-

му электрохимической реакции обычно представляют следующим образом [16, 17]:



Электроокисление кортизола происходит с потерей двух протонов и двух электронов по уравнению [18]:



По значению углового коэффициента $\lg \beta = \Delta \lg I / \Delta \lg v$ установили, что электрохимический процесс осложнен кинетикой химической реакции окисления АД ($\lg \beta = 0,35$) и адсорбцией при окислении МТ и ГК ($\lg \beta = 0,7$ и $0,8$ соответственно) [19].

Наибольший каталитический эффект при электроокислении АД, МТ и ГК проявляют частицы бинарной системы Au – Pd (рис. 2, а). При этом наблюдается многократный прирост тока по сравнению с током окисления модификатора (см. табл. 1).

Анодная ветвь вольтамперограммы окисления МТ имеет форму размытого пика, и при совместном определении всех компонентов системы АД, МТ и ГК на вольтамперной кривой наблюдается три анодных максимума, налагающихся друг на друга. Нанесение нафioновой пленки на поверхность рабочего электрода

Au – Pd – ПЭ позволяет исключить наложение пиков.

Показано, что использование ПЭ, модифицированного композитом бинарной системы Au – Pd и НФ-пленкой (НФ – Au – Pd – ПЭ), приводит к увеличению прироста тока при окислении адреналина и мелатонина и сужению пиков окисления, что связано с проявлением катионообменных свойств НФ. Прирост тока при окислении ГК не меняется (см. рис. 2). На циклической вольтамперограмме смеси гормонов наблюдаются пики при 0,50, 0,80 и 1,10 В для АД, МТ и ГК соответственно (рис. 3). Разность потенциалов пиков окисления этих соединений составляет 300 мВ, что позволяет проводить совместное определение трех аналитов по одной вольтамперограмме.

Значения тока и потенциала окисления АД, МТ и ГК на композитном электроде НФ – Au – Pd – ПЭ зависят от содержания НФ в капле раствора полимера, наносимой на поверхность электрода. Максимальный ток фиксируется при содержании НФ, равном 0,75 % (см. рис. 2, б).

Интервалы линейных зависимостей тока пиков от концентрации аналитов для модифицированных и немодифицированных ПЭ и уравнения регрессии для этих зависимостей приведены в табл. 2. Зависимости каталитического тока от содержания аналитов линейны в более широком интервале концентраций на электроде НФ – Au – Pd – ПЭ.

Полученные результаты использованы для разработки способа амперометрического определения АД, МТ и ГК на композитном электроде НФ – Au – Pd – ПЭ в условиях ПИА.

Проточно-инжекционное амперометрическое определение адреналина, мелатонина и кортизола на планарных электродах, модифицированных бинарной системой Au – Pd и покрытых нафионовой пленкой. На чувствительность проточно-инжекционного (ПИ) амперометрического детектирования влияют значение налагаемого потенциала и скорость инъекции

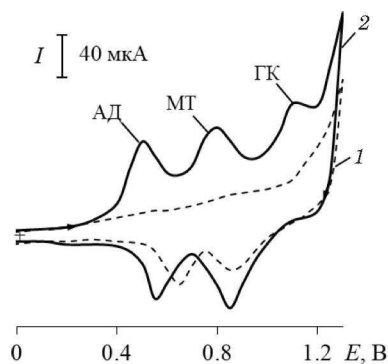


Рис. 3. Циклические вольтамперограммы, полученные в отсутствие (1) и в присутствии (2) смеси АД, МТ и ГК ($C = 5 \cdot 10^{-4}$ моль/л) на электроде НФ – Au – Pd – ПЭ на фоне 0,1 М H_2SO_4 (скорость изменения потенциала — 20 мВ/с)

Fig. 3. Cyclic voltammograms obtained in the absence (1) and in the presence (2) of a mixture of AD, MT, and HC ($C = 5 \times 10^{-4}$ M) at screen printed electrode Nf – Au – Pd – SPE on a background of 0.1 M H_2SO_4 (potential change rate — 20 mV/sec)

раствора. Для каждого соединения определены операционные параметры регистрации ПИ-сигнала на электроде НФ – Au – Pd – ПЭ в 0,1 М H_2SO_4 . На рис. 4 представлены зависимости электрокаталитического отклика композитного электрода от налагаемого потенциала и скорости потока при ПИ-определении АД, МТ и ГК. Так, на зависимости тока от потенциала для АД максимум наблюдается при $E = 0,50$ В, для МТ — 0,80 В, а для ГК — 1,10 В. Зависимости от скорости потока имеют куполообразную форму с максимумом при $u = 3,88$ мл/мин.

Для получения уравнений регрессии (табл. 3) в выбранных условиях регистрировали ПИ-сигналы при разной концентрации аналитов.

Показано, что модифицирование рабочего электрода частицами бинарной системы Au – Pd приводит к увеличению высоты ПИ-сигнала при определении АД, МТ и ГК (рис. 5, а). Аналитический сигнал, полученный многократно на НФ – Au – Pd – ПЭ без обновления поверхности элект-

Таблица 2. Аналитические характеристики вольтамперометрического определения АД, МТ, ГК на ПЭ и НФ – Au – Pd – ПЭ на фоне 0,1 М H_2SO_4

Table 2. Analytical characteristics of the voltammetric determination of AD, MT, and HC on unmodified SPE and Nf – Au – Pd – SPE against a background of 0.1 M H_2SO_4

Электрод	Аналит	Диапазон концентраций, моль/л	Уравнение регрессии		R
			$\lg I = a + b \lg C$ (I, мкА, C, моль/л)		
			a	b	
НФ – Au – Pd – ПЭ	Адреналин	$1,0 \cdot 10^{-9} - 5,0 \cdot 10^{-3}$	$2,4 \pm 0,1$	$0,28 \pm 0,02$	0,996
		$5,0 \cdot 10^{-6} - 5,0 \cdot 10^{-3}$	$3,01 \pm 0,05$	$0,52 \pm 0,01$	0,998
НФ – Au – Pd – ПЭ	Мелатонин	$5,0 \cdot 10^{-10} - 5,0 \cdot 10^{-3}$	$2,9 \pm 0,1$	$0,43 \pm 0,02$	0,996
		$5,0 \cdot 10^{-7} - 5,0 \cdot 10^{-3}$	$3,33 \pm 0,09$	$0,54 \pm 0,02$	0,995
НФ – Au – Pd – ПЭ	Кортизол	$1,0 \cdot 10^{-11} - 5,0 \cdot 10^{-3}$	$2,1 \pm 0,1$	$0,40 \pm 0,02$	0,996

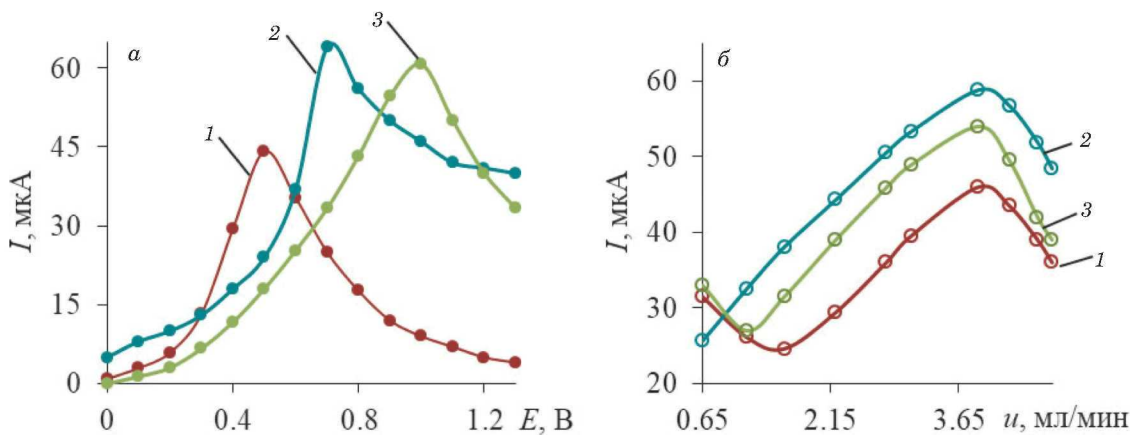


Рис. 4. Зависимости тока окисления АД (1) ($C = 5 \cdot 10^{-4}$ моль/л), МТ (2) и ГК (3) ($C = 5 \cdot 10^{-3}$ моль/л) на композитном электроде НФ – Au – Pd – ПЭ на фоне 0,1 М H_2SO_4 от налагаемого потенциала E (а) и скорости потока u (б) в условиях ПИА

Fig. 4. Dependences of the oxidation current of AD (1) ($C = 5 \times 10^{-4}$ M), MT (2), and HC (3) ($C = 5 \times 10^{-3}$ M) on the composite electrode Nf – Au – Pd – SPE on the applied potential E (a) and the flow rate u (b) in FIA against a background of 0.1 M H_2SO_4

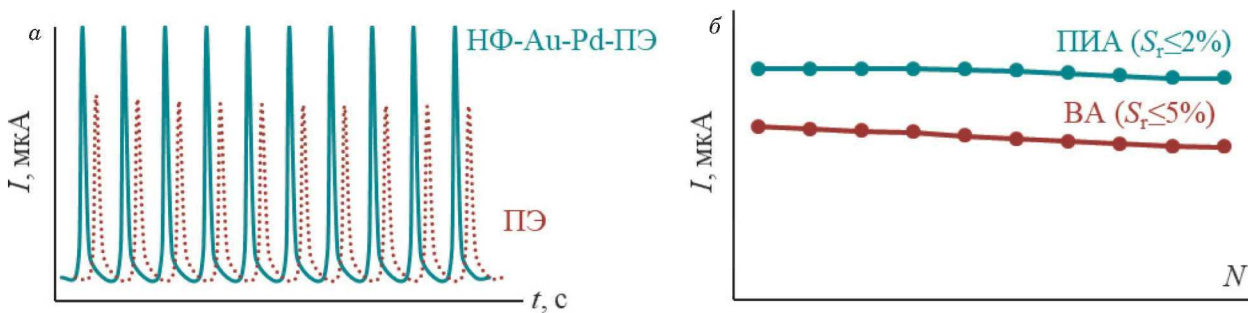


Рис. 5. Воспроизводимость сигнала на ПЭ и НФ – Au – Pd – ПЭ в ПИА (а), зависимости тока окисления адреналина ($C = 5 \cdot 10^{-3}$ моль/л) на ПЭ и НФ – Au – Pd – ПЭ от количества воспроизведений в стационарной и проточно-инжекционной системах (б)

Fig. 5. Signal reproducibility on SPE and NF-Au-Pd-SPE in FIA (a), dependences of the adrenaline oxidation current ($C = 5 \times 10^{-3}$ M) on SPE and Nf – Au – Pd – SPE on the number of reproductions in the stationary and flow-injection systems (b)

трода, хорошо воспроизводится. Отклик более устойчив в проточных условиях, чем в статических. Рассчитанные значения S_r для токов окисления АД, МТ и ГК не превышают 2,0 % ($n = 20$, $C = 5 \cdot 10^{-3}$ моль/л) (см. рис. 5, б).

Предложенным способом определили АД, МТ и ГК в моче с использованием двухдетекторной ПИ-системы, в которую дополнительно включи-

ли диализатор для устранения мешающего влияния белков и мини-колодку, заполненную силикагелем с привитой фазой C_{18} , для *on-line* отделения АД от родственных соединений (рис. 6). В качестве первого детектора для определения МТ и ГК применяли двойной планарный электрод (ДПЭ), модифицированный бинарной системой Au – Pd и покрытый НФ-пленкой (НФ – Au –

Таблица 3. Аналитические характеристики проточно-инжекционного амперометрического определения АД, МТ, ГК на композитном электроде НФ – Au – Pd – ПЭ на фоне 0,1 М H_2SO_4

Table 3. Analytical characteristics of the determination and conditions for the determination of AD, MT, and HC on the Nf – Au – Pd – SPE composite electrode against a background of 0.1 M H_2SO_4

Аналит	E , В	Диапазон концентраций, моль/л	Уравнение регрессии, $\lg I = a + b \lg C$ (I , мкА, C , моль/л)		R
			a	b	
АД	0,50	$5 \cdot 10^{-10} - 5 \cdot 10^{-3}$	$2,4 \pm 0,1$	$0,19 \pm 0,02$	0,996
МТ	0,80	$5 \cdot 10^{-11} - 5 \cdot 10^{-3}$	$1,4 \pm 0,1$	$0,14 \pm 0,02$	0,996
ГК	1,10	$5 \cdot 10^{-12} - 5 \cdot 10^{-3}$	$1,6 \pm 0,1$	$1,57 \pm 0,02$	0,997

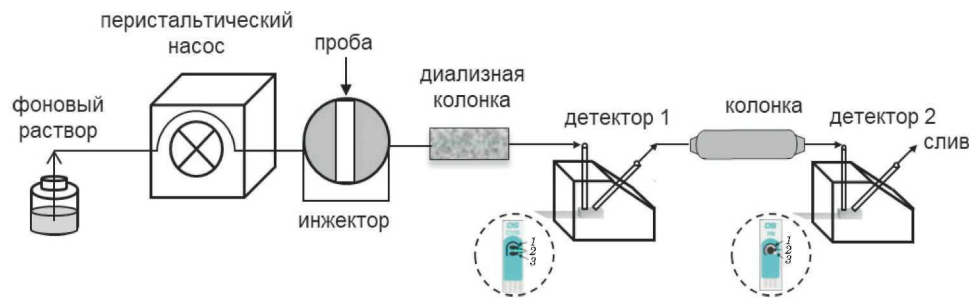


Рис. 6. Схема проточно-инжекционной системы: 1 — вспомогательный электрод; 2 — рабочий электрод; 3 — электрод сравнения

Fig. 6. Scheme of the flow-injection system: 1 — auxiliary electrode; 2 — working electrode; 3 — reference electrode

Pd – ДПЭ), а в качестве второго детектора для определения АД — НФ – Au – Pd – ПЭ (рис. 6). Образец урины вводили через инжектор.

Результаты определения АД, МТ и ГК в урине представлены в табл. 4. Правильность результатов проверяли способом «введено – найдено». Показатель правильности (ПП) не превышает 103 %, а S_r — 2,0 %.

Предложенная схема ПИ-системы обеспечивает высокую производительность анализа — 240 измерений/ч.

Заключение

Планарные электроды с одним или двумя рабочими электродами, модифицированными электроосажденной бинарной системой Au – Pd, использовали для чувствительного определения адреналина, мелатонина и кортизола в условиях проточно-инжекционного анализа. Селективность определения адреналина в присутствии мелатонина и кортизола обеспечивается различием в потенциалах окисления гормонов на этом электроде. Для селективного определения мелатонина и кортизола поверхность модифицированного

рабочего электрода покрыли нафионовой пленкой. Разность потенциалов пиков окисления адреналина, мелатонина и кортизола на таком электроде составила 300 мВ. Сочетание модифицированных планарных электродов с одним и двумя рабочими электродами в двухдетекторной проточно-инжекционной системе позволило реализовать трехкомпонентный анализ: определение адреналина проводили с использованием детектора на основе модифицированного бинарной системой Au – Pd и нафионовой пленкой планарного электрода, а селективное определение мелатонина и кортизола — с использованием детектора на основе двойного планарного электрода, модифицированного бинарной системой Au – Pd и нафионовой пленкой. Линейная билогарифмическая зависимость аналитического сигнала от концентрации адреналина, мелатонина и кортизола наблюдается в интервалах $5,0 \cdot 10^{-10} - 5,0 \cdot 10^{-3}$, $5,0 \cdot 10^{-11} - 5,0 \cdot 10^{-3}$ и $5,0 \cdot 10^{-12} - 5,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л соответственно. Разработанный способ предложен для высокочувствительного, экспрессного и производительного определения рассматриваемых гормонов в урине.

Таблица 4. Результаты амперометрического определения гормонов в урине на НФ – Au – Pd – ПЭ в ПИ-системе ($n = 6$; $P = 0,95$; $t_{\text{табл}} = 2,57$)

Table 4. Results of the amperometric determination of organic compounds in urine on Nf – Au – Pd – SPE in the FI-system ($n = 6$; $P = 0.95$; $t_{\text{table}} = 2.57$)

Аналит	Норма, мкмоль/л	Введено, мкмоль/л	Теоретическое значение, мкмоль/л	Найдено, нмоль/л	ПП, %	S_r
Адреналин	0 – 0,11	0	—	$0,100 \pm 0,002$	—	0,02
		0,05	0,15	$0,145 \pm 0,001$	97	0,01
		0,10	0,20	$0,20 \pm 0,004$	100	0,02
Мелатонин	0,007 – 0,15	0	—	$0,130 \pm 0,002$	—	0,02
		0,05	0,18	$0,176 \pm 0,004$	98	0,02
		0,10	0,23	$0,235 \pm 0,005$	102	0,02
Кортизол	1,05 – 2,59	0	—	$1,75 \pm 0,04$	—	0,02
		0,5	2,25	$2,30 \pm 0,02$	102	0,01
		1,0	2,75	$2,72 \pm 0,05$	99	0,02

Благодарности

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета («Приоритет-2030»).

ЛИТЕРАТУРА

1. Charithra M. M., Manjunatha J. G. Electrochemical sensing of adrenaline using surface modified carbon nanotube paste electrode / *Mater. Chem. Phys.* 2021. Vol. 262. 124293. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2021.124293
2. Yousif N. M., Attia R. M., Balboul M. R. Adrenaline biosensors based on r Go/Ag nanocomposites functionalized textiles using advanced electron beam irradiation technique / *J. Organomet. Chem.* 2022. Vol. 972. 122392. DOI: 10.1016/j.jorganchem.2022.122392
3. Duan D., Ding Y., Li L., et al. Rapid quantitative detection of melatonin by electrochemical sensor based on carbon nanofibers embedded with FeCo alloy nanoparticles / *J. Electroanal. Chem.* 2020. Vol. 873. 114422. DOI: 10.1016/j.jelechem.2020.114422
4. Freitas R. C., Orzari L. O., Ferreira L. M., et al. Electrochemical determination of melatonin using disposable self-adhesive inked paper electrode / *J. Electroanal. Chem.* 2021. Vol. 897. 115550. DOI: 10.1016/j.jelechem.2021.115550
5. Тихомирова О. В., Бутырина Е. В., Зыбина Н. Н., Фролова М. Ю. Оценка экскреции основного метаболита мелатонина в диагностике психофизиологической инсомнии / *Мед. алфавит.* 2013. Т. 3. № 16. С. 62 – 68.
6. Ba-Ali S., Brondsted E., Andersen H. U., et al. Assessment of diurnal melatonin, cortisol, activity, and sleep wake cycle in patients with and without diabetic retinopathy / *Sleep Med.* 2019. Vol. 54. P. 35 – 42. DOI: 10.1016/j.sleep.2018.10.018
7. Smajdor J., Piech R., Pięk M., et al. Carbon black as a glassy carbon electrode modifier for high sensitive melatonin determination / *J. Electroanal. Chem.* 2017. Vol. 799. P. 278 – 284. DOI: 10.1016/j.jelechem.2017.06.013
8. Esen E., Osman B., Demir M. N. Molecularly imprinted solid-phase extraction sorbent for selective determination of melatonin / *Microchem. J.* 2021. Vol. 170. 106666. DOI: 10.1016/j.microc.2021.106666
9. Gevaerd A., Watanabe E. Y., Belli C., et al. A complete lab-made point of care device for non-immunological electrochemical determination of cortisol levels in salivary samples / *Sens. Actuators, B.* 2021. Vol. 332. 129532. DOI: 10.1016/j.snb.2021.129532
10. Borazjani M., Mehdinia A., Jabbari A. A cortisol nanocomposite-based electrochemical sensor for enantioselective recognition of mandelic acid / *J. Solid State Electrochem.* 2018. Vol. 22. P. 355 – 363. DOI: 10.1007/s10008-017-3762-5
11. Sun K., Ramgir N., Bhansali S. An immunoelectrochemical sensor for salivary cortisol measurement / *Sens. Actuators, B.* 2008. Vol. 133. N 2. P. 533 – 537. DOI: 10.1016/j.snb.2008.03.018
12. Малышева Н. М., Колесникова Г. С., Ильин А. В. Модификация метода определения свободного кортизола в моче / *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017. Т. 62. № 6. С. 339 – 342. DOI: 10.18821/0869-2084-2017-62-6-339-342
13. Cardoso C. E., Martins R. O. R., Telles C. A. S., et al. Sequential Determination of Hydrocortisone and Epinephrine in Pharmaceutical Formulations via Photochemically Enhanced Fluorescence / *Microchim. Acta.* 2004. Vol. 146. P. 79 – 84. DOI: 10.1007/s00604-003-0173-3
14. Trojanowicz M., Pyszynska M. Flow-Injection Methods in Water Analysis — Recent Developments / *Molecules.* 2022. Vol. 27. N 4. 1410. DOI: 10.3390/molecules27041410
15. Шайдарова Л. Г., Челнокова И. А., Лексина Ю. А. и др. Проточно-инжекционное амперометрическое определение дофа и тирозина на двойном электроде, модифицированном бинарной системой золота — кобальт / *Журн. аналит. химии.* 2018. Т. 73. № 2. С. 129 – 136. DOI: 10.7868/S0044450218020056
16. Zeinali H., Bagheri H., Monsef-Khoshhesab Z., et al. Nanomolar simultaneous determination of tryptophan and melatonin by a new ionic liquid carbon paste electrode modified with SnO_2 – Co_3O_4 /rGO nanocomposite / *Mater. Sci. Eng.: C.* 2017. Vol. 71. P. 386 – 394. DOI: 10.1016/j.msec.2016.10.020
17. Alpar N., Pinar P. T., Yardim Y., et al. Voltammetric method for the simultaneous determination of melatonin and pyridoxine in dietary supplements using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode / *Electroanalysis.* 2017. Vol. 29. P. 1691 – 1699. DOI: 10.1002/elan.201700077
18. Gevaerd A., Watanabe E. Y., Belli C., et al. A complete lab-made point of care device for non-immunological electrochemical determination of cortisol levels in salivary samples / *Sens. Actuators, B.* 2021. Vol. 332. 129532. DOI: 10.1016/j.snb.2021.129532
19. Будников Г. К., Майстренко В. Н., Васелев М. Р. Основы современного электрохимического анализа. — М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. — 592 с.

REFERENCES

1. Charithra M. M., Manjunatha J. G. Electrochemical sensing of adrenaline using surface modified carbon nanotube paste electrode / *Mater. Chem. Phys.* 2021. Vol. 262. 124293. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2021.124293
2. Yousif N. M., Attia R. M., Balboul M. R. Adrenaline biosensors based on r Go/Ag nanocomposites functionalized textiles using advanced electron beam irradiation technique / *J. Organomet. Chem.* 2022. Vol. 972. 122392. DOI: 10.1016/j.jorganchem.2022.122392
3. Duan D., Ding Y., Li L., et al. Rapid quantitative detection of melatonin by electrochemical sensor based on carbon nanofibers embedded with FeCo alloy nanoparticles / *J. Electroanal. Chem.* 2020. Vol. 873. 114422. DOI: 10.1016/j.jelechem.2020.114422
4. Freitas R. C., Orzari L. O., Ferreira L. M., et al. Electrochemical determination of melatonin using disposable self-adhesive inked paper electrode / *J. Electroanal. Chem.* 2021. Vol. 897. 115550. DOI: 10.1016/j.jelechem.2021.115550
5. Tikhomirova O. V., Butyrina E. V., Zybina N. N., Frolova M. Yu. Evaluation of the excretion of the main metabolite of melatonin in the diagnosis of psychophysiological insomnia / *Med. Alfvit.* 2013. Vol. 3. N 16. P. 62 – 68 [in Russian].
6. Ba-Ali S., Brondsted E., Andersen H. U., et al. Assessment of diurnal melatonin, cortisol, activity, and sleep wake cycle in patients with and without diabetic retinopathy / *Sleep Med.* 2019. Vol. 54. P. 35 – 42. DOI: 10.1016/j.sleep.2018.10.018
7. Smajdor J., Piech R., Pięk M., et al. Carbon black as a glassy carbon electrode modifier for high sensitive melatonin determination / *J. Electroanal. Chem.* 2017. Vol. 799. P. 278 – 284. DOI: 10.1016/j.jelechem.2017.06.013
8. Esen E., Osman B., Demir M. N. Molecularly imprinted solid-phase extraction sorbent for selective determination of melatonin / *Microchem. J.* 2021. Vol. 170. 106666. DOI: 10.1016/j.microc.2021.106666
9. Gevaerd A., Watanabe E. Y., Belli C., et al. A complete lab-made point of care device for non-immunological electrochemical determination of cortisol levels in salivary samples / *Sens. Actuators, B.* 2021. Vol. 332. 129532. DOI: 10.1016/j.snb.2021.129532
10. Borazjani M., Mehdinia A., Jabbari A. A cortisol nanocomposite-based electrochemical sensor for enantioselective recognition of mandelic acid / *J. Solid State Electrochem.* 2018. Vol. 22. P. 355 – 363. DOI: 10.1007/s10008-017-3762-5
11. Sun K., Ramgir N., Bhansali S. An immunoelectrochemical sensor for salivary cortisol measurement / *Sens. Actuators, B.* 2008. Vol. 133. N 2. P. 533 – 537. DOI: 10.1016/j.snb.2008.03.018
12. Malysheva N. M., Kolesnikova G. S., Pyin A. V. Modification of technique of detection of free cortisol in urine / *Klin.*

- Lab. Diagn. 2017. Vol. 62. N 6. P. 339 – 342 [in Russian]. DOI: 10.18821/0869-2084-2017-62-6-339-342
13. **Cardoso C. E., Martins R. O. R., Telles C. A. S., et al.** Sequential Determination of Hydrocortisone and Epinephrine in Pharmaceutical Formulations via Photochemically Enhanced Fluorescence / *Microchim. Acta*. 2004. Vol. 146. P. 79 – 84. DOI: 10.1007/s00604-003-0173-3
14. **Trojanowicz M., Pyszynska M.** Flow-Injection Methods in Water Analysis — Recent Developments / *Molecules*. 2022. Vol. 27. N 4. 1410. DOI: 10.3390/molecules27041410
15. **Shaidarova L. G., Chelnokova I. A., Leksina Yu. A., et al.** Flow-injection amperometric determination of dopa and tyrosine at a dual electrode modified with gold-cobalt binary system / *J. Anal. Chem.* 2018. Vol. 73. N 2. P. 176 – 182. DOI: 10.1134/S1061934818020119
16. **Zeinali H., Bagheri H., Monsef-Khoshhesab Z., et al.** Nanomolar simultaneous determination of tryptophan and melatonin by a new ionic liquid carbon paste electrode modified with $\text{SnO}_2 - \text{Co}_3\text{O}_4/\text{rGO}$ nanocomposite / *Mater. Sci. Eng.: C*. 2017. Vol. 71. P. 386 – 394. DOI: 10.1016/j.msec.2016.10.020
17. **Alpar N., Pinar P. T., Yardım Y., et al.** Voltammetric method for the simultaneous determination of melatonin and pyridoxine in dietary supplements using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode / *Electroanalysis*. 2017. Vol. 29. P. 1691 – 1699. DOI: 10.1002/elan.201700077
18. **Gevaerd A., Watanabe E. Y., Belli C., et al.** A complete lab-made point of care device for non-immunological electrochemical determination of cortisol levels in salivary samples / *Sens. Actuators, B*. 2021. Vol. 332. 129532. DOI: 10.1016/j.snb.2021.129532
19. **Budnikov G. K., Maystrenko V. N., Vyaselev M. R.** Fundamentals of modern electrochemical analysis. — Moscow: BINOM. Laboratoriya Znaniy, 2003. — 592 p. [in Russian].