

Э. В. Гоголь, Г. И. Гумерова, Ю. А. Тунакова,
М. Н. Исхакова, Д. А. Богданова

ЭКСПРЕСС- АНАЛИЗ В ЭКОХИМИИ

Ключевые слова: экспресс- анализ, электропроводящие сенсоры, фермент, пестициды.

Для успешного экспресс-анализа в экологической химии подбирается метод, позволяющий разработать систему для его идентификации с минимальным пределом обнаружения и погрешностью, быстрым временем отклика, возможностью определения аналита в присутствии примесей.

Keywords: rapid analysis, conductive sensors, enzyme, pesticides.

For successful rapid analysis in environmental chemistry chosen method to develop a system to identify it with a minimum detection limit and accuracy, fast response time, the ability to determine the analyte in the presence of impurities.

Электропроводящие сенсоры

В свете вышеописанных критериев наиболее значительный интерес, представляют амперометрические сенсоры, основанные на применении химически модифицированных электродов (ХМЭ) с использованием полимерных материалов, тонким слоем нанесенных на поверхность электрода.

Технологию анализа с помощью таких ХМЭ, покрытых полимерами, начали использовать еще в конце 70-х годов прошлого столетия. С тех пор накоплен большой материал в области конструирования и практического применения химически модифицированных полимерами электродов.

Самым экономически целесообразным способом изготовления полимерных ХМЭ было и остается нанесение полимера на основной материал электрода (стеклоуглерод, графит, платину, золото) путем осаждения из раствора или электрополимеризацией. Наиболее перспективными для подобных процессов оказались электропроводящие полимеры (ЭП). Этот класс высокомолекулярных соединений называют «синтетическими металлами», так как они, являясь полупроводниками и обладая электрическими, магнитными и оптическими свойствами металлов, сохраняют механические свойства, присущие полимерам [1].

К настоящему времени наиболее изученными из ЭП являются полианилин, полипиррол, полипфенилен, политиофен, олиго- и полифталодицианины. Применение ЭП в химически модифицированных электродах позволяет создавать приборы для быстрого и безопасного мониторинга окружающей среды. Так, пленки, полученные на основе олигофталодицианинов и полифталодицианинов, были использованы для создания высокочувствительных слоев газовых сенсоров, которые в отличие от полупроводниковых сенсоров на основе неорганических сорбентов (SnO_2 , ZnO и др.) работают при более низких температурах (до 200°C).

Это позволяет существенно снижать потребляемую мощность и создавать на их основе портативные приборы. В настоящее время на основе таких чувствительных материалов разработаны приборы для измерения содержания влаги в газах, концентрации кислорода, двуокси азота, сероводорода и аммиака [2].

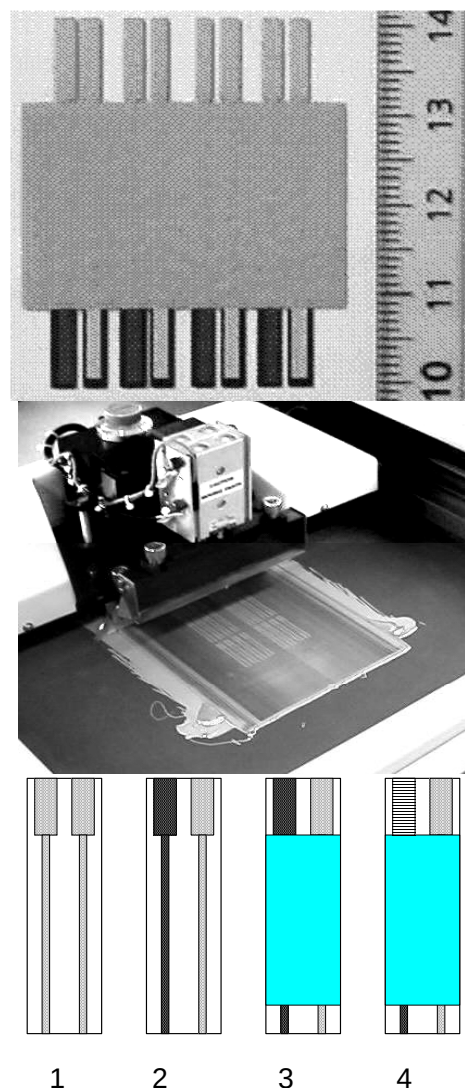


Рис. 1 -Размеры планарных электродов (а), машина для печати (б) и последовательность их изготовления (в): 1 – нанесение серебряного токопроводящего слоя; 2 – нанесение углеродной композиции и слоя области электрода сравнения; 3 – капсулирование с помощью лакокрасочного покрытия; 4 – нанесение рабочего слоя

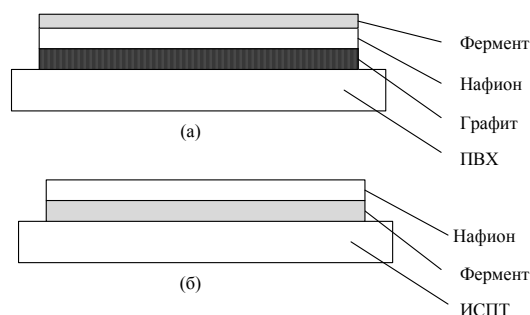


Рис. 2 - Послойное нанесение фермента и дополнительного полимерного слоя при формировании планарных биосенсоров. (а) – холинэстеразный биосенсор; (б) – глюкозный сенсор, ИСПТ – ионоселективный полевой транзистор

Способность ЭП давать «отклик» на присутствие хлорированных углеводов, аммиака и низших алифатических аминов использовалась для создания амперометрических газовых сенсоров (на подложках из фольгированного текстолита) для определения вышеперечисленных соединений. Чувствительными к аммиаку оказались также недавно синтезированные поли-*n*-ксилиленовые композиты с Ag, PbS, SnO₂. Сейчас эти материалы используются для производства высокочувствительных и селективных сенсоров, регистрирующих влажность, следы аммиака и спирта в газовой фазе.

Чаще всего в ХМЭ применяют полипиррольные покрытия, поскольку пленки полипиррола одинаково хорошо удерживаются как на оксидных поверхностях металлов, так и на углеродистых материалах, не вызывают заметной пассивации электрода, хорошо проводят ток и химически устойчивы в течение необходимого для анализа времени. Композитные материалы на основе полипиррола и поливинилового или поливинилэтилового эфиров чувствительны к присутствию в воде перекиси водорода, и, соответственно, могут использоваться в датчиках для определения концентрации перекиси в применяемых на производстве водных растворах или же в сточных водах производств [3].

Для определения хлорид-, сульфат-, нитрат- и дигидрофосфатионов в жидких продуктах, растворах и сточных водах хорошо применимы поли-*o*-аминофенол, поли-*m*-толуидин и поли-*x*-нафтиламин.

Благодаря наличию основных иминных и аминных атомов азота указанные полимеры взаимодействуют с протонами кислот, образуя соли. Это свойство полимеров используется для создания ионселективных электродов [4].

К «новинкам» также можно отнести сенсор на никель (II), где в качестве чувствительного материала задействован 5, 7, 12, 14-тетраметилдигибензтетраазаанулен в поливинилхлоридной матрице. Новый сенсор показывает быстрое время отклика (около 15 с), а также хорошую селективность к Ni (II) во всем ряду одно-, двух- и трехзарядных катионов. Такие характеристики позволяют использовать сенсор для обнаружения никеля в кондитерских изделиях, шоколаде и прочих продук-

тах, отличающихся весьма разнообразным катионным составом. [5]

Для высокоточного определения концентраций некоторых других тяжелых металлов может быть применен стеклоглеродный электрод, поверхность которого покрыта поли-4-винилпиридином, содержащим ионы ртути (II). Такой сенсор способен определять ионы свинца, кадмия и меди в концентрациях от 1×10^{-5} до 1×10^{-9} моль/л.

Но концентрированию на поверхности ХМЭ подвергаются не только ионы металлов, но и органические соединения. С помощью вольтамперометрии в сочетании с ХМЭ определяют сложные по строению субстраты, белки, лекарственные препараты, витамины, биологически активные соединения, включая пестициды и т.д. Так, с помощью графитового электрода, модифицированного полипирролом, определяют аскорбиновую кислоту в концентрациях $1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-3}$ моль/л. В концентрации $1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-3}$ моль/л кислоту можно детектировать на стеклоглеродном электроде с поливинилпиридиновой пленкой, содержащей ионы HgCl_2^{2-} , являющимся также сенсором и на допамин [6].

Одним из самых сложных видов мониторинга является непрерывный анализ в реальном масштабе времени по типу on-line или in-line. Полимерным ХМЭ и вольтамперометрии тут отведена едва ли не главная роль. В ряде случаев разработки ХМЭ нацелены именно на использование «полимерных» электродов как амперометрических датчиков в потоке, например, в проточно-инжекционном анализе.

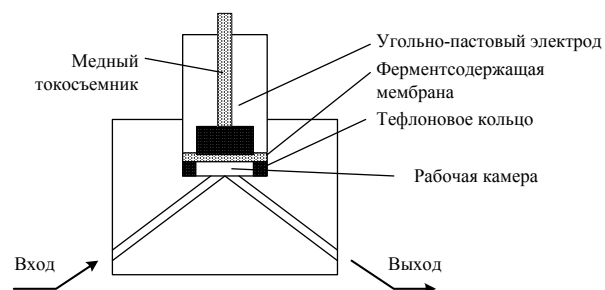


Рис. 3 - Использование объемного эпоксидно-графитового электрода в проточной ячейке типа "отражательная стенка"

В частности, графитовый электрод с поливинилпиридиновой пленкой, содержащей ионы $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, использовался в проточно-инжекционном анализе для определения спиртов и фенолов. Граничные концентрации определения составили, соответственно, 2×10^{-6} и $0,5 \times 10^{-6}$ моль/л. Применение модифицированных электродов в проточно-инжекционном анализе позволяет обеспечить высокую производительность определения и, в итоге, собрать большой массив информации [7].

В последнее время для миниатюризации систем аналитического контроля используются различные способы модифицирования электродов для придания им специфического отклика, что позволя-

ет производить измерения «in vivo» (вживую) в тканях и даже в отдельных клетках. Так, к примеру, на основе угольного волокна, модифицированного тетраоксис-(3-метокси-4-гидроксифенил) порфирином, в полимерной пленке изготовлен ультрамикроэлектрод, позволяющий определять «связанный» никель в отдельных биологических клетках.

Сама пленка на поверхности ультрамикроэлектрода образуется при электроокислении модификатора, при этом количество слоев пленки на угольном волокне диаметром всего 0,5 – 1 мкм достигает значения 10 – 90 слоев. Предел обнаружения для такого сенсора составляет $\sim 10^{-6}$ моль никеля (II). Такая миниатюризация ХМЭ дает возможность сконструировать портативные анализаторы, работающие в автономном режиме и обеспечивающие непрерывный контроль биологически активных веществ во многих сферах человеческой деятельности [8].

В настоящее время интенсивно разрабатываются устройства, включающие одновременно несколько ХМЭ, – так называемые сенсорные антенны (Sensor Arrays). По аналогии с органами обоняния млекопитающих такие приборы называют еще «электронными носами» (Enose). Метод кварцевого микробаланса, применяемый в приборах «электронный нос», основан на использовании зависимости между массой аналита, адсорбированного на поверхности кварцевой пластинки, и сдвига резонансной частоты колебаний кварца. Таким образом, измеряя частотный сдвиг, можно легко исследовать процессы адсорбции-десорбции, происходящие на поверхности сенсора. Чувствительность этого метода достаточна высока и составляет 1–2 нг/Гц, что позволяет определять очень низкие концентрации органических паров в воздухе, над поверхностью различных продуктов питания, или, к примеру, концентрацию компонентов в парфюмерной продукции [9].

Одной из наиболее распространенных областей применения «электронных носов» на основе электропроводящих полимеров является определение качества пищевых продуктов и напитков.

Например, с помощью устройства «The Neotronic Enose» определяли качество мясных продуктов и уровень содержания бактерий в обработанной птице. Предложены также технологии E-nose для быстрого и продуктивного метода оценки сточных вод тестирования образцов воды на наличие в них примесей 2-хлорфенола, метилизоборнеола, дизельного масла и 2-хлор-6-метилфенола.

Хотелось бы отметить, что в Украине, в сотрудничестве научных коллективов Института химии высокомолекулярных соединений (ИХВС), Института Органической химии (ИОХ) и Института Физики полупроводников (ИФП) Национальной Академии Наук Украины также синтезируются и исследуются новые функциональные полимерные материалы на основе каликсаренов и циклодекстринов, обладающие сенсорными свойствами. На их основе разрабатываются и совершенствуются высокочувствительные системы для мониторинга окружающей среды и пищевых продуктов с применением метода кварцевого микробаланса (КМ), также применяемого в системах «электронный нос».

В ряде случаев химическое модифицирование электродов меняет параметры электрохимической реакции и делает процесс «обнаружения» достаточно обратимым, а форму аналитического сигнала более удобной. Установлено, например, что окисление и восстановление одного из коферментов многих биологических катализаторов и стимуляторов роста ряда микроорганизмов RQQ (натриевая соль 2, 7, 9-трикарбокси-1Н-пиррол (2, 3-*f*)хинолин-4, 5-диона) на платиновых и золотых электродах протекает необратимо. Но если эти электроды покрыть полипиррольной пленкой, то по циклическим вольтамперограммам можно наблюдать вполне обратимые окислительно-восстановительные процессы. Причем, если электрополимеризацию пиррола проводить в присутствии RQQ, указанный кофермент внедряется в матрицу полимера, сохраняя свои окислительно-восстановительные свойства, что позволяет изготавливать «биосенсоры» для определения сахаров [10].

Следует отметить, что на сегодняшний день для определения глюкозы создано наибольшее число различных биодатчиков и соответствующих приборов-анализаторов, что связано с необходимостью контроля за содержанием сахара в биологических жидкостях не только для диагностирования, но и для лечения целого ряда заболеваний.

Контроль пестицидов

В настоящее время налажено промышленное производство тест-устройств на основе холинэстеразы, предназначенных для контроля остаточных (малых) количеств фосфорорганических и карбамидных пестицидов в продуктах питания и объектах окружающей среды. Это индикаторные наборы с колориметрической индикацией, выпускаемые фирмами «Boeringher Mannheim» (Германия) и «Omicron Environmental Diagnostic Inc.» (США), которые обеспечивают возможность качественного определения вышеуказанных пестицидов с пределами обнаружения 0,05 – 30 мкг/л [11].

Сенсор с использованием холинэстеразы, иммобилизованной на поверхности полиуретанового носителя, применяется для непрерывного контроля воздуха и воды на содержание инсектицидов, содержащих фосфорорганические соединения и карбаматы. Такие сенсоры можно использовать также для обнаружения остаточных количеств фосфорорганических и карбамидсодержащих пестицидов в овощах, фруктах, соках, почвах и иловых осадках. Следует отметить, что биосенсоры позволяют определять практически весь спектр токсикантов, исключая лишь диоксины и радиоактивные элементы. Известны автоматизированные сигнализаторы САМ-1,2 (Continuous Alarm Monitor) компании «Midwest Research Institute» (США), представляющие собой адаптированные к гражданским нуждам сигнализаторы боевых отравляющих веществ нервно-паралитического действия. Сигнализаторы снабжены насосами и аспираторами и работают в полуавтоматическом режиме. С их помощью определяют присутствие в воде и воздухе следующих минимальных количеств пестицидов (в мг х л-1): параоксон – 0,1, диазинон – 0,2, ДДВФ – 0,2, дифонат – 10,

малатион – 17 – 70 (в зависимости от марки коммерческого препарата), темик – 0,5, фурадан – 0,75 и др.

Биосенсоры на основе ХМЭ с иммобилизованными (внедренными) ферментами находят в последнее время все большее распространение в связи с уникальной возможностью быстрого и селективного детектирования биологически активных веществ и уточнения механизма их действия на живые организмы. Практичность применения подобных сенсоров доказывает также и высокая чувствительность иммобилизованных ХМЭ, достигающая в отдельных случаях несколько пикамолей на литр.

О перспективности и экономической рентабельности применения ферментных систем для анализа может свидетельствовать тот факт, что в 1996 г. мировой объем продаж биосенсоров составил \$508 млн. При этом 70% от общего числа продаж составили «медицинские» сенсоры, предназначенные для определения глюкозы, мочевины, молочной кислоты и других важнейших метаболитов [12].

При выборе биологического компонента (фермента или ферментсодержащего препарата) для включения в состав биосенсора обычно исходят из представлений о путях биохимической трансформации вещества (при определении субстратов) или механизме его токсического действия (при определении ингибиторов ферментов, «загрязнителей окружающей среды»). В каждом конкретном случае принимаются во внимание доступность фермента (простота выделения или наличие коммерческих препаратов), стабильность при хранении и иммобилизации, наличие удобных для аппаратного оформления способов детектирования, требуемые пределы обнаружения и диапазоны определяемых содержаний аналита. Наиболее широко на практике используются биосенсоры, включающие такие ферменты, как пероксидаза, тирозиназа, уреазы, а также холинэстераза. Высокоактивные ферментсодержащие мембраны получают при включении фермента в гидрофильные гели на основе акриламидов, сополимеров поливинилхлорида и пиридина, полиэтиленimina, полиуретана.

Литература

1. Будников Г.К., Лабуда Я. Химически модифицированные электроды как амперометрические сенсоры в электроанализе // Успехи химии – 1992. – т. 61, вып. 8. – С. 1491–1514.
2. Шерле А.И., Крутоверцев С.А., Олейник Э.Ф. Применение олиго-фталоцианинов для создания высокочувствительных слоев газовых сенсоров/ Тезисы докладов Международ. конференции по химии и физико-химии олигомеров «Олигомеры 2002». – Черногловка, 2002. – С. 312.
3. Харитонов С.В., Андреева О.В., Тимофеева О.В., Гученко А.А. Электропроводные полимеры как новый класс материалов в электротехнических сенсорах//Тезисы докладов IX Всероссийской науч. конференции, Екатеринбург, 21–23 апреля 1999.– С.111–112.
4. Киреева Е.В. Синтез, структура и свойства поли-п-ксилиленовых композитных пленок с металлическими и полупроводниковыми частицами: Автореф. дис. канд. хим. наук. – М., 2000.– 25 с.
5. Gupta Vinod K., Prasad R., Kumar P., Mangla R.//Anal. Chim. Acta – 2000. – Vol. 420, № 1. – P.19–27.
6. Bailey F., Malinski T., Kiechle F. //Anal. Chem. – 1991– Vol. 63– P.395.
7. Albert Keith J., Lewis Nathan S., Shauer Caroline L., Sotzing Gregory A., Stitzel Shannon E., Vaid Thomas P., Walt David R. Cross-Reactive Chemical Sensor Arrays// Chem.Rev. – 2000. – Vol. 100, p. 2595–2626.
8. Shinohara H., Khan G., Ikariyama Y. et al.//Ibid. – 1991. – Vol. 304 – P.75–78.
9. Будников Г.К., Медянцева Э.П., Бабакина С.С. Амперометрические датчики на основе иммобилизованных ферментов. – Успехи химии – 1991. – т. 60, вып. 4. – С. 881–907.
10. Биосенсоры. Основы и приложения. /Под ред. Э. Тернера, И. Карубэ, Дж. Уилсона. – М.: Мир. – 1992. – 300 с.
11. Евтюгин Г.А., Будников Г.К., Никольская Е.В. Биосенсоры для определения ингибиторов ферментов в окружающей среде.- Успехи химии -1999.-т. 68, вып.12. - С. 1142- 1167.
12. Cholinesterase-Hemmtest. Screening Test Zur Bestimmung von Cholinesterase Hemmenden Organophosphatund Carbonat-Pestiziden in Wasser. Boehringer Mannheim, Mannheim. No 1293460.- 1994.

© Э. В. Гоголь – канд. хим. наук, доц. каф. общей химии и экологии КНИТУ им. А.Н. Туполева-КАИ, ellinagogol@rambler.ru; Г. И. Гумерова – асс. той же кафедры, geri6872@mail.ru; Ю. А. Тунакова – д-р хим. наук, проф. каф. технологии пластических масс КНИТУ, juliaprof@mail.ru; М. Н. Исхакова – студ. КНИТУ; Д. А. Богданова – студ. КНИТУ.