

УДК 542.2:543.4:621.382

Оптические химические сенсоры (микро- и наносистемы) для анализа жидкостей

С. Б. Саввин, В. В. Кузнецов, С.В. Шереметьев, А. В. Михайлова

СЕРГЕЙ БОРИСОВИЧ САВВИН — доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий лабораторией органических реагентов Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН (ГЕОХИ). Область научных интересов: синтез органических реагентов, теория действия и практическое применение в аналитической химии, модифицированные и иммобилизованные органические реагенты для разделения, концентрирования и определения веществ, химико-аналитическое обеспечение экологических работ. E-mail savvin@geokhi.ru

ВЛАДИМИР ВИТАЛЬЕВИЧ КУЗНЕЦОВ — доктор химических наук, профессор, почетный химик РФ, заведующий кафедрой аналитической химии Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева (РХТУ), руководитель отделения магистратуры. Область научных интересов: теория и практика проточно-инжекционного анализа с использованием методов и приемов хемометрики, органические реагенты в химическом анализе, химическое образование.

СЕРГЕЙ ВИКТОРОВИЧ ШЕРЕМЕТЬЕВ — кандидат химических наук, научный сотрудник РХТУ им. Д.И. Менделеева. Область научных интересов: синтез органических реагентов и полимерных матриц, создание прозрачных химических оптических сенсоров. E-mail kuzn@muctr.edu.ru

АЛЛА ВЛАДИМИРОВНА МИХАЙЛОВА — кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории органических реагентов ГЕОХИ. Область научных интересов: модифицированные и иммобилизованные органические реагенты, спектрофотометрия, концентрирование элементов, экоаналитическая химия.

119991 Москва, В-334, ул. Косыгина, 19, ГЕОХИ РАН, тел. (495)137-28-78.

125047 Москва, Миусская пл., 9, РХТУ им. Д.И. Менделеева, тел. (499)978-91-96.

Введение

Среди экспресс-методов аналитической химии, обеспечивающих быстрое определение веществ с минимальной подготовкой проб, автоматизацию процессов контроля, достаточно точное и воспроизводимое измерение в различных условиях проведения анализа, отдельную группу составляют химические сенсоры (микро- и наносистемы) для анализа жидких сред и газов. Сведения по методикам работы и конкурентоспособным таким устройствам, по техническому оформлению и их функциям, а также по терминологии в этой области, обеспечивающей однозначность понимания предмета, можно найти в [1—10].

В данной статье рассматриваются оптические химические сенсоры. Действие большинства оптических химических сенсоров основано на проведении реакций определяемых веществ с хромофорными реагентами в условиях и форме, позволяющих получать визуально наблюдаемый и легко измеряемый эффект с помощью оптических методов детектирования.

В течение многих лет в ГЕОХИ разрабатываются непрозрачные оптические химические сенсоры для определения металлов в различных средах (фиксируется эффект изменения окраски реагента при взаимодействии с определяемым ионом металла) [11, 12]. Для детектирования окрашенных продуктов могут использоваться спектроскопия отражения, цветометрия, визуальная колориметрия. Прозрачные химические сенсоры, основанные на оптических эффектах, созданы в РХТУ им. Д.И. Менделеева. Здесь для детектирования используется обычная спектрофотометрия, а также визуальная колориметрия.

Предлагаемые сенсоры разработаны на основе очень прочных полимерных ленточных материалов. Эти матрицы, помимо механической прочности, химически устойчивы, технологичны, имеют ряд преимуществ по аналитическим параметрам в сравнении с одноразовыми матрицами, применяемыми в тест-методах (бумаги, гранулированные полимеры, тонкие мембраны). От средств тонкослойной хроматографии оптические хи-

мические сенсоры отличаются по размерам и форме подложки, пространственным характеристикам протекающих на них реакций, аналитическому объему реакций и способу их проведения (статический и динамический режимы), по технике и продолжительности анализа.

По кратности функционирования предложенные системы (матрица и реагент) могут быть как одноразового, так и многократного действия и использоваться в виде дисков (плоских таблеток), полосок, пленок с цветовой шкалой в тест-методах, а также в автоматизированных устройствах в качестве датчиков, например волоконно-оптических, оптических сенсоров и др.

Ссылаясь на примеры ранних нанотехнологий, в которых микроструктуры возникали в ходе макроскопических действий и продукты которых в современном понимании не являются продуктами нанопроизводства (получение сусального золота или режущей кромки бритвы) [13], позволим заметить, что принципы, по которым функционируют разработанные нами цветные аналитические системы, можно положить в основу современного молекулярного конструирования (molecular design) новых, более эффективных датчиков, сенсоров и аналогов микрочипов.

Цель данного обзора — представить наиболее подробно лучшие разработки, выполненные в лаборатории органических реагентов ГЕОХИ РАН и на кафедре аналитической химии РХТУ в области химических оптических сенсоров с иммобилизованными хромофорными органическими реагентами. Созданные устройства могут быть использованы самостоятельно или как датчики в портативных анализаторах, оптродах и других компактных приспособлениях для анализа жидких сред на тяжелые металлы.

Непрозрачные оптические химические сенсоры на основе наполненных ионообменниками волоконистых полимерных сорбентов

Ионообменные материалы давно применяются в качестве сорбентов для концентрирования и разделения элементов, однако они имеют низкую избирательность [14]. В последние годы широкое применение нашли модифицированные ионообменные материалы, которые получают путем сорбции органических реагентов обычными ионообменниками [15]. Такие ионообменники используют для избирательного и группового концентрирования элементов, но самое ценное их качество заключается в том, что с их помощью можно одновременно концентрировать и количественно определять соответствующий элемент. К сожалению, россыпь гранул сорбентов такого типа может использоваться только в хроматографических методах анализа. Более технологичны и удобны для экспресс-контроля волоконистые наполненные сорбенты [11, 16, 17].

Матрицы и способы иммобилизации органических реагентов

Наполненные волоконистые материалы получают путем формования волокон из суспензии, состоящей из

раствора полиакрилонитрила $[-CH_2-CH(CN)-]_n$ (мол. м. 40—100 тыс.) в диметилформамиде и тонкодисперсных ионообменников (наполнитель). Ионообменники чаще всего содержат ионогенные группы: катионообменник КУ-2 с сульфогруппами и анионообменники АВ-17, АНКБ-50, А-5, ЭДЭ-10п [18], имеющие группы, соответственно, $-N(CH_3)_3Cl$, иминодиацетатные, бензимидазола, $-NH_2$, или Dowex 21 К с группами $-N(CH_3)_3Cl$. При продавливании этой суспензии через специальные фильтры получают тонкие пористые полиакрилонитрильные волокна, на которых закреплены частицы тонкоизмельченного ионообменника — наполнителя. Диаметр нити полиакрилонитрильного волокна 30—40 мкм, размер частиц наполнителя 5—10 мкм, степень наполнения 50—70% (масс.). В отличие от других типов носителей такие материалы служат одновременно местом протекания аналитической реакции, средством концентрирования определяемого иона и отделения сопутствующих компонентов.

Используемые в аналитической практике сорбенты представляют собой белые или светло-желтые пластины наполненного волоконистого материала плотностью 40—80 г/м², толщиной 0,1—0,2 мм, устойчивые в сильно-кислых, нейтральных и слабощелочных средах. Их применяют в форме дисков диаметром 10 или 20 мм (в обычном варианте с детектированием спектроскопией отражения на приборах ОСА-ТМ и Пульсар, а при детектировании методом ЭПР-спектроскопии в автоматическом режиме анализа могут использоваться матрицы любого размера и формы, а также ленты на бабине); в зависимости от диаметра диска, толщины и степени наполнения материала его масса варьируется в пределах 10—50 мг.

Пластины или уже готовые диски перед работой промывают 2 М HCl до отрицательной реакции на железо(III) с тиоцианат-ионами и затем водой до отрицательной реакции на хлорид-ионы с нитратом серебра и сушат на воздухе. Такой материал можно хранить при комнатной температуре неограниченно долго. Перед использованием из пластин делают диски (матрица) и подвергают их набуханию, выдерживая в дистиллированной воде по меньшей мере в течение суток. Волоконистый наполненный сорбент может быть использован как в исходном, неокрашенном состоянии, так и в модифицированном виде, т.е. после иммобилизации на нем органического реагента.

Иммобилизация органических реагентов на матрицу осуществляется в статическом или динамическом режиме. В первом случае диски выдерживают в водных или в водно-органических растворах реагентов (10^{-5} — 10^{-6} М) в течение 5—15 мин и промывают водой. Содержание реагента на носителе составляет 10^{-6} — 10^{-4} моль/(л·г). Во втором случае раствор реагента наносят каплями или прокачивают с помощью перистальтического насоса через диск носителя, помещенный в ячейку с сетчатым дном.

Возможны следующие варианты концентрирования определяемых ионов: 1) сорбция иона на носителе с

иммобилизованным реагентом; 2) концентрирование образованного в растворе комплексного соединения определяемого иона с реагентом; 3) сорбция иона непосредственно из анализируемого раствора с последующим проявлением органическим реагентом; 4) сорбция на анионите катионов металлов в виде анионных бесцветных или слабоокрашенных комплексов с последующим их проявлением наиболее контрастным цветным реагентом (новый способ). Во всех случаях продукты реакции детектируются на твердой фазе.

Достоинствами окрашенных сенсорных дисков с иммобилизованным реагентом являются полная готовность чувствительного элемента к анализу, простая конструкция, отсутствие необходимости приготовления растворов реагентов; недостатки — ограниченные сроки и определенные условия хранения, а также не всегда возможная регенерация.

На основе таких дисков разработаны оптические сенсоры для визуальных тест-методов [19], которые по своей значимости вполне можно сравнить с традиционными методами анализа, только область их применения несколько иная. Это способы химического анализа «на месте» (*on site*). Они экспрессные, простые и экономически оптимальные для обнаружения и полуколичественного, а возможно и количественного определения. Обычно не требуется значительной подготовки пробы, сложного лабораторного оборудования, а также высококвалифицированного персонала. Тесты в ряде случаев служат для предварительной оценки наличия и содержания компонентов, однако по мере их совершенствования они в большей мере могут служить наиболее эффективным средством анализа [20—22].

Достоинства неокрашенных дисков заключаются в том, что они легко регенерируются, можно использовать одни и те же диски для определения разных элементов, срок хранения носителей неограничен. К недостаткам относится необходимость приготовления растворов реагентов и проведения дополнительной операции «проявления» — сорбции реагента на носителе после концентрирования определяемого иона.

Такой тип оптических химических сенсоров гораздо перспективнее первого. Кроме перечисленных преимуществ можно отметить еще следующие. Поскольку процессы сорбции и определения разделены во времени, появляется возможность вводить разные маскирующие комплексообразующие вещества на стадиях концентрирования и определения, что существенно повышает избирательность реакции. Использование неокрашенного исходного носителя позволило разработать новый подход к проведению реакций для определения катионов на твердой фазе, заключающийся в сорбции на анионите катионов металлов в виде анионных бесцветных или слабоокрашенных комплексов с последующим их детектированием с помощью наиболее контрастной цветной реакции.

В целом же преимущества волокнистых материалов, наполненных ионообменниками, как основы сенсорных элементов состоят в возможности варьировать степень

наполнения при их приготовлении, а также природу ионообменника и реагента в соответствии с конкретными требованиями к анализу по чувствительности и избирательности. Они устойчивы к механическим воздействиям, обладают высокими сорбционными и кинетическими свойствами, что дает возможность достичь требуемой чувствительности при пропускании любого объема анализируемого раствора. Используя волокнистые материалы, легко и просто сорбировать реагент или определяемый ион (погружением носителя в раствор или пропусканием раствора через носитель) и отделять твердую фазу от раствора (сливанием в статических условиях или прокачиванием в динамических условиях). Это, в свою очередь, позволяет легко автоматизировать проточные сорбционно-спектроскопические методы определения и выполнять анализ с визуальным детектированием без применения каких-либо дополнительных устройств.

На начальном этапе при разработке химических оптических сенсоров с использованием в качестве матрицы волокнистого материала, наполненного ионообменниками, предпринимались попытки создания систем исключительно с иммобилизованным реагентом и легко регенерируемых. Однако этот подход, имея свои достоинства, существенно ограничивает возможности носителя. Оказалось, что органический реагент, иммобилизованный на носителе, не всегда способен к аналитической реакции или при иммобилизации меняет свою окраску. Регенерация оптического сенсора с иммобилизованным реагентом представляет собой весьма сложную задачу. Органический реагент при неоднократной регенерации разрушается или смыывается с носителя регенерирующим раствором. Тем не менее отмечены случаи обратимости чувствительного элемента. Так, при определении свинца ксиленоловым оранжевым и урана с помощью арсеназо I один и тот же чувствительный элемент (оптический сенсор) может быть использован до 20 раз [23, 24]. Но чаще всего оптический сенсор вообще не поддается регенерации, например, как чувствительный элемент на торий, определяемый ксиленоловым оранжевым. Экономически выгоднее сменить сенсор, чем его регенерировать.

При выборе органического реагента предпочтение, как правило, отдается наиболее распространенным реагентам с высокими аналитическими характеристиками и доступным фотометрическим реагентам. Органические реагенты, содержащие кислотные группы, иммобилизуют на материалах, наполненных анионообменниками, содержащие основные группы, — на катионообменниках. Фиксация реагентов на твердых носителях осуществляется главным образом по ионообменному механизму, частично за счет адсорбции, образования водородных связей и других взаимодействий.

Влияние природы носителя на процесс анализа сложно и неоднозначно. Это влияние проявляется прежде всего в конкурирующем взаимодействии с определяемыми ионами металла. В зависимости от носителя можно получить то или иное содержание иммобилизо-

ванного реагента на поверхности, тем самым контролировать реакционную способность реагента.

Работы в области создания химических оптических сенсоров с использованием волоконистых наполненных сорбентов развиваются в двух направлениях: (1) сорбционно-спектроскопическое определение ионов металлов по изменению величины диффузного отражения при комплексообразовании их с органическим реагентом на твердой фазе носителя и (2) разработка визуальных тест-методов.

В спектроскопии диффузного отражения регистрируют изменение величины диффузного отражения твердой фазы, содержащей комплексное соединение определяемого элемента, относительно исходной или модифицированной реагентом твердой фазы. Спектры отражения и поглощения чаще всего близки. Это обстоятельство существенно упрощает сравнение поведения комплексов в растворе и на твердой фазе. Методические вопросы количественных измерений в спектроскопии диффузного отражения рассмотрены в [25]. Авторы считают, что для одной и той же матрицы, зная молярные коэффициенты поглощения комплексных соединений в растворе и определив чувствительность сорбционно-спектроскопического метода, можно предсказать (с погрешностью менее 20%) значение коэффициента диффузного отражения для других соединений с известными молярными коэффициентами поглощения.

Аналитическим сигналом в спектроскопии диффузного отражения помимо коэффициента диффузного отражения или функции Гуревича—Кубелки—Мунка [функция $F(R)$, где R — коэффициент отражения, относительная величина; с использованием этой функции можно проводить количественный анализ по спектрам отражения аналогично фотометрическому определению на основе закона Бугера—Ламберта—Бера] могут служить цветометрические характеристики сорбатов: насыщенность окраски, яркость, цветовой тон, разнооттеночность и др. Использование этих цветовых характеристик в качестве аналитического сигнала позволяет также определять константы диссоциации органических реагентов, повышает чувствительность и точность измерения концентрации ионов металлов [26, 27].

Перспективы реализации химических сенсоров

Одной из тенденций современного аналитического приборостроения является миниатюризация аналитических систем. В частности, открывается возможность производить химические микрочипы [28] — основного ядра микрофлюидных аналитических систем. Кроме очевидных преимуществ миниатюризации, таких как уменьшение габаритов, массы, расхода реагентов, интегрирование в одном чипе нескольких химических операций, это позволяет еще осуществлять пробоподготовку, дозирование, смешивание реагентов, разделение и анализ проб в одном микрочипе [29]. В последние годы наблюдается возрастание практического интереса к химическим методам, в том числе к колориметрическим, и их использование в аналитических приборах для

обнаружения и идентификации веществ (см. пример в [30]).

В целом намечающаяся стратегия развития отечественного аналитического приборостроения [31] предполагает следующую иерархию приборов: 1) приборы высшего качества для научных исследований; 2) массовые приборы для рутинного анализа; 3) узкоцелевые анализаторы; 4) карманные устройства для экспресс-тестирования. При этом предлагается сосредоточить внимание на разработке и производстве относительно дешевых и в то же время надежных аналитических приборов 3-го и 4-го уровней. Для реализации этих направлений безусловный интерес представляют оптические химические сенсоры, обладающие всеми качествами для создания портативных аналитических систем.

Завершая обсуждение проблемы отечественного аналитического приборостроения, отметим, что в условиях финансовых трудностей и высокой стоимости сложных приборов целесообразным и необходимым представляется их коллективное приобретение, обслуживание и использование в так называемых центрах коллективного пользования — ЦКП [32, 33]. Уже есть примеры создания таких центров в некоторых городах на межведомственной основе и в высших учебных заведениях [33].

Примеры научно-практических разработок ГЕОХИ РАН

Разработанные в ГЕОХИ оптические химические сенсоры можно использовать в автоматизированных проточных системах для визуального полуколичественного обнаружения и прямого экспрессного количественного определения следовых количеств тяжелых и благородных металлов в речных, очищенных сточных и природных водах, осадках, вытяжках из почв, для анализа горных пород, руд и удобрений.

Показано, что при использовании бесцветных матриц в химических сенсорах способ концентрирования ионов в виде образующегося в растворе комплекса с органическим реагентом наименее эффективен, а новый способ — сорбция на анионите катионов металлов в виде анионных бесцветных комплексов — наиболее перспективный. Например, при определении железа(III) с помощью тиоцианата на анионите АВ-17 чувствительность метода значительно возрастает, если железо сорбируется в виде комплексов с винной или гликолевой кислотой [34, 35]. Сравнительные данные по определению железа тиоцианатом в растворе и после сорбции на волокнах с ионообменником КУ-2 или АВ-17 из растворов гликолевой кислоты показывают существенное повышение избирательности во втором способе. Факторы селективности равны соответственно: Zn — 10 и 20; Cd — 20 и 50; уранил-ион — 5 и 200; Вi — \ll 1 и 10; оксалаты, фосфаты — 100 и 3000.

Новая методология позволила определять торий на твердой фазе с помощью реактива арсеназо III. Известно, что арсеназо III — лучший реагент на торий, однако при сорбции на волоконистом материале, наполненном

Таблица 1

Характеристики оптических химических сенсоров на основе наполненных волокон

Определяемые элементы	Наполнитель (ионообменник)	Органический реагент	Диапазон измеряемых концентраций, мкг/мл	Литература
Hg(II)	AB-17	Дитизон, ПАР*	0,02—0,16	[40]
Cd(II)			0,04—0,2	
Pb(II)			0,04—0,2	
Cr(III)	AB-17	Дифенилкарбазид	0,05—0,5	[41]
Cr(VI)			0,01—0,1	
Pb(II)	AB-17	4-Нитро-N,N-диэтиланилин	0,005—0,05	[42]
V(V)	AB-17	Фенилфлуорон, оксихинолинсульфокислота	0,01—0,05	[43]
Mo(VI)			0,005—0,025	
Cr(VI)	AB-17	Дифенилкарбазон, диметилглиоксим, диэтилдитиокарбаминат	0,002—0,008	[44, 45]
Cu	KY-2		0,02—0,12	
Ni			0,01—0,08	
La	KY-2	Арсеназо III, Арсеназо M	0,008—0,06	[46]
U(VI)	АНКБ-50		0,02—0,12	
Th			0,02—0,12	

* 4-(2-Пиридилазо)резорцин.

тонкоизмельченным анионообменником АВ-17, реагент сам изменяет свою окраску, так что определение тория становится невозможным. Если торий сорбировать в виде оксалатного комплекса на анионитсодержащем волокнистом материале, то его можно детектировать по образованию комплекса с арсеназо III на твердой фазе в сильнокислой среде. При таком способе предел обнаружения тория составляет 0,2 нг/мл (для сравнения: минимальная определяемая концентрация тория фотометрическим методом с арсеназо III 0,01 мкг/мл). Определению тория не мешают уран, цирконий, титан, лантан, железо, фториды, фосфаты [36].

При разработке чувствительного элемента на ртуть с использованием реактива 3-амино-4-фенолазороданина в качестве носителя были изучены волокнистые сорбенты, наполненные ионообменниками АВ-17, А-5, КУ-2, и сополимер стирола с дивинилбензолом без ионогенных групп. Установлено, что достаточно прочно реагент удерживается только на носителях с ионогенными группами (как катионо-, так и анионообменными). Однако чувствительная реакция ртути с иммобилизованным реагентом развивается только на волокне, наполненном катионообменником КУ-2. Разработана методика определения ртути в воде с пределом обнаружения 0,02 мкг/мл [37].

Предложен метод определения серебра, заключающийся в его сорбции на дисках из полиакрилонитрильного волокна, наполненного катионообменником КУ-2, с последующим детектированием ионов серебра родазолом X; предел обнаружения 5 мкг/л [38, 39].

В табл. 1 приведены примеры высокочувствительных оптических химических сенсоров на основе наполненных волокон для определения близких по свойствам элементов.

Оптические химические сенсоры открывают возможности для создания приборов, предназначенных для проведения анализа в «поле». В ГЕОХИ разработан и испытан автоматизированный портативный прибор ОСА-ТМ для анализа вод на тяжелые металлы [41]. Отличительной особенностью прибора является наличие проточной сенсорной ячейки для динамического концентрирования элементов. Прибор совмещает фотокориметр и денситометр, позволяющие измерять светопоглощение окрашенных растворов и диффузное отражение твердых материалов.

Прозрачные оптические химические сенсоры на основе полимеров

В ряде случаев в практике анализа более удобными могут быть сенсоры и чувствительные элементы на оптически прозрачных полимерных подложках, что позволяет визуально наблюдать изменение окраски. Из материалов для прозрачных подложек применимы такие широко распространенные полимеры, как триацетилцеллюлоза, полистирол, полиметилметакрилат и др. При создании химических сенсоров с такими матрицами возникает проблема, касающаяся способа иммобилизации органических реагентов. Наилучшей с точки зрения устойчивости чувствительного элемента сенсора является иммобилизация реагента путем его ковалентного связывания с материалом матрицы.

*Ковалентная иммобилизация реагентов
(модельные исследования свойств реагентов
на ацетицеллюлозной подложке)*

Ковалентная иммобилизация в определенной степени изменяет аналитические свойства нанесенного на матрицу реагента по сравнению со свободным аналогом. Для детального изучения данного вопроса были проведены модельные исследования на примере иммобилизации кислотно-основных индикаторов с аминогруппами [47]. Осуществляли ковалентную иммобилизацию специально синтезированных индикаторов с различными значениями константы ионизации (pK_a) — с введенными в их молекулы amino- и 4-аминофенилазогруппами, при этом индикаторы наносили на гидролизованную поверхность триацетицеллюлозной пленки посредством ацилирующего реагента (цианурхлорида) [47, 48].

Как показали интегральные и производные спектры поглощения исследованных индикаторов, иммобилизация приводит к небольшому увеличению полуширины полос поглощения в спектрах первой и второй производных, что позволяет считать протолитические и хромофорные свойства индикатора в растворе и иммобилизованного на этой матрице сходными.

Однако иммобилизация неодинаково влияет на оптические и кислотно-основные свойства различных индикаторов. Так, иммобилизация конго красного, нейтрального красного, 4-аминофенилазофлуоресцеина и 4-аминофлуоресцеина приводит к увеличению контрастности перехода их окраски, а в случае конго красного и 4-аминофлуоресцеина — к заметному влиянию солевого фона на значения величины pK_a . На этом основании была предпринята попытка применения теории специфических взаимодействий для описания зависимости констант ионизации индикаторов в свободном и иммобилизованном состояниях от концентрации ионной среды [49]. Для конго красного, имеющего две азогруппы и две гидрофильные сульфогруппы, и в предположении ассоциации молекул возможно описание его состояния в рамках модели общего заряда, что позволило рассчитать для него термодинамические значения величины pK_a : $4,19 \pm 0,11$ (раствор) и $4,00 \pm 0,10$ (иммобилизованное состояние) [48, 50]. В случае других индикаторов сложность их функционирования не позволяет принять модель общего или локализованного распределения заряда и их ионов из-за сильного усложнения распределения заряда процессами ассоциации и таутомерии.

Специально проведенное исследование [50] показало, что протолитические свойства иммобилизованных индикаторов и реагентов удовлетворительно описываются по модели «полимерного реагента» [51]. Данные расчетов электростатической составляющей энергии Гиббса $\Delta G_{эл-ст}^0$ производной $\partial \Delta G_{эл-ст}^0 / \partial n$ (где n — число ионизированных групп) и поверхностного потенциала полимерной матрицы с иммобилизованными реагентами [50] в рамках этой модели свидетельствуют о необходимости учета особенностей модели полимерного

реагента при интерпретации значений pK_a для иммобилизованных форм индикаторов.

При исследовании сенсорных элементов методом титриметрической спектрофотометрии была определена усредненная толщина их поглощающего слоя. Эта величина оказалась равной для конго красного 2,3 мкм, для аминофлуоресцеина — 5,6 мкм [52], что позволяет говорить о наноразмерном масштабе поглощающего слоя. Очевидно влияние фактора толщины слоя и на динамические свойства оптических сенсоров, хотя, естественно, обнаруживаются коррективы вследствие влияния скорости и природы химических процессов, сопровождающих изменение окраски при изменении pH. Так, наименьшие постоянные времени сенсорных элементов, равные 0,2 с при скачке pH $1 \rightarrow 10$ и $10 \rightarrow 1$, были найдены для конго красного [48, 53, 54]. В случае других индикаторов они также невелики и составили не более 5 с, что позволило описать динамические свойства исследованных сенсоров в рамках представлений об аperiодических преобразователях сигнала [47].

Некоторых трудностей при изготовлении прозрачных оптических сенсоров, по-видимому, можно избежать, воспользовавшись для оценки их свойств предсказательной силой метода искусственных нейронных сетей [55]. Наибольшее химическое наполнение этого математического приема дает анализ матриц весовых коэффициентов.

Что касается реализации оптических химических сенсоров на триацетицеллюлозной матрице, то, несмотря на несомненный практический интерес к ним, эти системы пока еще не разработаны, вероятно, из-за трудностей синтетического характера иммобилизации реагентов (во всяком случае мы не нашли в литературе информации об этих сенсорах).

Сенсоры на основе полистирола

Основное достоинство оптически прозрачного в видимой области спектра полистирола как материала подложек для чувствительных элементов оптических сенсоров связано с особенностями химического строения этого полимера — наличие ароматических ядер и, следовательно, возможность введения в них заместителей. Поэтому ковалентное связывание реагентов на поверхности полистирола может быть осуществлено, например, за счет образования азогрупп, что подтверждено успехами в синтезе полимерных хелатообразующих сорбентов на той же основе [56]. Химическая схема иммобилизации реагента состоит в нитровании полистирола, восстановлении нитрогрупп до аминогрупп, в их диазотировании и в последующем азосочетании с подходящими органическими реагентами-моноазосоединениями. В технологическом отношении необходимо осуществлять эти процедуры таким образом, чтобы поверхностная концентрация иммобилизованного реагента, определяемая количеством введенных нитро- и аминогрупп, была наибольшей, а оптическая прозрачность чувствительных элементов с иммобилизованным реагентом оставалась высокой. Из трех исследованных

способов изготовления матриц: (1) синтез нитрополистирола в растворе и изготовление из него матриц литьевым способом; (2) поверхностное нитрование и последующее восстановление нитрогрупп на пленках из полистирола, полученных литьевым способом из растворов в хлороформе; (3) прессование матриц из гранулированного полимера, лишь последний позволяет получать удовлетворительную во всех отношениях, прежде всего без потери оптической прозрачности, матрицу [57].

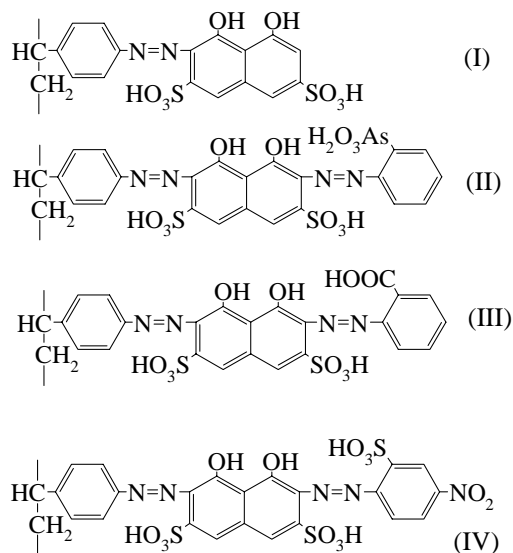
При работе с прессованными матрицами, представляющими собой пленки толщиной 250 мкм из оптически прозрачного полистирола, способ сборки реагентов на поверхности матрицы включает последовательно выполняемые процедуры нитрования, восстановления, диазотирования и азосочетания с органическими реагентами класса моноазохромотроповой кислоты [58]. Такая технология позволяет изготавливать чувствительные элементы сенсоров с воспроизводимыми свойствами при средней толщине поглощающего слоя около 60 мкм. Оптические свойства иммобилизованных реагентов и образуемых ими комплексов с ионами определяемых металлов практически идентичны свойствам соединений, образующихся в растворах. Скоростопределяющей стадией в реакциях иммобилизованных реагентов с ионами металлов, осуществляемых в сенсорных элементах, является внешняя диффузия. Постоянная времени сенсоров при содержании ионов металлов в анализируемом растворе $4 \cdot 10^{-7}$ моль/мл около 30 с, а время выхода сигнала на 95%-ный уровень 50—56 с [58].

Молекулы всех иммобилизованных реагентов, используемые в рассматриваемых сенсорах, имеют гидрофильные группы. Учитывая совпадение спектров поглощения и молярных коэффициентов поглощения свободных и иммобилизованных реагентов, можно сделать вывод об их гидратации при контакте с растворами. Это делает возможным распространение на рассматриваемые чувствительные элементы формальных положений из кинетики ионного обмена. Так, найденная оценка толщины односторонне гидратированного окрашенного слоя приблизительно в 60 мкм очень близка к принимаемой в теории ионного обмена толщине стационарной пленки растворителя (воды), окружающей зерно

ионита (слой Нернста). Следовательно, относительно процесса в целом, протекающего при взаимодействии ионов металлов с иммобилизованным на полимере реагентом, можно сделать вывод о преобладании «пленочной кинетики», поскольку собственно химическая реакция комплексообразования с ионами металлов протекает существенно быстрее. Это обуславливает высокие динамические свойства сенсоров с реагентами, иммобилизованными на полистирольной матрице.

Основной стадией контроля параметров чувствительных элементов такого рода является процедура нитрования. Так, при нитровании поверхности матрицы в течение 1—12 мин получают воспроизводимые сенсорные элементы со средней толщиной поглощающего слоя 12—100 мкм [57—59].

В табл. 2 приведены известные примеры сенсоров с ковалентно иммобилизованными на полистирольной матрице реагентами, включающими фрагменты моноазо- и бисазозамещенной хромотроповой кислоты I—IV.



Сенсорный элемент с реагентом I позволяет определять La(III), с реагентом II — UO_2^{2+} , с реагентами III и IV — Ba^{2+} в водных растворах.

Таблица 2

Динамические свойства сенсоров на полистирольной матрице с иммобилизованными реагентами			
Реагент—определяемый металл (мкг/мл)*	Постоянная времени сенсора, с	Время переходного процесса $T_{95\%}$, с	$(dA/dt)_{50\%} \cdot 10^3$ **
I—La (56)	30,7	50	1,1
II—U (95)	32,3	56	1,1
III—Ba (55)	32,5	54	1,2
IV—Ba (28)	61,4	95	2,4
IV—Ba (55)	30,0	52	1,2
IV—Ba (110)	16,4	29	3,8

* Содержание металла в анализируемом растворе. ** Величина производной dA/dt в точке перегиба логистической кривой зависимости поглощения A от времени t на отметке 50% от максимума сигнала.

Прозрачные оптические химические сенсоры на основе желатиновых гелей

В связи с определенными трудностями выполнения процедуры ковалентной иммобилизации реагентов на прозрачной полимерной подложке особый интерес для изготовления оптических химических сенсоров представляют новые, нетрадиционные материалы, к которым относится желатиновый отвержденный гель [60], нанесенный на подложку, изготовленную из прозрачного полимера, например, из эфиров целлюлозы. В этом случае матрицей для иммобилизации реагентов становится собственно желатин. Наличие в этом биополимере фрагментов аминокислот позволяет не только регулировать степень гидрофильности матрицы и ее набухание в воде, но также исключить возможность ее бактериальной деградации и существенно расширить круг способов иммобилизации органических реагентов [57].

Желатин представляет собой полидисперсную смесь полипептидов (мол.м. 50000—70000) и их агрегатов (мол.м. до 300000), получаемую щелочным или кислотным гидролизом коллагена. Этот биополимер включает остатки таких аминокислот, как Gly, Pro, Ala, Нур, Glu, Arg, Asp, Ser, Lys, Leu, Val, Thr, Phe, Ile, His, Met и Tyr. Биополимер обладает высокой гидрофильностью, прозрачностью в видимой области спектра, способностью образовывать гели при любом массовом соотношении вода—желатин. Эти свойства делают системы с иммобилизованными реагентами на базе такого полимера особенно привлекательными для проведения аналитических реакций с участием воды как растворителя. Задача состоит в выборе наилучшего, наиболее простого способа иммобилизации реагентов.

Электростатическая иммобилизация реагентов

Наличие в структуре полипептидов, составляющих желатин, большого разнообразия функциональных групп кислотной и основной природы, в частности, амино-, гидроксид- и карбоксигрупп, а также гуанидине-вых, фенольных и серосодержащих остатков аминокислот, позволяет, работая в определенном диапазоне рН, осуществлять электростатическую иммобилизацию стандартных аналитических реагентов катионного типа, например, таких как бриллиантовый зеленый, кристаллический фиолетовый, фуксин, и/или анионного типа, в основном обусловленного присутствием сульфогрупп — реагенты группы арсеназо III, нитхромазо, карбоксиарсеназо, ксиленоловый оранжевый, эриохромцианин Р, ализариновый красный С и др. [57]. Второй вариант более интересен для практики, поскольку процедура иммобилизации сводится к контакту подкисленного раствора реагента-сульфоната с желатиновым слоем на полимерной матрице.

Отмечается своеобразие органических реагентов, иммобилизованных в гель. Исследование максимальной емкости желатинового геля по отношению к различным сульфонатам [57, 61] показало, что эта величина зависит от размера и заряда иммобилизуемого аниона реагента,

причем создаваемые в фазе геля концентрации реагентов в несколько раз превышают возможные для этих же реагентов в водных растворах. Еще одна особенность системы «реагент в желатиновом геле» состоит в том, что молекулы иммобилизованных реагентов не подвержены ассоциации ввиду их фиксации в фазе геля, что подтверждается идентичностью электронных спектров иммобилизованных реагентов при различных их концентрациях в геле. Отсутствие ассоциации указывает на трехмерную ячеистую структуру геля. Высокая степень гидратации геля (~40 моль воды на 1 дм³ геля [61]) предполагает одинаковые условия существования молекул реагентов в иммобилизованном и свободном, растворенном в воде состояниях, а следовательно, и практически полную аналогию в химико-аналитических свойствах сравниваемых форм реагентов. Иммобилизованные на протонированные основные группы желатины реагенты-сульфонаты способны вступать в фазе геля в различные аналитические реакции с определяемыми ионами, сопровождающиеся изменением окраски (комплексообразование, разрушение комплексных соединений, синтез азокрасителей) [61].

Работа с сенсорами на прозрачной подложке одинакова удобна при выполнении и инструментального и визуального контроля. Способ изготовления таких чувствительных элементов прост. Желатиновые листы можно готовить из черно-белой фотопленки последовательной обработкой растворами (NH₄)₂CO₃, Na₂S₂O₃, [K₃Fe(CN)₆] и затем, при рН ≈ 3, обработкой растворами органических реагентов-сульфонатов. Высушенные на воздухе готовые образцы, помещенные в непрозрачный пластиковый пакет, сохраняют свои свойства в течение не менее полугода.

Аналитические возможности сенсоров на основе желатиновых гелей

Электростатически иммобилизованные на отвержденном желатиновом геле реагенты арсеназо III и арсеназо Б способны к комплексообразованию с La, U(VI), Th и Са. Важным достоинством подобных систем является их обратимость. Это позволяет один и тот же сенсор использовать многократно как в режиме накопления сигнала, так и с регенерацией свободного реагента. Вместе с тем иммобилизованные комплексы бария с реагентом нитхромазо необратимо разрушаются в кислой среде под действием сульфат-ионов, что позволяет определять эти анионы с помощью такого рода чувствительных элементов [57]. Подобным образом удастся определять фториды, используя в качестве реагента иммобилизованный комплекс Th с арсеназо III. В табл. 3 сопоставлены пределы обнаружения некоторых ионов [57, 62].

Рассматриваемые сенсоры могут быть использованы также для определения нитрит-ионов [61]. Для этого в качестве иммобилизуемых реагентов можно применять Аш-кислоту, хромотроповую кислоту (сочетание с диазотированным 4-нитроанилином), смесь хромотроповой и сульфаниловой кислот. В первом случае за счет соче-

Минимальные измеряемые концентрации ионов ($P = 0,95$) с помощью сенсоров на основе желатиновых матриц [57, 62].

Продолжительность контакта сенсора с анализируемым раствором 10 мин

Определяемый ион/реагент	pH	Минимальная измеряемая концентрация, мкг/мл	Минимальный значимый сигнал, А
La(III)/Арсенazo III	2,25	0,1	0,001
Th(IV)/ Арсенazo III	4M HCl	0,7	0,006
U(VI)/ Арсенazo III	4,0	1,4	0,003
Ca(II)/ Арсенazo Б	6,8	7,4	0,002
SO ₄ ²⁻ /Нитхромазо+Ва	2—3	0,2	0,001

тания с Аш-кислотой образуется азокраситель (предел обнаружения нитрит-ионов ≈ 1 мкг/мл), во втором случае требуется добавление к пробе вспомогательного реагента 4-нитрофенилдиазония (предел обнаружения 0,01 мкг/мл), в третьем — определение NO₂⁻ обеспечивается за счет сочетания диазосульфанилата с хромотроповой кислотой (предел обнаружения ≈ 1 мкг/мл) [61]. Разработанные чувствительные элементы на основе первой и третьей систем пригодны и для визуального полуколичественного определения нитритов в варианте тест-методов. Так, при нанесении одной капли раствора объемом 3 мкл на сухие желатиновые листы с иммобилизованными реагентами и последующем подсушивании при комнатной температуре наблюдается отчетливое различие окраски пробы (пятно диаметром ≈ 2 мм) от окраски фона при естественном освещении. Данное различие заметно при концентрации нитрит-ионов 0,3 мкг/мл, когда абсолютная чувствительность достигает $\sim 0,9$ нг. Лучших результатов в тест-варианте удалось получить при использовании в качестве чувствительного элемента обработанной аналогичным способом фотобумаги для черно-белой фотографии — белая подложка обеспечивает существенно лучшую контрастность при визуальном наблюдении. При прочих равных условиях различие окраски заметно при концентрации нитрит-ионов 0,02 мкг/мл, отвечающей абсолютной чувствительности обнаружения $\approx 0,06$ нг, что способно конкурировать с наиболее чувствительными пробами на нитриты [63].

На основе электростатически иммобилизованного реагента фуксина был разработан чувствительный элемент для обратимого определения SO₂ в газовой фазе [57]. Сигналом служит исчезновение окраски фуксина. Следует отметить, что на воздухе исходная красно-фиолетовая окраска восстанавливается.

Желатиновые матрицы в сравнении с другими полимерными материалами, применяемыми для изготовления сенсоров, имеют то достоинство, что, работая с ними, можно использовать методы осаждения нерастворимых продуктов без потери прозрачности матрицы и определять элементы органическими реагентами, которые из-за своих слабых кислотных или основных свойств не могут быть иммобилизованы в гель. Приме-

ром реализации такого способа является тест-метод определения ионов никеля, в котором никель концентрируется из раствора в желатиновом геле в виде малорастворимого комплекса Ni₂[Fe(CN)₆] с последующим проявлением диметилглиоксимом [64]. Широкий выбор органических реагентов и способов осаждения в геле различных элементов делают данный метод определения весьма перспективным.

Заключение

Предложенные аналитические системы контроля заслуживают большего внимания. Они могут быть использованы для целей экологии, бытового контроля, экспресс-диагностики и др. Оптические химические сенсоры превосходят известные индикаторные тест-системы по надежности, избирательности, чувствительности (чувствительность повышается на несколько порядков), экспрессности и другим важнейшим параметрам химического анализа. При работе этих сенсоров практически в одной операции сочетаются разделение, концентрирование и прямое определение веществ. Такие системы значительно упрощают сложные аналитические процедуры, позволяя проводить измерения в варианте идентификации и количественного определения, что к тому же существенно экономит время при массовых анализах и их стоимость.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, гранты № 07-03-00043 и № 07-03-00211.

ЛИТЕРАТУРА

1. Золотов Ю.А. Ж. аналит. химии, 1990, т. 45, № 7, с. 1255—1258.
2. Мясоедов Б.Ф., Давыдов А.В. Там же, 1990, т. 45, № 7, с. 1259—1278.
3. Каттралл Р.В. Химические сенсоры. М.: Научный мир, 2000, с. 144.
4. Дорожкин Л.М., Зайцев Н.К., Медведева Л.Я., Нефедов В.И., Севастьянов В.Г., Розанов И.А. Сенсор, 2002, т. 5, № 3, с. 2—10.
5. Эггинс Б. Химические и биологические сенсоры. М.: Техносфера, 2005, с. 336.
6. Неволин В. Зондовые нанотехнологии в электронике. М.: Техносфера, 2005, с. 152.

7. Соборовер Э.И., Тверской В.А., Токарев С.В. Ж. аналит. химии, 2005, т. 60, № 5, с. 507—513.
8. Будников Г.К. Соросовский образовательный журнал, 1998, № 3, с. 72—76.
9. Отто М. Современные методы аналитической химии (в 2-х томах). М.: Техносфера, 2004, 416 с. (т. 1), 288 с. (т. 2).
10. Ягов В.В., Зуев Б.К., Коварский И.И., Коваленко В.В. Сенсор, 2001, № 2, с. 46—50.
11. Саввин С.Б., Трутнева Л.М., Швоева О.П. Ж. аналит. химии, 1993, т. 48, № 3, с. 502—508.
12. Саввин С.Б., Михайлова А.В. Там же, 1996, т. 51, № 1, с. 49—56.
13. Решетов В. Вокруг света, 2007, № 4, с. 84—92.
14. Мархол М. Ионообменники в аналитической химии. М.: Мир, 1985, т. 2, 280 с.
15. Мясоедова Г.В., Саввин С.Б. Хелатообразующие сорбенты. М.: Наука, 1984, 171 с.
16. Саввин С.Б., Дедкова В.П., Швоева О.П. Успехи химии, 2000, т. 69, № 3, с. 203—216.
17. Мясоедова Г.В. Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева), 2005, т. 69, № 2, с. 72—75.
18. Саввин С.Б., Швоева О.П., Дедкова В.П. Ж. аналит. химии, 2005, т. 60, № 4, с. 378—383.
19. Швоева О.П., Дедкова В.П., Гитлиц А.Г., Саввин С.Б. Там же, 1997, т. 52, № 1, с. 89—93.
20. Золотов Ю.А. Там же, 1994, т. 49, № 2, с. 149.
21. Золотов Ю.А. Там же, 1996, т. 51, № 10, с. 1029.
22. Соборовер Э.И., Тверской В.А., Токарев С.В. Там же, 2005, т. 60, № 3, с. 307—315.
23. Трутнева Л.М., Швоева О.П., Саввин С.Б. Там же, 1989, т. 44, № 10, с. 1804—1808.
24. Швоева О.П., Трутнева Л.М., Саввин С.Б. Там же, 1989, т. 44, № 10, с. 2084—2087.
25. Рунов В.К., Тропинина В.В. Там же, 1996, т. 51, № 1, с. 71—77.
26. Иванов В.М., Ершова Н.И. Вестн. МГУ, сер. 2, Химия, 1998, т. 39, с. 170.
27. Иванов В.М., Кузнецова О.В., Гринева О.В. Ж. аналит. химии, 1999, т. 54, № 3, с. 263—271.
28. Золотов Ю.А., Москвин Л.Н. В сб. всерос. конф. «Аналитические приборы». СПб, 2005, с. 4.
29. Сладнев М.Н. Там же, 2005, с. 10.
30. Рыбальченко И.В. Там же, 2005, с. 15.
31. Комяк Н.И. Ж. аналит. химии, 1996, т. 51, № 10, с. 1113—1114.
32. Золотов Ю.А. Там же, 2001, т. 56, № 7, с. 677.
33. Золотов Ю.А. О химическом анализе и о том, что вокруг него. М.: Наука, 2004.
34. Швоева О.П., Дедкова В.П., Саввин С.Б. Зав. лаб. Диагностика материалов, 1996, т. 62, № 8, с. 21—23.
35. Швоева О.П., Дедкова В.П., Саввин С.Б. Ж. аналит. химии, 1997, т. 52, № 7, с. 692—696.
36. Швоева О.П., Дедкова В.П., Саввин С.Б. Там же, 1998, т. 53, № 5, с. 471—474.
37. Саввин С.Б., Трутнева Л.М., Швоева О.П., Эфендиева К.А. Там же, 1991, т. 46, № 4, с. 709—713.
38. Гурьева Р.Ф., Саввин С.Б. Успехи химии, 1998, т. 67, № 3, с. 236—251.
39. Гурьева Р.Ф., Саввин С.Б. Ж. аналит. химии, 1997, т. 52, № 3, с. 247—252.
40. Дедкова В.П., Швоева О.П., Саввин С.Б. Там же, 2006, т. 61, № 8, с. 880—885.
41. Саввин С.Б., Швоева О.П., Дедкова В.П., Рудаков С.В., Михайлова А.В. Там же, 1996, т. 51, № 3, с. 308—313.
42. Дедкова В.П., Швоева О.П., Саввин С.Б. Там же, 2005, т. 60, № 1, с. 85—90.
43. Швоева О.П., Дедкова В.П., Саввин С.Б. Там же, 2000, т. 55, № 6, с. 607—610.
44. Швоева О.П., Дедкова В.П., Саввин С.Б. Там же, 2001, т. 56, № 3, с. 287—291.
45. Дедкова В.П., Швоева О.П., Саввин С.Б. Там же, 2001, т. 56, № 8, с. 851—855.
46. Дедкова В.П., Швоева О.П., Саввин С.Б. Там же, 2007, т. 62, № 8, с. 814—818.
47. Якунина И.В. Дисс. ... канд. хим. наук. РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, 1996, 239 с.
48. Кузнецов В.В., Якунина И.В. Ж. аналит. химии, 1994, т. 49, № 8, с. 847—853.
49. Kuznetsov V.V., Yakunina I.V. Mendeleev Commun., 1995, № 2, p. 52—53.
50. Kuznetsov V.V., Yakunina I.V. Sensors and Actuators: D. Chemical, 1997, v. 42, № 2, p. 85—88.
51. Дамаскин Б.Б., Петрий О.А. Основы теоретической электрохимии. М.: Химия, 1978, 299 с.
52. Кузнецов В.В., Якунина И.В. Ж. аналит. химии, 1999, т. 54, № 3, с. 312—315.
53. Кузнецов В.В., Якунина И.В. Динамические свойства чувствительных элементов оптических сенсоров с иммобилизованными кислотно-основными индикаторами. Тез. докл. конф. «Сенсортехно-93». Санкт-Петербург, 1993, ч. 2 «Системы и компоненты», с. 245.
54. Kuznetsov V.V., Yakunina I.V. Dynamic properties of pH-opt(ri)odes with covalently immobilized indicators. The 47-th Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy. Chicago, IL, 1996. Abstracts Book, №139.
55. Кузнецов В.В., Дьяков Н.А. Ж. аналит. химии, 1999, т. 54, № 11, с. 1212—1218.
56. Корреляции и прогнозирование аналитических свойств органических реагентов и хелатных сорбентов. Под ред. Н.Н. Басаргина, Э.И. Исаева. М.: Наука, 1986, 200 с.
57. Шереметьев С.В. Дисс. ... канд. хим. наук. РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, 2006, 194 с.
58. Кузнецов В.В., Шереметьев С.В. Ж. аналит. химии, 2007, т. 62, № 3, с. 303—311.
59. Шереметьев С.В., Кузнецов В.В., Ермоленко Ю.В., Желтов А.А. Чувствительные элементы с ковалентно-иммобилизованными металлоиндикаторами для оптических сенсоров. Тез. докл. «Аналитика России-2004» Всерос. конф. по аналитической химии. Москва, 2004, с. 108.
60. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. М.: Мир, 1991, с. 355.
61. Шереметьев С.В., Кузнецов В.В. Ж. аналит. химии, 2007, т. 62, № 4, с. 357—369.
62. Кузнецов В.В., Саввин С.Б., Шереметьев С.В. Зав. лаб. Диагностика материалов, 2007, т. 73, № 10, с. 11—13.
63. Afsaneh Safavi, Mozghan Bagheri. Sensors and Actuators: B. Chemical, 2005, v. 107, № 1, p. 53.
64. Михайлов О.В. Желатин — иммобилизованные металлокомплексы. М.: Научный мир, 2004, 236 с.