

УДК 543.07, 543.426, 543.42.062, 543.89

ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДОФАМИНА С ПОМОЩЬЮ ФОТОАППАРАТА

© 2025 г. С. А. Громова^a, М. В. Матяш^{a,*}, В. В. Апяри^a,
С. Г. Дмитриенко^a, Ю. А. Золотов^{a, b}

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

^bИнститут общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН
Ленинский просп., 31, Москва, 119991 Россия

*E-mail: masha13_1992@mail.ru

Поступила в редакцию 26.06.2024 г.

После доработки 30.07.2024 г.

Принята к публикации 31.07.2024 г.

Показано, что взаимодействие дофамина с флуорескамином может быть положено в основу люминесцентного определения дофамина с использованием фотоаппарата, поскольку образующийся в результате этого взаимодействия продукт характеризуется максимумом люминесценции в видимой области (485 нм), и для возбуждения люминесценции достаточно светодиода, излучающего свет в ближней ультрафиолетовой области (395 нм). Реакцию следует проводить при pH 8–8.5 в фосфатном буферном растворе в течение 5 мин, флуорескамин в реакционную смесь стоит вводить в последнюю очередь. Оценены некоторые аналитические характеристики определения с помощью фотоаппарата и проведено их сравнение с характеристиками аналогичного определения дофамина с использованием профессионального спектрофлуориметра и спектрофотометра. Пределы обнаружения дофамина с помощью фотоаппарата, спектрофотометра и спектрофлуориметра составили 1.8, 1.6 и 0.5 мкМ, диапазон определяемых содержаний 5.4–50 мкМ, 4.8–100 мкМ, 1.5–100 мкМ соответственно. Определению не мешает присутствие распространенных неорганических ионов, содержание которых в 10 раз превышает содержание дофамина. Предложенный способ определения дофамина может быть использован для контроля качества лекарственных препаратов.

Ключевые слова: дофамин, люминесцентная спектроскопия, цветометрия, фотоаппарат.

DOI: 10.31857/S0044450225010054 EDN: aasvru

Представляет интерес использование в химическом анализе различных бытовых цветотретирирующих устройств в качестве альтернативы профессиональному оборудованию [1, 2]. Особенно перспективно применение таких широкодоступных устройств для анализа объектов, характеризующихся простотой матрицы и высоким содержанием анализаторов, поскольку использование дорогостоящего оборудования для этих целей в ряде случаев не оправдано. Хорошо зарекомендовали себя в анализе различных веществ фотоаппараты [3, 4], сканеры [5], смартфоны [6, 7], калибраторы мониторов [8–11]. С помощью таких устройств можно определять соединения, способные поглощать или излучать свет в видимой области спектра, а также их производные, обладающие указанными свойствами.

За счет использования фотометрической или люминесцентной реакции можно проводить цветометрическое определение биологически активных соединений, например катехоламинов (дофамин, норадреналин, адреналин) – химических посредников и “управляющих” молекул (медиаторов и нейрогормонов) в межклеточных взаимодействиях у человека и животных [12].

Известно, что для люминесцентного определения первичных аминов в качестве реагента хорошо зарекомендовал себя флуорескамин, не обладающий собственной люминесценцией [13]. Имеются сведения о хроматографическом определении дофамина и норадреналина по реакции с флуорескамином, причем последний использовали как дериватизирующий агент [14–17]; описано применение данной реакции

для определения норадреналина методом люминесцентной спектроскопии [18]. Известно, что для образующегося продукта характерно возбуждение люминесценции в ближней УФ-области (350–400 нм) и люминесценция в видимой области спектра, в связи с чем для регистрации сигнала перспективно применение бытовых цветорегистрирующих устройств.

Цель данной работы – изучение возможности люминесцентного определения дофамина по его реакции с флуорескамином с помощью цифрового фотоаппарата.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы и растворы. Использовали реагенты гидрохлорид дофамина ч. д. а. (Sigma-Andrich, США), флуорескамин ч. д. а. (Sigma-Aldrich, Израиль), соляную кислоту х. ч., уксусную кислоту х. ч., гидроксид натрия х. ч., фосфорную кислоту х. ч., борную кислоту х. ч., KH_2PO_4 х. ч., Na_2HPO_4 х. ч., K_2SO_4 х. ч., NaCl х. ч., NaNO_3 х. ч., MgSO_4 х. ч., адреналин ч. д. а. (Sigma-Andrich, США), ацетонитрил (для хроматографии), 1-октансульфонат натрия ч. д. а. (Sigma-Aldrich, Германия).

Стандартный 2.5 мМ раствор дофамина готовили растворением точной навески гидрохлорида дофамина в деионизованной воде и хранили при температуре -18°C . Рабочий раствор дофамина с концентрацией 100 мкМ готовили разбавлением исходного стандартного раствора деионизированной водой. 3.5 мМ раствор флуорескамина готовили растворением точной навески в ацетонитриле. Для приготовления универсальных буферных смесей с pH 2.2, 4.8, 6.9, 7.5, 8.4, 8.8, 9.6, 11.5 к 10 мл смеси 0.04 М фосфорной, уксусной и борной кислот с помощью автоматической пипетки переменного объема Discovery Comfort 100–1000 мкл (HTL, Польша) добавляли 1.00, 3.25, 5.00, 5.50, 6.25, 6.50, 7.50, 8.75 мл 0.2 М раствора NaOH. Для приготовления боратного буферного раствора с pH 8.5 к 6.7 мл 0.05 М раствора тетрабората натрия (12.367 г H_3BO_3 , 100 мл 1 М раствора NaOH в 1 л) добавляли 3.3 мл 0.1 М HCl. Для приготовления фосфатного буферного раствора с pH 8.5 к 19.4 мл 1/15 раствора Na_2HPO_4 прибавляли 0.6 мл 1/15 М раствора KH_2PO_4 .

Оборудование. Спектры люминесценции анализируемых растворов регистрировали на флуориметре Флюорат-02-Панорама (Люмэкс, Россия). Спектры поглощения измеряли на спектрофотометре СФ-104 (Аквилон, Россия). Значения pH определяли на pH-метре-иномере Эксперт 001 (Эконикс-эксперт, Россия). Деионизованную воду получали с помощью системы очистки Millipore Simplicity (Millipore, Германия).

Фотографии растворов флуоресцирующего продукта взаимодействия дофамина и флуорескамина получали с помощью фотоаппарата Canon EOS 550D (Canon, Япония), укомплектованного объективом Canon EF-S 18–55 mm (Canon, Япония), выдержка 0.5 с, ISO 800, f 4.5. Для возбуждения люминесценции образцов использовали ультрафиолетовую лампу LUF-11, снабженную тремя светодиодами (LuazON, Россия). С помощью программы GIMP 2.10.36 (GIMP, США) из полученных фотографий для областей размером 200 × 200 пикселей извлекали усредненные цветовые координаты образцов в системе RGB.

При анализе реального объекта использовали жидкостной хроматограф ЦветЯзуа (НПО “Химавтоматика”, Россия) с амперометрическим детектором ($E = 1.2$ В), колонка Eclipse XDB-C18 (Adgilent, США), подвижная фаза – ацетонитрил (10 %), подкисленный 0.1 %-ной фосфорной кислотой для протонирования катехоламина с добавкой 0.3 mM 1-октансульфоната натрия в качестве ион-парного реагента [19], ввод пробы осуществляли с помощью петли дозатора (20 мкл), скорость потока 0.4 мл/мин.

Методика эксперимента. Эксперимент включал проведение реакции дофамина с флуорескамином в присутствии определенного буферного раствора. Флуорескамин вводили в последнюю очередь. Через 5 мин после смешения реагентов анализируемый раствор помещали в кварцевую кювету ($l = 1$ см) и регистрировали спектр люминесценции с помощью спектрофлуориметра Флюорат-02-Панорама, спектр поглощения с помощью спектрофотометра СФ-104 или получали фотографии растворов с помощью фотоаппарата Canon. Фотографирование проводили в отсутствие посторонних источников света, кювету располагали на листе черной матовой бумаги, ультрафиолетовую лампу располагали сбоку от кюветы на расстоянии 5 см. Полученные данные экспорттировали в Microsoft Excel.

Для анализа лекарственного препарата предварительно разбавляли исследуемый раствор деионизированной водой до концентрации 1000 мкМ, считая, что содержание действующего вещества в препарате соответствует заявленному (40 мг/мл в пересчете на дофамина гидрохлорид). При флуориметрическом определении аликвоту полученного раствора вводили в реакционную смесь, создавая концентрацию дофамина 25 мкМ. Для хроматографического анализа раствор разбавляли до предполагаемого содержания дофамина 5 мкМ и вводили в хроматограф. Для получения результатов анализа использовали градуировочную зависимость, построенную в диапазоне 1–10 мкМ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Определение дофамина основано на его реакции с флуорескамином с образованием флуоресцирующего продукта, интенсивность люминесценции которого служит аналитическим сигналом (схема 1).

Для выбора условий определения дофамина предварительно получили 3D-спектр люминесценции продукта взаимодействия дофамина с флуорескамином, изучили влияние pH, порядка введения реагентов, времени реакции и концентрации флуорескамина на интенсивность люминесценции.

На рис. 1 приведен нормированный 3D-спектр люминесценции продукта реакции дофамина с флуорескамином, зарегистрированный на спектрофлуориметре. Максимум возбуждения люминесценции наблюдается при 395 нм, максимум люминесценции — при 485 нм, другие выраженные спектральные особенности в изученном диапазоне длин волн вплоть до 220 нм не обнаружены. В качестве аналитического сигнала при проведении измерений с помощью спектрофлуориметра использовали интенсивность люминесценции при 485 нм.

Влияние pH и порядка введения реагентов. Для изучения влияния pH на интенсивность люминесценции готовили растворы с постоянной концентрацией дофамина и флуорескамина со значениями pH в диапазоне от 2 до 11.5. Необходимые значения pH создавали с помощью универсальных буферных смесей. На рис. 2 представлены зависимости интенсивности люминесценции от pH для случаев, когда в последнюю очередь в реакционную смесь вводили флуорескамин (кривая 1) и дофамин (кривая 2). Видно, что в обоих случаях интенсивность люминесценции максимальна при проведении реакции при pH 8–8.5. Это связано с тем, что в сильнощелочной среде продукт реакции амина с флуорескамином находится

в гидроксилированной, а в сильнокислой — в лактонной форме, которые имеют неплоское строение и не люминесцируют [13]. Кроме того, уменьшение интенсивности люминесценции в кислой среде может быть связано с уменьшением концентрации люминесцирующего продукта из-за протонирования дофамина и снижения его нуклеофильной активности. При pH 8–8.5 дофамин присутствует преимущественно в незаряженной форме, а продукт его реакции с флуорескамином — в виде жесткого плоского катиона, обладающего люминесценцией.

При введении в реакционную смесь в последнюю очередь флуорескамина интенсивность люминесценции значительно выше, чем в случае, когда последним вводят дофамин. Вероятно, если сначала ввести флуорескамин,

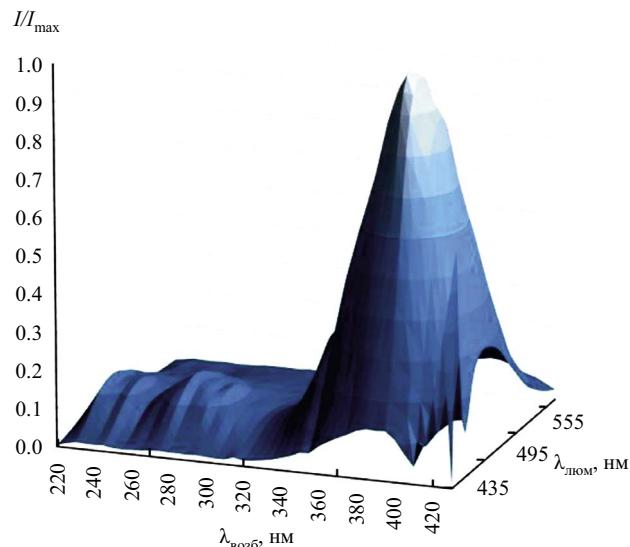


Рис. 1. Нормированный 3D спектр люминесценции продукта реакции дофамина с флуорескамином. $c_{\text{дофамина}} = 25 \text{ мкМ}$, $c_{\text{флуорескамина}} = 200 \text{ мкМ}$, pH 8.5, $V = 5.0 \text{ мл}$.

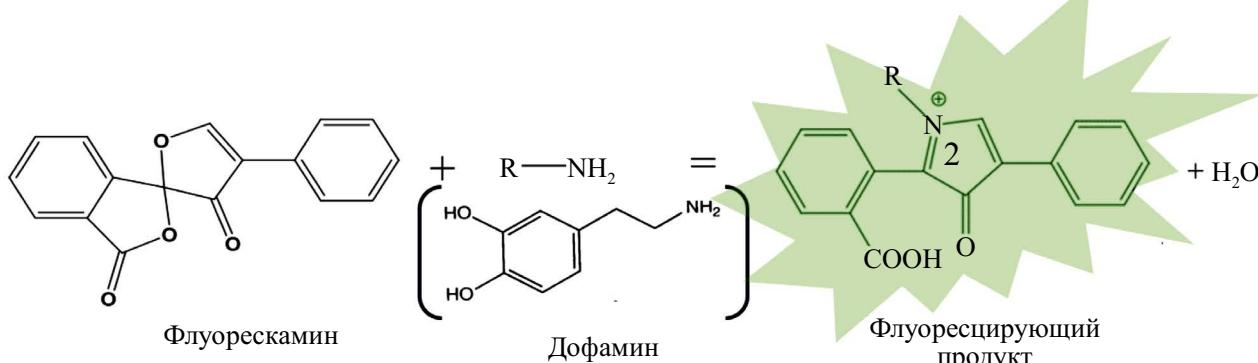


Схема 1. Взаимодействие дофамина и флуорескамина.

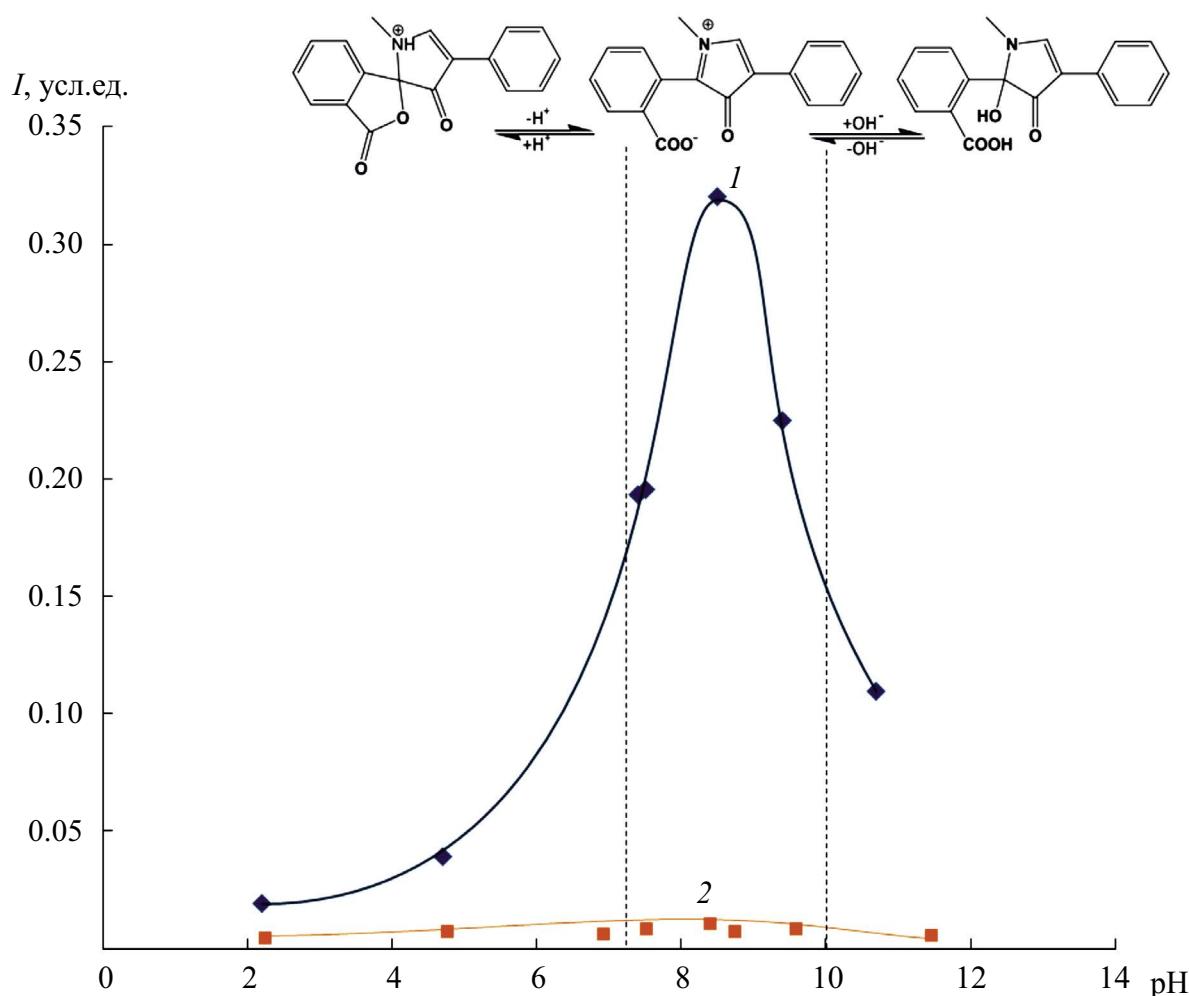


Рис. 2. Зависимость интенсивности люминесценции от pH раствора. $c_{\text{дофамина}} = 25 \text{ мкМ}$, $c_{\text{флуорескамина}} = 200 \text{ мкМ}$, 2.0 мл универсальной буферной смеси, $V = 5.0 \text{ мл}$, в последнюю очередь вводили (1) флуорескамин, (2) дофамин.

то еще до начала взаимодействия с дофамином он подвергается гидролизу или вступит в реакцию с компонентами буферного раствора, т.е. его концентрация уменьшится и, как следствие, уменьшится и количество целевого продукта. С дофамином за малый промежуток времени никаких изменений не происходит, поэтому его следует вводить раньше флуорескамина.

Изучили влияние состава буферного раствора на интенсивность люминесценции. Для этого готовили универсальную буферную смесь, боратный и фосфатный буферные растворы со значением pH 8.5. На рис. За в виде гистограммы представлены значения интенсивности люминесценции в соответствующих буферных растворах. Как видно, интенсивность люминесценции максимальна в фосфатном буферном растворе. Вероятно, это связано с тем, что матрица данного буферного раствора имеет наиболее простой состав, в котором в наименьшей степени проходят побочные реакции флуорескамина

с компонентами раствора, а также тушение люминесценции.

Варьирование объема буферной смеси от 0.5 до 2 мл заметно не влияет на интенсивность люминесценции. Для уменьшения влияния посторонних компонентов на определение целесообразно использовать как можно меньший объем буферной смеси, способный поддерживать заданное значение pH, поэтому в дальнейших экспериментах в реакционную смесь вводили 0.5 мл фосфатного буферного раствора.

Влияние времени, прошедшего после начала реакции, на интенсивность люминесценции иллюстрирует рис. 3б. Измерения проводили на спектрофлуориметре через определенные промежутки времени после начала реакции между дофамином и флуорескамином. Взаимодействие происходит меньше чем за 1 мин, в течение первых 5 мин после смешения реагентов наблюдается уменьшение люминесценции, связанное, вероятно, с образованием неустойчивых

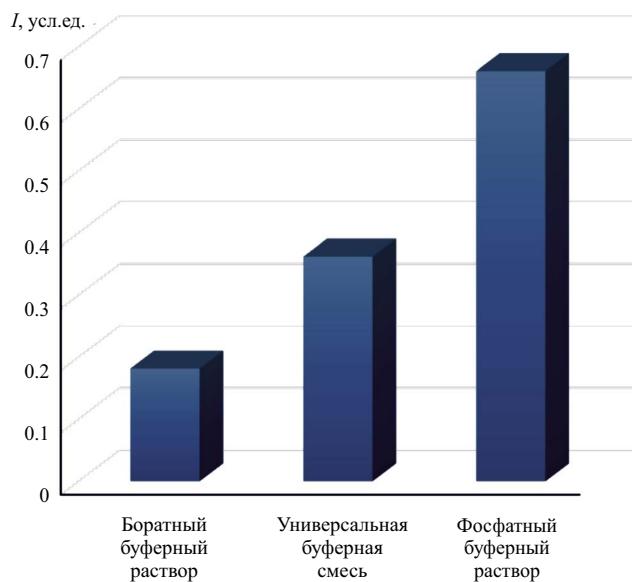
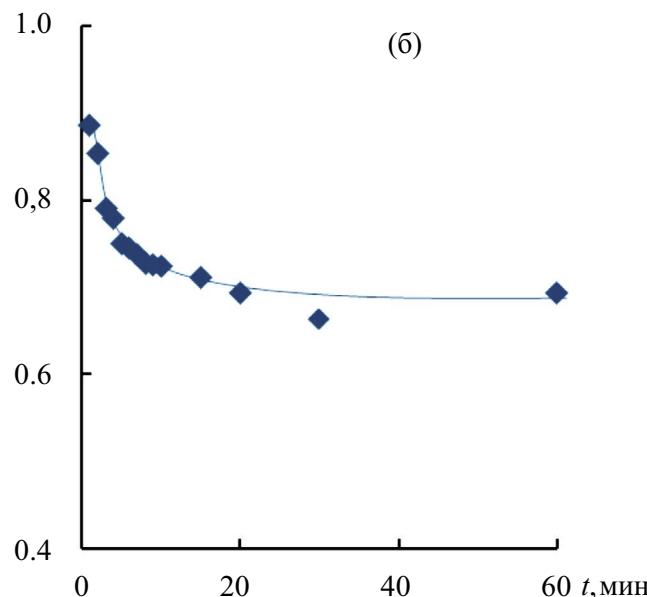
люминесцирующих продуктов флуорескамина с посторонними компонентами смеси, которые в течение 5 мин распадаются. Затем в течение 1 ч интенсивность люминесценции продукта практически не изменяется. В дальнейшем измерения проводили через 5 мин после смешения реагентов.

Изучили влияние содержания флуорескамина на полноту протекания реакции. На рис. 3в представлена зависимость интенсивности люминесценции от концентрации реагента. При повышении концентрации флуорескамина в реакционной смеси от 50 до 1000 мкМ интенсивность флуоресценции продукта растет, при дальнейшем увеличении содержания флуорескамина заметного роста флуоресценции не наблюдается. Для определения дофамина можно выбрать концентрацию флуорескамина 200 мкМ, а для увеличения интенсивности регистрируемого сигнала и, вероятно, повышения чувствительности определения можно использовать более высокие концентрации флуорескамина.

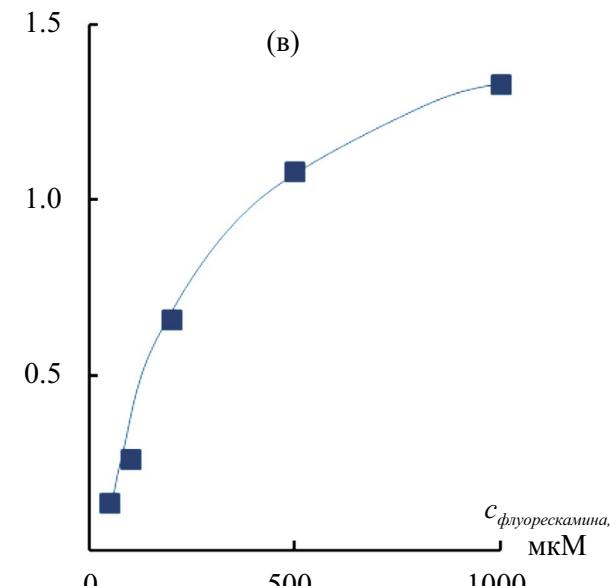
Определение дофамина по реакции с флуоресканином. В выбранных условиях определения дофамина получили спектры люминесценции с использованием спектрофлуориметра для растворов с концентрацией флуорескамина 200 и 1000 мкМ, а также спектры светопоглощения, измеренные на спектрофотометре (рис. 4а–в), для растворов с разной концентрацией дофамина (от 1 до 100 мкМ) и построили зависимости

аналитического сигнала от концентрации дофамина. В качестве аналитического сигнала в случае измерения люминесценции на спектрофлуориметре использовали интенсивность люминесценции при 485 нм; в случае спектрофотометрического анализа аналитическим сигналом являлась оптическая плотность при 395 нм (максимум поглощения продукта реакции). Градуировочные зависимости, полученные с помощью спектрофлуориметра и спектрофотометра, линейны в выбранном диапазоне концентраций дофамина, уравнения зависимостей и значения коэффициентов детерминации

(а)

*I*, усл.ед.

(б)

I, усл.ед.

(в)

Рис. 3. Влияние (а) природы буферного раствора, (б) времени взаимодействия, (в) концентрации флуорескамина на интенсивность люминесценции продукта реакции дофамина с флуоресканином. $c_{\text{дофамина}} = 25 \text{ мкМ}$; $c_{\text{флуорескамина}} = 200 \text{ мкМ}$ (а), (б); 0.5 мл буферного раствора с pH 8.5; фосфатный буферный раствор (б), (в); $V = 5.0 \text{ мл}$; флуоресканин вводили в последнюю очередь.

приведены в табл. 1. Поскольку, как отмечено выше, введение большего количества флуорескамина в реакционную смесь позволяет достичь более высокой интенсивности люминесценции, целесообразно изучить влияние концентрации флуорескамина на чувствительность определения. Начальный участок градиуровочной зависимости при добавлении 1000 мкМ флуорескамина действительно характеризуется большим тангенсом угла наклона. В случае спектрофотометрического анализа, как видно из спектров, максимум поглощения продукта реакции попадает на плечо максимума поглощения флуорескамина, фоновый сигнал в данном случае высок и можно ожидать, что воспроизводимость анализа в данном случае будет низкой. По этой причине спектрофотометрия не рекомендуется для определения дофамина в данных условиях.

При взаимодействии дофамина с флуорескамином образуется продукт, обладающий люминесценцией в видимой области спектра, поэтому целесообразно оценить возможность использования цветометрии для определения дофамина. Одним из вариантов цветометрического анализа является изучение зависимости значений координат цвета, полученных из фотографий образцов, от концентрации аналита. Для проведения цветометрического анализа получили фотографии градиуровочных растворов при облучении их ультрафиолетовой лампой (рис. 5а), из полученных фотографий извлекли координаты цвета в системах RGB, CMYK и Lab. Установили, что значения координат цвета по зеленому каналу (G) в системе RGB, яркости L и координаты b в системе Lab монотонно увеличиваются при увеличении содержания дофамина, значения координаты M в системе CMYK и координаты a в системе Lab монотонно уменьшаются — использование

указанных координат в качестве аналитического сигнала может быть положено в основу определения дофамина с помощью фотоаппарата. Для остальных координат в данных цветовых пространствах корреляции с содержанием дофамина не наблюдается. С целью выбора наиболее подходящего сигнала для определения дофамина оценили величины отношения сигнала при содержании дофамина 10 мкМ (за вычетом контрольного опыта) к фоновому сигналу (стандартное отклонение контрольного опыта), вычисленные при использовании в качестве аналитического сигнала разных цветовых координат ($n = 5$):

Координата цвета	G	M	L	a	b
Сигнал/фон	12	9	8	8	9

Как видно, наибольшее соотношение достигается при использовании координаты G. Кроме того, система цветовых координат RGB является наиболее распространенной и, как правило, используется по умолчанию в различных цветорегистрирующих устройствах. В данном случае в качестве аналитического сигнала целесообразно использовать координату G. На рис. 5б приведена градиуровочная зависимость, полученная с помощью фотоаппарата, в качестве аналитического сигнала использовали координату цвета G за вычетом сигнала контрольного опыта. Полученная зависимость линейна в диапазоне концентраций 0–15 мкМ, при больших концентрациях наблюдается отклонение от линейности. В диапазоне концентраций 0–100 мкМ полученную зависимость можно аппроксимировать с помощью функции вида $y = a(1 - e^{-(bx)})$ где y — это координата цвета G, x — концентрация дофамина, мкМ, a , b — постоянные. Данная функция соответствует зависимости интенсивности люминесценции от концентрации

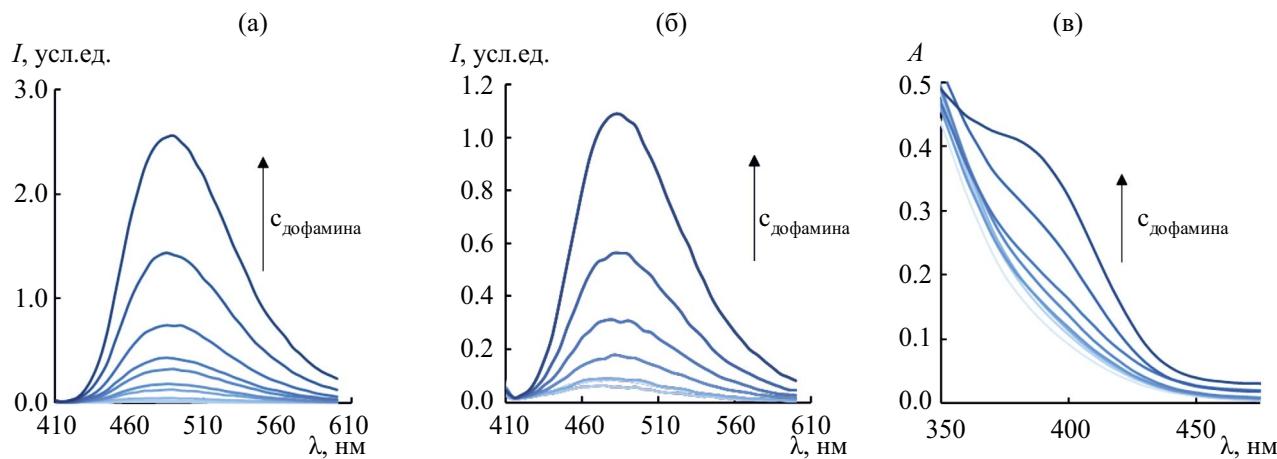


Рис. 4. Спектры (а), (б) люминесценции (в) и поглощения растворов дофамина после взаимодействия с флуорескамином. (а), (в) 0–100, (б) 0–10 мкМ дофамина; (а), (в) 200, (б) 1000 мкМ флуорескамина; 0.5 мл фосфатного буферного раствора с pH 8.5; $t = 5$ мин; $V = 5.0$ мл; флуорескамин вводили в последнюю очередь.

определенного вещества при высоких значениях оптической плотности анализируемых растворов: $I = I_0 \Phi_k (1 - 10^{-\varepsilon l c})$ при $\varepsilon l c > 0.05$, где I – интенсивность люминесценции анализируемого раствора, I_0 – интенсивность источника излучения, Φ_k – квантовый выход люминесценции, ε – молярный коэффициент поглощения, l – длина оптического пути, c – концентрация люминесцирующего вещества. Тот факт, что для одного и того же диапазона концентраций градуировочная зависимость, полученная с помощью флуориметра, аппроксимируется линейной функцией, а с помощью фотоаппарата – экспоненциальной, можно объяснить слишком большой для данных условий выдержкой (0.5 с) и, соответственно, долгим накоплением сигнала: значение координаты G приближается к ее максимальному значению (255). Для измерения растворов с высокими концентрациями реагентов рекомендуется уменьшать время выдержки (для 25–100 мкМ растворов 1/10–1/15 с), для разбавленных 0–10 мкМ растворов, наоборот, увеличивать (0.8 с).

Аналитические характеристики определения дофамина. В табл. 1 представлены некоторые аналитические характеристики предложенных способов определения дофамина. Наименьшим пределом обнаружения, как и ожидалось, характеризуется профессиональный спектрофлуориметр, при этом введение в реакционную смесь большего количества флуоресцина не приводит к снижению предела обнаружения из-за увеличения стандартного отклонения контрольного опыта, т.е. использование более высоких концентраций флуоресцина нецелесообразно. Сопоставимые пределы обнаружения достигаются при использовании спектрофотометра и фотоаппарата. Фотоаппарат – более

компактный, мобильный и недорогой инструмент, поэтому его, в отличие от профессиональных приборов, можно рекомендовать для измерений в полевых условиях.

Изучили влияние наиболее распространенных неорганических ионов на интенсивность люминесценции. Критерием мешающего влияния служило отклонение найденного содержания дофамина от введенного более чем на 5 %. Установили, что ионы Na^+ , K^+ , Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , Mg^{2+} не мешают определению дофамина при соотношении дофамин : посторонний ион 1 : 10. Определению также не мешает присутствие сопоставимых количеств адреналина – катехоламина, содержащего в своей структуре вторичную аминогруппу.

Анализ реального объекта – медицинского препарата “Дофамин-Ферайн” (ПАО “Брыцалов-А”, Россия; действующее вещество – допамина гидрохлорид, 40 мг/мл) на содержание дофамина. Данные, полученные с помощью фотоаппарата, спектрофлуориметра и методом ВЭЖХ, приведены в табл. 2. Результаты, полученные разными способами, хорошо согласуются между собой, что говорит о правильности определения.

* * *

Таким образом, взаимодействие дофамина с флуоресцином положено в основу люминесцентного определения дофамина. При использовании спектрофлуориметра возбуждение люминесценции образцов проводили при 395 нм, измерение – при длине волны люминесценции 485 нм. Образующийся продукт обладает люминесценцией в видимой области спектра, поэтому возможно цветометрическое определение дофамина с использованием фотоаппарата

Таблица 1. Аналитические характеристики различных способов определения дофамина ($n = 5$, $P = 0.95$)

Регистрирующее устройство	Уравнение градуировочной зависимости	R^2	c_{\min} , мкМ	ДОС, мкМ
Спектрофлуориметр (200 мкМ флуоресцина)	$y = 0.0254x + 0.06$	0.9965	0.5	1.5–100
Спектрофлуориметр (1000 мкМ флуоресцина)	$y = 0.101x + 0.067$	0.9991	0.5	1.5–10
Спектрофотометр	$y = 0.0025x + 0.116$	0.9909	1.6	4.8–100
Фотоаппарат	$y = 186(1 - e^{-0.055x})$	0.9951	1.8	5.4–50

Примечание: ДОС – диапазон определяемых содержаний.

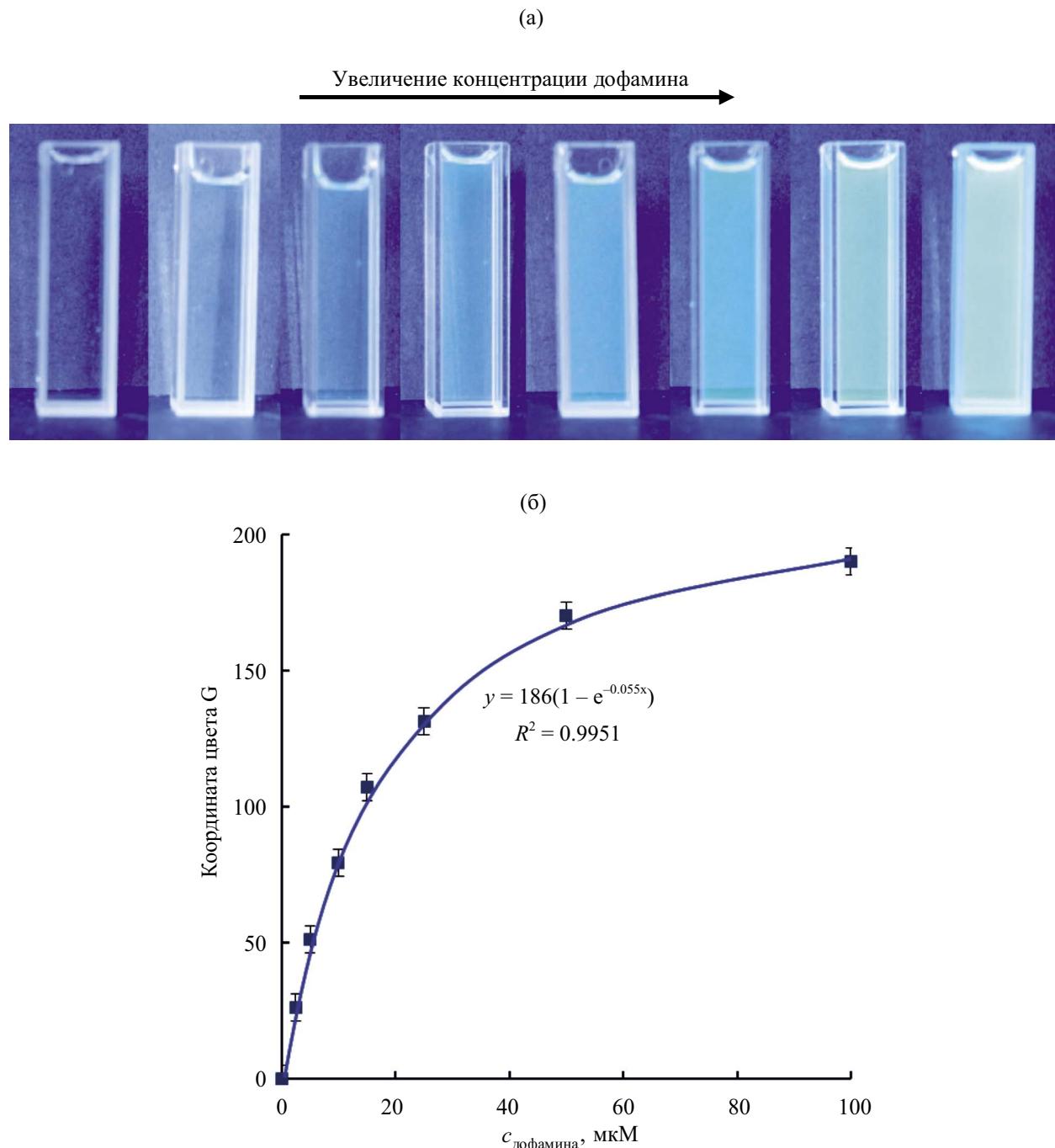


Рис. 5. Фотографии градуировочных (а) растворов продукта взаимодействия дофамина и флуорескамина и (б) градуировочная зависимость для определения дофамина, полученная с помощью фотоаппарата. 0, 2.5, 5, 10, 15, 25, 50, 100 мкМ дофамина; 200 мкМ флуорескамина; 0.5 мл фосфатного буферного раствора с pH 8.5; $t = 5$ мин; $V = 5.0$ мл; флуорескамин вводили в последнюю очередь.

при возбуждении люминесценции внешним УФ-источником, в качестве аналитического сигнала использовали значение координаты G в системе RGB. Возможно также спектрофотометрическое определение дофамина по реакции дофамина с флуорескамином. Пределы обнаружения дофамина с помощью спектрофлуориметра, спектрофотометра и фотоаппарата составляют 0.5, 1.6, 1.8 мкМ, диапазоны

определяемых содержаний – 1.5–100, 4.8–100, 5.4–50 мкМ соответственно. Определению не мешает присутствие наиболее распространенных неорганических ионов, содержание которых в 10 раз превышает содержание дофамина, и сопоставимых количеств адреналина. Предложенный способ определения дофамина можно применять для анализа лекарственных препаратов.

Таблица 2. Результаты определения дофамина в медицинском препарате “Дофамин-Ферейн” (ПАО “Брыцалов-А”, Россия) разными методами ($n = 3$, $P = 0.95$)

Метод	Содержание дофамина в препарате, мг/мл	s_r
Люминесцентная спектроскопия		
спектрофлуориметр	47 ± 3	0.02
фотоаппарат	45 ± 7	0.06
ВЭЖХ	47.8 ± 0.3	0.003

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 24-23-20004).

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование проведено в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета “Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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.
[\(Apyari V.V., Gorbunova M.V., Isachenko A.I., Dmitrienko S.G., Zolotov Yu A. Use of household color-recording devices in quantitative chemical analysis // J. Anal. Chem. 2017. V. 72. № 11. P. 1127.\)](https://doi.org/10.7868/S0044450217110019)
[https://doi.org/10.1134/S106193481711003X\)](https://doi.org/10.1134/S106193481711003X)
2. Моногарова О.В., Осколок К.В., Апяри В.В. Цветометрия в химическом анализе // Журн. аналит. химии. 2018. Т. 73. № 11. С. 857.
[\(Monogarova O.V., Oskolok K.V., Apyari V.V. Colorimetry in chemical analysis // J. Anal. Chem. 2018. V. 73. P. 1076.\)](https://doi.org/10.1134/S0044450218110063)
[https://doi.org/10.1134/S1061934818110060\)](https://doi.org/10.1134/S1061934818110060)
3. Lapresta-Fernández A., Capitán-Vallvey L.F. Environmental monitoring using a conventional photographic digital camera for multianalyte disposable optical sensors // Anal. Chim. Acta. 2011. V. 706. № 2. P. 328.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.08.042>
4. Doeven E.H., Barbante G.J., Kerr E., Hogan C.F., Endler J.A., Francis P.S. Red-green-blue electrogenerated chemiluminescence utilizing a digital camera as detector // Anal. Chem. 2014. V. 86. № 5. P. 2727.
<https://doi.org/10.1021/ac404135f>
5. Jayawardane B.M., McKelvie I.D., Kolev S.D. A paper-based device for measurement of reactive phosphate in water // Talanta. 2012. V. 100. P. 454.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.08.021>
6. García A., Erenas M.M., Marinetto E.D., Abad C.A., de Orbe-Payá I., Palma A.J., CapitánVallvey L.F. Mobile phone platform as portable chemical analyzer // Sens. Actuators B. 2011. V. 156. № 1. P. 350.
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2011.04.045>
7. Shahvar A., Saraji M., Shamsaei D. Smartphone-based chemiluminescence sensing for TLC imaging // Sens. Actuators B: Chem. 2018. V. 255. P. 891.
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.08.144>
8. Apyari V.V., Dmitrienko S.G., Zolotov Y.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: Chem. 2013. V. 188. P. 1109.
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.07.097>
9. Marchenko D.Y., Petrov S.I., Sandzhieva D.A., Dedov A.G. Express method of the quantitative determination of nitrites by computer colorimetry using new reagent compositions // Theor. Found. Chem. Eng. 2016. V. 50. P. 648.
<https://doi.org/10.1134/S0040579516040187>
10. Gorbunova M.V., Evstigneeva P.Yu., Apyari V.V., Dmitrienko S.G. A monitor calibrator as a portable tool for determination of luminescent compounds // IEEE Trans. Instrum. Meas. 2021. V. 70. Article 6002910.
https://doi.org/10.1109/TI_M.2020.3041390
11. Gorbunova M.V., Safronova A.S., Vasilyeva A.A., Spitsyna K.S., Apyari V.V., Dmitrienko S.G. Sulfonamide drugs: Low-cost spectrofluorometric determination using a computer monitor calibrator for detection // Talanta. 2023. V. 257. Article 124383
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.124383>
12. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Катехоламины: биохимия, фармакология, физиология, клиника // Вопросы медицинской химии. 2002. Т. 48. № 1. С. 44.
13. Deraye S.M., Samir E. A review on the use of fluorescamine as versatile and convenient analytical

- probe // Microchem. J. 2020. V. 156. Article 104835
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104835>
14. Imai K. Fluorimetric assay of dopamine, norepinephrine and their 3-o-methyl metabolites by using fluorescamine // J. Chromatogr. A. 1975. V. 105. P. 135.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)81097-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)81097-9)
15. Imai K., Tamura Z. Liquid chromatographic determination of urinary dopamine and norepinephrine as fluorescamine derivatives // Clin. Chim. Acta. 1978. V. 85. P. 1.
[https://doi.org/10.1016/0009-8981\(78\)90093-1](https://doi.org/10.1016/0009-8981(78)90093-1)
16. Nakamura H., Pisano J.J. Specific detection of primary catecholamines and their 3-o-methyl derivatives on thin-layer plates using a fluorogenic reaction with fluorescamine // J. Chromatogr. A. 1978. V. 154. P. 39.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)88479-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)88479-4)
17. Ingles D.L., Gallimore D. High-performance liquid chromatography of fluorescamine-labelled amines in acid solvents // J. Chromatogr. A. 1985. V. 325. P. 346.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)96042-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)96042-4)
18. Djozan Dj., Farajzadeh M.A. The use of fluorescamine (Fluram) in fluorimetric trace analysis of primary amines of pharmaceutical and biological interest // J. Pharm. Biomed. Anal. 1992. V. 10. P. 1063.
[https://doi.org/10.1016/0731-7085\(91\)80120-X](https://doi.org/10.1016/0731-7085(91)80120-X)
19. Толмачева В.В., Ярыкин Д.И., Горбунова М.В., Апяри В.В., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. Концентрирование катехоламинов на сверхсшитом полистироле и их определение методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. № 11. С. 803.
<https://doi.org/10.1134/S004445021909010X>
(Tolmacheva V.V., Yarykin D.I., Gorbunova M.V., Apyari V.V., Dmitrienko S.G., Zolotov Yu A. Preconcentration of catecholamins on hypercrosslinked polystyrene and their determination by high-performance liquid chromatography // J. Anal. Chem. 2019. V. 74. № 11. P. 1057.
<https://doi.org/10.1134/S1061934819090107>)

LUMINESCENT DETERMINATION OF DOPAMINE USING A CAMERA

S. A. Gromova^a, M. V. Matiash^{a,*}, V. V. Apyari^a, S. G. Dmitrienko^a, Yu. A. Zolotov^{a,b}

^aLomonosov Moscow State University, Department of Chemistry
Moscow, Russia

^bKurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry Russian Academy of Sciences
Moscow, Russia

*E-mail: masha13_1992@mail.ru

Abstract. It is shown that the interaction of dopamine with fluorescamine can be used as a basis for the luminescent determination of dopamine using a camera, since the product formed as a result of this interaction is characterized by a luminescence maximum in the visible region (485 nm), and a light-emitting diode emitting light in the near ultraviolet region (395 nm) is sufficient to excite the luminescence. The reaction should be carried out at pH 8–8.5 in a phosphate buffer solution for 5 min; fluorescamine should be added to the reaction mixture last. Some analytical characteristics of the determination using a camera are assessed and compared with the characteristics of a similar determination of dopamine using a professional spectrofluorometer and spectrophotometer. The detection limits of dopamine using a camera, spectrophotometer and spectrofluorometer were 1.8, 1.6 and 0.5 μM , the range of determined contents was 5.4–50 μM , 4.8–100 μM , 1.5–100 μM , respectively. The presence of common inorganic ions, the content of which is 10 times higher than the content of dopamine, does not interfere with the determination. The proposed method for determining dopamine can be used for quality control of drugs.

Keywords: dopamine, luminescence spectroscopy, colorimetry, camera.