

УДК 543.422: 54.412.2

ВОЗМОЖНОСТИ СПЕКТРОФЛУОРИМЕТРА «ФЛЮОРАТ-02-ПАНОРАМА» В АНАЛИЗЕ СМЕСИ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

Е.М. Басова*, В.М. Иванов, О.К. Апендеева*

(кафедра аналитической химии; e-mail: sandro@analyt.chem.msu.ru)

Изучены спектры возбуждения и флуоресценции красителей, которые можно использовать для индикаторных исследований при разработке нефтяных месторождений (уранин, эозин, родамин С, родамин 6Ж и аминок-Г-кислота), на спектрофлуориметре «Флюорат-02-Панорама» в разных режимах сканирования при разных значениях рН. Найдены оптимальные условия для одновременного раздельного определения: водные растворы с рН 9,18 (боратный буферный раствор), $\lambda_{\text{возб}} = 300$ нм (5 красителей) или 490 нм (4 красителя) с регистрацией спектров флуоресценции (режим «по регистрации» с вырезанием части спектра в 480–580 и 500–600 нм соответственно); $\lambda_{\text{возб}} = 300$ нм и $\Delta\lambda = 25$ нм с регистрацией спектров в интервале 300–680 нм в режиме синхронного сканирования (4 красителя). Предложен алгоритм обработки спектров для разных способов регистрации. Концентрации красителей в смеси рассчитывали с помощью программного обеспечения прибора «Рапогата рго. Версия 2.1.0». Показана возможность одновременного раздельного определения в смеси от 2 до 5 красителей.

Ключевые слова: спектрофлуориметрия, режим по регистрации, синхронное сканирование, родаминовые и флуоресцеиновые красители, аминок-Г-кислота, водные растворы.

В настоящее время для исследования неоднородности пласта и контроля процесса вытеснения нефти нагнетаемой водой все нефтедобывающие компании используют индикаторные методы [1]. Поскольку при разработке нефтяных месторождений часто наносится ущерб окружающей среде (верхние горизонты пресных вод, поверхностные воды и родники загрязняются сильноминерализованными водами и опасными веществами), индикаторные методы также позволяют точно определить источник загрязнения. Обычно одновременно закачивают 3–4 индикатора, что требует наличия методик селективного определения каждого из них при отсутствии мешающего влияния со стороны других индикаторов. Следовательно, актуальными являются как проблема выбора индикатора, так и проблема разработки новых современных методов и методик их определения в пластовых водах.

Наиболее используемыми у геофизиков индикаторами являются флуоресцентные красители. Молекулы флуоресцеиновых и родаминовых красителей являются классическими флуорофорами, имеют состояние S_1 с переходом $\pi \rightarrow \pi^*$. Флуоресцеин и его производные широко используют для изучения путей следования подземных вод, обнаружения утечек

в тепловых сетях, измерения горизонтального массопереноса и смешивания в гипоплимнионе [2, 3]. В ООО «Люмэкс» разработана методика определения флуоресцеина в щелочных растворах по измерению интенсивности люминесценции на приборе «Флюорат-02» в диапазоне концентраций 0,001–5,000 мг/л [4]. В Республике Татарстан разработан мобильный полевой лазерный спектрофлуориметр МПЛС-1, позволяющий определять уранин и эозин с пределами обнаружения $5 \cdot 10^{-7}$ и $5 \cdot 10^{-6}$ г/л соответственно [5]. Самарский государственный университет получил патент РФ «Количественный анализ тиомочевины и флуоресцеина натрия при их совместном присутствии в пластовых водах», исследования проводились для месторождений в Республике Удмуртия [6].

Флуоресцентные красители одного ряда имеют близкие спектральные характеристики [7]. Спектры поглощения и флуоресценции ксантеновых красителей сильно перекрываются и близки к зеркально-симметричным, стоксов сдвиг небольшой (около 20 нм) [8]. При анализе таких смесей самыми перспективными являются хроматографические методы. Так, родамин 123, родамин С и родамин 6Ж разделены на колонке Luna CN с подвижной фазой,

*Международный университет природы, общества и человека «Дубна».

содержащей водный раствор фосфата калия (рН 3,0), метанол и ацетонитрил [9]. Семь родаминовых красителей определяли в пищевых, продуктах, содержащих острый перец чили, обращенно-фазовой ВЭЖХ в режиме градиентного элюирования с детектированием тандемной масс-спектрометрией [10]. Родамин В и родамин 6Ж определяли в чернилах для шариковых ручек обращенно-фазовой ВЭЖХ с диодно-матричным и флуоресцентным [11] или спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детектированием [12]. Комбинирование высокоэффективной тонкослойной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием позволило идентифицировать продукты превращения родамина С в подземных водах [13].

Однако для высокоэффективной хроматографии необходимы достаточно дорогое и сложное оборудование и высококвалифицированный персонал, которые есть не во всех небольших лабораториях в местах разработки месторождений. Проще, дешевле и доступнее спектральные методы, в частности молекулярная флуоресценция, с применением различных подходов для анализа многокомпонентных смесей. Так, на примере флуоресцеина, гидрата родамина 123, родамина С, изоцианата родамина С и родамина 6Ж показано, что соединения с идентичными или почти идентичными спектрами флуоресценции можно различить по величинам поляризации флуоресценции в растворах ПАВ [14]. Для одновременного определения флуоресцеина, родамина 6Ж и родамина С использовали флуориметрию с фильтром Кальмана [15]. Те же красители можно одновременно определять в смесях по синхронным спектрам флуоресценции, используя методы регрессии главных компонент, дробных наименьших квадратов и искусственных нейронных сетей, причем в последнем случае получены лучшие результаты [16].

Цель данной работы – изучение возможности одновременного раздельного определения флуоресцентных красителей в смесях с помощью спектрофлуориметра «Флюорат-02-Панорама». Объектами изучения служили использованные ранее ООО «МАНТС Геоинформатика» при исследовании месторождений Западной Сибири флуоресцентные красители ксантенового ряда (урапин (натриевая соль флуоресцеина), эозин, родамин С, родамин 6Ж) и 7-амино-1,3-нафталиндисульфоновая кислота.

Экспериментальная часть

Аппаратура. Работу выполняли на спектрофлуориметре «Флюорат-02-Панорама» с ксеноновой

лампой высокого давления. Спектральный диапазон в канале возбуждения и пропускания 210–730 нм, в канале регистрации флуоресценции 300–840 нм. Измерение проводили в кварцевой кювете с $l = 1$ см. Задержка измерительного строба 0,85 мкс, длительность 4,90 мкс. Число вспышек импульсной лампы 10. Кислотность буферных растворов контролировали рН-метром «Эксперт-001».

Реагенты. Флуоресцентные красители урапин (натриевая соль флуоресцеина) $C_{20}H_{10}Na_2O_5$, эозин $C_{20}H_6Br_4Na_2O_5$, родамин 6Ж $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$, родамин С $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$, 7-амино-1,3-нафталиндисульфоновая кислота (калиевая соль, гидрат) $C_{10}H_{10}KNO_7S_2$ (АГ-кислота) предоставлены кафедрой общей и прикладной геофизики Международного университета природы, общества и человека «Дубна». Исходные растворы флуоресцентных красителей (100 мкг/мл) готовили растворением навески 0,0100 г в воде в колбе емкостью 100 мл. Рабочие растворы с концентрацией 10 и 0,1 мкг/мл готовили разбавлением исходного раствора, а растворы с концентрацией от $4 \cdot 10^{-4}$ до 10^{-2} мкг/мл – разбавлением рабочих растворов дистиллированной водой в день использования.

Использовали цитратные буферные растворы (рН 1,53; 2,17; 2,98; 4,01 и 4,91), приготовленные из лимонной кислоты $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ «ч.» («Реахим», Россия) и NaOH «ч.д.а.» («Вектон», Россия). Фосфатный буферный раствор (рН 6,86) и боратный буферный раствор (рН 9,18) готовили из фиксаналов.

Минерализацию модельных растворов создавали солями NaCl «ч.ч.» («Экрос», Россия) и $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ «ч.д.а.» («Вектон», Россия).

Результаты и их обсуждение

Выбор оптимальных условий определения красителей. На интенсивность люминесценции I влияют квантовый выход люминесценции, интенсивность возбуждающего света, толщина кюветы, концентрация и молярный коэффициент поглощения аналита при длине волны возбуждения [7]. Флуоресцеиновые красители флуоресцеин и эозин в зависимости от рН раствора могут существовать в формах R^{2-} , HR^- , H_2R и H_3R^+ , квантовые выходы для которых различаются [17, 18]. Молекулы родаминовых красителей в зависимости от рН среды, кислотно-основных свойств растворителя и его полярности могут находиться в одной из трех форм: катионной R^+ , цвиттерионной R^\pm и лактонной, каждая из форм обладает характерными спектрально-люминесцентными свойствами и квантовыми выходами [17, 19]. Поэтому изучено влияние на интенсивность флуо-

ресценции длины волны возбуждающего света и pH раствора.

Для исключения влияния инструментальных факторов [7, 20, 21] на форму спектров возбуждения и испускания регистрировали соответствующие спектры для буферных растворов. Примеры

таких спектров для уранина приведены на рис. 1, 2. Видно, что для уранина максимум возбуждения лежит при 490 нм, а максимум испускания – при 514 нм. Остальные максимумы в спектрах возбуждения и испускания обусловлены работой спектрофлуориметра. Аналогичные исследования выполнены и с другими

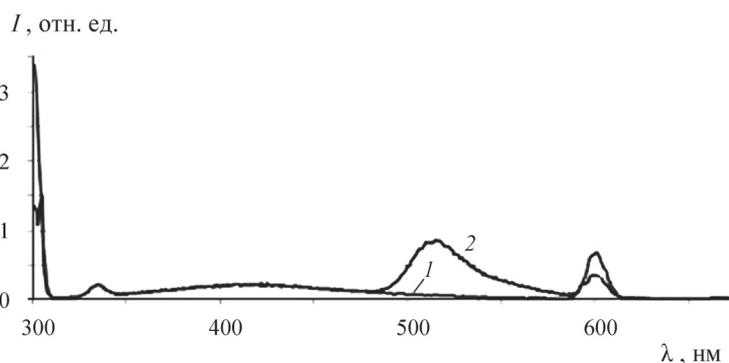


Рис. 1. Спектры флуоресценции боратного буферного раствора (1) и раствора уранина в боратном буферном растворе (2) при $\lambda_{возб} = 256$ нм

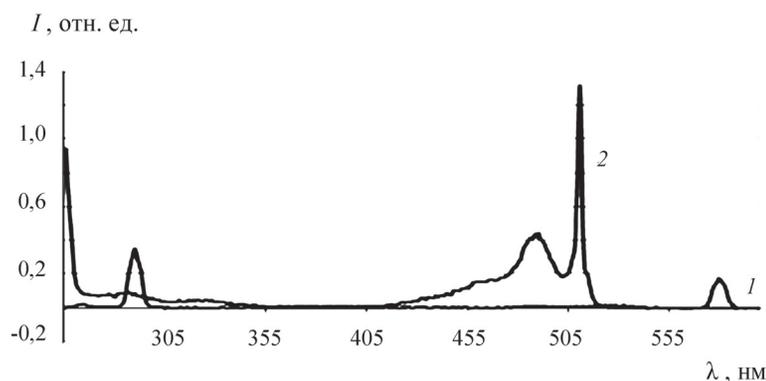


Рис. 2. Спектры возбуждения боратного буферного раствора (1) и раствора уранина в боратном буферном растворе (2), снятые при $\lambda_{исп} = 514$ нм

Т а б л и ц а 1

Спектральные характеристики изученных флуоресцентных красителей в боратном буферном растворе (pH 9,18) (спектрофлуориметр «Флюорат-02-Панорама»)

Соединение	Экспериментальные данные		Литературные данные			Литература
	$\lambda_{возб}$, нм	$\lambda_{исп}$, нм	$\lambda_{погл}$, нм	$\lambda_{возб}$, нм	$\lambda_{исп}$, нм	
Уранин	490	514	–	490 ^а	514 ^а	[22]
	–	–	490 ^б	–	515 ^б	[7]
Эозин	516	544	–	520 ^в	540 ^в	[23]
	–	–	–	518 ^б	540 ^б	[7]
Родамин 6Ж	529	555	–	528 ^г	551 ^г	[24]
Родамин С	545	576	545 ^д	553 ^е	565 ^д	[25]
	–	–	543 ^е	–	627 ^е	[26]
	–	–	544 ^д	–	571 ^д	[7]
АГ-кислота	300	448	–	310 ^ж	450 ^ж	[27]

П р и м е ч а н и я. Среда: ^а – 0,1 М Tris (pH 8,0); ^б – 0,1 М NaOH; ^в – вода; ^г – метанол; ^д – этанол; ^е – метанол, кислотный этанол; ^ж – 0,1 М фосфат (pH 7,0).

красителями. Оптимальные значения длины волн возбуждения и испускания соединений приведены в табл. 1.

Видно, что полученные нами результаты хорошо совпадают с литературными данными. Незначительное (2–10 нм) различие обусловлено характеристиками использованных приборов [7]. Коррекцию спектров, обязательную при определении квантовых выходов флуоресценции, для количественного определения проводить не требуется. Для анализа смеси из пяти компонентов спектры испускания необходимо регистрировать при длине волны возбуждения 300 нм, а для смеси из четырех компонентов (без АГ-кислоты) – при длине волны возбуждения 300 или 490 нм.

Изучена зависимость интенсивности флуоресценции от pH буферного раствора (рис. 3, 4). Видно, что вид кривых зависит и от природы красителя, и от длины волны возбуждающего света. Зависимости, приведенные на рис. 4, сняты при оптимальной длине волны возбуждения для каждого красителя (табл. 1). Для целей одновременного многокомпонентного определения оптимальна ~pH 9, при котором интенсивность для всех изученных красителей, за исключением АГ-кислоты, максимальна. В этих условиях флуоресцеин и эозин существуют в форме R^{2-} , имеющей наибольший молярный коэффициент поглощения [17]. Кроме того, флуоресцеин имеет наибольший выход флуоресценции [17]. Квантовый выход флуоресценции эозина уменьшается с ростом pH до 5 (соответствует

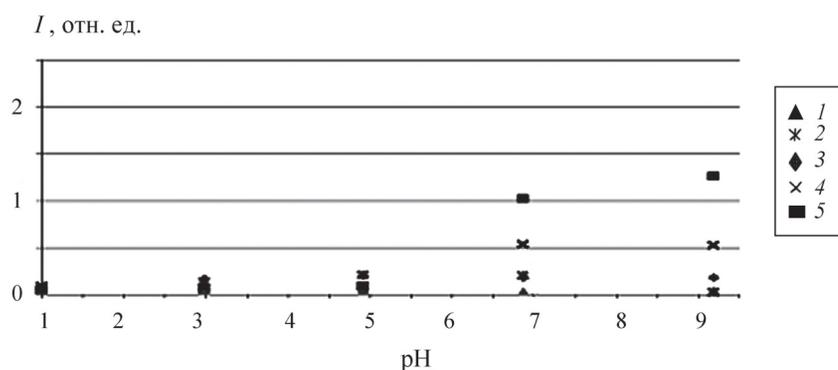


Рис. 3. Зависимость интенсивности флуоресценции при $\lambda_{\text{возб}} = 256$ нм от pH буферного раствора: 1 - родамин С; 2 - АГ-кислота; 3 - эозин; 4 - родамин бЖ; 5 - уранин ($\lambda_{\text{исп}}$ каждого красителя указана в табл. 1)

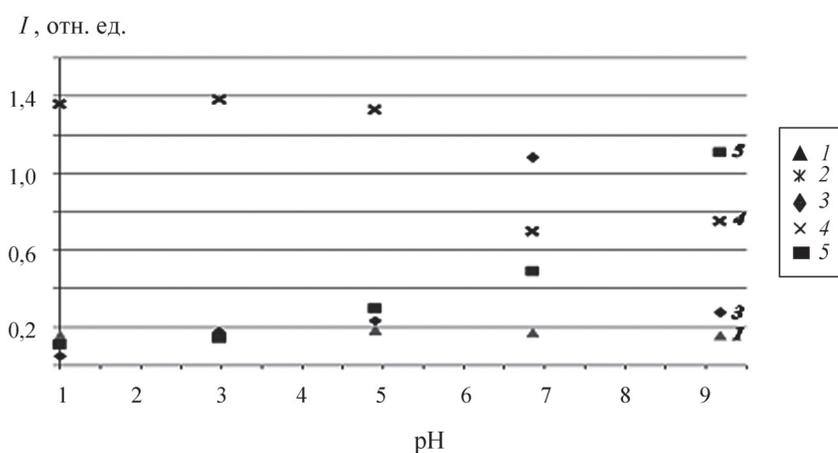


Рис. 4. Зависимость интенсивности флуоресценции от pH буферного раствора ($\lambda_{\text{возб}}$ и $\lambda_{\text{исп}}$ каждого красителя указаны в табл. 1, остальные условия приведены под рис.3))

значению pK_a карбоксильной группы эозина, реагент перешел в форму R^{2-} , а затем практически не меняется [18]. Для дальнейших исследований использовали боратный буферный раствор с рН 9,18.

Влияние концентрации боратного буферного раствора на интенсивность флуоресценции изучено на примере уранина. Показано, что она практически не влияет на результаты. В дальнейших экспериментах при приготовлении растворов для выполнения измерений в колбу емкостью 25 мл добавляли 5,0 мл буферного раствора.

Воспроизводимость аналитического сигнала влияет на результаты определения аналитов, причем для определения низких концентраций красителей необходимо работать на средней и высокой чувствительности. В работе регистрировали спектры флуоресценции при $\lambda_{возб} = 300$ нм и измеряли интенсивность в максимумах испускания каждого красителя одного и того же раствора смеси 5 веществ с концентрацией по 0,01 мкг/мл при разной чувствительности. Компьютер выдает результат, содержащий 5—6 цифр (4 цифры после запятой), однако значащими во всех случаях оказались только 3 цифры. Например, $I_{555} = 1,70 \pm 0,03$ отн. ед. при средней чувствительности и $17,5 \pm 0,8$ отн. ед. при высокой с s_r 0,007 и 0,02 соответственно ($n = 3$, $P = 0,95$). Относительные стандартные отклонения не превышали 0,02 во всех случаях.

На примере уранина изучена зависимость s_r от концентрации красителя при средней и высокой чувствительности (табл. 2). Как и ожидалось, значения s_r выше при работе при высокой чувствительности. Наихудшая воспроизводимость измеряемого сигнала в обоих случаях получена при самой низкой концентрации (0,0004 мкг/мл) в изученном диапазоне. При средней чувствительности для раствора уранина с концентрацией 0,0008 мкг/мл интенсивность флуоресценции составляет $0,80 \pm 0,02$ отн. ед., а при высокой чувствительности для концентраций 0,0008

и 0,002 мкг/мл – $8,8 \pm 1,4$ и $17,8 \pm 1,4$ отн. ед. соответственно.

Построение градуировочных графиков. При длине волны возбуждения 300 нм и длине волны регистрации, оптимальной для каждого красителя (табл. 1) в разные дни (m) построены градуировочные графики для оценки воспроизводимости результатов измерений. Для всех соединений нет полного совпадения градуировочных графиков, построенных в разные дни, что объясняется не столько погрешностью измерения сигнала прибором, сколько использованием метода последовательных разбавлений для приготовления растворов. Например, для родамина 6Ж градуировочные графики описывались уравнениями $y = 0,000 + 24,43x$ и $y = 0,032 + 24,72x$, где y – интенсивность флуоресценции, отн. ед. (низкая чувствительность), x – концентрация флуоресцентного красителя в диапазоне 0,004–0,100 мкг/мл. Поскольку флуоресцентные измерения в отличие от спектрофотометрических являются прямыми (детектируют только интенсивность испускания образца), погрешность измерения интенсивности флуоресценции может составлять $\pm 10\%$ [7]. Сигналы повторных измерений интенсивности флуоресценции в большинстве случаев укладывались в этот интервал. Для построения градуировочного графика мы рекомендуем выполнять как минимум два параллельных измерения и брать средние значения. Уравнения градуировочных графиков для определения ксантеновых красителей и АГ-кислоты в водных растворах, построенных по средним значениям с учетом интенсивности контрольного опыта (буферного раствора), приведены в табл. 3. Следует подчеркнуть, что при построении градуировочного графика спектры испускания должны быть измерены при одной чувствительности, объединять результаты измерения при разных чувствительностях прибора нельзя.

Для учета энергетической нестабильности работы лампы от импульса к импульсу в приборе «Флюорат-

Т а б л и ц а 2

Зависимость относительного стандартного отклонения интенсивности флуоресценции от концентрации уранина в растворе ($\lambda_{возб} = 490$ нм, $\lambda_{исп} = 514$ нм, $n = 3$)

Чувствительность	с, мкг/мл				
	0,0004	0,0008	0,0020	0,0028	0,0040
Средняя	0,24	0,01	0,002	0,005	0,002
Высокая	0,18	0,06	0,03	0,06	0,025

Т а б л и ц а 3

Уравнения градуировочных графиков для определения флуоресцентных красителей

Соединение	$\lambda_{\text{возб}}/\lambda_{\text{исп}}$, нм	Чувствительность	Диапазон линейности (мкг/мл)	Уравнение	n	R^2	m
Уранин	300/514	низкая	0,004–0,100	$y = 7,551x + 0,054$	5	0,999	3
	490/514	средняя	0,0004–0,004	$y = 813,05x + 0,1662$	6	0,998	3
	490/514	высокая	0,0004–0,004	$y = 8299x + 1,6$	6	0,998	3
Эозин	300/544	низкая	0,004–0,100	$y = 6,5657x + 0,0536$	5	0,9897	2
	490/544	средняя	0,0004–0,004	$y = 159,04x + 0,1163$	6	0,848	3
	490/544	высокая	0,0004–0,004	$y = 1785x + 1,163$	6	0,848	3
Родамин С	300/576	низкая	0,004–0,100	$y = 12,92x + 0,0057$	5	0,9996	2
	300/576	средняя	0,0004–0,004	$y = 106,06x + 0,2174$	6	0,943	3
	300/576	высокая	0,0004–0,004	$y = 840,07x + 2,1554$	6	0,954	3
	490/576	средняя	0,0004–0,004	$y = 54,332x + 0,091$	6	0,850	3
	490/576	высокая	0,0004–0,004	$y = 722,23x + 0,7619$	6	0,944	3
Родами 6Ж	300/555	низкая	0,004–0,100	$y = 24,513x + 0,0211$	5	0,9999	2
	300/555	средняя	0,0004–0,004	$y = 286,24x + 0,3509$	6	0,945	3
	300/555	высокая	0,0004–0,004	$y = 3381,2x + 3,9464$	6	0,894	3
	490/555	средняя	0,0004–0,004	$y = 618,69x + 0,168$	6	0,961	3
	490/555	высокая	0,0004–0,004	$y = 8889,5x + 2,3246$	6	0,998	3
АГ-кислота	300/448	низкая	0,004–0,100	$y = 32,547x + 0,1422$	5	0,9976	2
	300/448	средняя	0,0008–0,004	$y = 349,46x + 2,0038$	6	0,987	3
	300/448	высокая	0,0008–0,004	$y = 3815x + 20,853$	6	0,904	3

02-Панорама» предусмотрены три режима коррекции нестабильности сигналов флуориметрического приемника: коррекция по опорному (измеряемый сигнал делится на интенсивность падающего на кювету света), коррекция по пропусканию (измеряемый сигнал делится на интенсивность прошедшего через кювету возбужденного излучения) и полная коррекция (сигнал флуориметрического канала делится на квадратный корень из произведения сигналов каналов) [28]. Результаты, приведенные в табл. 3, получены в режиме без коррекции. При выполнении коррекции сигнал уменьшается на два порядка по сравнению с сигналом без коррекции, форма спектра при этом не меняется. В качестве примера построены градуировочные графики для родамина 6Ж с коррекцией в разных режимах (табл. 4). Уравнения полученных зависимостей отличаются друг от друга. В отличие от режима без коррекции свободный член в уравнении

равен 0. Кроме того, с использованием коррекции сигналы, измеренные при разной чувствительности, ложатся на одну прямую с коэффициентом корреляции $R^2 > 0,99$. Таким образом, линейный диапазон концентраций расширяется до 0,0004–0,1000 мкг/мл родамина 6Ж.

Оптимизация условий обработки спектров смесей. Спектрофлуориметр «Флюорат-02-Панорама» позволяет записывать два типа спектров флуоресценции: в режиме сканирования по регистрации (спектр снимают при определенной длине волны монохроматора возбуждения) и в режиме синхронного сканирования, когда одновременно изменяют и длину волны возбуждения, и длину волны регистрации при постоянном смещении монохроматора [28]. Спектры изученных соединений, снятые в обоих режимах сканирования, приведены на рис. 5. Видно, что независимо от режима сканирования спектры перекрыва-

Т а б л и ц а 4

Уравнения градуировочных графиков для родамина 6Ж с коррекцией в разных режимах ($n = 5$)

Режим коррекции	Уравнение	R^2
По опорному	$y = 0,000 + 0,505x$	0,999
По пропусканью	$y = 0,001 + 0,862x$	0,991
Полная	$y = 0,000 + 0,659x$	0,998

ются, поэтому раздельное определение красителей даже в двухкомпонентной смеси с использованием градуировочного графика невозможно. Наименьшее перекрытие наблюдается для спектра АГ-кислоты в режиме сканирования по регистрации с длиной волны возбуждения 300 нм (рис. 5, б), поэтому это соединение можно попытаться определить в смеси методом абсолютной градуировки (определению мо-

жет мешать только присутствие эозина). Найти концентрацию АГ-кислоты из спектра по регистрации при $\lambda_{\text{возб}} = 490$ нм невозможно в принципе. В спектре синхронного сканирования полоса АГ-кислоты вообще не проявляется (рис. 5, а). Дело в том, что при синхронном сканировании оптимальную величину смещения $\Delta\lambda$ выбирают как разницу между максимумами флуоресценции и возбуждения. Для уранина, эозина, родамина В и родамина 6Ж эту величину можно взять равной 25 нм (табл. 1). АГ-кислота относится к другому классу флуоресцирующих соединений (производные нафталина), для нее $\Delta\lambda = 148$ нм. Оптимальное смещение для получения спектра АГ-кислоты в режиме синхронного сканирования составляет 100 нм (рис. 6). Однако это значение не является оптимальным для ксантеновых красителей, форма их спектров на рис. 6 значительно хуже,

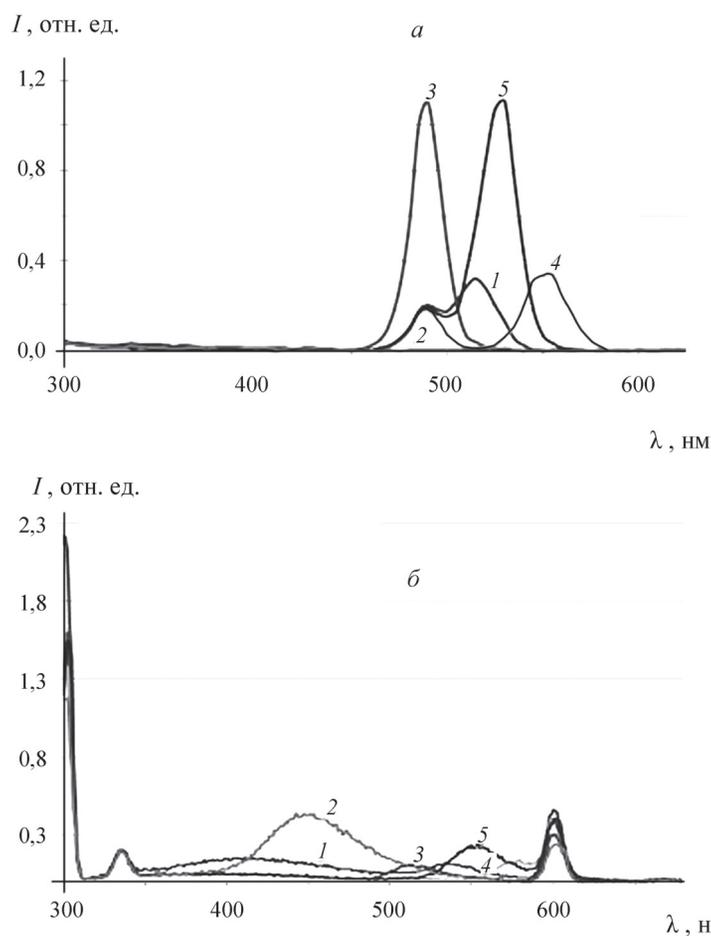


Рис. 5. Спектры синхронного сканирования при $\Delta\lambda = 25$ нм (а) и спектры по регистрации при длине волны возбуждения 300 нм (б) растворов индивидуальных красителей с концентрацией 0,01 мкг/мл: 1 – эозин; 2 – АГ-кислота; 3 – уранин; 4 – родамин С; 5 – родамин 6Ж

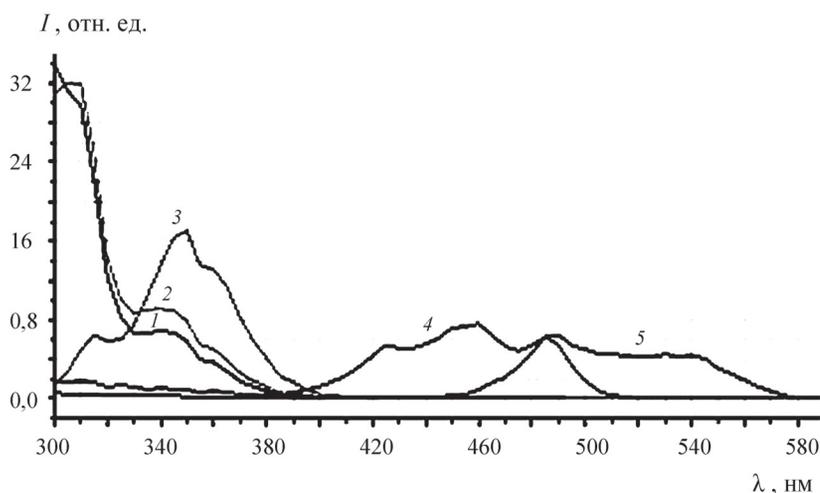


Рис. 6. Спектры синхронного сканирования АГ-кислоты (1–3), уранина (4) и родамина С (5) с концентрацией 0,1 мкг/мл при смещениях $\Delta\lambda$ 150 нм (1), 140 нм (2) и 100 нм (3–5)

чем на рис. 5, а. Таким образом, для анализа смеси ксантеновых красителей можно использовать и режим сканирования по регистрации при $\lambda_{\text{возб}}$ 300 или 490 нм, и режим синхронного сканирования с $\Delta\lambda = 25$ нм. Пятикомпонентную смесь можно анализировать только в режиме сканирования по регистрации при $\lambda_{\text{возб}}$ 300 нм.

Программное обеспечение прибора «Рапотагра про. Версия 2.1.0» [29] позволяет разложить спектр смеси на спектры отдельных компонентов и определить их концентрацию. Для проведения расчета по программе необходимо, чтобы в списке обработки находились спектры смеси и возможных компонентов, снятые в абсолютно одинаковых условиях (тип сканирования, длина волны возбуждения, чувствительность и оптимальное смещение). Тогда после нажатия кнопки «произвести вычисление» в столбце «результат» появятся рассчитанные концентрации компонентов смеси, а на рисунке – рассчитанный спектр смеси.

Спектры синхронного сканирования (рис. 5, а) не имеют дополнительных максимумов, тогда как в спектрах по регистрации есть обусловленные особенностями прибора максимумы при 600 и 400 нм (рис. 5, б). Поэтому для компьютерной обработки можно использовать полные спектры синхронного сканирования, а в спектрах в режиме регистрации, вероятно, придется отсекаать дополнительные максимумы.

Изучено влияние вырезания части спектра и его сглаживания на результаты определения на примере смеси уранина, эозина и родамина С с концентрацией

каждого компонента 0,01 мкг/мл. В табл. 5 приведены результаты анализа модельной смеси с использованием для обработки разных частей спектра по регистрации. Видно, что максимально влияет обрезака в длинноволновой области спектра. Для дальнейшего исследования выбран интервал спектра 480–580 нм. При работе в режиме по регистрации при $\lambda_{\text{возб}} = 490$ нм рассчитывать концентрации удобно из спектра в интервале 500–600 нм.

После вырезания части спектра из-за изменения масштаба по оси аналитического сигнала спектр стал сильно зашумленным. Для его сглаживания использовали существующий в приборе в закладке «обработка» калькулятор («кнопка $f(x)$ ») – функции $\text{smooth5}(f, n)$, $\text{smooth3}(f, n)$ и $\text{smooth}(f)$ и изменяли ширину фильтра (т.е. число усредняемых точек). Функция $\text{smooth5}(f, n)$ осуществляет сглаживание полиномом пятой степени по n точкам ($n \geq 7$), функция $\text{smooth3}(f, n)$ – кубическое сглаживание кривой по n точкам ($n \geq 5$), функция $\text{smooth}(f)$ – адаптивное нелинейное сглаживание кривой [29]. Сглаживание не привело к изменению положения максимума и его интенсивности. Наиболее гладкий спектр получен с функциями $\text{smooth5}(f, 25)$ и $\text{smooth}(f)$, однако сглаживание не привело к улучшению результатов определения (табл. 5). Поэтому при анализе смесей проводить эту операцию не нужно.

При расчете концентраций компонентов смеси в окно обработки можно вставлять спектры индивидуальных веществ любой концентрации. Варьирование спектров показало, что более правильные результаты

Т а б л и ц а 5

Влияние способа обработки спектра на результаты анализа трехкомпонентной модельной смеси в режиме сканирования по регистрации ($\lambda_{\text{возб}} = 300 \text{ нм}$, введено по 0,01 мкг/мл веществ)

Условия	Найдено, мкг/мл		
	уранин	эозин	родамин С
Интервал 300–680 нм	0,0301	0,0030	0,0326
Интервал 440–580 нм	0,0088	0,0129	0,0119
Интервал 480–580 нм	0,0094	0,0124	0,0121
Без сглаживания, интервал 480–580 нм	0,0094	0,0124	0,0121
Сглаживание, функция smooth(<i>f</i>), интервал 480–580 нм	0,0094	0,0124	0,0121
Сглаживание, функция smooth3(<i>f</i> , 5), интервал 480–580 нм	0,0094	0,0124	0,0121
Сглаживание, функция smooth3(smooth3(<i>f</i> , 5), 5), интервал 480–580 нм	0,0094	0,0124	0,0121
Сглаживание, функция smooth5(<i>f</i> , 25), интервал 480–580 нм	0,0094	0,0124	0,0122

получаются с использованием спектров, для которых различия в измеренных и рассчитанных по градуировочному графику значениях флуоресценции наименьшие. Кроме того, для повышения надежности результатов в окно обработки желательно ввести несколько (хотя бы два, лучше три) спектров, снятых при одной концентрации вещества, и провести их усреднение с помощью выражения $(A+B+C)/3$, где А, В и С – буквенные обозначения спектров. После нажатия кнопки «=» усредненный спектр с соответствующим буквенным обозначением будет добавлен в конец списка обработки [29]. Спектр флуоресценции АГ-кислоты имеет максимум при 448 нм, что намного короче, чем для ксантеновых красителей (табл. 1). Поэтому на примере четырехкомпонентной смеси, содержащей АГ-кислоту, варьировали интервал обрезки спектров по регистрации, результаты приведены в табл. 6. Лучший результат получен при обработке части спектра в интервале 380–585 нм.

Анализ модельных растворов. Для приготовления модельных растворов в колбы емкостью 25 мл вводили соответствующие аликвоты рабочих растворов флуоресцентных красителей, добавляли 5,00 мл боратного буферного раствора с рН 9,18 и разбавляли водой до метки. Результаты анализа модельных смесей, содержащих от 2 до 5 компонентов, приведены в табл. 7. Примеры картины в окне обработки иллюстрируют рис. 7–10.

Рассчитанные по программе Panorama Pro. Версия 2.1.0 концентрации в большинстве случаев удовлетворительно совпадают с истинным содержанием красителей в смесях. При обработке спектров синхронного сканирования концентрация АГ-кислоты всегда получается отрицательной. Если в список обработки не включить спектр синхронного сканирования АГ-кислоты, то это не повлияет на результаты расчета

Т а б л и ц а 6

Влияние диапазона обрезки спектра по регистрации ($\lambda_{\text{возб}} = 300 \text{ нм}$) на результаты анализа четырехкомпонентной модельной смеси (введено по 0,01 мкг/мл веществ)

Интервал, нм	Соединение	Найдено, мкг/мл	Примечание
300—590	Уранин	-0,0061	концентрация индивидуальных веществ 0,01 мкг/мл
	Эозин	0,0121	
	Родамин С	0,0102	
	АГ-кислота	0,0106	
380—585	Уранин	0,0062	концентрация индивидуальных веществ 0,01 мкг/мл
	Эозин	0,0120	
	Родамин С	0,0114	
	АГ-кислота	0,0104	

Т а б л и ц а 7

Результаты определения флуоресцентных красителей в водных модельных растворах
($n = 3, P = 0,95$)

№ п/п	Спектр (условия, чувствительность)	Соединение	Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл (s_r)	Содержание соединения, мкг/мл
1	По регистрации ($\lambda_{\text{возб}} = 300$ нм, 480–580 нм, низкая)	Уранин	0,01	0,010 ± 0,001 (0,05)	0,04
		Родамин С	0,01	0,011 ± 0,005 (0,18)	0,04
2	По регистрации ($\lambda_{\text{возб}} = 300$ нм, 480–580 нм, низкая)	Уранин	0,01	0,011 ± 0,004 (0,13)	0,04
		Родамин 6Ж	0,01	0,008 ± 0,003 (0,18)	0,04
3	По регистрации ($\lambda_{\text{возб}} = 300$ нм, 480–580 нм, низкая)	Уранин	0,01	0,011 ± 0,02 (0,07)	0,04
		Эозин	0,01	0,012 ± 0,001 (0,04)	0,1
4	По регистрации ($\lambda_{\text{возб}} = 490$ нм, 500–600 нм, средняя)	Уранин	0,0004	0,00030*	0,0008
		Эозин	0,0012	0,00105*	0,0028
		Родамин С	0,002	0,00198*	0,002
		Родамин 6Ж	0,004	0,00473*	0,002
		АГ-кислота	0,004	0,00351* **	–
5	По регистрации ($\lambda_{\text{возб}} = 300$ нм, 480–580 нм, низкая)	Уранин	0,01	0,011 ± 0,007 (0,28)	0,04
		Эозин	0,01	0,010 ± 0,006 (0,24)	0,1
		Родамин 6Ж	0,01	0,0113 ± 0,0008 (0,03)	0,04
	Синхронный ($\Delta\lambda = 25$ нм, без обрезки, низкая)	Уранин	0,01	0,010 ± 0,004 (0,15)	0,04
		Эозин	0,01	0,012 ± 0,002 (0,06)	0,1
		Родамин 6Ж	0,01	0,010 ± 0,002 (0,09)	0,04
6	Синхронный ($\Delta\lambda = 25$ нм, без обрезки, низкая)	Уранин	0,01	0,0096 ± 0,0006 (0,02)	0,04
		Эозин	0,01	0,0103 ± 0,001 (0,04)	0,1
		Родамин С	0,01	0,0101 ± 0,001 (0,06)	0,04
		Родамин 6Ж	0,01	0,011 ± 0,001 (0,05)	0,01
		АГ-кислота	0,01	–	–
	По регистрации ($\lambda_{\text{возб}} = 300$ нм, 480–580 нм, низкая)	Уранин	0,01	0,008 ± 0,01 (0,05)	0,04
		Эозин	0,01	0,012 ± 0,002 (0,07)	0,1
		Родамин С	0,01	0,010 ± 0,003 (0,10)	0,04
		Родамин 6Ж	0,01	0,010 ± 0,001 (0,06)	0,01
		АГ-кислота	0,01	0,0095 ± 0,0005 (0,02)	0,01
7	По регистрации ($\lambda_{\text{возб}} = 490$ нм, без обрезки, низкая)	Уранин	0,01	0,009 ± 0,004 (0,18)	0,04
		Эозин	0,01	0,013 ± 0,002 (0,05)	0,1
		Родамин С	0,01	0,041 ± 0,005 (0,05)	0,04
	По регистрации ($\lambda_{\text{возб}} = 300$ нм, 480–580 нм, низкая)	Уранин	0,01	0,012 ± 0,07 (0,25)	0,04
		Эозин	0,01	0,012 ± 0,004 (0,13)	0,1
		Родамин С	0,01	0,011 ± 0,01 (0,05)	0,04
	Синхронный ($\Delta\lambda = 25$ нм, без обрезки, низкая)	Уранин	0,01	0,011 ± 0,005 (0,18)	0,04
		Эозин	0,01	0,0125 ± 0,0003 (0,01)	0,1
		Родамин С	0,01	0,011 ± 0,004 (0,15)	0,04
8	Синхронный ($\Delta\lambda = 25$ нм, без обрезки, низкая)	Уранин	0,001	0,0010 ± 0,0004 (0,04)	0,04
		Эозин	0,001	0,0016 ± 0,0002 (0,04)	0,01
		Родамин С	0,001	0,0012 ± 0,0002 (0,06)	0,04

* $n = 2$; **концентрация АГ-кислоты рассчитана по градуировочному графику.

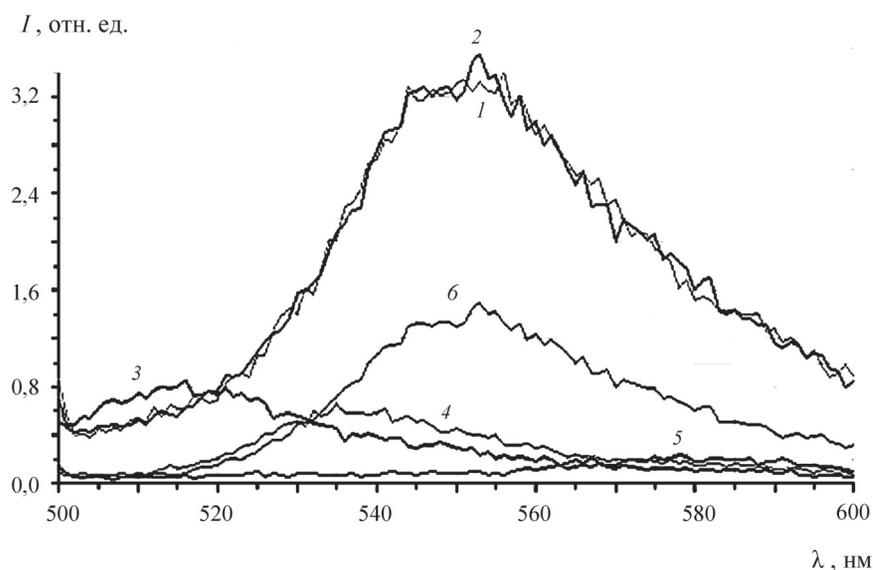


Рис. 7. Экспериментальный спектр в режиме по регистрации при $\lambda_{\text{возб}} = 490$ нм модельного раствора № 4 (1), рассчитанный спектр смеси (2) и спектры уранина (3), эозина (4), родамина С (5) и родамина 6Ж (6), используемые для расчета концентраций

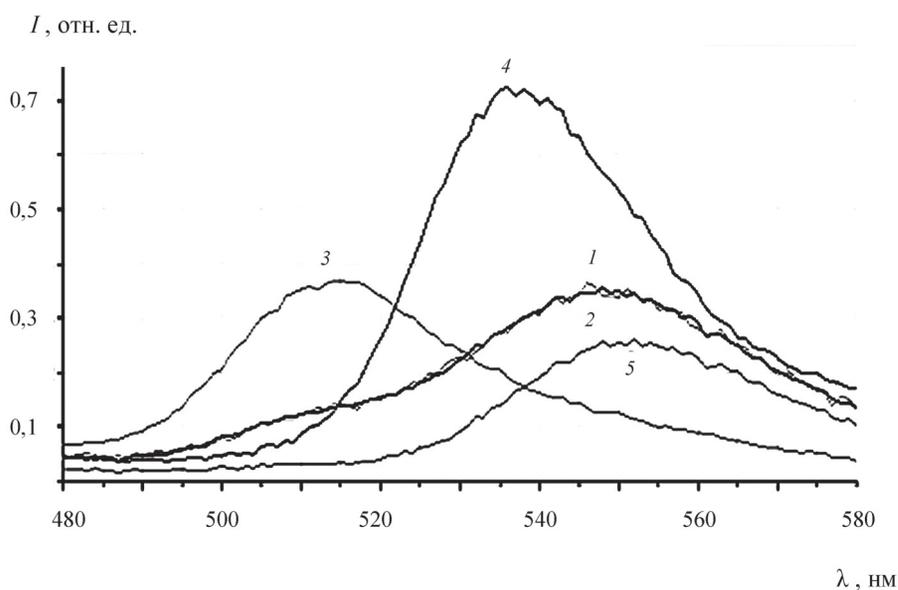


Рис. 8. Экспериментальный спектр в режиме по регистрации при $\lambda_{\text{возб}} = 300$ нм модельного раствора № 5 (1), рассчитанный спектр смеси (2) и спектры уранина (3), эозина (4) и родамина 6Ж (5), используемые для расчета концентраций

концентраций остальных веществ. Например, при анализе четырехкомпонентной смеси, содержащей по 0,08 мкг/мл соединений, найдено ($n = 3, P = 0,95$) уранина, эозина и родамина С 0,0076, 0,0112 и 0,00785 мкг/мл (с включением в список обработки спектра АГ-кислоты) и 0,0070, 0,0110 и 0,00781 мкг/мл (без включения в список обработки спектра АГ-кислоты) соответственно. Недостатком методики является пло-

хая воспроизводимость, особенно при определении низких концентраций, и сильная зависимость рассчитанных результатов от взятых для обработки спектров индивидуальных веществ.

При проведении повторных индикаторных исследований воду для закачки в скважину берут из водоема, куда попадает вода от предыдущих экспериментов и, следовательно, в ней присутствуют все

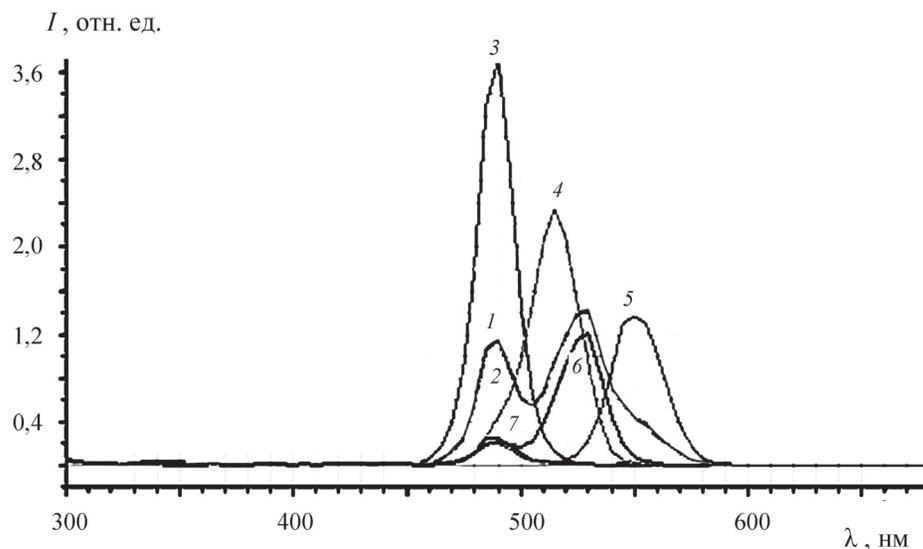


Рис. 9. Экспериментальный спектр модельного раствора № 6 в режиме синхронного сканирования с $\Delta\lambda = 25$ нм (1), рассчитанный спектр смеси (2) и спектры уранина (3), эозина (4), родамина С (5), родамина 6Ж (6) и АГ-кислоты (7), используемые для расчета концентраций

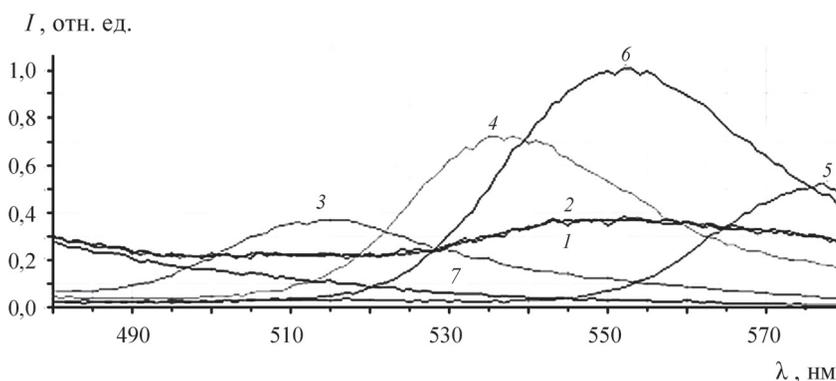


Рис. 10. Экспериментальный спектр в режиме по регистрации при $\lambda_{\text{возб}} = 300$ нм модельного раствора № 6 (1), рассчитанный спектр смеси (2) и спектры уранина (3), эозина (4), родамина С (5), родамина 6Ж (6) и АГ-кислоты (7), используемые для расчета концентраций

ранее изучавшиеся индикаторы. В этом случае перед выполнением исследования необходимо определить содержание определяемых индикаторов в исходной воде. Далее можно поступить двумя способами: либо найти фоновую концентрацию индикаторов и вычесть ее из значений концентрации анализируемой пробы, либо выполнить вычитание спектров анализируемого и фоновых растворов непосредственно в окне обработки с помощью калькулятора $[(A - B) =]$ и обрабатывать результирующий спектр [29].

Мы приготовили образец фоновой воды, содержащей по 0,001 мкг/мл уранина, эозина, родамина С и АГ-кислоты (с роданином 6Ж ранее индикаторные исследования не проводили), а затем на его

основе – два анализируемых образца. Для выполнения определения в колбы емкостью 25 мл помещали 20,0 мл анализируемого образца воды (или фоновой воды) и 5,0 мл боратного буферного раствора с рН 9,18. Результаты рассчитывали по формуле $c = 25x/20$, где x – концентрация соединения, найденная с помощью программного обеспечения Rapogama pro. Версия 2.1.0. Обработку проводили двумя способами. Результаты представлены в табл. 8. Следует подчеркнуть, что также определяли концентрации аналитов в фоновой воде, и именно эти значения (а не введенные) вычитали из полученного результата определения. Видно, что результаты, полученные по разностным спектрам и после вычитания concentra-

Т а б л и ц а 8

Результаты анализа модельных образцов воды, содержащих фоновые концентрации (0,001 мкг/мл) четырех красителей ($n = 3, P = 0,95$)

№ п/п	Соединение	Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл		Условия сканирования
			по разности спектров	после вычитания фона	
I	Уранин	0,001	0,005 ± 0,0002 (0,1)	0,000497	По регистрации, $\lambda_{\text{возб}} = 300$ нм, 480-580 нм, чувствительность низкая
	Эозин	0,001	0,0010 ± 0,0006 (0,2)	0,00103	
	Родамин С	0,001	0,0009 ± 0,0002 (0,09)	0,00092	
	АГ-кислота	0,001	0,0007 ± 0,0004 (0,23)	0,00066	
I	Уранин	0,001	0,00088 ± 0,00006 (0,03)	0,000887	Синхронное, $\Delta\lambda = 25$ нм, без обрезки, без спектра АГ-кислоты, чувствительность низкая
	Эозин	0,001	0,0014 ± 0,0001 (0,03)	0,00127	
	Родамин С	0,001	0,0009 ± 0,0001	0,00076	
II	Уранин	0,01	0,0064 ± 0,0006 (0,02)	0,00643	По регистрации, $\lambda_{\text{возб}} = 300$ нм, 480-580 нм, чувствительность низкая,
	Эозин	0,01	0,0116 ± 0,0009 (0,03)	0,01166	
	Родамин С	0,01	0,009 ± 0,001 (0,04)	0,0092	
	АГ-кислота	0,01	0,0074 ± 0,0002 (0,02)	0,00735	
II	Уранин	0,01	0,0088 ± 0,0003 (0,01)	0,00878	Синхронное, $\Delta\lambda = 25$ нм, без обрезки, без спектра АГ-кислоты, чувствительность низкая
	Эозин	0,01	0,0154 ± 0,0004 (0,01)	0,0139	
	Родамин С	0,01	0,0110 ± 0,009 (0,02)	0,0098	

Т а б л и ц а 9

Уравнения градуировочных графиков, построенные для минерализованной воды, (чувствительность низкая)

Соединение	$c(\text{NaCl}), \text{ мг/л}$	$c(\text{MgCl}_2), \text{ мг/л}$	Уравнение	R^2
Уранин	0	0	$y = 7,551x + 0,054$	0,999
	0,76	0,0114	$y = 7,375x + 0,023$	0,999
Эозин	0	0	$y = 6,5657x + 0,0536$	0,990
	0,76	0,0114	$y = 3,548x + 0,051$	0,933
Родамин С	0	0	$y = 12,92x + 0,0057$	0,999
	0,76	0,0114	$y = 9,661x + 0,022$	0,998
Родамин 6Ж	0	0	$y = 24,513x + 0,0211$	0,999
	0,76	0,0114	$y = 22,98x + 0,0211$	0,990
АГ-кислота	0	0	$y = 32,547x + 0,1422$	0,999
	0,76	0,0114	$y = 32,97x + 0,102$	0,997

Т а б л и ц а 10

Влияние ионной силы на интенсивность флуоресценции уранина и родамина С

I, М	Родамин С		Уранин	
	300/576 нм	490/576 нм	300/514 нм	490/514 нм
0	1,12	3,19	0,86	9,09
0,1	1,00	2,92	0,76	8,69
0,3	1,01	2,82	0,84	8,93
0,5	1,02	2,87	0,79	8,64
0,7	0,92	2,55	0,74	8,19
1,0	0,91	2,81	0,75	8,41

ции компонентов в фоновой воде, практически одинаковы. Однако в целом правильность результатов недостаточно хорошая, особенно в случае уранина.

Влияние минерализации. Пластовые воды нефтяных месторождений минерализованы. Влияние концентрации NaCl и CaCl₂ на интенсивность флуоресценции уранина на приборе «Флюорат 02-3М» изучено в работе [30] и показано, что суммарное содержание солей в диапазоне 0,05–0,2 мг/л практически не влияет на интенсивность флуоресценции (тангенс угла наклона градуировочных графиков для дистиллированной воды равен 2,767, а для сильноминерализованной — 2,859).

Вода Арнгольского лицензионного участка, рядом с которым работает ООО «МАНТС Геоинформатика», в качестве основных макрокомпонентов содержит Na⁺, Mg²⁺, Ca²⁺ и Cl⁻. В работе минерализацию пластовой воды моделировали с помощью растворов NaCl (1 мг/мл) и MgCl₂ (0,015 мг/мл). Уравнения градуировочных графиков растворов с добавками солей, приведенные в табл. 9, линейны с коэффициентами корреляции > 0,9. Однако различия тангенсов угла на-

клона градуировочных графиков, построенных с использованием дистиллированной воды и модельных минерализованных растворов, отличаются для всех изученных красителей, кроме уранина и АГ-кислоты.

Изучено влияние ионной силы (создавали NaCl) на интенсивность флуоресценции уранина и родамина С, результаты приведены в табл. 10. Выбор этих соединений в качестве модельных был обусловлен тем, что они относятся к разным типам ксантеновых красителей (флуоресцеиновый и родаминовый, анионный и катионный) и различному влиянию минерализации на градуировочные графики (табл. 9). Видно, что с увеличением ионной силы сигнал уменьшается для обоих красителей, причем в случае родамина В намного сильнее (до 20 %). Однако в диапазоне ионной силы 0,1–0,5 М интенсивность флуоресценции практически постоянна (хотя и несколько ниже, чем без добавки NaCl). Поэтому при анализе реальных растворов минерализованных пластовых вод рекомендуется создавать во всех измеряемых растворах определенное значение ионной силы, например 0,3 М.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чернорубашкин А. И., Макеев Г. А., Гавриленко Г. А. Применение индикаторных методов для контроля за разработкой нефтяных месторождений. М., 1985. 40 с.
2. <http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D0%BB%D1%83%D0%BE%D1%80%D0%B5%D1%81%D1%86%D0%B5%D0%B8%D0%BD>
3. Wilson J.F., Jr., Cobb E.D., Kilpatrick F.A. Fluorometric Procedures for Dye Tracing / Geological Survey Techniques of Water Resources Investigations of the United States, Book 3, Applications of Hydraulics, Chapter A12. Washington, 1986. P. 34.
4. Методика М 05-04-2002. Определение флуоресцеина в воде. СПб., 2009.
5. Галяутдинов М. Ф., Герасимов К.И., Курбатова Н.В. . Создание и широкое внедрение аппаратно-методического комплекса индикаторных исследований в гидрогеологии и при контроле за разработкой нефтяных месторождений Татарстана. Т. II. Казань, 2012. 151 с.
6. Онучак Л.А., Сизоненко Г.М., Арутюнов Ю.И., Дудиков В.С. Патент РФ на изобретение № 2473885. Дата публикации 27.01.2013.
7. Шмидт В. Оптическая спектроскопия для химиков и биологов. М., 2007. 368 с.
8. Земский В. И., Колесников Ю. Л., Мешковский И. К. Физика и техника импульсных лазеров на красителях. СПб., 2005. 176 с.

9. Phenomenex. HPLC Application. ID № 12953. <http://www.Phenomenex.com/Application/Detail/12953>.
10. *Hu X., Xiao G., Pan W., Mao X., Li P.* // *Se Pu*. 2010. **28**. № 6, P. 590.
11. *Chen Hu-sheng* // *Forensic Sci. J.* 2007. **6**. № 1. P. 21.
12. *Шевченко Т.Н., Темердашев З.А., Киселева Н.В.* // *Аналитика и контроль*. 2012. **16**. № 3. С. 232.
13. *Mueller A., Weiss S., Schulz W., Seitz W., Albert R., Ruck W., Weber W.* // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2010. **24**. P. 659.
14. *Yan Y., Myrick M.L.* // *Anal. Chim. Acta.* 2001. **441**. № 1. P. 87.
15. *Li Z.L., Shi L.M., Li M.L., Yu R.Q.* // *Chem. J. Chin. Univ.* 1990. **11**. P. 245.
16. *Li Q., Yao X., Chen X., Liu M., Zhang R., Zhang X., Hu Z.* // *Analyst*. 2000. **125**. P. 2049.
17. *Мчедлов-Петросян О.Н.* // *Вісник Харків. нац. ун-ту*. 2004. № 626. *Хімія*. Вип. 11. № 34. С. 221.
18. *Власова И.М., Салецкий А.М.* // *Химическая физика*. 2008. **27**. № 4. С. 60.
19. *Синельников А.Н., Артюхов В.Я.* // *Изв. ВУЗов. Физика*. 2011. № 10. С. 3.
20. *Эмануэль Н.М., Кузьмин М.Г.* *Экспериментальные методы химической кинетики*. М., 1985.
21. *Аналитическая химия и физико-химические методы анализа*. Т. 2. / Под ред. А. А. Ищенко. М., 2010. 416 с.
22. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/f6377?lang=en®ion=Ru>.
23. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/45235?lang=en®ion=Ru>.
24. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/83697?lang=en®ion=Ru>.
25. <http://www.omlc.ogi.edu/spectra/PhotochemCAD/html/009.html>.
26. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/836889?lang=en®ion=Ru>.
27. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/08657?lang=en®ion=Ru>.
28. *Спектрофлуориметр «Флюорат-02-Панорама»*. Руководство по эксплуатации. СПб., 2010. 39 с.
29. *Анализатор жидкости «Флюорат-02»*. Модификация «Флюорат-02-Панорама». Описание программы для персонального компьютера. СПб., 2010. 48 с.
30. *Онучак Л.А., Сизоненко Г.М., Кудряшов С.Ю., Арутюнов Ю.И., Дейнега О.В.* // *Вестн. СамГУ. Естественно-научная серия*. 2005. № 3 (37). С. 176.

Поступила в редакцию 21.04.14

POTENTIAL OF FLUORAT-02 PANORAMA SPECTROFLUORIMETER FOR THE ANALYSIS OF FLUORESCENT DYES MIXTURES

E.M. Basova, V.M. Ivanov, O.C. Apendeeva

(Division of Analytical Chemistry)

The fluorescent dyes fluoresceine disodium, eosin Y, rhodamine B, rhodamine 6G and amino-G acid were chosen for the investigation. Their absorption, excitation and fluorescence spectra in aqueous media at different pH values were recorded on a Fluorat-02-Panorama spectrofluorimeter and the maxima of excitation and emission for individual compound were established. The excitation and emission maxima of fluorescein disodium, eosin Y, rhodamine B, rhodamine 6G and AGA were 490/514, 516/544, 529/555, 545/576 and 300/448 nm respectively under optimal pH 9,18 (borate buffer). The optimal conditions of simultaneous determination up to 5 fluorescent dyes were established. The fluorescent spectra of dyes studied overlapped. The determination of 5 dyes may be performed from fluorescence spectra at excitation wavelength 300 nm with heart cutting of wavelength range 480-580 nm. The determination of 4 dyes (except AGA) may be performed from fluorescence spectra at excitation wavelength 490 nm with heart cutting of wavelength range 500-500 nm or from synchronous fluorescence spectra with 25 nm interval between excitation and emission wavelength in the range 300-680 nm. The dye concentrations were calculated by Panorama pro. Version 2.1.0 software. The method was applied to analyze different model mixtures containing 2-5 dyes with satisfactory results.

Key words: fluorescent dyes, fluoresceine disodium, eosin Y, rhodamine B, rhodamine 6G, amino-G acid, synchronous fluorescence spectra, simultaneous determination.

Сведения об авторах: *Басова Елена Михайловна* – профессор Международного университета природы, общества и человека «Дубна», докт. хим. наук; *Иванов Вадим Михайлович* – профессор кафедры аналитической химии химического факультета МГУ, докт. хим. наук (sandro@analyt.chem.msu.ru); *Апендеева Олеся Кенжигалиевна* – студентка Международного университета природы, общества и человека «Дубна».