

УДК 543.424;543.63

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИСТЕИНА МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ ДИФФУЗНОГО ОТРАЖЕНИЯ ПО ЕГО ВЛИЯНИЮ НА ФОРМИРОВАНИЕ НАНОКОМПОЗИТОВ ЗОЛОТА НА ОСНОВЕ ПЕНОПОЛИУРЕТАНА

© 2020 г. А. И. Исаченко^{а, *}, В. В. Апяри^а, П. А. Волков^б, С. Г. Дмитриенко^а, Ю. А. Золотов^{а, с}

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет
Ленинские горы, 1, стр. 3, ГСП- 1, Москва, 119991 Россия

^бИнститут химических реактивов и особо чистых химических веществ Национального исследовательского центра
“Курчатовский институт”
Богородский вал, 3, Москва, 107076 Россия

^сИнститут общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук
Ленинский просп., 31, Москва, 119991 Россия

*e-mail: isandrey91@gmail.com

Поступила в редакцию 07.05.2019 г.

После доработки 03.06.2019 г.

Принята к публикации 23.01.2020 г.

Предложен способ определения цистеина в водном растворе по его влиянию на формирование наночастиц золота на поверхности пенополиуретана. Способ основан на взаимодействии образующихся *in situ* наночастиц золота с цистеином, что приводит к их стабилизации в растворе и уменьшению интенсивности окрашивания наноконкомпозита, регистрируемой методом спектроскопии диффузного отражения. Исследовано влияние концентрации прекурсора – золотохлористоводородной кислоты, времени контакта фаз и рН раствора на чувствительность определения цистеина. В выбранных условиях предел обнаружения цистеина составил 0.36 мкг/мл. Продемонстрирована возможность использования предлагаемого способа для определения цистеина в пивных дрожжах.

Ключевые слова: наночастицы золота, наноконкомпозит, цистеин, спектроскопия диффузного отражения, пенополиуретан, поверхностный плазмонный резонанс.

DOI: 10.31857/S0044450220070105

Цистеин – одна из важнейших алифатических аминокислот [1, 2]. Он участвует в ряде важных биохимических процессов: в биокатализе, связывании металлов, детоксификации ксенобиотиков, пост-трансляционной модификации, является мощным антиоксидантом. Терапевтические дозы цистеина защищают организм от рентгеновского излучения и радиации, а изменение естественного содержания цистеина в крови является одним из свидетельств некоторых заболеваний: болезни Альцгеймера, нарушений сердечно-сосудистой системы, поражения печени и кожи [3–7].

Описаны способы определения цистеина с помощью люминесцентных [8–11] и других спектрометрических [12, 13], хроматографических [14–16] и электрохимических методов [17–20], которые, однако, часто требуют дорогостоящего оборудования либо трудоемкой пробоподготовки. Актуальна разработка простых, экономичных и доступных подходов к определению цистеина в различных объектах, в частности, в медицинских

препаратах, биологических образцах и объектах пищевой промышленности.

В этом плане представляют интерес наночастицы золота (НЧ). Высокая чувствительность НЧ в сочетании с простотой получения делают их перспективной альтернативой традиционным спектрофотометрическим реагентам. Применение НЧ золота в спектрофотометрии обусловлено характерным для них эффектом поверхностного плазмонного резонанса (ППР) [21–23]. В последние годы в ряде работ [24–30] НЧ использовали для спектрофотометрического определения цистеина. В основе определения, как правило, лежат спектральные изменения полосы ППР при агрегации НЧ, вызванной цистеином. Этот подход требует наличия предварительно синтезированных НЧ определенного размера и морфологии, которые в ряде случаев подвергают дополнительному модифицированию для придания им требуемых аналитических характеристик [31].

Изучение влияния цистеина на химические, морфологические и спектральные особенности

НЧ непосредственно в момент их формирования не менее перспективно, поскольку присутствие меркаптоаминокислоты в данной системе может быть установлено по изменению оптических характеристик и положено в основу новых способов спектрофотометрического, цветометрического или визуально-колориметрического определения цистеина.

Цель данной работы — изучение возможности определения цистеина методом спектроскопии диффузного отражения по его влиянию на формирование НЧ золота на пенополиуретане.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты, материалы и оборудование. В работе использовали L-цистеин (>97%, Aldrich), борогидрид натрия (99%, Acros Organics), золотохлористоводородную кислоту (ОАО “Аурат”, Россия), гидроксид натрия (98.5%, Acros Organics), бромид цетилтриметиламмония (ЦТМА) (>99.0%, Helicon), соляную кислоту, 36%-ный водный раствор, х. ч. (ООО “АО Реахим”).

В качестве сорбента использовали таблетки пенополиуретана (ППУ) на основе простых полиэфиров массой 20 мг, предварительно выбитые металлическим пробойником из промышленного листа полимера, нарезанные и промытые ацетоном при встряхивании на механическом шейкере.

Сыпучие твердые вещества взвешивали на аналитических весах Adventurer (ОНАУС, США). Для отбора аликвот жидких веществ использовали автоматические одноканальные дозаторы переменного объема Discovery Comfort (НТЛ, Польша). Спектры диффузного отражения образцов в диапазоне длин волн 400–730 нм измеряли при помощи мини-спектрофотометра Eye-One Pro 2 (X-Rite, США). Растворы перемешивали путем встряхивания на механическом шейкере. Величину рН контролировали с помощью рН-метра иономера Эксперт-001 (Эконикс-Эксперт, Россия). Деионизованную воду получали с использованием системы очистки Simplicity (Millipore, США). Электронно-микроскопические исследования проводили на сканирующем электронном микроскопе JSM 7100 F (Jeol, Япония). Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре СФ-104 (НПО “Аквилон”, Россия) в диапазоне длин волн 400–730 нм.

Получение пеныполиуретана, модифицированного наночастицами золота, и изучение влияния цистеина. Перед проведением экспериментов всю посуду тщательно промывали и высушивали на воздухе. Методика состоит из двух последовательных этапов. На первом этапе навеску борогидрида натрия растворяли в щелочи, добавляли раствор ЦТМА и полученную смесь доводили до необходимого объема водой. Конечные концен-

трации борогидрида натрия, ЦТМА и щелочи составляли 0.01, 0.0001 и 0.01 М соответственно. Далее в полипропиленовые пробирки емк. 50 мл помещали по 5 мл этой смеси, вносили в них таблетки ППУ, тщательно прожимали стеклянной палочкой для удаления воздуха из пор и перемешивали на шейкере в течение 15 мин. После этого таблетки извлекали и высушивали фильтровальной бумагой.

На втором этапе готовили растворы золотохлористоводородной кислоты с концентрацией от 8 до 20 мкг/мл по золоту (или от 40 до 100 мкМ). Для изучения влияния цистеина в них добавляли определенный объем свежеприготовленного раствора цистеина. Объем каждой смеси доводили до 5 мл. В полученную систему помещали таблетки ППУ, содержащие сорбированный восстановитель, тщательно прожимали стеклянной палочкой и перемешивали в течение 30 мин. Затем таблетки извлекали, высушивали фильтровальной бумагой и регистрировали спектры диффузного отражения. Параллельно проводили контрольный опыт, в котором все реагенты и процедуры были такими же, как описано, за исключением добавления цистеина.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оптические свойства пенополиуретана, модифицированного наночастицами золота. Наличие ППУ обуславливает возникновение светопоглощения НЧ золота в видимой области спектра и позволяет изучать их состояние методами оптической молекулярной абсорбционной спектроскопии. Поскольку в данной работе формирование НЧ происходит на поверхности твердой фазы, в результате чего образуется нанокompозит, для контроля использовали метод спектроскопии диффузного отражения. Вместо дорогостоящих спектрометров диффузного отражения допустимо проведение анализа с помощью оптического оборудования, предназначенного для иных целей, например мини-спектрофотометра — калибратора мониторов [32–34].

Формирование наночастиц золота в фазе ППУ контролировали, измеряя значения функции Кубелки–Мунка F :

$$F(R) = \frac{(1 - R)^2}{2R} = \frac{2.3c\epsilon}{S},$$

где R — диффузное отражение, ϵ — молярный коэффициент поглощения НЧ в фазе ППУ, c — их концентрация, S — коэффициент рассеивания.

На рис. 1а приведен спектр диффузного отражения ППУ, модифицированного НЧ золота. Видно, что НЧ на поверхности ППУ характеризуются полосой ППР при длине волны 540 нм. Полоса ППР имеет характерную для НЧ золота фор-

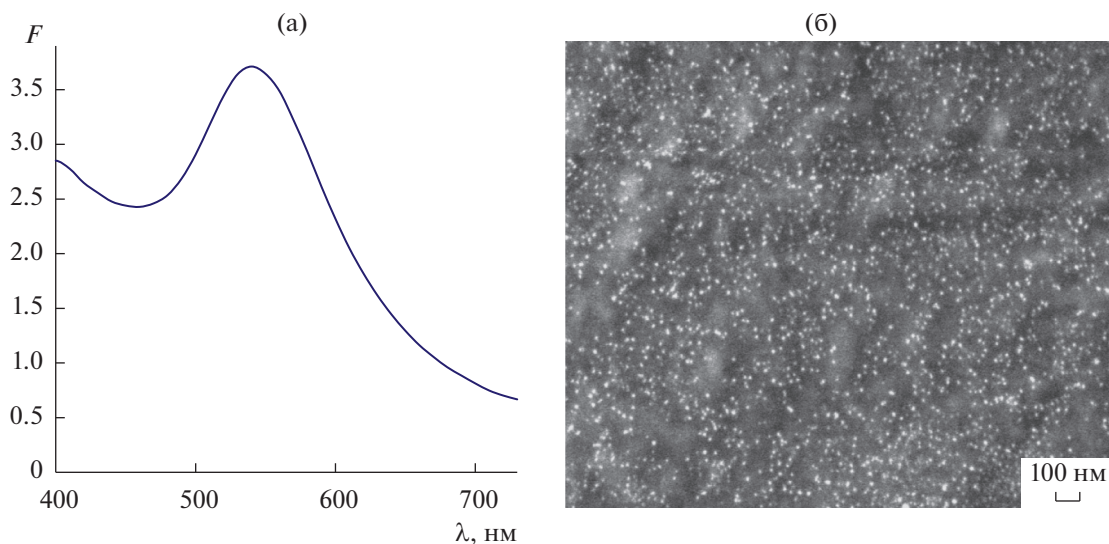


Рис. 1. Спектр диффузного отражения (а) и микрофотография СЭМ (б) пенополиуретана, модифицированного наночастицами золота. $c(\text{HAuCl}_4) = 100 \text{ мкМ}$, $t = 30 \text{ мин}$.

му. Батохромный сдвиг на 20 нм по сравнению с типичным спектром поглощения НЧ в водном растворе, характеризующимся полосой ППР при 520 нм, объясняется влиянием матрицы полимера, а также более компактным расположением НЧ на поверхности по сравнению с раствором и большей степенью их агрегации.

Электронно-микроскопические исследования, выполненные методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), показали наличие на поверхности ППУ НЧ золота сферической формы (рис. 1б). Наночастицы довольно равномерно распределены по поверхности полимера. Они имеют достаточно узкое и симметричное распределение по размерам, а их диаметр составляет $12 \pm 5 \text{ нм}$. Индекс полидисперсности, рассчитанный по формуле $\text{PDI} = (s/\langle d \rangle)^2$ и характеризующий ширину распределения частиц по размерам, составил 0.036, что меньше, чем для цитратных НЧ золота, получаемых в растворе стандартным методом. Малая полидисперсность НЧ, формирующихся в присутствии ППУ и без участия специально вводимого стабилизатора, связана со стабилизирующим действием этого полимера.

Влияние цистеина на формирование нанокompозитов золота и пенополиуретана. Установлено, что цистеин, введенный на стадии формирования нанокompозита, приводит к уменьшению интенсивности полосы ППР в спектрах диффузного отражения модифицированного полимера (рис. 2). При этом равновесный водный раствор приобретает розовую окраску, что свидетельствует о частичном переходе в него НЧ золота.

На основании полученных экспериментальных данных высказано предположение о меха-

низме влияния цистеина на образование НЧ золота на поверхности ППУ (рис. 3):

1) В отсутствие цистеина молекулы золотохлористоводородной кислоты взаимодействуют с борогидридом, находящимся на поверхности ППУ, в результате чего в приповерхностном слое образуются НЧ золота, которым вследствие избытка поверхностной энергии выгоднее сорбироваться на поверхности полимера с образованием нанокompозита.

2) Цистеин стабилизирует НЧ в растворе, что приводит к уменьшению степени их сорбции на

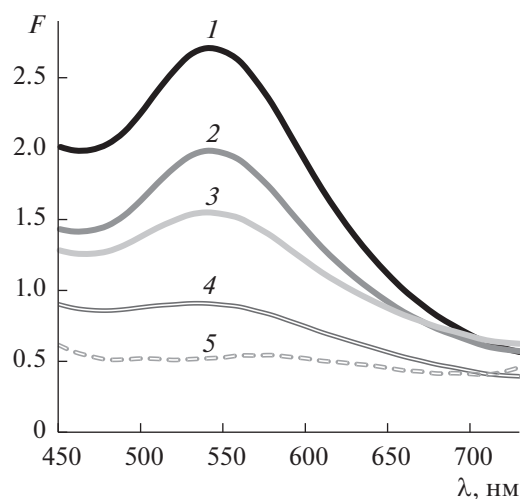


Рис. 2. Спектры диффузного отражения пенополиуретана, модифицированного наночастицами золота при разной концентрации цистеина. $t = 30 \text{ мин}$; $c_{\text{HAuCl}_4} = 50 \text{ мкМ}$; $\text{pH} 3.7$; c_{cys} , мкг/мл: 1 – 0, 2 – 1, 3 – 2, 4 – 4, 5 – 10.

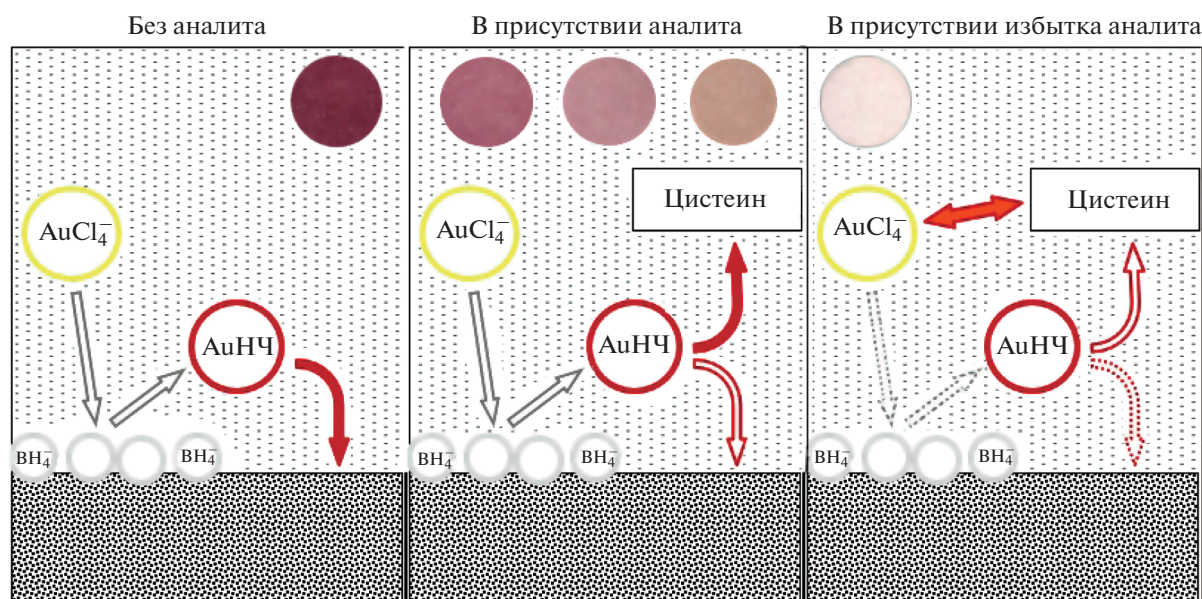


Рис. 3. Схема, иллюстрирующая предполагаемый механизм влияния цистеина на формирование наночастиц золота на пенополиуретане.

поверхности ППУ и появлению стабилизированных НЧ в растворе. При увеличении концентрации цистеина их доля в фазе нанокompозита и интенсивность окрашивания таблетки уменьшаются.

3) При достаточно большой концентрации цистеина, вероятно, он связывает часть золотохлористоводородной кислоты, которая вследствие этого не вступает в реакцию образования НЧ. Таблетка при этом продолжает обесцвечиваться.

Выбор условий определения цистеина. Исследовано влияние концентрации золотохлористоводородной кислоты, времени контакта фаз и pH раствора на чувствительность определения цистеина. В качестве аналитического сигнала использовали разность функции Кубелки–Мунка ППУ, модифицированного НЧ золота в отсутствие и в присутствии цистеина.

При увеличении в растворе концентрации золотохлористоводородной кислоты от 40 до 100 мкМ при фиксированной концентрации цистеина, равной 4 мкг/мл, сначала наблюдается увеличение аналитического сигнала, затем – его уменьшение (рис. 4а). Спад на кривой при малых концентрациях золотохлористоводородной кислоты вызван уменьшением количества формирующихся НЧ из-за нехватки прекурсора. Понижение аналитического сигнала при высоких концентрациях золотохлористоводородной кислоты обусловлено связыванием цистеина в растворимые комплексы золота в растворе путем вытеснения из внутренней координационной сферы хлорид-ионов. Наибольший сигнал достигается в диапазоне концентраций от 45 до 65 мкМ.

Установлено, что максимальный сигнал достигается через 15 мин после введения таблетки ППУ, модифицированной борогидридом натрия, в раствор, содержащий золотохлористоводородную кислоту и цистеин (рис. 4б).

Известно, что pH играет существенную роль при формировании НЧ в растворе. Исходное значение pH в нашем случае создают золотохлористоводородная кислота и цистеин, оно составляет приблизительно 3.7. Результаты изучения влияния этого фактора на величину аналитического сигнала иллюстрирует рис. 4в. Значение pH варьировали добавлением растворов HCl (0.01 М) и NaOH (0.001 М). Наилучшие результаты, исходя из графика, наблюдаются при исходном pH, равном 3.7.

Спад на зависимости ΔF от pH в менее кислой среде связан с агрегацией формирующихся НЧ золота, о чем свидетельствует уширение наблюдаемых в этих условиях спектров диффузного отражения нанокompозита. В более кислой среде причиной спада является присутствие в растворе сильного электролита (соляной кислоты, которую использовали для контроля pH), препятствующего десорбции НЧ в поверхности ППУ в раствор.

Аналитические характеристики. В выбранных условиях оценены основные аналитические характеристики способа определения цистеина по предлагаемой схеме. Для построения градуировочного графика готовили серию водных растворов, содержащих от 1 до 10 мкг/мл цистеина, добавляли по 50 мкМ золотохлористоводородной

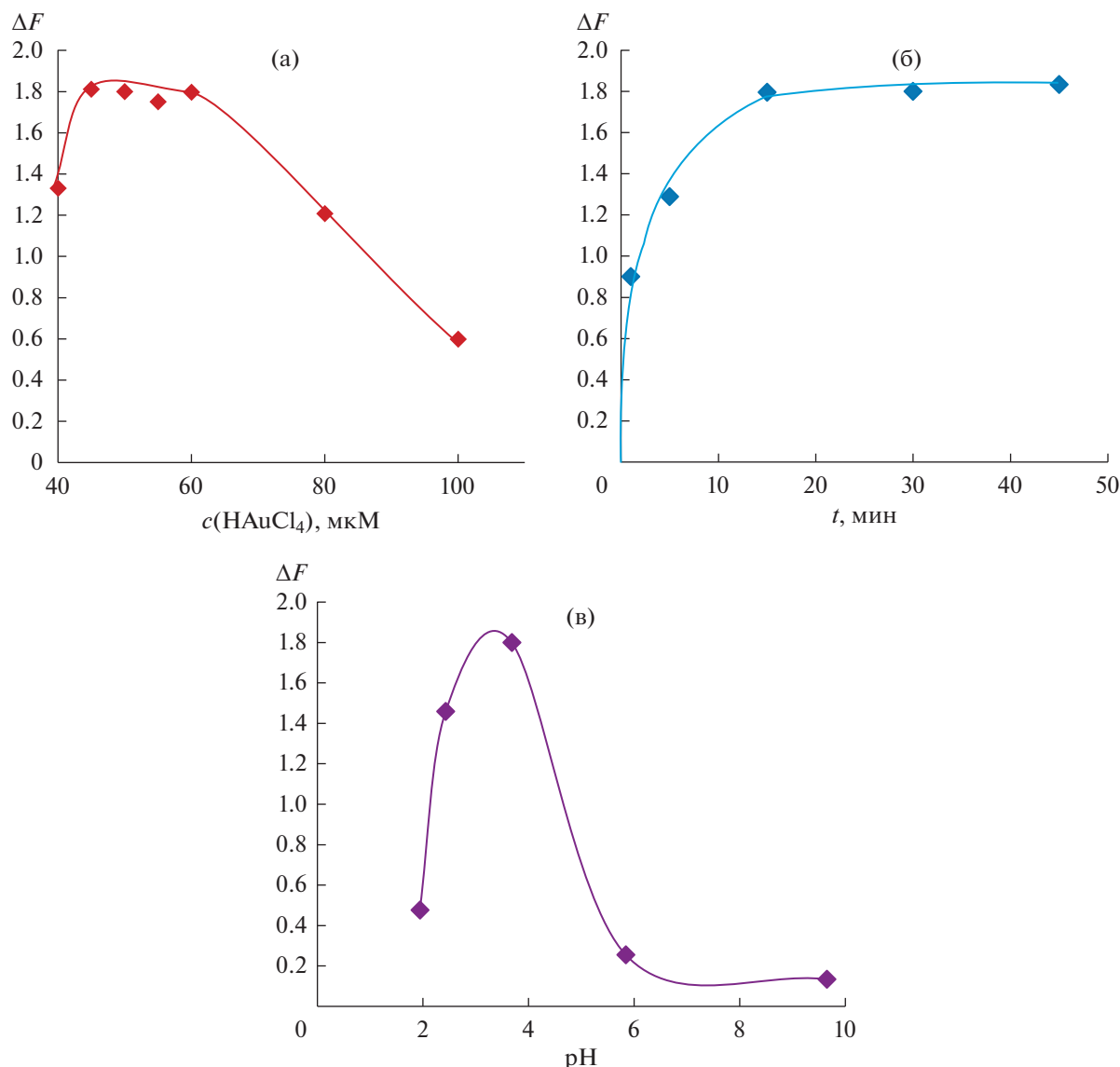


Рис. 4. Зависимость аналитического сигнала от концентрации HAuCl_4 (а), времени контакта фаз (б) и pH (в).
 $c_{\text{cys}} = 4$ мкг/мл, $t = 30$ мин (а), (в); $c_{\text{HAuCl}_4} = 50$ мкМ (б), (в); pH 3.7 (а), (б).

кислоты, доводили объем до 5 мл водой. В полученные растворы вводили таблетки ППУ, модифицированные борогидридом натрия. Через 30 мин таблетки извлекали и регистрировали спектры диффузного отражения.

Градуировочный график в координатах ΔF – c_{cys} (мкг/мл) описывается уравнением $\Delta F_{540} = 0.057c$ ($R^2 = 0.98$) в диапазоне 0.7–4 мкг/мл ($c(\text{HAuCl}_4) = 50$ мкМ, $t = 30$ мин). Предел обнаружения цистеина, рассчитанный по $3s$ -критерию, составил 0.36 мкг/мл. Для оценки воспроизводимости провели 4 эксперимента при концентрации цистеина 4 мкг/мл. Относительное стандартное отклонение не превышало 0.09.

Предложенный способ спектрофотометрического определения цистеина применили при анализе пивных дрожжей (ООО "Экко Плюс"). Одна таблетка пивных дрожжей содержит 80 мг L-метионина, 45 мг L-цистеина, 0.34 мг витамина B1, 0.15 мг витамина B2, 0.2 мг витамина B6, 1.5 мг ниацина и 27 мг фолиевой кислоты; вспомогательные компоненты: микрокристаллическая целлюлоза, стеарат кальция. Найденное с помощью предлагаемого способа содержание цистеина составляет 50 ± 9 мг ($n = 3$, $P = 0.95$), что соответствует в пределах доверительного интервала данным, заявленным производителем. Таким образом, входящие в состав препарата вещества в указанных количествах, в том числе метионин, не вли-

ают на результаты определения цистеина. Относительное стандартное отклонение составило 0.06.

* * *

Таким образом, проведенное исследование показало возможность определения цистеина методом спектроскопии диффузного отражения по его влиянию на формирование наночастиц золота на пенополиуретане. Среди достоинств предлагаемого подхода можно отметить простоту, экспрессность, экономичность и доступность используемого оборудования, а также легкость реализации полуколичественного тест-варианта.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 18-73-10001).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Lavergne V., Taft R.J., Alewood P.F.* Cysteine-rich mini-proteins in human biology // *Curr. Top. Med. Chem.* 2012. V. 12. P. 1514.
2. *Lee P.T., Thomson J.E., Karina A., Salter C., Johnston C., Davies S.G., Compton R.G.* Selective electrochemical determination of cysteine with acyclotricatechylene modified carbon electrode // *Analyst.* 2015. V. 140. P. 236.
3. *Reddie K.G., Carroll K.S.* Expanding the functional diversity of proteins through cysteine oxidation // *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2013. V. 12. P. 746.
4. *Adams S.H.* Emerging perspective on essential amino acid metabolism in obesity and the insulin-resistant state // *Adv. Nutr.* 2011. V. 2. P. 445.
5. *Miki H., Funato Y.* Regulation of intracellular signalling through cysteineoxidation by reactive oxygen species // *J. Biochem.* 2012. V. 151. P. 255.
6. *McLennan S.V., Abdollahi M., Twigg S.M.* Connective tissue growth factormatrix regulation, and diabetic kidney disease // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2013. V. 22. P. 85.
7. *Zhang L.-N., Sun Y.-J., Pan S., Li J.-X., Qu Y.-E., Li Y., Wang Y.-L., Gao Z.-B.* Na⁺-K⁺-ATPase, a potent neuroprotective modulator against Alzheimer disease // *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2013. V. 27. P. 96.
8. *Chaihi M.J., Ehsani M., Khajvand Y., Golchoubian H., Rezaee E.* Determination of cysteine and glutathione based on the inhibition of the dinuclear Cu(II)-catalyzed luminol-H₂O₂ chemiluminescence reaction // *Spectrochim. Acta A.* 2014. V. 122. P. 405.
9. *Lu J., Sun C., Chen W., Ma H., Shi W., Li X.* Determination of non-protein cysteine in human serum by a designed BODIPY-based fluorescent probe // *Talanta.* 2011. V. 83. P. 1050.
10. *Liu W., Luo J., Guo Y., Kou J., Li B., Zhang Z.* Nanoparticle coated paper-based chemiluminescence device for the determination of L-cysteine // *Talanta.* 2012. V. 120. P. 341.
11. *Wang K., Qian J., Jiang D., Yang Z., Du X., Wang K.* On-site naked eye determination of cysteine and homocysteine using quencher displacement-induced fluorescence recovery of the dual-emission hybrid probes with desired intensity ratio // *Biosens. Bioelectron.* 2015. V. 65. P. 83.
12. *Kargosha K., Ahmadi S.H., Zeeb M., Moeinossadat S.R.* Vapour phase Fourier transform infrared spectrometric determination of L-cysteine and L-cystine // *Talanta.* 2008. V. 74. P. 753.
13. *Rezanka P., Koktan J., Rezankova H., Matejka P., Kral V.* Spectrometric determination of L-cysteine and its enantiomeric purity using silver nanoparticles // *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 2013. V. 436. P. 961.
14. *Bronowicka-Adamska P., Zagajewski J., Czubak J., Wrobel M.* RP-HPLC method for quantitative determination of cystathionine, cysteine and glutathione: an application for the study of the metabolism of cysteine in human brain // *J. Chromatogr. B.* 2011. V. 879. P. 2005.
15. *Cevasco G., Piatek A.M., Scapolla C., Thea S.* An improved method for simultaneous analysis of aminothiols in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection // *J. Chromatogr. A.* 2010. V. 1217. P. 2158.
16. *Ferin R., Pavao M.L., Baptiata J.* Methodology for a rapid and simultaneous determination of total cysteine, homocysteine, cysteinylglycine and glutathione in plasma by isocratic RP-HPLC // *J. Chromatogr. B.* 2012. V. 911. P. 15.
17. *Hsiao Y.-P., Su W.-Y., Cheng J.-R., Cheng S.-H.* Electrochemical determination of cysteine based on conducting polymers/gold nanoparticles hybrid nanocomposites // *Electrochim. Acta.* 2011. V. 56. P. 6887.
18. *Xu H., Xiao J., Liu B., Griveau S., Bedioui F.* Enhanced electrochemical sensing of thiols based on cobalt phthalocyanine immobilized on nitrogen-doped grapheme // *Biosens. Bioelectron.* 2015. V. 66. P. 438.
19. *De Carvalho Castro e Silva C., Breikreitz M.C., Santiago M., Corrêa C.C., Kubota L.T.* Construction of a new functional platform by grafting poly(4-vinylpyridine) in multi-walled carbon nanotubes for complexing copper ions aiming the amperometric detection of L-cysteine // *Electrochim. Acta.* 2012. V. 71. P. 150.
20. *Sharma V.V., Guadagnini L., Giorgetti M., Tonelli D.* Electrochemical determination of thiols using hybrid copper cobalt hexacyanoferrate modified glassy carbon electrode // *Sens. Actuators B.* 2016. V. 228. P. 16.
21. *Amendola V., Pilot R., Frascioni M., Maragò O.M., Iati M.A.* Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: A review // *J. Phys.: Condens. Matter.* 2017. V. 29. Article 203002. <https://doi.org/10.1088/1361-648X/aa60f3>
22. *Ghosh S.K., Pal T.* Interparticle coupling effect on the surface plasmon resonance of gold nanoparticles: From theory to applications // *Chem. Rev.* 2007. V. 107. P. 4797.
23. *Аняри В.В., Архипова В.В., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А.* Применение наночастиц золота в спектрофотометрии // *Журн. аналит. химии.* 2014. Т. 69. № 1. С. 1.
24. *Апыри В.В., Архипова В.В., Исаченко А.И., Волков П.А., Дмитриенко С.Г., Торочешникова И.И.* Label-free gold nanoparticle-based sensing of cysteine: new peculiarities and prospects // *Sens. Actuators B.* 2018. V. 260. P. 953.

25. *Wei X., Qi L., Tan J., Liu R., Wang F.* A colorimetric sensor for determination of cysteine by carboxymethyl-cellulose-functionalized gold nanoparticles // *Anal. Chim. Acta.* 2010. V. 671. P. 80.
26. *Apyari V.V., Arkhipova V.V., Gorbunova M.V., Volkov P.A., Isachenko A.I., Dmitrienko S.G., Zolotov Yu.A.* Towards the development of solid-state platform optical sensors: aggregation of gold nanoparticles on polyurethane foam // *Talanta.* 2016. V. 161. P. 780.
27. *Zhang Y., Jiang J., Li M., Gao P., Zhou Y., Zhang G., Shuang S., Dong C.* Colorimetric sensor for cysteine in human urine based on novel gold nanoparticles // *Talanta.* 2016. V. 161. P. 520.
28. *Ghasemi F., Hormozi-Nezhad M.R., Mahmoudi M.* A colorimetric sensor array for detection and discrimination of biothiols based on aggregation of gold nanoparticles // *Anal. Chim. Acta.* 2015. V. 882. P. 58.
29. *Hormozi-Nezhad M.R., Seyedhosseinia E., Robotjazi H.* Spectrophotometric determination of glutathione and cysteine based on aggregation of colloidal gold nanoparticles // *Sci. Iran.* 2012. V. 19. P. 958.
30. *Gao H., Shen W., Lu C., Liang H., Yuan Q.* Surface plasmon resonance additivity of gold nanoparticles for colorimetric identification of cysteine and homocysteine in biological fluids // *Talanta.* 2013. V. 115. P. 1.
31. *Дыкман Л.А., Богатырев В.А.* Наночастицы золота: получение, функционализация, использование в биохимии и иммунохимии // *Успехи химии.* 2007. Т. 76. С. 199.
32. *Апяри В.В., Горбунова М.В., Исаченко А.И., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А.* Использование бытовых цветорегистрирующих устройств в количественном химическом анализе // *Журн. аналит. химии.* 2017. Т. 72. № 11. С. 963.
33. *Апяри В.В., Дмитриенко С.Г., Батов И.В., Золотов Ю.А.* Мини-спектрофотометр Eye-One Pro как альтернатива спектрометру диффузного отражения. // *Журн. аналит. химии.* 2011. Т. 66. № 2. С. 148.
34. *Apyari V.V., Dmitrienko S.G., Zolotov Yu.A.* Unusual application of common digital devices: Potentialities of Eye-One Pro mini-spectrophotometer – A monitor calibrator for registration of surface plasmon resonance bands of silver and gold nanoparticles in solid matrices // *Sens. Actuators B.* 2013. V. 188. P. 1109.