

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

Львова Лариса Борисовна

ХИМИЧЕСКИЕ СЕНСОРЫ И МУЛЬТИСЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ
ПОРФИРИНОВ И ГЕТЕРОКРАУН-ЭФИРОВ

Специальность 02.00.02 – АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

доктора химических наук

Научные консультанты:
доктор химических наук,
профессор Ю.Г. Власов
доктор химических наук,
профессор Д.О. Кирсанов

Санкт-Петербург

2016

ВВЕДЕНИЕ.....	6
I Химические сенсоры: основные положения, классификация и обзор современной литературы	13
I.1 Вводные замечания	13
I.2 Определение сенсора	14
I.3 Основные понятия и определения. Классификация сенсоров	17
I.3.1 Статические характеристики	18
I.3.2 Метрологические характеристики	21
I.3.3 Типы химических сенсоров. Принцип функционирования и применение	23
I.3.4 Оптические химические сенсоры	24
I.3.5 Электрохимические сенсоры	28
I.3.6 Пьезоэлектрические сенсоры на основе кварцевых микровесов (КМВ) ...	38
I.3.7 Фотоэлектрохимические сенсоры	40
I.4 Мультисенсорный химический анализ многокомпонентных объектов	40
I.4.1 Преимущества мультисенсорного анализа в сравнении с использованием одиночных сенсоров	40
I.4.2 Анализ данных от мультисенсорных систем	45
I.5 Постановка задачи и методы ее решения.	58
II Методика эксперимента	60
II.1 Компоненты мембран и другие реагенты.	60
II.2 Приготовление сенсоров.....	64
II.2.1 Потенциометрические сенсоры	64
II.2.2 Оптические сенсоры	66
II.2.3 Композитные материалы на основе нано-структур оксида цинка	66
II.3 Измерения с сенсорами	67
II.3.1 Потенциометрические измерения	67
II.3.2 Амперометрические измерения	67
II.3.3 Оптические измерения.....	67
II.3.4 Фотоэлектрохимические измерения	69
II.3.5 Условия экспериментов	69
II.3.6 Изучение электродных свойств сенсоров.....	71
II.3.7 Изучение электрохимической активности электрополимеризованных мембран.....	74
II.4 Изучение структурных свойств и морфологии сенсорных материалов.....	75
II.4.1 Оценка толщины электрополимеризованных пленок	75
II.4.2 Атомно-силовая микроскопия (АСМ) и сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) для оценки морфологии сенсорных материалов.....	76
II.5 Измерения с массивами сенсоров и мульти-трансдуктивный анализ	77
II.6 Приготовление растворов	79
II.7 Подготовка и анализ образцов	80
II.7.1 Образцы плазмы крови человека	80
II.7.2 Пищевые продукты	80
II.7.3 Неорганические удобрения	81
II.7.4 Природные поверхностные воды и водопроводная вода.....	81
II.7.5 Штаммы сине-зеленых водорослей.....	82
II.8 Обработка данных	83
II.8.1 Оценка энергий комплексообразования Pt-порфирина с различными анаонами.	83
II.8.2 Обработка данных от мультисенсорных и мульти-трансдуктивных систем	

III Порфирины и корролы как ионофоры для анион-селективных потенциометрических сенсоров	85
III.1 Порфирины в природе	85
III.2 Свойства порфиринов	88
III.3 Аналоги порфирина – корролы	90
III.4 Применение порфиринов и корролов в аналитической химии	91
III.5 Порфирины и корролы в качестве ионофоров в полимерных пластифицированных мембранах для анализа жидких сред	92
III.6 Отклик, отличный от теоретического Нернстовского: как устранить эту проблему?	96
III.7 Pt-порфирины - неоксофильные ионофоры, неподверженные димеризации	97
III.7.1 Теоретические расчеты комплексообразования Pt-порфиринов с различными анионами	99
III.7.2 Исследование свойств полимерных пластифицированных мембран на основе Pt(IV)TPPCl ₂	102
III.7.3 Исследование свойств полимерных мембран на основе Pt(II)-порфиринов	110
III.8 ИСЭ на основе корролов	119
III.8.1 Обоснование выбора корролов в качестве мембраноактивных компонентов для ИСЭ	119
III.8.2 Исследования механизма функционирования TPCorrH ₃ ионофора	120
III.8.3 Мембраны на основе TPCorrMnCl	124
III.8.4 Мембраны на основе Tt-butPCorrCu	129
III.8.5 Корролы железа с алифатическими и ароматическими заместителями в качестве ионофоров полимерных мембран	131
IV Исследование свойств мембран на основе порфирин-замещенных полипиррола и полианилина, полученных методом электрополимеризации	134
IV.1 Почему электрополимеризация?	134
IV.2 Сравнительное изучение свойств Co(II)- и Cu(II)-порфиринатов в составе пластифицированных ПВХ мембран и в пленках полианилина (ПАНИ), полученных электроосаждением	136
IV.2.1 Влияние растворителя на процесс электрополимеризации	136
IV.2.2 Потенциометрические свойства сенсорных материалов на основе Co(II)- и Cu(II)-порфиринатов	140
IV.2.3 Применение карбонат-селективных сенсорных материалов на основе Co(II)- и Cu(II)-порфиринатов для анализа плазмы крови	144
IV.3 Электрополимеризованные сенсорные материалы на основе порфирин-замещенного полипиррола: синтез и свойства.	145
IV.3.1 Электрохимическая полимеризация пирролзамещенных порфиринов	146
IV.3.2 Исследование процессов переноса электронов в пленках на основе порфирин-замещенного полипиррола	154
IV.3.3 Исследование морфологии пленок	157
IV.3.4 Потенциометрические и оптические свойства порфирин-полипиррольных электрополимеризованных пленок	162
V Фотохимические свойства композитных материалов на основе металлопорфирин-декорированных наноструктур оксида цинка	168

V.1	Важность определения L-цистеина.....	168
V.2	Исследование морфологии композитных материалов на основе оксида цинка методами СЕМ и оптической спектроскопии	170
V.2.1	СЭМ-визуализация.....	170
V.2.2	Оптическая спектроскопия.....	170
V.3	Электрохимические исследования нанокompозитных материалов на основе металлопорфирин-декорированного ZnO.....	172
V.4	Фотоэлектрохимические исследования нанокompозитных материалов на основе металлопорфирин-декорированного ZnO.....	174
V.5	Фотоэлектрохимическое определение L-цистеина	175
VI Свойства полимерных мембран на основе мезо-		
тетраферроценилпорфирина		180
VI.1	Необходимость мониторинга загрязнения тяжелыми и переходными металлами	180
VI.2	Принцип работы донорно-акцепторного конъюгата TPFC ₄ в сенсорах	181
VI.2.1	ЦВА исследования растворов TPFC ₄	182
VI.2.2	Потенциометрический отклик полимерных мембран на основе ионофора TPFC ₄	183
VI.2.3	Оптический отклик мембран на основе TPFC ₄	185
VII Кумарин-замещенные тиа-аза-гетероциклы и осихинолин-замещенные		
диазакраун эфиры как хромофоры оптических сенсоров		189
VII.1	Исследование свойств флуоресцентных хемосенсоров на основе кумарин-замещенных тиа-азо-макроциклов	189
VII.1.1	Обоснование выбора кумарин-замещенных тиа-азо-макроциклов в качестве мембраноактивных флуорофоров.....	189
VII.1.2	Исследования флуоресценции растворов L1-L3	190
VII.1.3	Изучение стехиометрии комплексов ртути с флуорофором L1.....	192
VII.1.4	Важность определения ртути в природных объектах.....	193
VII.1.5	Разработка полимерных мембранных оптодов на основе L1-L3 для селективного определения Hg ²⁺	194
VII.2	Исследование осихинолин-замещенных диаза-18-краун-6 эфиров флуорофоров для оптического определения катионов	203
VII.2.1	Важность селективного определения магния в сложных объектах	203
VII.2.2	Разработка твердотельных оптодов на основе производных DCHQ для селективного обнаружения Mg ²⁺	204
VII.2.3	Оптический отклик мембран на основе DCHQ-X.....	205
VIII Применение новых чувствительных материалов на основе		
гетероциклических органических соединений в мультисенсорном анализе		213
VIII.1	Мультисенсорный анализ плазмы крови человека с применением сенсорных материалов на основе Co- и Cu-аминофенилпорфиринов	214
VIII.2	Массив оптических сенсоров на основе кумарин-замещенных флуорофоров для определения ртути в природных водах	215
VIII.3	Мультисенсорное определение токсинов сине-зеленых водорослей	217
VIII.3.1	Выбор сенсоров в составе мультисенсорной системы для скрининга микроцистина.....	219
VIII.3.2	Отклик отдельных сенсоров по отношению к микроцистину.....	221
VIII.3.1	Мониторинг роста цианобактерий и определение содержания микроцистина.....	222
VIII.3.2	Разработка косвенного метода определения микроцистина.....	225

VIII.3.3	Применение мультисенсорного анализа к количественному определению цистеина на металлопорфирин-декорированных наноструктурах оксида цинка	230
VIII.4	Мультитрансдукционные чувствительные системы.....	234
VIII.4.1	Важность предобработки данных полученных от мультитрансдуктивных сенсорных систем	235
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	249
СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ	..	251
ПРИЛОЖЕНИЕ 1	254
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	263

Введение

Химические сенсоры, будучи недорогими, простыми в изготовлении и использовании, обладая быстрым временем отклика и достаточной чувствительностью, позволяют эффективно решать многие задачи аналитической химии в условиях, когда использование сложных инструментальных методов анализа затруднено или невозможно по различным причинам (из-за необходимости сложной пробоподготовки, особенностей аналитической процедуры, необходимости использования токсичных реагентов, привлечения квалифицированного персонала, и т.д.). Кроме того, химические сенсоры не требуют дорогостоящего оборудования, являются портативными и могут быть легко применены для анализа в полевых условиях в режимах «on-site» и «on-line», а именно, для измерений непосредственно в исследуемом объекте, нуждаясь лишь в переносном измерительном устройстве и часто ограничиваясь несколькими каплями анализируемого образца. Благодаря этим качествам, химические сенсоры стабильно востребованы в различных областях, таких как контроль промышленных процессов, клиническая практика, исследование окружающей среды, тестирование качества товаров общественного потребления и пищевых продуктов, и т.д.

В последние годы значительно возросло количество исследований, посвященных поиску и изучению новых сенсорных материалов, а также различных подходов, направленных на улучшение аналитических характеристик сенсоров, изготовленных на основе этих материалов. При разработке новых химических сенсоров необходимо уделять внимание ряду параметров, среди которых особенно важен выбор активных компонентов, обеспечивающих отклик устройства на определяемые аналиты. Так, синтез соединений с прогнозируемыми свойствами позволил разработать высокоселективные сенсоры для обнаружения многих веществ. Однако для целого ряда жизненно-важных аналитов (например, загрязнителей, лекарственных препаратов, различных продуктов метаболизма и пр.) существующие сенсоры неэффективны или вовсе отсутствуют, поэтому направленный поиск новых активных компонентов для их определения является актуальной задачей. Другим важным параметром при разработке эффективных химических сенсоров является рациональный выбор материалов мембранных матриц. Такой выбор должен быть продиктован конкретной прикладной задачей, однако до сих пор в сенсорном анализе часто встречаются ситуации, когда необходимая чувствительность и длительный срок работы сенсора недостижимы вследствие вымывания мембраноактивных веществ из несущей матрицы при контакте с анализируемым образцом, вследствие химической нестабильности, либо недостаточной адгезии мембранного материала к поверхности трансдьюсера. Наконец, способ передачи аналитического сигнала (способ

трансдукции) также играет важную роль при разработке сенсорных материалов с оптимальными характеристиками. Различные электрохимические и оптические методы, а также метод пьезоэлектрического взвешивания являются наиболее распространенными способами трансдукции, применяемыми в современных химических сенсорах. При этом часто свойства новых сенсорных материалов тестируются при помощи одного, заранее определенного способа передачи сигнала, в то время как сравнительному изучению эффективности различных механизмов трансдукции достаточного внимания не уделяется. Между тем, многие соединения, используемые в качестве специфических мембраноактивных веществ, одновременно обладают каталитическими, оптическими и хелатирующими свойствами, которые можно использовать в процессе взаимодействия сенсорного материала с аналитами. Применение мульти-трансдуктивного способа передачи сигнала для таких материалов может существенно улучшить аналитические характеристики сенсоров на их основе и расширить спектр прикладных задач, решаемых с их помощью.

Недостаточная чувствительность химических сенсоров при определении отдельных компонентов сложных сред может быть скомпенсирована привлечением хемометрического подхода, заключающегося в применении математических методов обработки экспериментальных данных для получения качественной и количественной информации об образце. Сенсоры с перекрестной чувствительностью (не обладающие четко выраженной селективностью) к определенной группе аналитов могут успешно применяться в составе мультисенсорных систем, таких как “электронный язык” и “электронный нос”, используемых соответственно для анализа жидкой и газовой фаз. Несмотря на стабильно возрастающий интерес к мультисенсорному анализу, в этой области по-прежнему остается большое количество проблем, основная из которых – направленный выбор сенсорных материалов, пригодных для решения конкретных аналитических задач. Зачастую исследователи включают сенсоры в состав мультисенсорных массивов руководствуясь доступностью соответствующих сенсорных материалов, в то время как направленный выбор под конкретную аналитическую задачу мог бы существенно улучшить аналитические характеристики метода.

При поиске активных компонентов, как для потенциометрических, так и для оптических сенсоров особый интерес представляют порфирины и их аналоги, а также тиа-аза-циклические эфиры, в силу многообразия свойств и возможности их варьирования в широких пределах путем изменения молекулярной структуры. Разностороннему систематическому изучению свойств этих веществ в качестве компонентов сенсорных материалов до настоящего времени должного внимания не уделялось, что и предопределило цель настоящей работы.

Цель работы: Разработка новых химических сенсоров на основе порфиринов и гетерокраун-эфиров, как для селективного определения отдельных аналитов, так и для использования в составе мультисенсорных систем с различными типами передачи сигнала. Для достижения этой цели было необходимо решить следующие задачи:

- 1) Обосновать выбор мембраноактивных веществ с требуемыми электрохимическими и оптическими свойствами;
- 2) Установить аналитические характеристики сенсоров на основе выбранных соединений: чувствительность, время отклика, селективность и пределы обнаружения;
- 3) Установить влияние природы мембранной матрицы и способов передачи аналитического сигнала, включая мульти-трансдуктивный подход, на аналитические характеристики сенсоров;
- 4) Оценить потенциально возможные области применения разработанных сенсоров;
- 5) Разработать методики химического анализа различных объектов с применением как селективных сенсоров, так и сенсоров с перекрестной чувствительностью в составе мультисенсорных систем.

Научная новизна

- 1) Обоснована возможность применения порфиринатов платины и корролов в качестве мембраноактивных компонентов для создания новых анионных сенсоров, селективных к гидрофильным анионам. Установлен механизм функционирования полимерных пластифицированных мембран выбранных составов и разработаны мембранные композиции с оптимальными свойствами для селективного определения гидрофильных анионов в многокомпонентных жидких средах.
- 2) Установлена взаимосвязь между структурой (морфологией), электрическими и селективными свойствами электрополимеризованных сенсорных материалов на основе порфирин-замещенного полипирролла в зависимости от природы центрального металла (марганца или кобальта) в структуре порфирина, а также длины и количества алифатических цепочек (линкеров), вводящих порфирин в структуру полипиррола, что позволило оптимизировать условия изготовления мембран сенсоров. Показана применимость сенсоров на основе разработанных материалов для определения ред-окс активных аналитов, в частности, жирорастворимых пищевых красителей (красители группы Судан). Установлены преимущества мульти-трансдуктивного подхода при использовании полученных сенсоров в мультисенсорных системах.
- 3) Обоснована возможность создания фотоэлектрохимических сенсоров, на основе тетраферроценил-порфирина и металлопорфирин-декорированных нано-структур оксида цинка, генерирующих

аналитический сигнал (фототок) в результате светового облучения. Показана применимость разработанных сенсоров для определения тяжелых металлов в природных водах и цистеина в смесях аминокислот.

4) На основе кумарин-замещенных тиа-аза-гетероциклических соединений и оксихинолин-диаза-краунэфиров в качестве хромофоров, разработаны ртуть- и магний-селективный оптоды. Предложен метод косвенного определения микроцистина – токсина, выделяемого при цветении сине-зеленых водорослей, с помощью разработанного Mg-селективного оптода.

5) В качестве новой версии мультисенсорного анализа предложена схема выполнения аналитических измерений в мультитрансдуктивном варианте. На предложенном принципе разработаны методики: мониторинга содержания ионов переходных металлов в природных водах; детектирования диаза-ароматических красителей в пищевых продуктах; распознавания и количественного определения основных компонентов растительных масел; определения цистеина в смесях аминокислот.

Практическая значимость

1) Предложен новый подход к созданию химических сенсоров, заключающийся в тестировании электрохимически- и/или оптически-активных веществ в различных сенсорных матрицах с различными способами создания и передачи аналитического сигнала и в выборе специфических мембраноактивных соединений, несущих в своей структуре гетероатомы серы и/или азота, различающихся по размерами внутренней молекулярной полости макроцикла, наличием и природой центрального металла, а также количеству и природе боковых заместителей (ароматических или алифатических) в молекулярной структуре макроцикла. Подход опробован на органических гетероциклических соединениях порфиринов и их аналогов (например 2,3,7,8,12,13,17,18-октаэтилпорфирината платины(II), 5,10,15-трис(4-аминофенил)-20-фенилпорфирината кобальта(II), 5,10,15-трис(4-терт-бутилфенил)коррола меди(II), и пр.) и гетеро-краун эфиров (например 1,10-бис((5-фенил-8-гидрокси-7-хинолинил)метил)-1,10-диаза-18-краун-6-эфира, 5-(7-метоксикумарин-4-метил)2,8-дитиа-5-аза-2,6-пиридинофана и пр.). Показана возможность выбора мембранного материала и методов передачи сигнала под конкретную аналитическую задачу на основе чувствительности, селективности и других сенсорных свойств.

2) Разработаны селективные потенциометрические сенсоры на основе порфиринатов платины для селективного определения иодид-ионов в многокомпонентных жидких средах с коэффициентами селективности в полтора-три порядка выше, чем коэффициенты селективности существующих ионоселективных электродов на основе четвертичных

аммониевых солей, ЧАС. Разработаны электроды на основе трисаминофенилпорфирината кобальта и корролатов меди и марганца для определения содержания гидрофильных неорганических анионов, таких как бикарбонат и гидрофосфат и анализа плазмы крови. Предложены флуоресцентные оптические сенсоры на основе кумарин-замещенного пиридинофана и фенилоксихинолин-замещенного диаза-18-краун-6-эфира для определения содержания ионов ртути и марганца в природных водах на уровнях их нормированных предельно допустимых концентраций, предписанных СанПин.

3) Продемонстрированы возможности мультисенсорного подхода в применении к разработанным сенсорным материалам для решения конкретных аналитических задач и для создания новых аналитических методик. В частности, разработаны мультисенсорные системы на основе порфирин-замещенных полианилина и полипиррола для определения неорганических анионов и токсичных добавок в биологических жидкостях и пищевых продуктах. Предложены массивы сенсоров на основе порфиринов и гетеро-краун эфиров для экологического мониторинга природных вод и оценки их загрязнения ионами тяжелых металлов.

4) Разработаны методики обнаружения и количественного определения гепатотоксинов, вырабатываемых сине-зелеными водорослями, с использованием мультисенсорной системы на основе порфиринов, а также косвенный метод определения микроцистина с применением магний-селективного оптического сенсора на основе фенилоксихинолин-замещенного диаза-18-краун-6-эфира.

5) Показана возможность регистрации аналитических сигналов электрохимических и оптических сенсоров с помощью бытовых электронных устройств (дисплей компьютера, смартфон, планшет и т.д.).

Основные результаты работы были представлены на международных и всероссийских конференциях: Всероссийской конференции "Сенсор-2000" (Санкт-Петербург, Россия, 2000), 10-й Русско-японском симпозиуме по аналитической химии (Санкт-Петербург, Россия, 2000), Корейской конференции KIST Sensors Conference 2000 (Korea Institute of Science and Technology, Seoul, South Korea, 2000), Корейском симпозиуме Symposium of Korean Chemical Society Electrochemistry Division (Seoul, South Korea, 2000), Корейской конференции Korean Electrochemical Society Meeting (Daegu, South Korea, 2001), Международной конференции International school of gas sensors and 3rd European school of the "Nose" network, (Italy, 2001), Международных конференциях Eurosensors (Praga, Czech Republic, 2002; Rome, Italy, 2004; Barcelona, Spain, 2005; Goteborg, Sweden, 2006; Dresden, Germany, 2008; Linz, Austria, 2010; Brescia, Italy, 2014), Международной конференции Transducers'2013 and Eurosensors XXVII (Barcelona, Spain, 2013), Международных симпозиумах International Symposium on Olfaction and

Electronic Nose, ISOEN (Riga, Latvia, 2003; St. Petersburg, Russia, 2007; Brescia, Italy, 2009; New-York, USA, 2011; Daegu, South Korea, 2013; Dijon, France, 2015), Международных конференциях International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (Rome, Italy, 2006; Moscow, Russia, 2008; Jeju, South Korea, 2012; Istanbul, Turkey, 2014), Международных конференциях International Conference on Electrochemical Sensors (2005, 2008, 2011, Matrafured, Hungary), Международных конференциях Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy, PITTCON (Orlando, USA, 2005; Chicago, USA, 2007), Международных конференциях International Meeting on Chemical Sensors, IMCS (Brescia, Italy, 2006; Buenos Aires, Argentina, 2014), Международной конференции IEEE Sensors Conference (Vienna, Austria, 2004), Всероссийской конференции Экобалтика (Санкт-Петербург, Россия, 2006); Международной конференции Summer Workshop of Swiss Chemical Society, Division of Analytical Chemistry (ETH Zürich, Switzerland, 2007), Национальной итальянской конференции Convegno Nazionale Sensori (Rome, Italy, 2012).

По результатам работы опубликовано 25 научных статей в журналах, входящих в перечень ВАК, более 30 тезисов докладов, 5 глав в монографиях.

Диссертационная работа состоит из введения, списка использованных терминов, восьми глав, заключения и списка использованной литературы. Первая глава посвящена обзору литературы; во второй изложены методы проведения эксперимента; в главах с третьей по восьмую обсуждаются результаты проведенных исследований. Работа изложена на 265 страницах машинописного текста, содержит 21 таблицу, 122 рисунка, список литературы из 374 наименований.

Автор выносит на защиту следующие положения:

- 1) Подход к созданию химических сенсоров для определения конкретных аналитов на основе подбора мембраноактивного вещества, сенсорной матрицы и способа трансдукции сигнала.
- 2) Результаты исследования свойств потенциометрических сенсоров с полимерными пластифицированными мембранами на основе порфиринов, короллов и их комплексов с металлами, включающие характеристики их селективности, чувствительности к определенным аналитам, и достигаемых пределов обнаружения. Экспериментальные данные о механизмах функционирования изученных соединений в мембранной фазе.
- 3) Результаты исследования структуры, оптических и электрохимических характеристик мембран на основе порфирин-замещенных полипиролла и полианалина, полученных методом электрополимеризации. Экспериментальные доказательства эффективности разработанных материалов в составе мультисенсорных систем с мульти-трансдуктивной передачей сигнала.

4) Результаты исследования структуры и фотоэлектрохимической активности композитных материалов на основе металлопорфирина-декорированных нано-структур оксида цинка для определения аминокислот (в частности цистеина). Экспериментальные доказательства повышения чувствительности методов на основе фотоэлектрохимических сенсоров при хемотрической обработке фотоэлектрохимического отклика (фототока) в широком диапазоне потенциалов, по сравнению с результатом, полученным при обработке значений фототоков при одном конкретном наложенном потенциале.

5) Кумарин-замещенные тиа-азо-гетероциклы и оксихинолин-диаза-краун-эфиры, как хромофоры пластифицированных мембран флуоресцентных и люминесцентных сенсоров. Результаты исследования их чувствительности к катионам щелочно-земельных и переходных металлов. Применение мультисенсорного подхода для снижения пределов обнаружения катионов ртути и магния с помощью сенсоров на основе кумарин-замещенных лигандов.

6) Экспериментальные доказательства увеличения селективности определения отдельных аналитов с помощью мульти-трансдуктивной передачи сигнала в применении к одному и тому же сенсорному материалу на примере пищевых красителей группы Судан и ионов тяжелых металлов.

7) Методики косвенного определения микроцистина, токсина сине-зеленых водорослей, с помощью массива перекрестно-чувствительных потенциометрических сенсоров на основе металлопорфиринов; и с использованием Mg-селективного оптода на основе фенилоксихинолин-замещенного диаза-18-краун-6-эфира.

Химические сенсоры: основные положения, классификация и обзор современной литературы

I.1 Вводные замечания

Обзор научных трудов, опубликованных в течение последних двух десятилетий, показывает существенный интерес к разработке химических сенсоров и стабильный рост количества публикаций, посвященных применению сенсоров. По данным портала Scopus за 1996-2015 годы число опубликованных работ выросло с 1128 в 1996г. до 8650 в 2015г., **Рис. I.1А.**

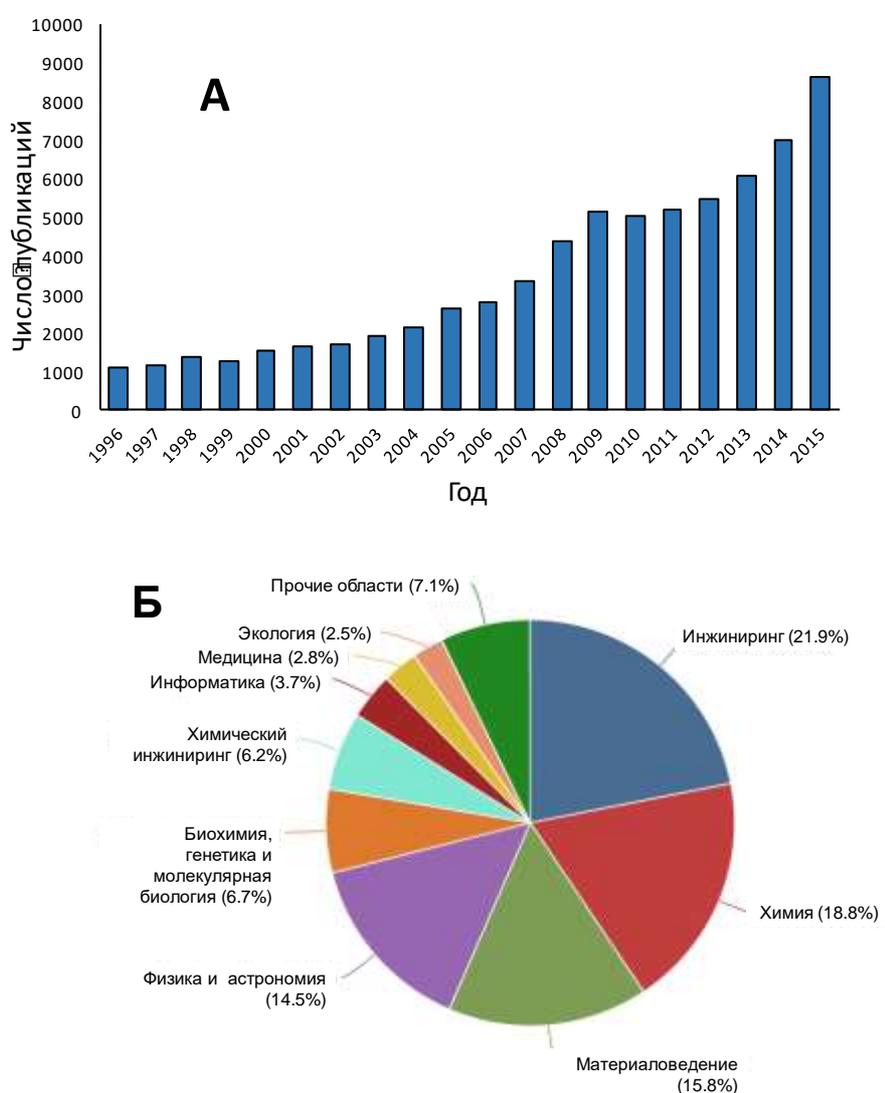


Рис. I.1 Публикации, посвящённые химическим сенсорам, по данным портала Scopus (www.scopus.com) на май 2016г.: (А) рост числа работ, опубликованных за год; (Б) области применения химических сенсоров за период 1996/2015 гг.

Среди них наибольшее количество исследований посвящено решению задач инжиниринга (21.9%), химическому анализу (18.8%) и материаловедению (15.8%). Оставшиеся 43.5% работ распределены между такими областями современных знаний, как: физика и астрономия (14.5%), биохимия, генетика и молекулярная биология (6.7%), химический инжиниринг (6.2%), информатика (3.7%), медицина (2.8%), экология (2.5%) и прочие области (7.1%, включающие сельскохозяйственные науки, науки о земле, энергетику, иммунологию и иммунобиологию и пр.), **Рис. 1.1Б**.

«Рождение» химических сенсоров часто относят к созданию в начале прошлого века стеклянного рН-электрода, впервые описанного в работах Кремера, Габера и Клеменевича, и затем развитого и теоретически обоснованного Б.П. Никольским, М.М. Шульцем, Дж. Эйзенманом и другими российскими и зарубежными учеными [1]. Несомненно, с тех пор химические сенсоры и аналитические методы с их применением проделали огромный путь, претерпев множество модификаций и усовершенствований, призванных эффективно разрешать многие сложные задачи современной аналитической химии [2].

Далее приведены общие положения и наиболее важные определения в области сенсорного анализа, перечислены типы и основные характеристики химических сенсоров, рассмотрено текущее состояние в области мультисенсорного анализа, и описаны хемометрические методы обработки данных от мультисенсорных систем. На основании проведенного обзора литературы сформулированы цели и задачи настоящей работы.

1.2 Определение сенсора

Одно из первых определений сенсора (или датчика) дано Нортоном в начале 1980-х годов, и привязано к решаемой аналитической задаче и используемому оборудованию [3]. Так, в составе *измерительной системы* сенсор измеряет количество или искомую характеристику с последующим отображением измеренного значения. В составе *анализатора* сенсор (или сенсоры) призван отобразить не только природу, но и соотношение компонентов анализируемого образца. Наконец, при использовании в *системах контроля*, количественная или качественная информация, полученная от сенсора, используется для контроля качества или заданных свойств анализируемого образца, и измеренное значение должно быть равно или приближаться к требуемому значению. Таким образом, стеклянный ртутный термометр, например, можно классифицировать как простую измерительную систему, а также как устройство, которое отображает измеренное значение. Однако, ртутный градусник не принято называть “датчиком”, не рассматривать данное устройство как “сенсорную систему”.

Определение сенсора претерпело множество изменений во времени. В соответствии с определением Международной Ассоциации Автоматизации (International Society of Automation, ISA, изначальное наименование «Instrument Society of America» - Американское Инструментальное Общество), *сенсор - это устройство, производящее полезную выходную информацию в ответ на измеряемый параметр* [4]. Выходная информация в форме "электрической величины», характеризует измеряемый параметр в форме «физической величины, свойства или состояния». Данное определение может быть обобщено посредством расширения термина "электрической величины" для любых типов сигнала, механических и оптических в том числе, и применения понятия " физическая величина, свойство или состояние" к природным явлениям, таким как химические, биохимические, и т.д. [5, 6].

В обзоре, посвященном химическим сенсорам и опубликованном в 1988 г., Джаната и Безег дают следующее определение: "*химический сенсор – это устройство, дающее непосредственную информацию о химическом составе окружающей его среды*" [7]. При этом аналитические инструменты не рассматриваются как сенсоры, и исключены авторами из данного определения. Термин «непосредственная информация" в приведенном выше определении также должен использоваться с осторожностью, поскольку, например, рН индикатор обеспечивает непосредственную информацию о рН тестируемой среды, но не является сенсором.

Г. Харсани в своей монографии [8], посвященной применению сенсоров на основе полимерных материалов, определяет **сенсор** и **актюатор** соответственно как:

- *сенсор - это преобразователь, который трансформирует измеряемую величину в сигнал;*
- *актюатор преобразует сигнал в действие.*

На **Рис. 1.2.** схематически отображен процессно-контрольный блок использующий сенсоры и актюаторы.

В соответствии с рекомендациями ИЮПАК (Международный союз теоретической и прикладной химии, International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) от 1991г., *химический сенсор представляет собой устройство, которое преобразует химическую информацию, начиная от концентрации специфического компонента и заканчивая общим анализом состава исследуемой пробы, в аналитически полезный сигнал* [9]. Данная химическая информация может быть как результатом химической реакции анализируемого вещества, так и каким-либо физическим свойством анализируемой системы. Годом позднее Власов определил сенсор как *первичное устройство, откликающееся на определенные свойства окружающей среды и позволяющее регистрировать этот отклик в виде соответствующего электрического, оптического и др. сигнала* [10].

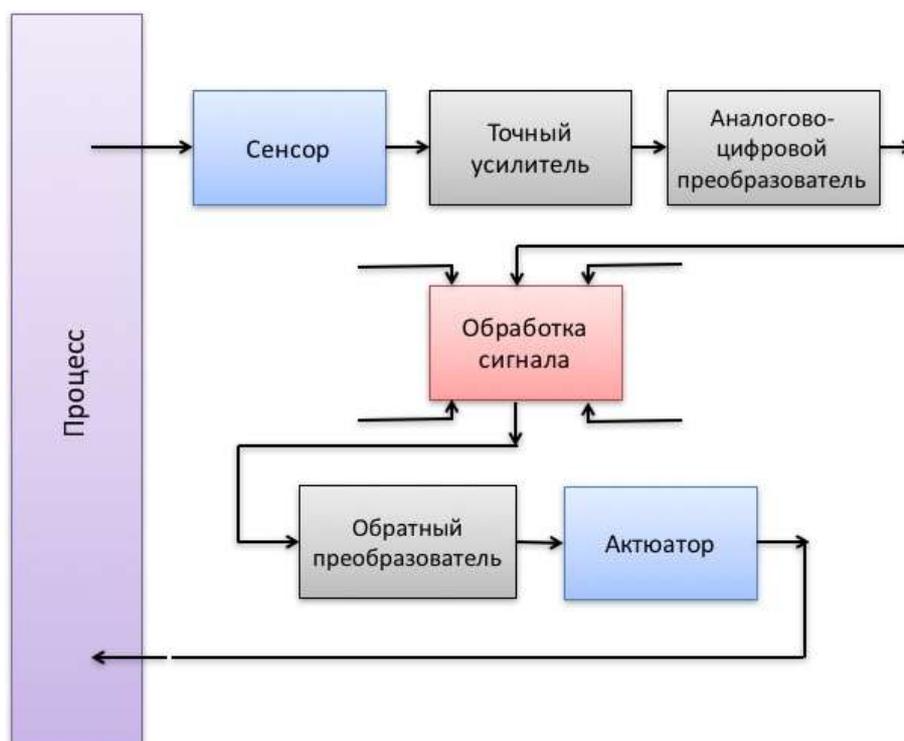


Рис. 1.2 Схема процессно-контрольного блока с использованием сенсоров и актюаторов [8].

Позднее было предложено так называемое «кембриджское определение» химического сенсора. В соответствии с ним, *химические сенсоры это устройства, способные в реальном времени и в «on-line» процессах предоставлять информацию о наличии конкретных соединений или ионов в анализируемых средах, в том числе сложных (многокомпонентных)* [11]. При этом данные датчики способны работать в непрерывном режиме, характеризуются малым временем отклика, не требуют фиксированных пробоотбора и пробоподготовки [12].

На **Рис. 1.3** схематически отображена сенсорная система, состоящая из трех основных элементов: собственно анализируемого образца (или аналита), метода передачи сигнала, и процесса обработки сигнала. Как видно из **Рис. 1.3**, собственно химический датчик содержит два основных функциональных блока: *рецепторную платформу* и *преобразовательный элемент*. Более того, конструкция некоторых сенсоров может включать в себя *сепаратор*, который представляет собой, например, мембрану, проницаемую только для одного компонента или группы компонентов.

Рецептор сенсора преобразует химическую информация в определенный вид энергии, который затем может быть измерена преобразователем.

Преобразовательный элемент представляет собой устройство, способное преобразовывать энергию, несущую информацию о химическом образце в полезный аналитический сигнал. Преобразователь сигнала как

таковой не является избирательным, в то время как рецептор может им быть.



Рис. I.3 Схематическое представление сенсорной системы [13].

I.3 Основные понятия и определения. Классификация сенсоров

Сенсоры могут быть классифицированы по *характеру взаимодействия* с аналитом, или, другими словами, в соответствии с *сенсорным принципом* рецептора [6,8], которые в свою очередь могут быть сгруппированы по форме энергии генерируемого сигнала. Наиболее распространенные в сенсористике формы энергии были классифицированы Лайоном [14] и перечислены ниже:

- *механическая;*
- *тепловая;*
- *электрическая;*
- *магнитная;*
- *световая (энергия излучения);*
- *химическая/биологическая.*

Соответственно, измеряемые посредством сенсоров величины, могут быть следующими:

- длина, площадь, объем, акустическая плотность, и т.д. .;
- температура, энтропия, состояние вещества , и т.д. .;
- заряд, ток, напряжение, плотность электрического поля и пр.;
- напряженность магнитного поля, магнитный момент , и т.д. .;
- интенсивность излучения, показатель преломления, коэффициент отражения, интенсивность поглощения, длина волны, поляризация, и т.д. .;
- химические и биологические величины, такие как: концентрация ионов, ферментов или антител, состав, окислительно-восстановительный потенциал, скорость реакции , рН и т.д.

Классификация сенсоров по типу передачи сигнала (методу трансдукции преобразовательного элемента) была предложена Гёпелем и коллегами [15], и приведена в **Табл. I.1**. Однако в данной классификации есть некоторые сложности интерпретации. Так, например, пьезоэлектрическое устройство, которое преобразует электрическую энергию в механическую, и может рассматриваться как датчик по определению, обычно называют выходным преобразователем или актюатором, а не сенсором. Соответственно, функционирование

конкретного устройства в качестве “сенсора” или “актюатора” определяется целью применения. При этом очевидно, что понимание природы и принципов процесса, вовлеченного в сенсорный анализ, чрезвычайно важно для выбора наиболее подходящих сенсорных конструкций и материалов.

Рецепторы, применяемые в химических сенсорах, в соответствии с природой взаимодействия с аналитом можно разделить на три основные группы [9]:

- *химические*: при их использовании химическая отклик с участием аналита приводит к аналитическому сигналу;
- *физические*: химической реакции не происходит. Типичными примерами являются сенсоры, основанные на измерении оптической плотности, коэффициента преломления, электропроводности, температуры или изменения массы;
- *биохимические*: биохимический процесс является источником аналитического сигнала. Типичными примерами являются микробные потенциометрические датчики или иммуносенсоры. Такие датчики называются *биосенсорами*, и часто рассматриваются как подгруппа химических сенсоров.

Однако в сенсористике встречаются ситуации, когда сложно однозначно определить по какому принципу, химическому или физическому, работает данный датчик. Примером могут служить сенсоры, отклик которых обусловлен процессами адсорбции.

Основные общепринятые характеристики сенсоров приведены ниже [3,5,8,16].

1.3.1 Статические характеристики

Передачная функция - выведенное в виде графика, таблицы, математического выражения идеальное (теоретическое) соотношение между входным и выходным сигналом сенсора.

Диапазон измеряемых значений (FS – full scale) - динамический диапазон внешних воздействий, который может воспринять датчик

Диапазон выходных значений (FSO) - алгебраическая разность между выходными сигналами, измеренными при максимальном и минимальном внешнем воздействии.

Линейность определяется близостью градуировочной кривой сенсора к теоретической передачной функции и может быть выражена в процентах от FSO.

Чувствительность сенсора определяется крутизной (наклоном) передачной функции отображающей отклик данного сенсора на изменение измеряемого компонента (свойства). Чувствительность сенсора постоянна в диапазоне линейного отклика сенсора, **Рис. 1.4А.**

Разрешение является наименьшим приращением выходного сигнала, измеренным в процентах от FSO .

Гистерезис – это разность значений выходного сигнала для одного и того же входного сигнала, полученных при его возрастании и убывании, **Рис. I.4В**.

Предел обнаружения (порог чувствительности) представляет собой наименьшее значение измеряемой величины, которое может быть обнаружено с помощью сенсора.

Воспроизводимость это способность сенсора при соблюдении одинаковых условий выдавать идентичные результаты.

Нулевой выходной сигнал – величина отклика сенсора при измерении нулевой измеряемой величины.

Нулевой сдвиг (дрейф) - это изменение нулевого выходного сигнала при определенных условиях (например, изменении температуры, длительного хранения, старение и т.д.).

Сдвиг (дрейф) чувствительности определяется наклоном градуировочной кривой при определенных условиях.

Время отклика это интервал времени, необходимый для достижения сенсором определенного процентного значения от конечного выходного сигнала (в результате пошагового изменения измеряемой величины) .

Селективность сенсора означает полное подавление посторонних помех при его функционировании. Идеальный сенсор должен реагировать только на изменения определенной измеряемой величины и его отклик не зависит от концентрации любого примесного иона, содержащегося в растворе, кроме того иона, относительно которого сенсор обладает селективностью. Однако на практике большинство сенсоров откликаются на изменение более, чем одного параметра (например, на изменение концентрации подобных по свойствам аналитов, изменение температуры и т.д.). Проблемы недостаточной чувствительности и отсутствие идеально селективных сенсоров могут быть скорректированы посредством мультисенсорного подхода и хемотрических методов анализа, как это будет обсуждаться позже .

Срок службы - это продолжительность времени, когда сенсор остается чувствительным при нормальных условиях эксплуатации

Долговечность - это свойство сенсора сохранять работоспособное состояние до наступления предельного состояния, при котором он не способен выполнять все или одну из своих функций, или не обеспечивать выполнение каких-либо параметров в заданных пределах.

Надежность – это способность сенсора выполнять требуемые функции при соблюдении определенных условий в течение заданного промежутка времени.

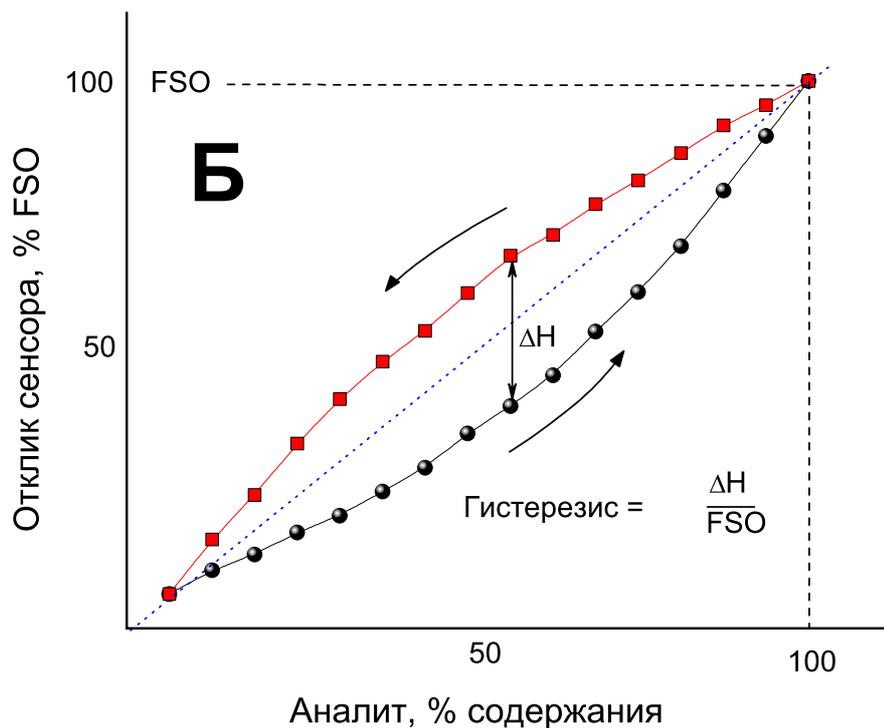
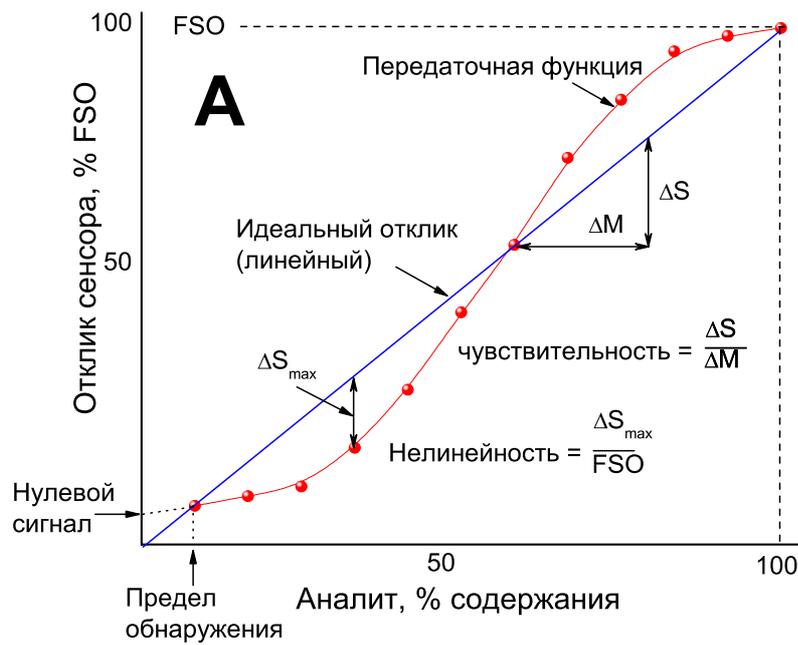


Рис. 1.4 Градуировочные кривые, отображающие некоторые статические характеристики сенсора: (А) чувствительность, нелинейность, предел обнаружения, нулевой выходной сигнал; (Б) ошибка гистерезиса; цитируется из работы [8].

1.3.2 Метрологические характеристики

Погрешность сенсора определяется как отклонение результата измерения от действительного значения измеряемой величины. На практике погрешность конкретного сенсора можно также представить в виде разности между значением, вычисленным по выходному сигналу, и реальным значением поданного входного сигнала. Чем меньше погрешность сенсора, тем выше его *точность*.

Точность измерения характеризует близость результата измерения к действительному (истинному) значению измеряемой величины. На **Рис. 1.5** точность показаний сенсора представлена в сравнении с воспроизводимостью при измерении количества измеряемой величины.

Краткосрочная и долгосрочная стабильность (дрейф) – это характеристики точности сенсора. Краткосрочная стабильность описывает изменения рабочих характеристик сенсора в течении минут, часов или дней. Выходной сигнал датчика может увеличиваться или уменьшаться, что может быть выражено через величину *шума сверхнизкой частоты*

Долгосрочная стабильность зависит от процессов старения, которые изменяют электрические, механические, химические и термические свойства материалов датчика.

Разрешающая способность характеризует минимальное изменение измеряемой величины, которое может почувствовать сенсор.

Некоторые другие общие определения и термины, применяемые в сенсорном анализе, перечислены ниже:

Аналит (или анализируемый компонент) это химическое вещество, для качественного или количественного определения которого проводится данный анализ. *Измеряемая величина* - это состояние или свойство, которое должно быть измерено.

Ошибка взаимозаменяемости это ошибка, которая наблюдается, при замене одного сенсора на другой при измерении одной и той же измеряемой величины.

Шум (noise) это электрические помехи измеряемого сигнала, которые снижают точность измерения.

Отношение сигнал-шум – безразмерная величина равная отношению полезного выходного сигнала к мощности шума.

Пороговое значение представляет собой наименьший входной сигнал, способный вызвать значимое изменение выходного сигнала.

Перекрестная чувствительность отображает влияние одной измеряемой величины (аналита) на чувствительность сенсора к другой измеряемой величине (аналита).

Нелинейность означает отсутствие постоянной пропорциональности между входным и выходным параметрами во всем диапазоне измерения

Способ передачи сигнала (режим трансдукции) это режим в котором сенсор получает информацию об анализе (электрический, оптический, пр.).

Табл. I.1 Принципы трансдукции, используемые в сенсорах

Входной сигнал	Выходной сигнал					
	Механический	Термический	Электрический	Магнитный	Световой	Химический
Механический	Механическое воздействие - например, диафрагма, баланс силы тяжести; акустический эффект- например, эхолот	Эффект трения-например, калориметр трения; охлаждающий эффект- например, измеритель теплового потока	Пьезоэлектричество: резистивный, емкостной, индуцированный эффект	Магнитно-механические эффекты; например, пьезомагнитный эффект .	Фотоупругие системы (стресс-индуцированное двойное лучепреломление).Интерферометр. Эффект Саньяка. Эффект Доплера	
Термический	Тепловое расширение; например, жидкостно-стеклянные и газовые термометры. Резонансная частота, радиометрический эффект		Эффект Зеебека. Термо-сопротивление. Пирозлектричество. Тепловой шум (шум Джонсона).		Термо - оптические эффекты ; например , жидкие кристаллы . Световое излучение.	Активация реакции; например, термической диссоциации.
Электрический	Электрокинетический и электромеханический эффекты; например, пьезоэлектричество, электрометр и закон Ампера .	Резистивный нагрев (закон Джоуля-Ленца). Эффект Пельтье	Емкостные накопители. Зонд Ленгмюра.	Закон Био- Савара - Лапласа	Электро-оптические эффекты, например – Эффект Керра, эффект Поггеля. Электролюминесценция.	Электролиз. Электромиграция
Магнитный	Магнитно- механические эффекты; например, магнитометр .	Термо - магнитные эффекты; например, Эффект Риги-Ледюка. Гальвано-магнитные эффекты, например, Эффект Эттингсгаузена	Термо - магнитные эффекты; Эффект Нернста-Эттингсгаузена; Гальвано-магнитные эффекты, например, эффект Холла, магнито-сопротивление.	Магнито-оптические эффекты ; например, эффект Фарадея , и эффект Коттона-Мутона .		
Световой	Давление электромагнитного излучения	Болометр, термобатарей	Фотоэлектрические эффекты; например эффект фотопроводимости	Фоторефракционные эффекты. Оптическая бистабильность .		Фотосинтез, например, диссоциации
Химический	Гигрометр. Фото- акустический эффект .	Калориметр, катарометр	Потенциометрия, кондуктометрия, амперометрия, пламенный ионизатор, Вольт-эффект, полевой эффект	Ядерный магнитный резонанс	Спектроскопия излучения и поглощения. Хемилюминесценция. Фотохимические эффекты.	

Печатается в переводе из работы :[15]

На чувствительность и селективность анализа с применением химических сенсоров может влиять множество различных параметров, таких как фазовое состояние анализируемой среды, размерные, временные и другие аспекты. Анализируемый компонент может находиться в газообразном, жидком или твердом состоянии, в разных количествах и размерностях: от сотен литров до пиколитров в объеме, либо в виде поверхностных слоев исчезающей (наноскопической или мономолекулярной) толщины. Необходимость повторяющихся измерений анализируемого вещества в течение длительного времени (например, дней, месяцев), определенной степени точности и надежности, требование непрерывного и, возможно, удаленного и/или проводимого в полевых условиях мониторинга (например, при анализе состояния окружающей среды, и т.д.), а также экономические ресурсы и ограничения при разработке и производстве, все вышеперечисленные параметры могут влиять на конструкцию сенсора и стратегию его применения.

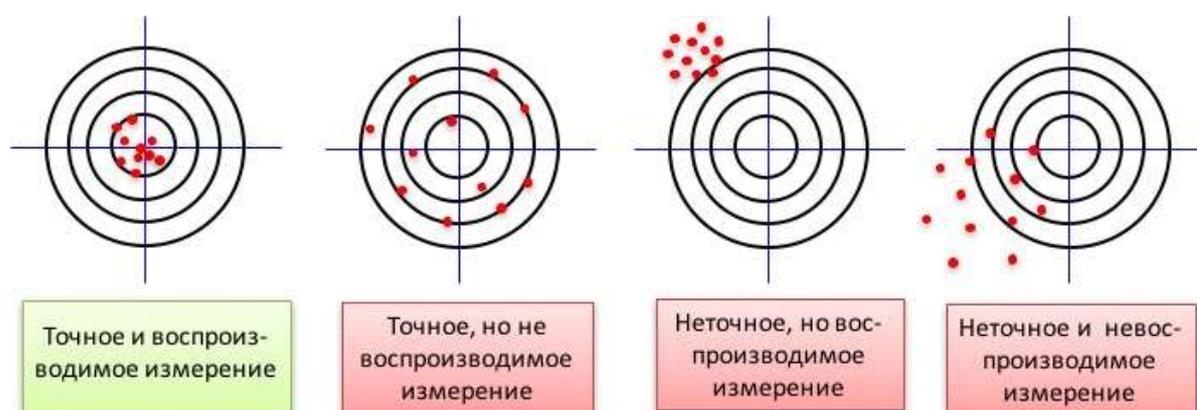


Рис. 1.5 Точность и воспроизводимость сенсора.

1.3.3 Типы химических сенсоров. Принцип функционирования и применение

Химические сенсоры, являются одной из наиболее изученных и интенсивно развивающихся групп сенсоров, активно используемых для решения широкого спектра аналитических задач. В зависимости от характера отклика, химические сенсоры могут быть подразделены на различные типы [17], **Рис. 1.6**.

В настоящем разделе детально рассмотрены принципы функционирования отдельных типов химических сенсоров, использованных в данной работе:

- Электрохимические сенсоры, в частности, амперометрические и потенциометрические полимерные мембранные электроды;
- Спектрофотометрические и люминесцентные оптические сенсоры (оптоды), и датчики, использующие CSPT-технологию;
- Пьезоэлектрические кварцевые микровесы (КМВ);
- Фотоэлектрохимические сенсоры.



Рис. 1.6 Классификация химических сенсоров, из работы [17].

При рациональном и обоснованном выборе чувствительного материала, вышеупомянутые типы сенсоров могут быть охарактеризованы высокой чувствительностью, в применении к решению конкретных прикладных задач. Однако высокоселективный (избирательный) характер обнаружения для большинства данных сенсоров часто остается труднодоступным. Применение мультисенсорного анализа и возможности хемометрического подхода для упрощения аналитических существующих аналитических методик и улучшения характеристик конкретных сенсорных систем будут рассмотрены в последнем разделе данной главы.

1.3.4 Оптические химические сенсоры

В основе функционирования оптических химических сенсоров лежит принцип поглощения или отражения попадающего на них света (излучения), а также возникающей люминесценции. Данные явления в свою очередь являются результатом взаимодействия анализируемого вещества с рецепторной платформой сенсора [9].

Оптические химические сенсоры могут быть классифицированы в соответствии с типом регистрируемого оптического явления (адсорбция, изменения в поляризации света, интерференция, рассеяние, дифракция, поверхностный плазмонный резонанс) и быть отнесены к категории прямых датчиков, или датчиков требующих присутствия реагента-медиатора. В активных оптических сенсорах исследуемый образец облучают извне светом с известными

свойствами (определенного спектрального состава, поляризации, направленности, и пр.) и затем регистрируют изменения характеристик света, как результат его взаимодействия с образцом. В пассивных оптических сенсорах для получения аналитической информации используется естественное внешнее освещение или собственное излучение исследуемого образца (тепловое, люминесцентное, и пр.). Подробный обзор современных оптических химических сенсоров был опубликован недавно МакДонахом и соавторами [13]. В обзоре Претча и соавторов детально рассмотрены принципы функционирования, основные характеристики и чувствительные материалы, применяемые в оптодах [18,19].

1.3.4.1 Спектрофотометрические и люминесцентные датчики

Оптические сенсоры, в которых основная информация об исследуемом образце заключена в изменении спектрального распределения интенсивности света, называют *спектрофотометрическими*. В основе действия спектрофотометрических сенсоров лежит закон поглощения света, закон Бугера-Ламберта-Бера, который может быть представлен следующим выражением:

$$I(l) = I_0 e^{-k\lambda l} \quad (I.1)$$

где I_0 и I — интенсивности поглощаемого света и света после взаимодействия с веществом; l - толщина слоя вещества, через которое проходит свет; $k^\lambda = \chi_\lambda C$ - коэффициент ослабления света веществом, зависящий от длины волны, λ , и от концентрации аналита, C ; χ_λ - молярный коэффициент поглощения анализируемого вещества со светом с длиной волны λ . Таким образом, измеряя спектральные интенсивности I_0 и I на волне поглощения аналита, либо при полихромном облучении, можно связать величину пропускания света, $T = I/I_0$ с концентрацией аналита (аналитов в случае многокомпонентного анализируемого образца).

Люминесцентными называют оптические сенсоры, в которых основную информацию об исследуемом образце получают, наблюдая разные виды люминесценции, например флуоресценцию. Флуоресценция заключается в кратковременном поглощении квантов облучения флуорофором (веществом, способным флуоресцировать) с последующей эмиссией излучения на более длинных волнах. Данное явление обусловлено электронов флуорофора из возбужденного состояния нижнего колебательного уровня S_1 в основное состояние S_0 . Интенсивность флуоресценции, F , пропорциональна количеству поглощаемого света, I_0 , и квантовому выходу флуоресценции, Φ :

$$F = k I_0 \Phi (1 - 10^{-\epsilon b c}) \quad (I.2)$$

где k является константой пропорциональности, ϵ - молярный коэффициент

поглощения , b - длина оптического пути , c - концентрация субстрата. В сильноразбавленных растворах, где поглощается менее чем 2 % от энергии возбуждения, в первом приближении интенсивность флуоресценции можно считать прямо пропорциональной концентрации аналита:

$$F = kI_0\Phi(\epsilon bc) \quad (1.3)$$

В зависимости от природы взаимодействия флуорофора с анализируемым компонентом может наблюдаться как селективное увеличение, так и селективное тушение флуоресценции. Оба данных явления широко используются в современных оптических сенсорах [20-24].

1.3.4.2 Оптические датчики, использующие CSPT-технологию

Впервые датчики, использующие CSPT-технологию (Computer Screen Photoassisted Technique), были предложены Люндстромом и Филлипини около десяти лет назад [25]. CSPT-датчики сочетают в себе характеристики спектрофотометрических и люминесцентных сенсоров, а также требуют присутствия чувствительного слоя реагента-медиатора. В методе CSPT в качестве источника облучения используется экран компьютера (планшета, смартфона, и пр.), а встроенная веб – камера, подключённая к тому же компьютеру (планшету, смартфону, и пр.) служит в качестве детектора оптического сигнала, **Рис. 1.7**.

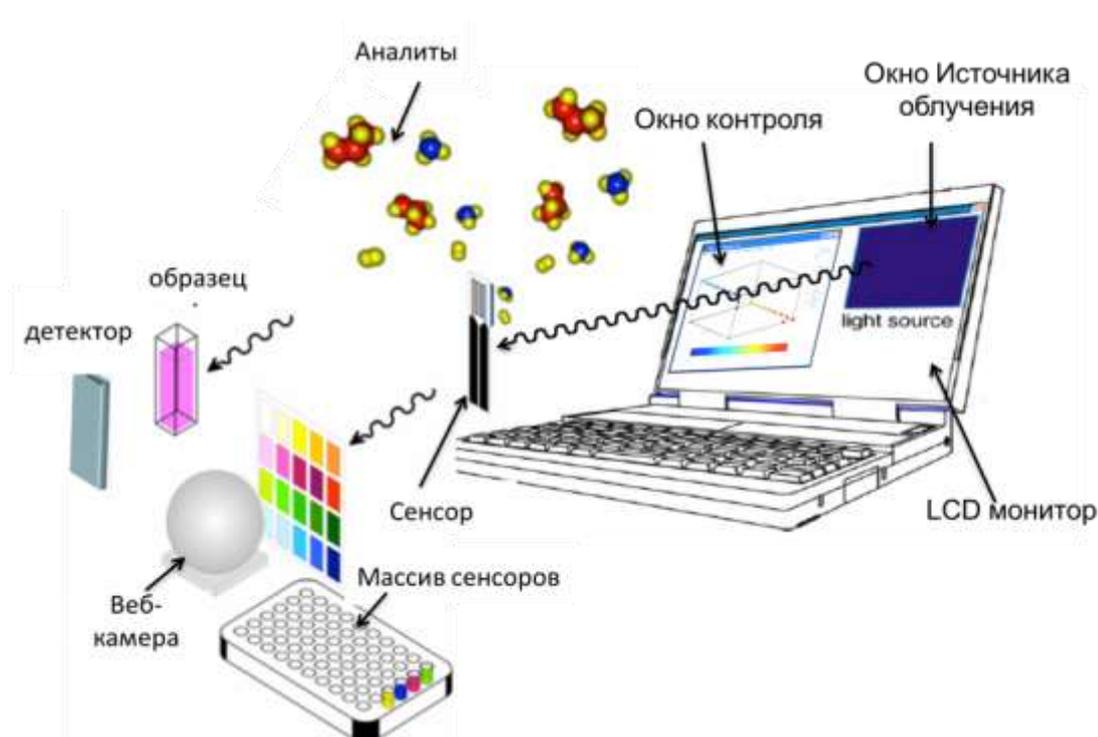


Рис. 1.7 Схематическое представление метода CSPT .

Экран компьютера способен отображать более 16 миллионов цветов в области длин волн видимого спектра, **Рис. I.8А**. Эти цвета формируются как различные взвешенные комбинации трех основных спектральных цветов: красного, зеленого и синего, в соответствии с уравнением I.4 [26]:

$$C_i(\lambda) = r_i \cdot R(\lambda) + g_i \cdot G(\lambda) + b_i \cdot B(\lambda) \quad (I.4)$$

где $R(\lambda)$, $G(\lambda)$ и $B(\lambda)$, представляют собой интенсивность основных цветов, r_i , g_i и b_i с $i = 1$ до M являются коэффициентами вклада основных спектральных цветов в любую новую произвольную последовательность цветов; λ - длина волны диапазон которой как правило, ограничивается интервалом видимого света в 390 - 780 нм.

В CSPT эксперименте веб-камера регистрирует видео-изображения используемой сенсорной платформы (сенсорного материала нанесенного на прозрачный передаточный элемент и подвергающегося воздействию аналита) в процессе ее облучения последовательностью из нескольких (от одного до 50) излучений различного цвета, генерируемых экраном компьютера в соответствии с уравнением I.4 [27]. Затем, из полученного видео отбираются конкретные области с нанесенным чувствительным материалом оптода и без него, так называемые регионы интереса (regions of interest, ROI), которые затем переводятся в цифровую форму и используются как входной оптический сигнал. Так, например на **Рис. I.8Б** представлен пример выбора ROI, которые обозначены как белые квадраты, каждый с трехмерным индексом, представляющим вклады красной, зеленой и синей цветовых компонент в получаемый сигнал. При этом учитывается оптическая плотность как чувствительного материала, так и передаточного элемента (в данном случае предметного стекла на которое локально нанесена сенсорная мембрана в виде небольших пятен округлой формы). После добавления аналита, оптическая RGB плотность ROI изменяется за счет его взаимодействия с чувствительным материалом, и это изменение регистрируется во всем спектре облучения (для всех 50 цветовых оттенков). С целью снижения воздействия пространственных неоднородностей экрана и веб-камеры, цифровое значение изменения интенсивности оптической плотности получается посредством усреднения интенсивности излучения всех пикселей, входящих в ROI. Затем производится нормализации интенсивности ROI, выбранного на чувствительном покрытии, к интенсивности ROI без такового (только материала трансдьюсера) для каждой концентрации аналита в области красного, зеленого и синего цветовых каналов, **Рис. I.8В** [28]. Сигналы, полученные таким образом затем объединяются в так называемый характерный "отпечаток" (fingerprint) аналита в определенной концентрации. Серия таких "отпечатков" разной интенсивности в зависимости от концентрации аналита представляет собой градуировочную функцию CSPT-датчика.

Ранее различные оптические явления, такие как люминесценция [29], коэффициент отражения [30 -32], флуоресценцию [33, 34], и т.д., применялись в CSPT-сенсорах, для мониторинга окружающей среды[28], анализа пищевых продуктов [32- 37], а также в клиническом диагностировании [28]. Среди различных чувствительных материалов гетерциклические макроциклы, и в частности порфирины, их производные и аналоги, различные индикаторные красители и флуоресцентные лиганды оказались наиболее подходящими для CSPT измерений [32-37] благодаря их особым химическим и оптическим свойствам. В следующих главах приведено детальное обсуждение применения новых сенсорных материалов на основе органических макрогетероциклов в CSPT-датчиках, и их применение в мультисенсорном и мульти-трансдуктивном анализе.

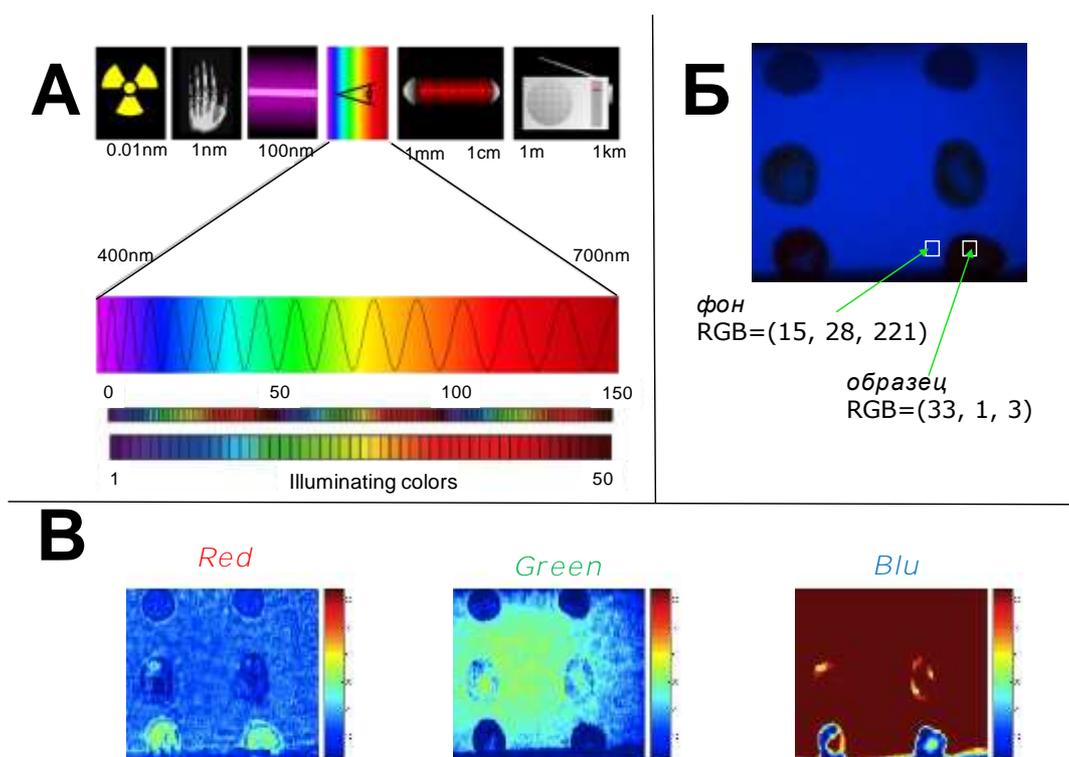


Рис. 1.8 (А) Последовательность цветового облучения в CSPT-датчике; (Б) Фотограмма CSPT-датчика зарегистрированная веб-камерой в отсутствии аналита; (В) облучение CSPT-датчика светом основных спектральных цветов в присутствии аналита.

1.3.5 Электрохимические сенсоры

В отличие от многих аналитических измерений, проводимых в гомогенной фазе, и чаще всего растворе, электрохимические процессы происходят на непосредственно границе раздела фаз электрод – раствор или близлежащем к электроду слое раствора [38]. Электрохимические сенсоры (электроды)

преобразуют процесс электрохимического взаимодействия аналит – электрод (окисление и/или восстановление частиц аналита, присутствующих в растворе) в полезный выходной сигнал. Данное взаимодействие может быть стимулировано посредством применения внешнего электрического воздействия (пропусканием электрического тока, приложением фиксированного или изменяемого потенциала) или спонтанно в условиях нулевого тока системы [9]. В первом случае говорят о динамических электрохимических методах, тогда как статические методы характеризуются отсутствием (или бесконечно малым) электрическим током, протекающим в измерительной цепи во время анализа [39],

Рис. 1.9.



Рис. 1.9 Классификация электрохимических методов анализа, из работы [39].

В последнее время наибольшее распространение получили потенциометрические и амперометрические (вольтамперометрические или хронопотенциометрические) электрохимические датчики [40].

В потенциометрии, которая представляет собой статический метод, регистрируется изменение потенциала электрода как результат взаимодействия чувствительной мембраны электрода с заряженными частицами анализируемого вещества. В динамических электрохимических методах применяются в основном химически инертные (часто металлические), химически активные (например капаящий ртутный электрод) или специально модифицированные с помощью реагентов-медиаторов (например различных полимерных пленок иммобилизованных на рабочей поверхности) электроды. Изменение

концентрации анализируемого вещества при применении динамических электрохимических методов регистрируется посредством измерения протекающего в системе тока, возникающего в результате окислительно-восстановительной (Red - Ox) реакции аналита на поверхности электрода.

Для проведения электрохимических измерений необходимы как минимум два электрода. Погруженные в раствор электролита, эти электроды представляют собой электрохимическую ячейку или электрохимический элемент. Электрод, который взаимодействует с анализируемым веществом называется является индикаторным, или рабочим. Потенциал индикаторного электрода, как в статическом, так и в динамическом режиме является относительной величиной и измеряется против электрода сравнения, потенциал которого стабилен, не зависит от состава анализируемого раствора и часто определяется только конструкцией данного датчика.

Два наиболее часто используемых типа электродов сравнения это насыщенный каломельный электрод (нас. к. э.; Saturated Calomel Electrode, SCE) и хлорид-серебряный электрод (х. с. э.; Silver/Silver Chloride Electrode, Ag/AgCl). Принцип работы этих электродов основан на окислительно-восстановительной реакции между металлом (Hg или Ag) и его нерастворимой солью (Hg₂Cl₂ или AgCl) и прямо пропорционален концентрации хлорид-иона во внутреннем растворе электрода (чаще всего это насыщенный или сильно концентрированный хлорид калия, KCl), **Рис. I.10А**. Вспомогательный электрод необходим для регистрации тока, генерируемого на индикаторном электроде в процессе окислительно-восстановительных реакций в динамических электрохимических методах. В последнем случае электрохимическая ячейка 3-х электродная и состоит из индикаторного электрода, вспомогательного электрода и электрода сравнения, **Рис. I.10Б**. Схематическое представление электрической схемы потенциостата, аналитического инструмента, применяемого для регистрации выходного сигнала в динамических электрохимических методах, приведено на **Рис. I.10В**.

Окислительно-восстановительный электродный процесс можно представить в обобщенной форме, представленной в уравнении **I.5**:



где *O* и *R* являются соответственно окисленной и восстановленной формами ред-окс пары между которыми происходит обмен *n* электронами. Для окислительно-восстановительной системы, находящейся в состоянии термодинамического равновесия, потенциал электрода может быть выражена уравнением Нернста, вытекающим из взаимосвязи между свободной энергией Гиббса (ΔG) и изменением электрохимического потенциала системы:

$$E = E^0 + \frac{2.3 \cdot R \cdot T}{n \cdot F} \cdot \log \frac{[O]}{[R]} \quad (I.8)$$

где E^0 — стандартный потенциал окислительно-восстановительного процесса; R — универсальная газовая постоянная; T — абсолютная температура в градусах Кельвина; n — число электронов, задействованных в процессе; F — число Фарадея (96487 С/моль); $[O]$ и $[R]$ — концентрации окисленной и восстановленной форм на поверхности электрода. Величина $2.3RT/nF$ называется крутизной (наклоном) электродной функции и обозначается обычно как S ; при стандартных условиях и $n=1$ S приближается к значению 0.059В и называется Нернстовской крутизной (наклоном) электродной функции.

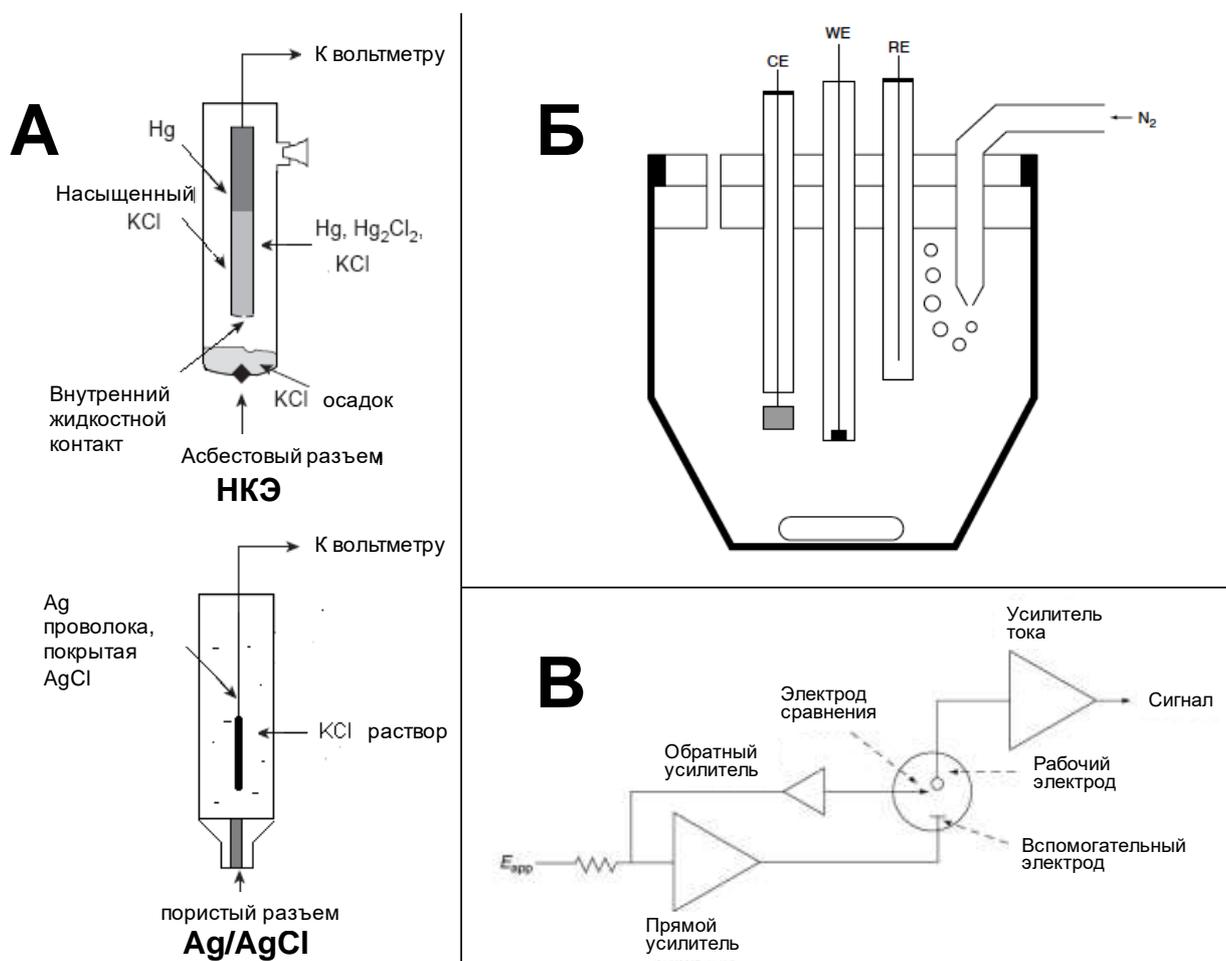


Рис. I.10 Схематическое представление: (А) конструкций насыщенного каломельного и хлорсеребряного электродов сравнения, печатается из работы [39]; (В) стандартной трех-электродной электрохимической ячейки; WE—рабочий электрод; RE—электрод сравнения; CE—вспомогательный электрод, печатается из работы [40]; (С) электрическая схема потенциостата для трех-электродной ячейки [40].

Ток, возникающий в результате окисления электроактивных частиц является Фарадеевским, так как он подчиняется закону Фарадея:

$$Q = n \cdot F \cdot N \quad (I.9)$$

где Q - величина прошедшего количества электричества в кулонах, Кл (ампер в секунду, А*с), n - общее число электронов, задействованных в процессе при электролизе одного моля вещества; F - число Фарадея, N - количество анализируемого вещества в молях. Для приложенного постоянного тока i , количества электричества можно выразить в соответствии с уравнением I.10:

$$Q = i \cdot t_e \quad (I.10)$$

где t_e - время электролиза. Если ток изменяется во времени, как это происходит в кулонометрии при постоянном контролируемом потенциале, то количества электричества находят методом интегрирования в соответствии с уравнением I.11:

$$Q = \int_{t=0}^{t=t_e} i(t) dt \quad (I.11)$$

Однако, часто общий электрический ток, протекающий через индикаторный электрод, является результатом нескольких процессов: Фарадеевского тока возникшего в результате электролиза анализируемого вещества, а также посторонних примесных токов заряжения. Более того, практически всегда электрохимическая отклик включает в себя несколько последовательных, либо параллельно протекающих процессов, таких как: транспорт электроактивных частиц к поверхности электрода, обмен и перенос электронов на поверхности электрода, диффузия прореагировавшего аналита в приэлектродный слой и затем в основной объем раствора. Результирующий ток электрохимической реакции определяется самым медленным из вышеперечисленных процессов [40]. Для электрохимической реакции определяемой процессом транспорта ионов в поле электрохимического потенциала электродиффузия ионов описывается уравнением Нернста-Планка. Данное уравнение описывает процесс пассивного транспорта заряженных частиц в поле электрохимического потенциала. Плотность тока пропорциональна градиенту электрохимического потенциала $d\phi/dx$ в направлении оси x и зависит от подвижности u и концентрации c ионов с зарядом z :

$$J = -D \frac{dc}{dx} - c \cdot u \cdot zF \frac{d\phi}{dx} \quad (I.12)$$

Для нейтральных частиц уравнение Нернста-Планка переходит в уравнение Фика:

$$J(x, t) = -D \cdot \frac{dC(x,t)}{dx} \quad (I.13)$$

где t - время; x - положение частиц относительно электрода, D - коэффициент диффузии.

В электрохимических процессах ток, протекающий через электрод, пропорционален плотности потока частиц через элемент поверхности площадью A :

$$i = n \cdot F \cdot A \cdot J \quad (I.14)$$

Объединив уравнение (I.12) с (I.14) может быть получено общее выражения для для предельного диффузионного тока, измеряемого в качестве полезного выходного сигнала в большинстве динамических электрохимических методов. Данное выражение может варьироваться в зависимости от площади и формы рабочего электрода, скорости развертки потенциала и пр. [40]. Изменение диффузионного потока (и, следовательно, диффузионного тока) во времени и в зависимости от положение относительно электрода может быть описана вторым законом Фика.

1.3.5.1 Вольтамперометрические сенсоры

Метод вольтамперометрии основан на измерении концентрации ионов аналита в разбавленных растворах в приэлектродном слое посредством наблюдения за изменением вольтамперной характеристики, вольтамперограммы, т.е. зависимости электрического тока через электрохимический элемент от приложенного напряжения [40]. Вольтамперометрия объединяет различные вольтамперометрические методы, среди них классическая полярография на каплю ртути на электроде и ее современные разновидности: циклическая вольтамперометрия (ЦВА), импульсная (ИВ) и дифференциально-импульсная (ДИВ) вольтамперометрия; вольтамперометрия переменного тока: синусоидальная и квадратно-волновая (КВВ), а также хроноамперометрия (ХА). Результатом вольтамперометрического исследования является вольтамперограмма, в циклической вольтамперометрии с "треугольной" разверткой потенциала на измерительном электроде вольтамперограмма представляет собой график отображающий величину тока протекающего в системе тока (ось Y) в зависимости от изменения приложенного потенциала (ось X), **Рис. I.11**.

Вольтамперометрия может быть использована как для качественного анализа при измерении потенциала полуволны и обнаружения электроактивных частиц, которые претерпевают разряда при характерных значениях потенциалов, или для количественного определения концентрации одного или нескольких компонентов исследуемого раствора посредством измерения диффузионного тока. В последнем случае сначала производится серия измерений в стандартных растворах с известной концентрацией аналита, по результатам которой строится градуировочная кривая, отображающая зависимость диффузионного тока системы от концентрации измеряемого компонента.

Однако, доступная область потенциалов электрончувствительных сенсоров не позволяет проводить прямое определение многих аналитов. Это связано с тем, что многие вещества реактивны при крайне высоких/низких потенциалах, могут

накапливаться на рабочем электроде вследствие необратимых окислительно-восстановительных процессов, либо из-за кинетических и пространственных факторов. Для уменьшения влияния данных факторов и повышения чувствительности электрохимических сенсоров, их поверхность модифицируют специальными модификаторами, позволяющими эффективно снизить рабочие потенциалы определения, а также улучшить морфологию поверхности рабочего электрода и снизить кинетические и пространственные ограничения при переносе электронов между электродом и определяемым компонентом.

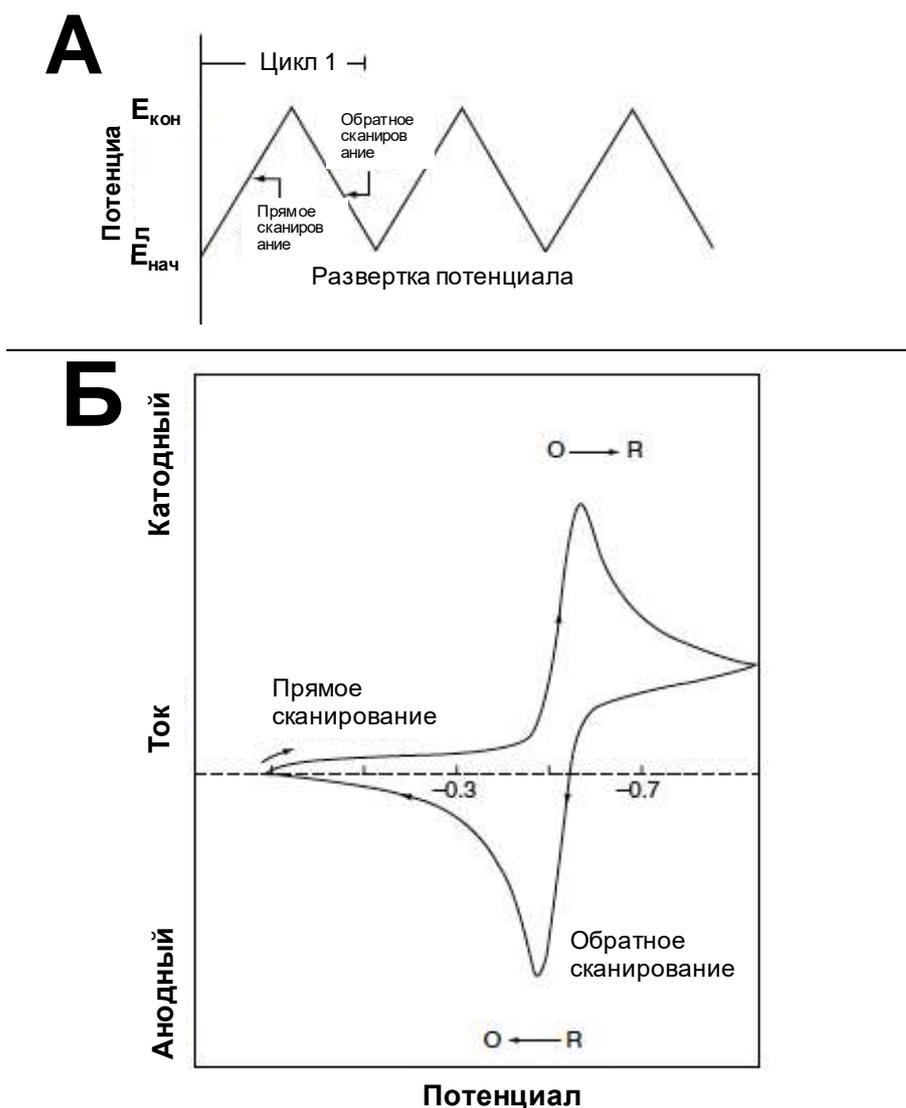


Рис. 1.11 Объяснение метода циклической вольтамперометрии: а) зависимость приложенного напряжения от времени; б) циклическая вольтамперограмма обратимого ред-окс процесса, печатается из работы [40].

Различные типы модификаторов применялись в современных электрохимических сенсорах, так ранее были разработаны электрохимические

датчики на основе графена [41], углеродных нанотрубок [42, 43], магнитных наночастиц [44]. Имобилизация модификатора может быть осуществлена как путем ковалентного связывания с поверхностью электрода, например за счёт нанесения электромодифицированного полимерного покрытия, или химического «пришивания» модификатора, либо посредством его удерживания за счёт сил адсорбции. Модификация электрохимических сенсоров может существенно удлинить их срок службы, особенно в часто повторяющемся и проточном анализе.

1.3.5.2 Потенциометрические сенсоры

Потенциометрия представляет собой статический электрохимический метод, в котором электродвижущая сила, ЭДС, двух-электродной электрохимической ячейки измеряется в статических условиях нулевого тока и может быть выражена в соответствии с уравнением (I.15):

$$ЭДС = E_{иэ} - E_{эс} + E_{жс} \quad (I.15)$$

Где $E_{иэ}$ и $E_{эс}$ потенциалы индикаторного электрода и электрода сравнения, $E_{жс}$ – потенциал жидкостного соединения, формирующийся на стыке двух различных по составу ионных растворов с ионами разной подвижности. Величина потенциала жидкостного соединения может быть сведена к близким к нулю значениями посредством использования электродов специальной конструкции или соединяющего электролиты “солевого мостика”, заполненного раствором, содержащим ионы с близкой подвижностью (например хлорид калия, KCl), **Рис. I.12А.**

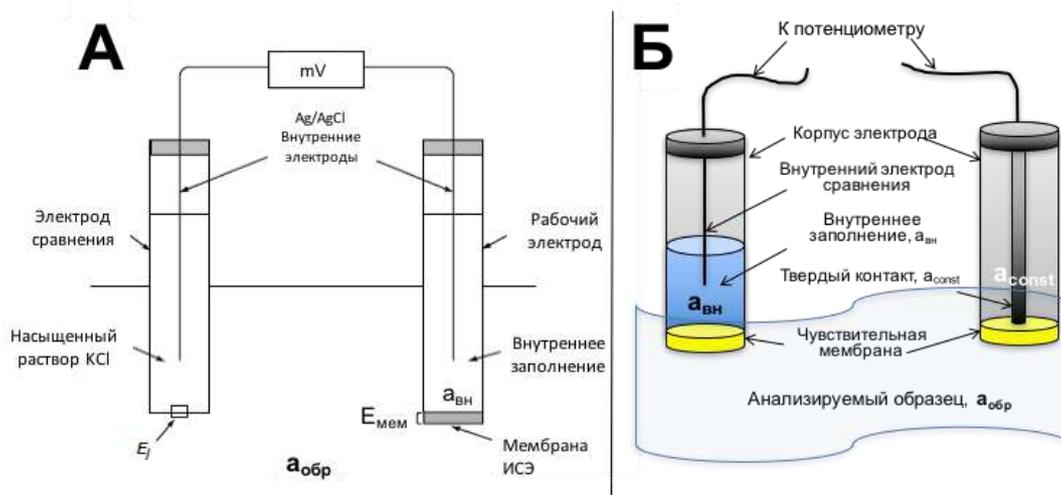


Рис. I.12 Схематическое представление (А) потенциометрической ячейки с ИСЭ в качестве индикаторного электрода и хлор-серебряного электрода сравнения; (Б) конструкции ИСЭ с внутренним жидкостным заполнением и твердо-контактного ИСЭ.

Схематически потенциометрическая измерительная ячейка может быть представлена как [45]:

Внешний электрод сравнения || исследуемый раствор || чувствительная мембрана || внутренний электрод сравнения

Учитывая постоянство потенциала электрода сравнения, заданное его специальной конструкцией, и близкое к нулевому значение $E_{жс}$, измеряемую величину потенциометрической ячейки можно рассматривать как потенциал индикаторного электрода, который, в свою очередь может быть представлен модифицированным уравнением Нернста:

$$\text{ЭДС} \cong E = E_0 + 2.3 \frac{RT}{z_i F} \log a_i \quad (I.16)$$

где E_0 — стандартный потенциал сенсора; z_i и a_i - заряд и активность определяемого иона. При этом $a_i = cf(c_i - \text{концентрация определяемого иона}; f - \text{коэффициент активности иона})$.

Два основных типа индикаторных электродов, используемых в потенциометрии это электроночувствительные электроды (металлические электроды 1-го и 2-го рода, а также окислительно-восстановительные электроды) и ионоселективные электроды (ИСЭ с жидкими или полимерными мембранами, стеклянные, халькогенидные стеклянные и кристаллические)[46]. Мембрана ИСЭ обладает ионной селективной проницаемостью, обычно непористая, нерастворима в воде и механически стабильна. В ИСЭ с внутренним жидкостным заполнением чувствительная мембрана разделяет анализируемый образец и внутренний раствор электрода с определенной концентрацией потенциалопределяющего иона; в твердо-контактных ИСЭ чувствительная мембрана непосредственно наносится на материал трансдьюсера, **Рис. I.12Б**.

Целью разработки ИСЭ является разработка мембран оптимального состава, селективно связывающих ионы анализируемого вещества, и подвергающихся минимальному воздействию посторонних ионов. Свойства чувствительной мембраны зависят от ее состава и скорости проникновения различных ионов в мембранную фазу. Состав чувствительной ИСЭ мембраны подбирается таким образом, чтобы мембранный потенциал зависел преимущественно от концентрации основного иона (что может быть осуществлено за счёт процессов ионного обмена и/или селективного связывания основных ионов соответственно с ионообменником или специфическим лигандом в составе мембраны).

В ИСЭ с внутренним жидкостным заполнением, чувствительная мембрана находится в контакте с внутренним раствором, содержащим фиксированную концентрацию (активность) анализируемого вещества с одной стороны, и с исследуемым образцом с другой стороны. При внесении ИСЭ в исследуемый раствор содержащий ионы, к которым электрод обратим, возникает концентрационный градиент потенциалопределяющих ионов из внутреннего

раствора с более высокой концентрацией в направлении внешней границы мембраны. Данный концентрационный градиент приводит к возникновению мембранного потенциала, для которого уравнение I.16 может быть переписано в следующей форме:

$$E = E_{ac} + 2.3 \frac{R \cdot T}{z_i \cdot F} \cdot \log \frac{a_{i_{вн}}}{a_{i_{обр}}} \quad (I.17)$$

где $a_{i_{обр}}$ и $a_{i_{вн}}$ являются активностями анализируемого вещества в образце и во внутреннем растворе соответственно. Значение E в случае, когда концентрации анализируемого вещества по обе стороны мембраны равны, должно приближаться к нулю в идеальном случае. Однако на практике потенциал мембраны часто отличается от нулевого, что выражается посредством потенциала асимметрии мембраны, E_{ac} .

Мембранный потенциал ИСЭ зависит от химического взаимодействия между анализируемым веществом и активными центрами на внешней поверхности мембраны (или в слое мембраны, близко прилегающим к внешней поверхности). При этом, большинство известных мембранных материалов не избирательны к одному аналиту, поскольку мембранный потенциал пропорционален концентрации всех ионов в исследуемом растворе, которые в большей или меньшей степени способны взаимодействовать с активными центрами мембраны. Уравнение Никольского описывает данное влияние следующим образом:

$$E = E^0 + 2.3 \frac{R \cdot T}{z_i \cdot F} \cdot \log(a_i + \sum K_{i,j}^{Pot} \cdot a_j^{\frac{z_i}{z_j}}) \quad (I.18)$$

где $K_{i,j}^{Pot}$ – коэффициент селективности, z_j и a_j – заряд и активность мешающего иона. Процессы, протекающие на границе раздела фаз мембрана-анализируемый образец и теория селективности ИСЭ детально описаны в литературе [47, 48].

Как упоминалось выше, чувствительная мембрана ИСЭ может быть выполнена из стекла (например, для стеклянного рН-электрода используются мембраны следующего состава: 22% Na₂O, 6% CaO и 72% SiO₂), из монолитного кристалла или кристалла с добавками (как например Ag₂S, Ag₂S/AgCl, или LaF₃ с добавками Eu, и т.д), из полимерных материалов с добавлением мембраноактивных компонентов, МАК. В последнем случае, различные полимерные матрицы могут быть использованы, среди них: пластифицированные поливинилхлорид (ПВХ), полиуретан (ПУ), силиконовая резина, полиацетат (ПА) и др. В качестве растворителя-пластификатора в таких мембранах используются не смешиваемые с водой вязкие жидкости, например эфиры органических кислот. Более подробное рассмотрение селективности полимерных чувствительных мембран на основе пластифицированного поливинилхлорида (ПВХ) приведено в Главе III.

В связи с активным применением ИСЭ для решения различных аналитических задач во многих областях, большое количество МАК было

разработано в течение последних четырех десятилетий и продолжает разрабатываться по сегодняшний день [19, 49]. Множество исследований было проведено также в области теоретической интерпретации механизма отклика электрохимических сенсоров, и ИСЭ в частности. Помимо многократно цитируемых книги Ванга [40] и обзоров Претша и др. [18,19], стоит отметить обзор Баккера, посвященный современным электрохимическим сенсорам, как потенциометрическим, так и вольтамперометрическим [50]. Применение ИСЭ в клиническом анализе было проиллюстрировано в работе [51]. Теория функционирования потенциометрических датчиков, а также обзор различных чувствительных материалов, применяемых для разработки современных ИСЭ опубликованы Бобакой и соавторами [46]. Наконец, основные рекомендации о номенклатуре и классификации электрохимических сенсоров и ИСЭ в частности были опубликованы ИЮПАК [45,52].

1.3.6 Пьезоэлектрические сенсоры на основе кварцевых микровесов (КМВ)

Гравиметрические, или масс-чувствительные сенсоры преобразовывают изменение массы на специально модифицированной поверхности в изменения свойств материала подложки в процессе накопления аналита за счет пьезоэлектрического эффекта. Пьезоэлектрический эффект состоит в возникновении электрического напряжения внутри упругих анизотропных диэлектриков (кристаллов и поликристаллических материалов) при воздействии механического напряжения. Кварц и LiNbO₃ являются наиболее часто используемыми кристаллами, используемыми в резонансных датчиках, и в кварцевых микровесах, КМВ, в частности [5,8 53]. Основу КМВ составляет пластина, вырезанная из монокристалла кварца под углом 35°15' в у-з плоскости (так называемый АТ-срез). С обеих сторон кварцевой пластины нанесены золотые электроды, при подключении к которым переменного напряжения пластина достигает частоты резонансного колебания за счет явления обратного пьезоэффекта. **Рис. 1.13А,Б** Принцип гравиметрического анализа с использованием КМВ основан на изменении резонансной частоты колебаний кварцевой пластины, f_0 , пропорциональной массе осажденного анализируемого вещества. Эта зависимость описывается уравнением Сауэрбрея [54]:

$$\Delta f = - \frac{2f_0^2}{\sqrt{\rho_q \cdot \mu_q}} \cdot \Delta m \quad (1.19)$$

где Δf - измеряемый сдвиг частоты резонанса; f_0 - резонансная частота колебаний пьезокристалла; Δm – изменение массы на единицу площади, г/см²; ρ_q – плотность кварца, 2.648 г/см³; μ_q модуль упругости кварца, равен 2.947·10¹¹ г/см·с² для АТ-среза.

Кварцевые диски с частотой резонансного колебания от 6 до 30 МГц наиболее часто используются в гравиметрических КМВ датчиках. В таких стандартных КМВ изменение в резонансной частоте колебания в 1Гц может быть

соотнесено с изменением массы осажденного вещества на 1 нг. Амплитуда резонансной частоты колебания КМВ изменяется разным образом в зависимости от температуры в кристаллах с различным углом среза [53], **Рис. I.13В.**

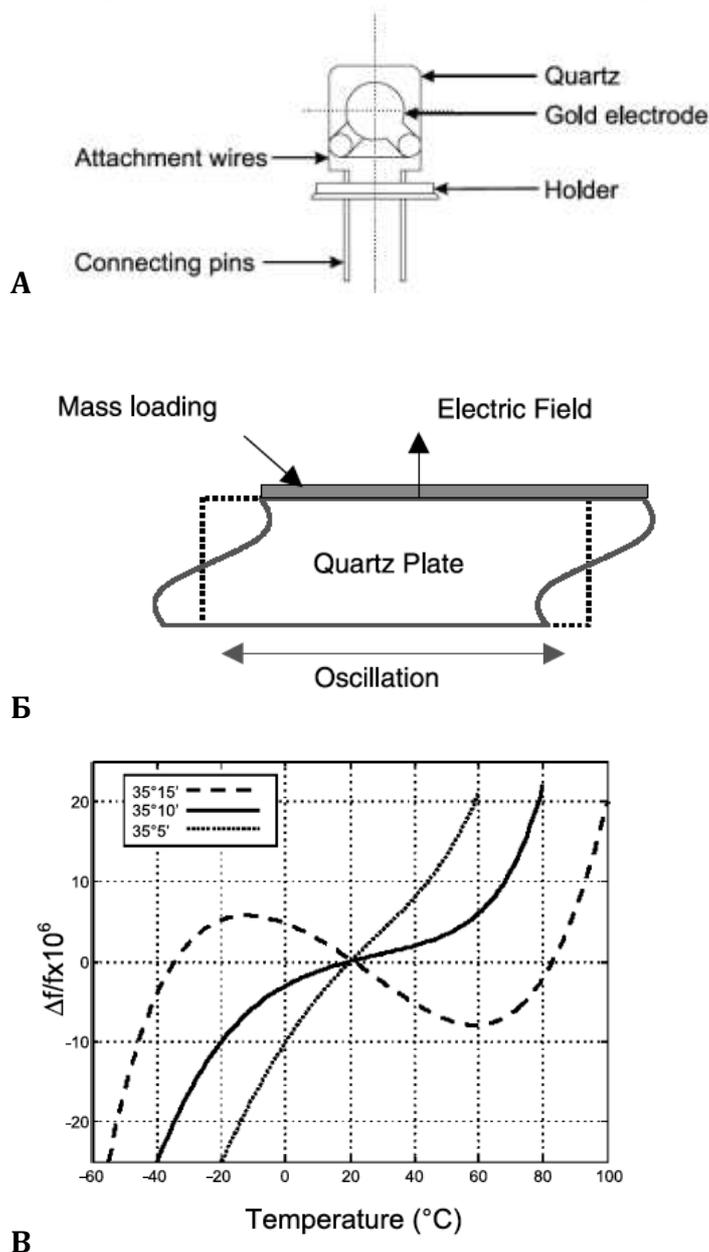


Рис. I.13 (А) Конструкция КМВ сенсора; (Б) Схематическое представление пьезоэлектрического эффекта; (С) Зависимость резонансной частоты колебания КМВ от температуры для кристаллов кварца с различным углом среза. Печатается из работы [53].

КМВ могут быть модифицированы посредством нанесения химического или биохимического чувствительного слоя, реагирующего с анализируемым веществом. Данный процесс должен быть обратимым, чтобы обеспечить

воспроизводимость КМВ. Различные типы модификаторов использовались ранее в КМВ, в частности: проводящие [55 -57] и молекулярно импринтированные полимеры [58], полимерно-керамические композитные материалы [59], эпоксирезины [60], целлюлоза [61] и др. Органические макрогетероциклы, и порфирины и фталоцианины в частности, также могут служить в качестве чувствительного КМВ покрытия [62,63]. Примеры использования КМВ для оценки морфологии элеткрополимеризованных чувствительных материалов на основе порфиринов обсуждаются в следующих главах данной работы.

1.3.7 Фотоэлектрохимические сенсоры

Принцип действия фотоэлектрохимические сенсоров основан на взаимном преобразовании световой и электрической энергии в системе электрод-электролит. В данных датчиках свет используется в качестве источника возбуждения и фототок, протекающий в цепи освещаемой электрохимической ячейки регистрируется как полезный выходной сигнал [64].

Протекание фототока в электрохимической цепи может быть вызвано фотовозбуждением как электрода, так и раствора электролита. В первом случае, при облучении сенсора, часто выполненного из полупроводниковых материалов (кремния, оксида цинка и пр.) и модифицированного фотоактивными веществами, происходит поглощение квантов света на фоточувствительном модификаторе. Фото возбуждённые электроны мигрируют в зону проводимости полупроводника, освобождая дырки на верхней занятой молекулярной орбитали (ВЗМО) органической молекулы медиатора.

Аналит выступает в качестве донора электронов, которые смещают фотогенерированные на медиаторе дырки в валентную зону полупроводника. В результате данного процесса генерируется фототок, пропорциональный концентрации аналита. Различные фотоэлектрохимические сенсоры были разработаны ранее для обнаружения в частности малых биомолекул и белков [65-71]. Примеры применения фотоэлектрохимического анализа в совокупности с новыми сенсорными материалами, разработанными в данной работе, даны в главах V, VII.

1.4 Мультисенсорный химический анализ многокомпонентных объектов

1.4.1 Преимущества мультисенсорного анализа в сравнении с использованием одиночных сенсоров

Традиционно при разработке новых химических сенсоров наибольшее внимание уделялось их высокой селективности и способности точно измерять концентрацию анализируемого вещества в сложной смеси [72]. Высокая селективность химического сенсора может быть достигнута посредством двух различных стратегий [73]:

- химического подхода, заключающегося в синтезе новых рецепторов, специфически взаимодействующих с анализируемым веществом посредством химической реакции или формирования комплексных соединений;
- физического подхода, заключающегося в выборе определенного механизма трансдукции (и трансдьюсера), при котором только интересующий аналит способен индуцировать изменение определенного физического свойства, которое затем преобразуется в полезный выходной сигнал.

Оба эти подхода могут быть одинаково эффективны для разработки высокоселективных датчиков, однако успехи супрамолекулярной химии в синтезе новых рецепторов привели к наибольшей популярности химического подхода. Тем не менее, до настоящего времени не разработаны селективные сенсоры для прямого определения большого количества аналитов, в то время как селективность известных сенсоров недостаточно высока при измерениях в многокомпонентных растворах. Так, многие природные образцы могут содержать сотни или тысячи различных соединений, каждое из которых вносит свой вклад в характеристики анализируемой матрицы. В этом случае выделить и тем более количественно определить одно конкретное соединение, способное охарактеризовать данную матрицу, не представляется возможным. Классическим примером такой ситуации является дегустация пищевых продуктов: сложно соотнести вкус, например, цитрусовых с содержанием в них только аскорбиновой кислоты. Иными словами, "химический образ" сложной анализируемой среды не может быть адекватно представлен с помощью одного пикселя всей картины, так это приводит к значительным потерям необходимой информации [73].

Одним из возможных путей преодоления указанных проблем является использование хемометрического подхода. Этот подход оказывается особенно эффективным, когда необходимо учитывать большое число различных факторов, влияющих на отклик сенсора, и при отсутствии теоретической модели, описывающей это влияние. Принцип его заключается в использовании для анализа сложных газовых и жидких сред массива химических сенсоров (мультисенсорной системы) в совокупности с различными математическими методами обработки экспериментальных данных.

Принцип функционирования "химических" чувств млекопитающих, в частности, обоняния и вкуса, послужил примером при разработке искусственных мультисенсорных систем. В Природе проблема недостаточной селективности вкусовых рецепторов и рецепторов обоняния разрешена способом, очень схожим с хемометрическим подходом: рецепторы не избирательны по отношению к отдельным видам химических веществ, напротив они взаимодействуют с разной интенсивностью с группами соединений, схожих по свойствам. Информация, полученная от органов чувств, "обрабатывается" затем мозгом, с целью классификации и распознавания различных запахов или вкусов.

В применении к сенсорному анализу, может быть сформулирована новая концепция химического сенсора для использования в мультисенсорном анализе: высокая селективность последнего больше не требуется, напротив, сенсор должен взаимодействовать в той или иной степени (с варьируемой чувствительностью) с наибольшим количеством веществ, присутствующих в анализируемой среде, **Рис. I.14**

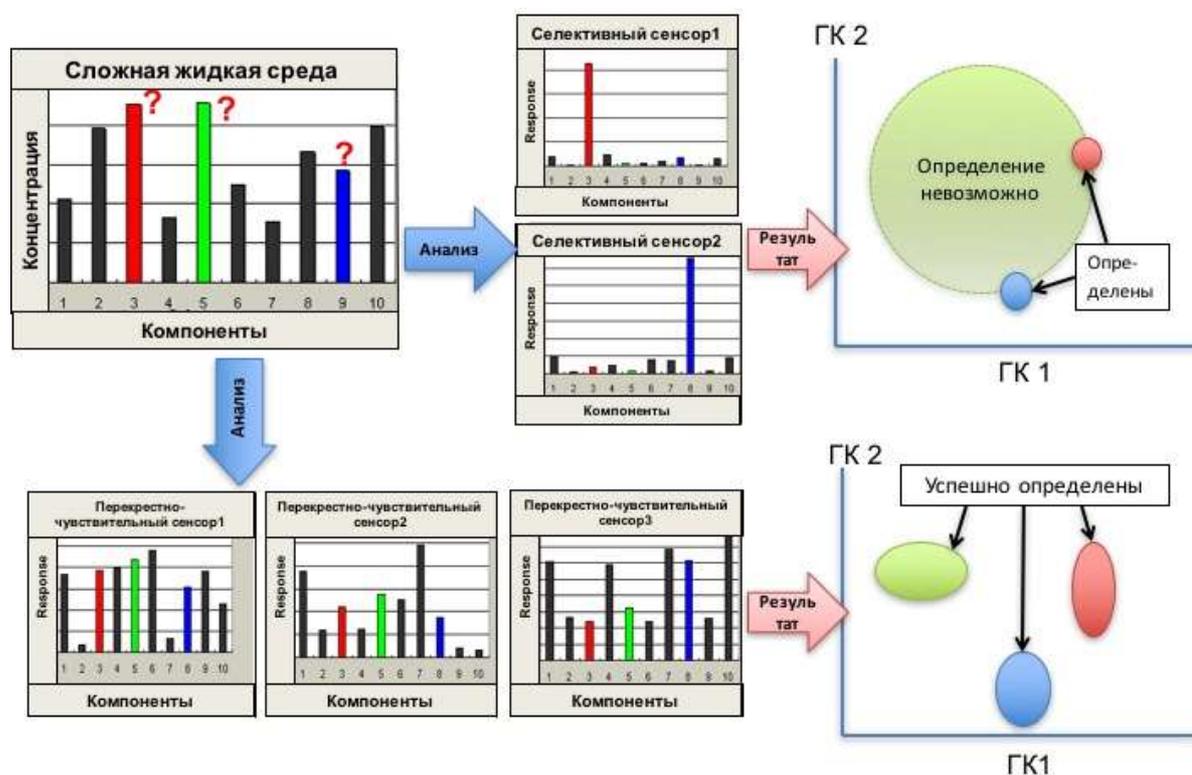


Рис. I.14 Иллюстрация возможностей определения трех компонентов сложной многокомпонентной среды, красного, синего и зеленого посредством массива сенсоров с высокой перекрестной чувствительностью и селективных сенсоров. Отсутствие селективного сенсора к зеленому компоненту не позволило осуществить его точное определение.

В этом случае отклик сенсора к веществам, которые ранее рассматривались как мешающие при определении основного аналита, будет учитываться, давая важную химическую информацию об анализируемой среде. Такую чувствительность сенсора к максимально возможному числу компонентов называют перекрестной чувствительностью (ПЧ), и наряду с долговременной стабильностью электродных свойств она является определяющим фактором при отборе сенсоров и формировании мультисенсорных систем для анализа сложных сред [74]. Сенсоры с перекрестной чувствительностью не могут использоваться автономно, из-за трудностей в интерпретации их отклика. Напротив, использование в мультисенсорном анализе химических сенсоров с высокой чувствительностью, а иногда и специфичностью, например на основе различных

ионофоров, может привести к положительным результатам: отклики сенсоров в массиве не должны коррелировать друг с другом и избирательность по отношению к определенным молекулам, или классам молекул не должна быть полностью утрачена. Более того, перекрестная чувствительность сенсоров в мультисенсорной системе должна различаться для того, чтобы наилучшим образом отобразить химическую информацию о составе анализируемой среды [75]. Как следствие, необходимость рационального дизайна новых молекулярных рецепторов является актуальной задачей для разработки не только селективных химических сенсоров, но и датчиков с высокой перекрестной чувствительностью.

По аналогии с органами вкуса и обоняния млекопитающих, и человека в том числе, мультисенсорные системы для анализа сложных газовых и жидких сред получили название “электронного носа” и “электронного языка” соответственно. Массивы оптических сенсоров, также используемые в последние годы для многокомпонентного анализа сложных сред, получили название “Электронного глаза”. Концепция “электронного носа” как массива химических сенсоров для классификации запахов впервые была предложена более полувека тому назад в [76]. В работе [77] “электронный нос” определен как инструмент, включающий в себя массив электронных химических сенсоров с парциальной чувствительностью и связанную с ним систему, способную распознавать сложные и простые запахи. В течение прошедших десятилетий с помощью мультисенсорных газовых систем проводили классификацию запахов различных напитков и пищевых продуктов, определяли смеси газов (паров) и индивидуальные вещества, осуществляли количественный анализ многих загрязнителей и маркеров [78]. Согласно определению ИЮПАК, Электронный язык представляет собой мультисенсорную систему, которая состоит из сенсоров с низкой селективностью и использует специальные математические процедуры для обработки выходного сигнала, в частности методы распознавания образов и/или многомерный анализ данных ... ” [82]. Первые работы, посвященные использованию электронного языка, появились в середине восьмидесятых годов прошлого века [83]. С того времени наблюдался неослабевающий интерес и стабильный рост количества исследований с данной области. В следующем разделе приводится описание основных работ, посвященных мультисенсорному анализу жидких сред, и применению электронного языка в частности.

1.4.1.1 Исторический обзор применения мультисенсорного подхода для анализа сложных жидких сред

Использование массива ионоселективных сенсоров, включающего различные стеклянные и ПВХ электроды, для количественного анализа многокомпонентных растворов, близких по составу к биологическим жидкостям (плазме крови и моче) впервые было предложено Отто и Томасом в 1985 г. [83]. Была показана возможность определения концентрации ионов Mg^{2+} в

присутствии высоких концентраций мешающего иона кальция с относительной погрешностью 8% при использовании метода мелких наименьших квадратов.

После этой новаторской работы было опубликовано множество исследований, посвящённых применению мультисенсорных систем как для качественного анализа (классификации и дискриминации) сложных жидкой сред, так и для количественного определения различных компонентов этих сред. Были разработаны мультисенсорные системы, состоящие из различных типов электрохимических датчиков, и использующие различные методы обнаружения и принципы передачи сигнала.

Так, Токо и соавторы разработали "вкусовой сенсор" на основе массива липидных ПВХ пленочных сенсоров [85]. Растворителем-пластификатором для создания электродных мембран служил диоктилфенилфосфонат (ДОФФ), в качестве электродноактивных веществ использовали такие соединения ("липиды"), как диоктилфосфорная кислота $(C_8H_{17})_2POOH$, хлорид триоктилметиламмония $(C_8H_{17})_3CH_3N^+Cl^-$, олеиновая кислота $C_{17}H_{33}COOH$, олеиламин $C_{17}H_{33}CH_2NH_2$, натриевая соль октилбензенсернистой кислоты $(C_8H_{17})(C_6H_5)SO_3Na$, дециловый спирт $C_{10}H_{21}OH$ и др. Данная система была названа "вкусовым сенсором", поскольку была способна различать 5 основных вкусов: сладкий, горький, соленый, кислый и умами (от японского слова "вкусный"). Позднее были разработаны "вкусовой сенсор" с глобальной селективностью, схожей по мнению авторов с принципом человеческого восприятия вкуса, а также коммерческая версия "вкусового сенсора" [86]. Данное устройство применяли для анализа различных напитков [87 - 93], пищевых подсластителей [94, 95] построения "вкусовой карты" различных аминокислот [96], и пр.

В ранних работах Власова, Легина и соавторов были использованы мультисенсорные системы на основе потенциометрических сенсоров с халькогенидными стеклянными мембранами [97-99]. Данные сенсоры получили затем широкое распространение в мультисенсорном анализе благодаря их стабильности и возможности изменения их электрохимических характеристик, в том числе селективности и чувствительности, при изменении состава стекла. Так, например в работе [97] было показана возможность варьирования перекрестной чувствительности сенсоров с мембранами состава $xAgI(1-x)Sb_2S_3$, где $x=30-60\%$; $xAg_2S-(1-x)As_2S_3$, $Cu-Ag-As-Se-Te$, $xAgI-yAs_2S_3-zSb_2S_3$, $CdI_2-Ag_2S-As_2S_3$.

В результате совместных исследований российских и итальянских ученых из университета "Тор Вергата", Рим, Италия, впервые был предложен термин "электронный язык" в применении к аналитической системе, состоящей из массива химических сенсоров и соответствующего метода обработки данных [100]. Позже электронный язык на основе халькогенидных стеклянных электродов был дополнен специально отобранными сенсорами с полимерными мембранами на основе ПВХ, содержащими различные МАК. Перекрестная чувствительность таких сенсоров в зависимости от различных параметров, таких как природа МАК, растворителя-пластификатора, присутствие лиофильных

заряженных частиц в мембране и пр. была специально изучена [101, 102]. Многочисленные примеры успешного применения потенциометрического электронного языка для анализа пищевых продуктов и природных объектов, для индустриального и экологического мониторинга, и пр. были опубликованы ранее [103-105].

Винкуист и коллеги из Университета Линчопинга, Швеция, разработали электронный язык, состоящий из инертных металлических сенсоров (в количестве от двух до шести) в совокупности с методом высоко амплитудной импульсной амперометрии (ВИА) и факторным математическим анализом для тестирования жидких сред [106,107]. Electrodes из золота, иридия, платины, палладия, родия и рения (99.9% чистоты) использовались в вольтамперометрическом электронном языке одновременно или выборочно в зависимости от решаемой задачи. В течение последних двух десятилетий данное устройство широко применялось для решения различных аналитических задач, в частности для классификации напитков [106,108] и молочных продуктов [109, 110]; мультикомпонентного анализа процессов очистки питьевой воды [107]; контроля чистоты сточных вод [111,112]; мониторинга окружающей среды [113, 114]; и пр.

Применение в системах типа электронный язык потенциометрических металлических электродов первого рода [115], и миниатюрных массивов металлических сенсоров, полученных с применением толстопленочной технологии также исследовались ранее [116]. Другие типы датчиков, таких как ISFET (ионоселективные полевые транзисторы), LAPS (свето-адресуемые потенциометрические датчики), импедансные пленки были протестированы для использования в мультисенсорных приложениях [117, 118]. Массивы ионоселективных потенциометрических сенсоров были также использованы для качественного и количественного анализа различных объектов [119 - 123]. Смешанные (гибридные) электронные языки, основанные на использовании различных типов датчиков и различных методах анализа [124- 126], а также сочетание электронного языка и электронного носа для комплексного анализа сложных сред также были описаны ранее [127 - 130]. Было установлено, что слияние нескольких методов, может значительно улучшить результаты анализа, в то же время как сравнение используемых в электронных языках методов и сенсоров могут помочь выявить сильные и слабые стороны каждого, и добиться наилучшей конструкции финальной аналитической системы и ее оптимального функционирования.

1.4.2 Анализ данных от мультисенсорных систем

Результатом измерений с массивом химических сенсоров (мультисенсорной системой) является многомерная матрица данных, для обработки которых используются хемометрические методы анализа. Хемометрика, в соответствии с определением Массарта, является «химической

дисциплиной, применяющей математические, статистические и другие методы, основанные на формальной логике, для построения или отбора оптимальных методов измерения и планов эксперимента, а также для извлечения наиболее важной информации при анализе экспериментальных (химических) данных» [131]. При этом, для сохранения необходимого уровня точности обработки получаемых данных могут быть использованы различные хемометрические методы [132, 133].

Две основные группы хемометрических методов - это параметрические и непараметрические методы [133]. Параметрические методы зависят от реального знания или возможности оценивания функций плотности вероятности классов и поэтому требуют максимально большой базы данных. В большинстве практических приложений эта информация недоступна и поэтому используются непараметрические методы, которые не требуют предположений о виде статистического распределения. Непараметрические методы в свою очередь различаются по способу обучения модели. В неконтролируемом обучении *a priori* не делается предположений о классах образцов, а наоборот процесс обучения заключается в обнаружении внутренних классов в данных. В контролируемом обучении компьютер "узнает", как оптимально классифицировать образцы на основе предварительного знания о принадлежности этих образцов к разным классам. Целью такого исследования является разработка правила классификации или алгоритма, позволяющего классифицировать (качественно или количественно) неизвестные аналитику объекты. Также методы распознавания образов в химическом анализе делят на линейные и нелинейные. Линейные методы, основаны на том, что вклад измеряемых величин в результат аддитивен. Хемометрические методы, наиболее часто используемые для решения задач аналитической химии, их преимущества и недостатки, перечислены в **Табл. I.2.**

Для решения задач многомерного анализа в данной работе были использованы следующие хемометрические методы анализа: Метод Главных Компонент (МГК), Метод Множественной Регрессии (ММР), Проекция на Латентные Структуры (ПЛС), Регрессия на Главные Компоненты (РГК), а также классификационные разновидности МГК и ПЛС - Формальное Независимое Моделирование Аналогий Классов (SIMCA) и Дискриминационный Анализ с помощью Регрессии на Латентные Структуры (ПЛС-ДА) соответственно. В следующем разделе приводится краткое описание вышеупомянутых методов, в то время как примеры применения этих хемометрических методов в совокупности с мультисенсорными системами на основе новых чувствительных материалов, разработанных в данной работе, обсуждаются в Главе VIII.

Табл. 1.2 Хемометрические методы, используемые в аналитической химии

Метод	Сокр. название	Контролируемый	Линейный	Преимущества и недостатки
Метод Главных Компонент (Principal Component Analysis)	МГК (PCA)	нет	да	Прост в интерпретации <i>vs</i> чувствителен к дрейфу данных
Формальное Независимое Моделирование Аналогий Классов (Soft Independent Modeling of Class Analogy)	- (SIMCA)	нет	да	Прост в интерпретации <i>vs</i> чувствителен к дрейфу данных
Дискриминационный Анализ с помощью Регрессии на Латентные Структуры (PLS discriminant analysis)	ПЛС-ДА (PLS-DA)	да	да	Прост в интерпретации <i>vs</i> чувствителен к дрейфу данных
Метод множественной регрессии (Multiple Linear Regression)	ММР (MLR)	да	да	Статистическое представление результатов <i>vs</i> чувствителен к дрейфу данных
Проекция на Латентные Структуры (Projection on Latent Structures)	ПЛС PLS	да	да	Статистическое представление результатов <i>vs</i> чувствителен к дрейфу данных
Регрессия на Главные Компоненты (Principal Component Regression)	РГК (PCR)	да	да	Статистическое представление результатов <i>vs</i> чувствителен к дрейфу данных
Искусственная Нейронная Сеть (Artificial Neural Network)	ИНС (ANN)	нет	нет	Эффективное представление <i>n</i> -размерных данных <i>vs</i> ограниченное число передаточных функций

1.4.2.1 Метод Главных Компонент

Метод Главных Компонент представляет собой линейный непараметрический метод “сжатия данных” и позволяет представлять и визуализировать исходные данные путем уменьшения числа переменных без существенных потерь информации, а также и выявлять структуру связей между

переменными [134]. Основу МГК составляет комбинирование синхронно изменяющихся (коррелированных) переменных в одну новую переменную и нахождение новых координатных осей. Применительно к двумерному случаю, это означает поворот координатных осей таким образом, чтобы регрессионная линия совпала с одной из осей. В многомерном пространстве, новые координатные оси представляют собой линейные комбинации исходных координатных осей, и между собой и они коррелированы и ортогональны. Первая ось, называется первой "Главной компонентой", ГК1, и выбирается в направлении наибольшей дисперсии исходных данных. Вторая ГК определяется в направлении, ортогональном к ГК1 с наибольшей дисперсией, и т.д. Эта процедура проводится итеративно, таким образом, что ГК1 содержит наибольшее количество исходной информации, ГК2 содержит наибольшее количество оставшейся информации, и так далее. Размерность нового пространства переменных будет равна количеству рассчитанных главных компонент, при этом все ГК ортогональны и каждая предыдущая компонента содержит большее количество информации, чем последующая.

Математически метод МГК сводится к декомпозиция исходной двухмерной матрицы измерений X, и ее представление в виде произведения двух новых матриц, T и P [135], уравнение :

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}^t + \mathbf{E} = \sum_{a=1}^A t_a p_a^t + \mathbf{E} \quad (1.20)$$

где X – таблица из чисел, состоящая из I строк и J столбцов. Каждая строка в такой таблице представляет новый анализируемый образец, а каждый столбец – переменную величину (отклик химического сенсора J_n в образце I_n). Новые матрицы T и P, полученные в результате МГК преобразования, это матрицы счетов (scores) и нагрузок (loadings) соответственно; а E представляет из себя матрицу остатков, то есть неучтенную дисперсию как разницу между значениями данных в новом поостранстве координат и матрицей X. Число столбцов – t_a в матрице T и p_a в матрице P, равно величине A - числу главных компонент и соответствует рангу матрицы X. Число главных компонент при эффективном МГК всегда меньше чем число столбцов (количество сенсоров) в матрице X. При этом величины счетов можно рассматривать как новые координаты (векторы координат в n-мерном пространстве) каждого измерения (образца, или строки матрицы X). Нагрузки представляют собой значения косинусов углов между ГК и исходными переменными, и таким образом отображают вклад сенсоров в ГК. Нагрузки могут варьироваться в диапазоне [-1; +1]; высокая нагрузка означает, что отклик данного сенсора сильно скореллирован с направлением ГК. Значения остатков прямо пропорциональны дисперсии данных в новом пространстве координат.

Суть метода МГК и процедура нахождения новых главных компонент при анализе двух неизвестных образцов, красного и зеленого, с помощью массива,

состоящего из 8-ми химических сенсоров с высокой перекрестной чувствительностью, представлена на **Рис. I.15**.

Так, случай, когда несколько последовательных измерений с сенсорами 1 и 2 проводятся в двух анализируемых образцах (красном и зеленом) может быть легко отображен графически в двухмерном пространстве Декартовой системы координат. Поскольку образцы различаются между собой, на графике с координатными осями, вдоль которых отложены показания сенсоров 1 и 2 соответственно, можно наблюдать две группы тесно прилегающих точек (два кластера), соответствующих серии изменений с двумя сенсорами в двух образцах.

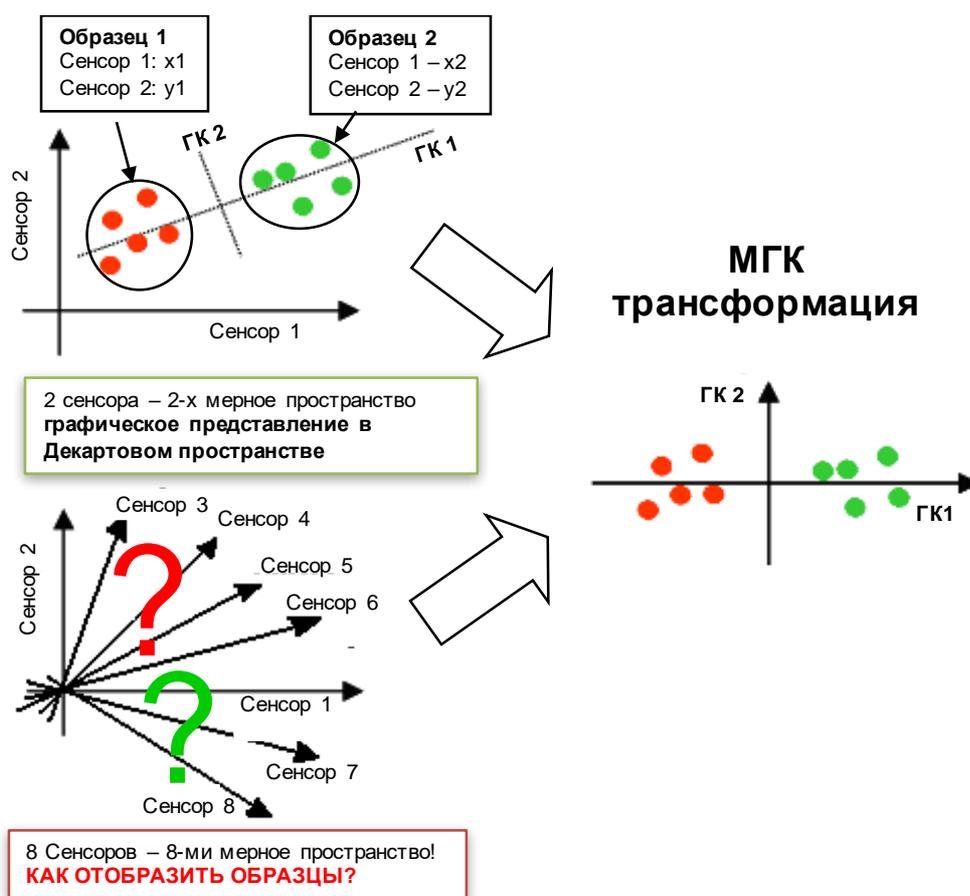


Рис. I.15 Графическая иллюстрация метода главных компонент для дискриминации 2 неизвестных образцов с помощью мультисенсорной системы из 3-х неселективных сенсоров.

Пунктирными линиями отображены направления, в которых дисперсия данных наибольшая. Эти направления и являются собственно главными компонентами (новыми координатными осями) в методе МГК. При этом вектор нагрузок первой главной компоненты (ГК1) определяет ее направление. Вторая главная компонента ортогональна первой, и ее направление (ГК2) соответствует наибольшему изменению в остатках данных, неучтенных в ГК1. Графическое представление отклика всех 8-ми сенсоров, полученных в двух анализируемых

растворах, не представляется возможным, поскольку предполагает изображение 8-мерного пространства, с координатными осями, вдоль которых отложены показания сенсоров 1-8 соответственно. Однако, как упоминалось ранее в разделе I.3.1, использование откликов от всех сенсоров массива важно, поскольку часто это единственный путь к получению искомой информации (количественной или качественной, как в данном примере) о составе сложной анализируемой среды. В этом случае метод МГК позволяет достичь эффективного снижения размерности пространства исходных данных и отобразить анализируемые образцы в новой, двухмерной системе координат (с ГК1 и ГК2 значениями, отложенными по осям), а также регистрировать различия/сходства между образцами.

1.4.2.2 Методы регрессии

Регрессионные методы используются для описания и интерпретации взаимосвязи между несколькими независимыми X- переменными и зависимой Y- переменной (переменными), и для прогнозирования Y- значения новых образцов из значений X- переменных. В простейшем случае одномерная линейная регрессия между переменной x и зависимой y описывается уравнением:

$$y = sx + b \quad (I.21)$$

Данное уравнение в применении к химическому анализу с использованием отдельного сенсора будет называться градуировочной зависимостью, где y это отклик сенсора, x – концентрация аналита, s – угловой коэффициент градуировочной зависимости, b – показания сенсора при нулевой значении x (значение стандартного потенциала для ИСЭ в частности).

Процесс градуировки усложняется при переходе от измерений с одиночным сенсором к применению массива сенсоров, а также при анализе сложных многокомпонентных сред в сравнении с определением одного определенного аналита. В последнем случае на конечный результат оказывает влияние сразу несколько параметров, которые необходимо учитывать с применением методов многомерных калибровок [132]. Необходимо оговориться, что здесь и далее термин «калибровка» в применении к хемометрическому анализу используется как синоним термина «градуировка», который в свою очередь является общеупотребительным в российской литературе по аналитической химии. Процесс калибровки называется многомерным, когда зависимая переменная (концентрация определяемого компонента) является функцией нескольких независимых переменных (отклики сенсоров). Многомерная калибровка проводится по серии калибровочных растворов, которые представляют собой набор многокомпонентных растворов с изменяющейся в заданном диапазоне концентрацией всех компонентов. Калибровочные растворы могут содержать различное число ионных и нейтральных, органических и неорганических

компонентов в зависимости от поставленной задачи. В калибровочной процедуре для представления полученной матрицы данных X используется математическая модель, калибровочный процесс по сути заключается в определении параметров этой модели. После определения параметров модели система может быть использована для анализа проб неизвестного состава.

Подбор наиболее подходящей регрессионной модели часто определяет успешный исход многомерно калибровки и мультисенсорного анализа в целом. В некоторых простых случаях этот выбор может быть сделан на физико-химической основе. Например, для массивов потенциометрических химических электродов может быть использовано уравнение Никольского, процесс калибровки тогда будет заключаться в определении параметров уравнения (стандартных потенциалов и коэффициентов селективности). Однако во многих ситуациях теоретическое описание калибровочной модели недоступно. В этом случае прибегают к эмпирическим моделям, которые должны не только представлять калибровочные данные как можно точнее, но и давать правильные результаты для тестовых проб, неиспользовавшихся в процессе калибровки.

Метод множественной регрессии

ММР является линейным и параметрическим методом, основанным на методе наименьших квадратов [136]. При этом предполагается, что сам сложный сигнал R_i является линейной комбинацией индивидуальных компонентов (предикторов) и может быть представлен в соответствии с уравнением (I.22):

$$R_i = \beta_{1i} \cdot p_1 + \beta_{2i} \cdot p_2 + \dots + \beta_{ni} \cdot p_n + \varepsilon_i \quad (I.22)$$

где β_{ji} – коэффициент i – го компонента, вносящего вклад в R_i ; p_j – сигнал, полученный для чистого j -го компонента; ε_i – значение остатка. Остаток для данного образца и заданной переменной вычисляется как разность между наблюдаемым значением и значением рассчитанным (прогнозируемым) на основе полученной модели. Для n компонентов уравнение (I.22) можно обобщить и записать в матричной форме:

$$R = P \cdot \beta + \varepsilon \quad (I.23)$$

В данной матрице P и R известны, в то время как значения коэффициентов β можно оценить, используя критерий наименьших квадратов. Эта операция подразумевает получение обратной (инвертированной) матрицы, что в свою очередь приводит к проблемам коллинеарности, если переменные не являются линейно независимыми. Независимые переменные, используемые в качестве предикторов в методе ММР, должны быть истинно независимы, что не всегда осуществляется и может приводить к искажению результирующих модельных параметров. Более того, для успешного применения метода ММР число изучаемых образцов должно превосходить число переменных, в противном

случае матрица не может быть инвертирована. Для преодоления указанных сложностей используют метод проекций на латентные структуры, ПЛС.

Методы Проекции на Латентные Структуры (ПЛС) и Регрессии на Главные Компоненты (РГК)

В общем случае, результаты серии M наблюдений, описываемых посредством K зависимых переменных, могут быть представлены в виде матрицы $Y = M \cdot K$; в то время как значения J предсказателей, соответствующих M наблюдениям собраны соответственно в матрице: $X = M \cdot J$. Цель методов регрессии - предсказать Y из X и описать их общую структуру. В случае, когда Y - вектор и X -матрица имеет полный ранг, эта цель достигается с помощью обычной множественной регрессии [137]. Однако, когда число предикторов велико по сравнению с количеством наблюдений, матрица X может быть вырожденной и регрессионный подход не представляется возможным (например, из-за мультиколлинеарности). Несколько подходов были разработаны для решения этой проблемы. Один из подходов заключается в устранении некоторых предсказателей в целях избежания мультиколлинеарности.

Метод регрессии на главные компоненты (РГК) сочетает в себе характеристики метода главных компонент и множественной регрессии. При использовании метода РГК сначала проводится разложение матрицы данных X методом МГК анализа, иными словами X разлагается в соответствии с уравнением (1.20). Затем полученная новая матрица счетов T используется как блок независимых предикторов для ММР регрессии с матрицей откликов Y , т.е. $Y = T \cdot b$, **Рис. 1.16А**. Таким образом, ортогональность полученных новых главных компонент устраняет проблему мультиколлинеарности. Однако проблема выбора оптимального подмножества предикторов (числа главных компонент) остается.

Использование линейного параметрического метода проекций на латентные структуры, ПЛС, заключается в нахождении набора скрытых зависимых переменных из большого набора независимых предикторов и позволяет находить единственное решение в тех случаях, когда система переопределена [138]. При наличии единичной зависимой переменной в форме вектора Y и матрицы исходных данных X , скрытые переменные T_x извлекаются для моделирования X и установления корреляции с Y . В случае, когда зависимых переменных несколько и Y имеет форму матрицы, производится одновременная декомпозиция матриц X и Y , и определяются латентные вектора X -счетов t и Y -счетов u :

$$X = TP^t + E \qquad Y = UQ^t + F \qquad (1.24)$$

Проекция строятся согласованно – так, чтобы максимизировать корреляцию между X и Y (соответственно между векторами t и u) **Рис. 1.16Б**.

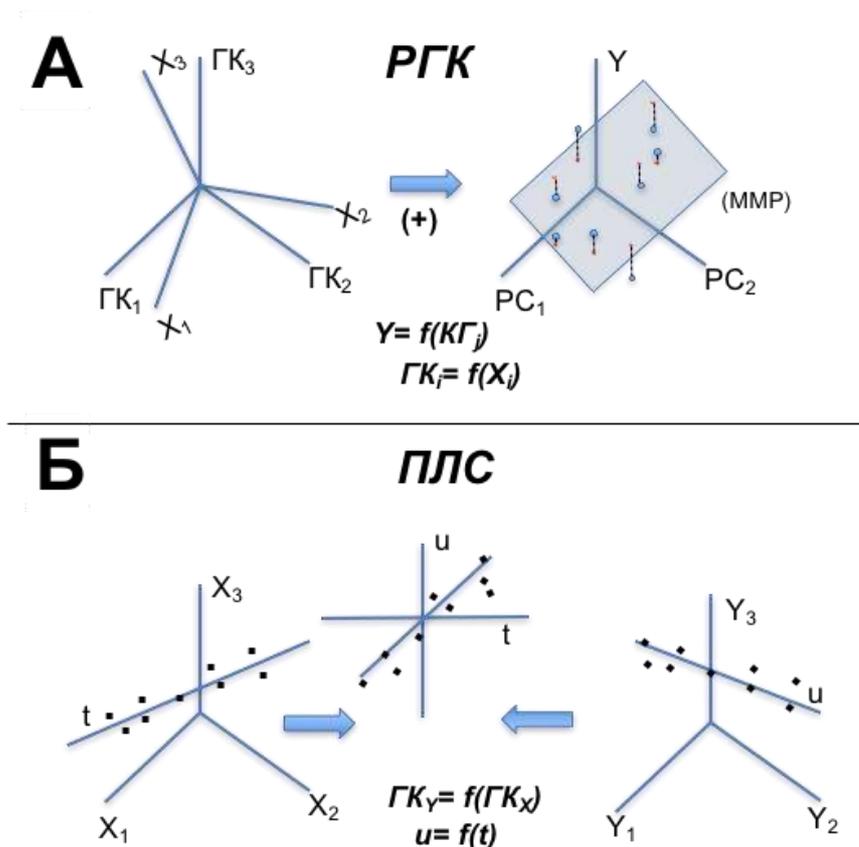


Рис. 1.16 Схематическое графическое представление методов (А) регрессии на главные компоненты, РГК, и (Б) проекции на латентные структуры, ПЛС.

Нагрузки переменных матрицы X рассчитывают как $w_a = u'_a X$, где $u_a = Y$, и a относится к числу измерений. Тогда скрытую переменную находят как $t_a = X w'_a$ и определяют коэффициент v_a , который соотносит скрытые переменные матриц X и Y :

$$u_a = v_a t_a + d, \quad v_a = t'_a u_a / \|t_a\|^2 \quad (1.25)$$

Нагрузочный вектор для X , задаваемый величиной p_a , определяют как $p_a = t'_a X$ и далее нормируют на единицу. Остатки E и F рассчитывают как:

$$E = X - t_a p_a \quad F = Y - v_a t_a. \quad (1.26)$$

При следующем измерении E и F подставляют вместо X и Y и повторяют всю процедуру сначала. Итерация останавливается на значении $a = A$, когда тест на перекрестную проверку показывает, что значение $(a+1)$ не является значимым [139].

Валидация регрессионных моделей

Любая хемометрическая модель, и регрессионные модели в частности,

нуждаются в валидации – проверке ее адекватности и прогнозирующей силы. При проведении многомерной калибровки посредством регрессионных методов точность последней принято характеризовать величиной среднеквадратичной ошибки калибровки, СКОК (Root Mean Square Error of Calibration, RMSEC, в англоязычной литературе), которая вычисляется по формуле (I.26):

$$\text{СКОК} = \sqrt{\sum_i^n \frac{(y_{i,\text{известное}} - y_{i,\text{рассчитанное}})^2}{n-1}} \quad (\text{I.26})$$

Величина СКОК, имеет размерность определяемого параметра, и чем она меньше, тем точнее регрессионная модель описывает обучающие данные. Другим важным параметром, характеризующим успешность калибровки является коэффициент корреляции R^2 между известными концентрациями компонента y и величинами, рассчитанными при помощи регрессионной модели; чем ближе R^2 к единице, тем лучше.

Среднеквадратичное отклонение прогнозирования, СКОП, используется для оценки прогнозирующей способности модели при анализе n тестовых образцов, не вошедших в набор калибровочных данных:

$$\text{СКОП} = \sqrt{\sum_i^n \frac{(y_{i,\text{предсказанное}} - y_{i,\text{истинное}})^2}{n}} \quad (\text{I.27})$$

При этом истинные концентрации доступны из референтных данных (определены посредством стандартных методов анализа, либо тестовые образцы с известными исследователю концентрациями могут быть приготовлены заранее). Чем меньше СКОП, и ближе к единице $R^2_{\text{вал}}$ тем лучше данная регрессионная модель описывает систему. Величина СКОП сильно зависит от количества переменных и от количества измерений. Часто случается, что результаты исследований ограничены небольшим набором экспериментальных данных, и дальнейшее разбиение таких данных на калибровочные и тестовые не представляется возможным. В таких случаях для валидации хемометрических моделей используют метод полной перекрестной проверки (ППП) либо процедуру случайного разбиения (СР). Метод ППП подразумевает использование одних и тех же исследуемых образцов для обучения и проверки прогнозирующей силы модели. В ППП при обучении модели каждый раз опускается один образец, который затем используется как тестовый, и данная процедура повторяется для всех образцов. В методе СР случайным образом отбирается небольшая подгруппа образцов, которые используются как тестовые, и данная процедура повторяется заданное число раз. Необходимо отметить, что часто методы ППП и СР приводят к переоценке модели, когда точность описания обучающих данных значительно лучше, чем качество прогнозирования.

Существует две основных разновидности ПЛС-регрессии, ПЛС1 и ПЛС2, которые в рамках одной модели позволяют предсказывать соответственно один

или несколько параметров. Анализ современных исследований с применением хемометрических методов анализа показывает, однако, что построение отдельных моделей ПЛС1 для прогнозирования каждого нового компонента является предпочтительным, поскольку это позволяет наилучшим образом подобрать состав мультисенсорной системы. Напротив, использование одного и того же набора сенсоров в рамках модели ПЛС2 моделирования часто приводит к снижению прогнозирующей способности модели, поскольку некоторые сенсоры входящие в состав мультисенсорной системы, но неинформативные для данного определяемого компонента будут дестабилизировать модель.

1.4.2.3 Методы классификации

Классификацию, т. е. нахождения сходств и различий между исследуемыми объектами и отнесение их к определенным классам (группам, кластерам, и т.д.) можно осуществлять различными хемометрическими методами, наиболее распространёнными (и использованными в этой работе) являются методы SIMCA и ПЛС-ДА. Метод МГК представляет собой разновидность исследовательского (эксплораторного) непараметрического (unsupervised) анализа, и, несмотря на активное использование во многих работах, не является методом классификации, а дает лишь представление о структуре и дисперсии данных, а также позволяет получить их графическое представление в пространстве уменьшенной размерности (см. Раздел 1.4.2.1).

Метод SIMCA (формальное независимое моделирование классовых аналогий, в англоязычной литературе - soft independent modelling of class analogy), опираясь на аппарат МГК, использует в то же время дополнительные параметры, такие как расстояние между классами и расстояние между новым объектом и центром каждого класса (расстояние Махаланобиса) [140]. При классификации методом SIMCA сначала каждый класс из обучающего набора независимо моделируется методом МГК, а затем, после расчёта расстояния между центрами классов, новые образцы классифицируются в зависимости от их близости к каждому классу. Использование метода SIMCA для дискриминации алкогольных напитков, произведенных из различных растительных источников (винограда и ячменя) проиллюстрировано в форме графика Кумана на **Рис. 1.17**.

Были построены модели для двух классов напитков, вина и пива, неизвестными образцами служили крепкие алкогольные напитки граппа (дистиллят виноградного вина) и виски (напиток на базе ячменя). На графике показаны расстояния от неизвестных образцов до двух классов. Вертикальная и горизонтальная линии определяют доверительный интервал в 10%, находясь внутри которого новые образцы могут быть отнесены к одному из классов. Видно, что все образцы граппы находятся далеко от классов вина и пива, в то время как образцы виски более близки к классу пиво, но тем не менее могут быть легко дискриминированы.

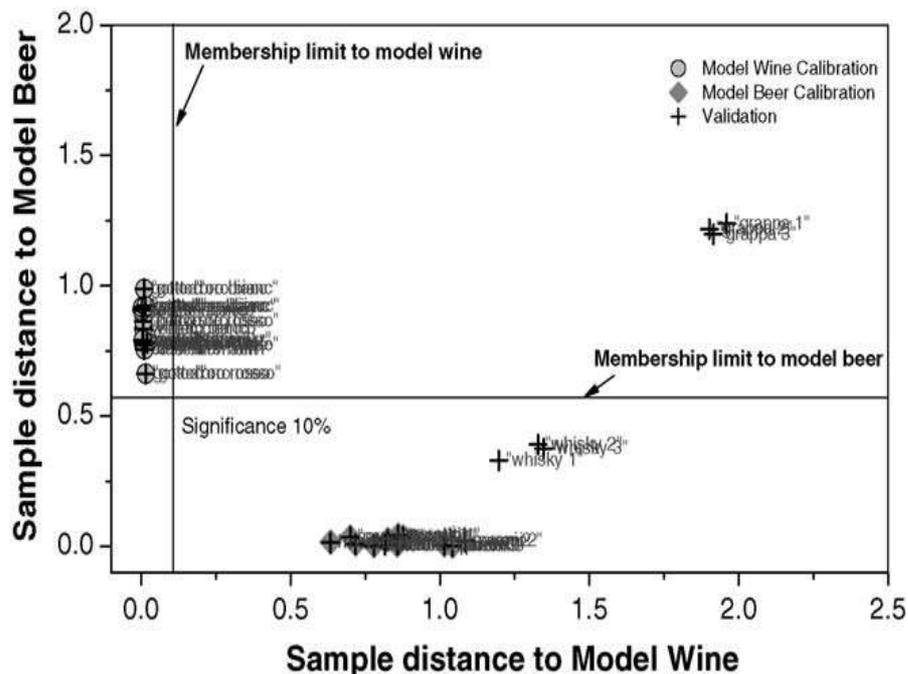


Рис. I.17 SIMCA классификация (график Кумана) алкогольных напитков из различных растительных источников: виноградного вина и граппы, ячменного пива и виски с применением потенциометрической мультисенсорной системы. Печатается из работы [141].

Метод ПЛС-ДА является дискриминантным параметрическим методом с обучением (supervised), поскольку в нем дается исходная информация о принадлежности образцов к различным классам. Наиболее распространенным в ПЛС-ДА анализе является случай бинарной дискриминантной переменной: с ответом Да/Нет о принадлежности к данному классу, К. В этом случае дискриминантная переменная (Y-переменная) кодируется в регрессионной ПЛС модели как простое число, 0 или 1 (Да = 1, Нет = 0). С помощью разновидности ПЛС2 дискриминантный анализ может быть распространен на случай, когда классов больше, чем два. Каждый класс будет представлен посредством двоичной переменной-индикатора со значением 1 для членов этого класса, 0 для не членов. При построении модели ПЛС2 со всеми индикаторными переменными, входящими в матрицу зависимых переменных Y, можно непосредственно прогнозировать членство класса из X-переменных, описывающих образцы. Дискриминационные правила для К классов задаются линейными регрессионными уравнениями вида $XB=D$, где X – матрица исходных данных размерности $(I*K)$, B – матрица неизвестных коэффициентов регрессии $(I*K)$, а $D=Y$ и представляет собой дискриминантную матрицу размера $(I*K)$, состоящую из нулей и единиц. Результат ПЛС-ДА интерпретируется путем сравнения спрогнозированных значений Y-переменной для каждого класса; для $Y_{\text{прогн}} > 0,5$ образец расценивается как член класса; когда $Y_{\text{прогн}} < 0,5$ – образец не принадлежит к данному классу. После валидации, для осуществления которой

могут быть использованы различные методы: проверка с тестовым набором (ПТН), ППП или СР, полученная регрессионная модель может быть применена затем для классификации новых образцов. Для этого результат прогнозирования принадлежности к данному классу K , рассчитанный посредством модели сравнивается с нулем или единицей [136]. Результаты дискриминантного ПЛС-ДА анализа часто представляются в форме так-называемой матрицы ошибок (confusion matrix в англоязычной литературе), в которой отображается число образцов отнесенных к каждому классу, а также количество не классифицированных образцов. Например, в **Табл. 1.3** приведен результат ПЛС-ДА классификации 16 образцов сыра моцарелла, произведенных из коровьего и буйволиного молока с применением массива потенциометрических сенсоров. В соответствии с имеющимися референтными данными о принадлежности образцов сыра к классу сыра, произведенного из коровьего или буйволиного молока были успешно классифицированы 14 сыров, в то время, как 2 образца моцареллы (произведенной из коровьего молока в соответствии с информацией производителя) идентифицировать не удалось. Таким образом, дискриминационная способность построенной ПЛС-ДА модели в последнем примере составила около 88% (14 из 16 образцов успешно классифицированы).

Табл. 1.3 Результаты ПЛС-ДА классификации образцов сыра моцарелла, произведенных из коровьего и буйволиного молока. Печатается из работы [115].

	Референтные данные		
	Коровье молоко	Не классифицированы	Буйволиное молоко
Найдено			
Коровье молоко	8	2	-
Буйволиное молоко	-	-	6

Для обработки многомерных данных, полученных от мультисенсорных систем, используются специальное программное обеспечение, такое как MATLAB, R, Unscreambler, и т.д. Посредством применения специальных библиотек, содержащих стандартные алгоритмы обработки данных (как, в частности Unscreambler) эти программы позволяют проводить эффективный хемометрический анализ. Более того, языки программирования, используемые в MATLAB и R, дают возможность вносить различные модификации, либо создавать совершенно новые, авторские алгоритмы расчётов и предварительной обработки данных.

I.5 Постановка задачи и методы ее решения.

На основании проведенного анализа литературных данных можно заключить следующее: в настоящее время существует большое количество химических сенсоров, применение которых позволяет решать многие задачи аналитической химии и проводить определение широкого спектра соединений. Разработаны теории функционирования и селективности, позволяющие создавать высокочувствительные сенсоры, основанные на различных методах передачи сигнала: электрохимические, оптические, пьезоэлектрические и другие. Данные сенсоры эффективны при анализе сложных сред и позволяют проводить количественное определение интересующего аналита в присутствии большого числа других компонентов. Достоинством анализа с применением химических сенсоров является его экспрессность, отсутствие необходимости пробоотбора и пробоподготовки. Однако, как показывает анализ современных исследований, число работ, посвященных разностороннему систематическому изучению определенных классов мембраноактивных веществ с целью создания новых сенсорных материалов «под задачу», невелико. По-прежнему в большинстве случаев соединения, полученные в результате направленного синтеза, но не обладающие ожидаемыми свойствами, отбрасываются как непригодные, возможность использования таких материалов в мультисенсорном анализе не рассматривается, хемотрической обработки их отклика не производится, редко исследуется влияние природы мембранного материала и методов передачи сигнала на чувствительность и срок действия сенсорного материала. Очевидна необходимость в решении комплекса перечисленных проблем и развитии новых методических подходов к поиску чувствительных материалов для разработки новых химических сенсоров.

Исходя из вышеперечисленных соображений, задачи данного исследования состояли в следующем:

- 1) Обоснование выбора мембраноактивных веществ на основе порфиринов и гетерокраун-эфиров с требуемыми электрохимическими и оптическими свойствами. Для этого критически оценивали следующие характерные особенности молекулярной структуры исследуемых соединений:
 - гетероциклическая природа макроциклов и возможность модуляции комплексующих свойств посредством варьирования природы и числа гетероатомов в составе макроцикла, а также размера внутренней молекулярной полости;
 - наличие, количество и природа боковых заместителей (ароматических и (или) алифатических) в молекулярной структуре указанных макроциклов;
 - природа центрального металла в составе макроциклов.
- 2) Исследование характеристик сенсорных материалов на основе отобранных соединений. Изучение морфологии полученных материалов, а также их

- чувствительности, времени отклика, селективности и пределов обнаружения создаваемых на их основе сенсоров;
- 3) Установить влияние природы мембранной матрицы и способов передачи аналитического сигнала, включая мульти-трансдуктивный подход, на аналитические характеристики сенсоров;
 - 4) Оценить потенциально возможные области применения разработанных сенсоров;
 - 5) Разработка методик химического анализа различных объектов с применением как селективных сенсоров, так и сенсоров с перекрестной чувствительностью в составе мультисенсорных систем.

Методика эксперимента

В настоящей главе перечислены химические соединения и мембраноактивные компоненты, использованные для приготовления сенсорных материалов, а также прочие реагенты, применявшиеся в исследованиях. Приведены структурные формулы использованных веществ-компонентов сенсорных материалов. Описаны использованные аналитические процедуры, детали проведения экспериментов и конструкции измерительных установок. Для удобства изложения материала, приведена лишь общая информация о составе изученных мембран и синтезе композитных материалов, в то время, как более подробные сведения, включающие таблицы составов с процентными содержаниями компонентов мембран представлены далее в соответствующих главах.

II.1 Компоненты мембран и другие реагенты.

В работе были исследованы мембраны на основе пластифицированного поливинилхлорида (ПВХ). Пластификаторами служили *o*-нитрофенилоктиловый эфир (ОНФОЭ) и диэтилгексилсебацат (ДЭГС); в качестве липофильных добавок использовали тетра-*p*-хлорфенилборат калия (ТпСлФБК), тетракис(3,5-бис-трифторметил)фенилборат калия ($T(CF_3)_2$ ФБК), тридодецилметиламмоний хлорид (ТДМАСл) и тетрадодециламмоний хлорид (ТДАСл). Остальные мембраноактивные вещества и прочие реагенты, в частности: гептил-4-трифторацетилбензоат (Карбонатный ионофор I), 4-бутил- α,α,α -трифторацетофенон (Карбонатный ионофор IV), нонактин, тетрадециламмоний нитрат (ТДАНОз), тетра-*n*-бутиламмоний перхлорат (ТБАСлО₄), трис(гидроксиметил)-аминометан (TRIS), 4-2-(*N*-морфолино) этансульфоновая кислота (MES), 4-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-этансульфоновая кислота (HEPES), 3-(*N*-морфолин)-пропансульфоновая кислота (MOPS), тетрагидрофуран (ТГФ), ацетонитрил (АЦН), диметилформамид (ДМФ), дихлорометан, пиридин, анилин, пиррол, этанол, метанол, дигидроацетат цинка, гексаметилентетрамин, L-цистеин, L-пролин, L-аланин, L-глицин, L-аргинин, L-аскорбиновая кислота, L-глутаминовая кислота, L-лейцин, мочева кислота, жирные кислоты (олеиновая, линолевая и линоленовая), жирорастворимые пищевые красители Судан I (1-[(2,4-диметилфенил)азо]-2-нафталинол) и Судан IV (1-[2-метил-4-(2-метилфенилазо)-фенилазо]-2-нафталинол), микроцистин (10.2 мкмоль/л метанол-водный раствор 1:1 по объему), гексацианоферрат(III) калия ($K_3[Fe(CN)_6]$), гексацианоферрат(II) калия ($K_4[Fe(CN)_6]$), натриевые соли различных неорганических анионов, хлориды щелочных, щелочно-земельных, переходных и тяжелых металлов (или нитраты в случае малорастворимых хлоридов) были максимально возможной чистоты от фирм Fluka и Aldrich.

Все порфирины, корролы и их металлические комплексы были синтезированы на факультете Химических наук и Технологий университета "Тор Вергата", Рим, Италия в соответствии с известными синтетическими процедурами [142, 143]. Чистота полученных соединений и соответствие их структурным формулам были проверены методами оптической, ИР и ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии и рентгеноструктурным анализом. Были исследованы следующие соединения: 5,10,15,20-тетрафинилпорфирин- и 2,3,7,8,12,13,17,18-октаэтилпорфириновые комплексы платины(II), (Pt(II)TPP и Pt(II)OEP соответственно), 5,10,15,20-тетрафенил-порфиринатодихлорид платины(IV) (Pt(IV)TPPCl₂), 5,10,15-трифенил-коррол (TPCorrH₃), 5,10,15-трифенилкорролхлорид марганца(III) (TPCorrMnCl), 5,10,15-трис(4-трет-бутил-фенил)коррол меди (II) (Tt-butPCorrCu), 5,10,15-трифенил-корролхлорид железа(III) (TPCorrFeCl) и 2,3,17,18-тетраэтил-7,8,12,13-тетраметилкорролхлорид железа (III) (Et₄Met₄CorrFeCl), 5,10,15-трис(4-аминофенил)-20-фенилпорфиринаты меди(II) и кобальта(II) (Co(II)TATPP и Cu(II)TATPP соответственно), 5-моно(4-аминофенил)-10,15,20-трис-фенилпорфиринхлориды железа(III) и марганца (III) (FeCl(III)MATPP и MnCl(III)MATPP соответственно), 5,10,15,20-тетрафенилпорфирин хлорид кобальта(III), (Co(TPP)Cl), натриевые соли 5,10,15,20-тетра(4-сульфонатофенил)-порфиринхлорид марганца(III), (Mn(Cl)TPPS) и 5,10,15,20-тетра(4-сульфонатофенил)-порфиринат меди(II) (CuTPPS), мезо-тетра-ферроценилпорфирин (TPFc₄), а также серия n-алкил-(1-пиррол)-фенил-порфиринов и их Mn(III)- и Co(II)-комплексы. Структурные формулы Pt-порфириновых и коррол-ионофоров представлены на **Рис. II.1**.

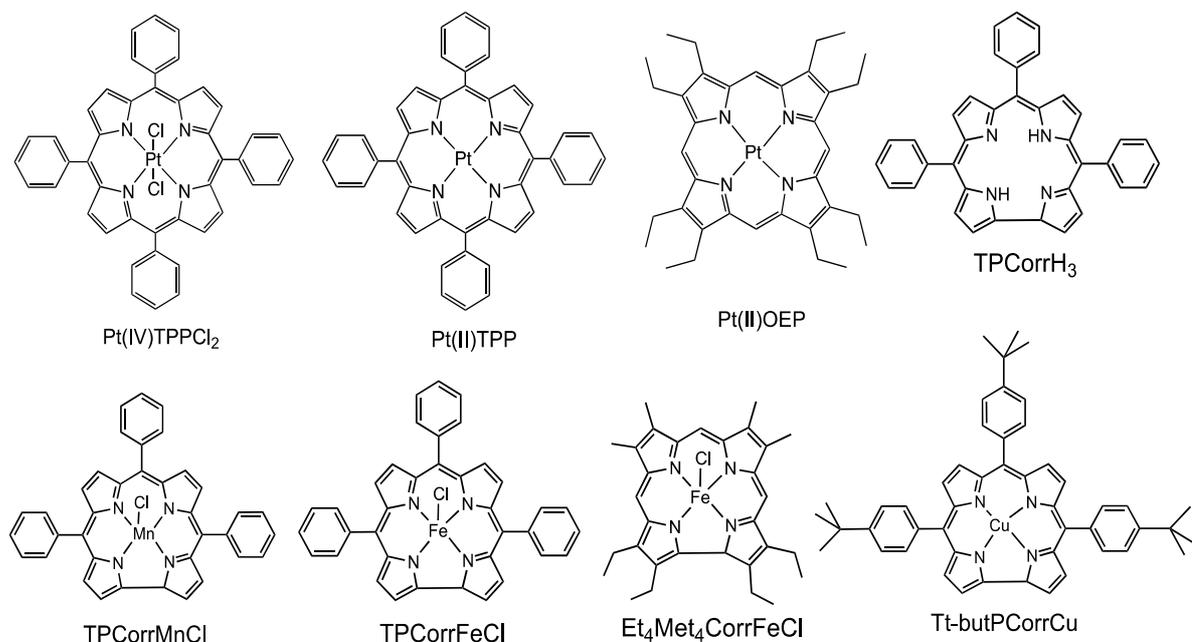


Рис. II.1. Структурные формулы изученных Pt-порфириновых и коррол-ионофоров.

Структурные формулы коммерческих карбонатных ионофоров и 5,10,15-трис(4-аминофенил)-20-фенилпорфиринов меди(II) и кобальта(II), изученных в настоящей работе для определения бикарбоната, представлены на **Рис. II.2**. Молекулярные структуры 5-моно(4-аминофенил)-10,15,20-трис-фенилпорфиринхлоридов железа(III) и марганца (III) и мезо-тетра-ферроценилпорфирина (TPFc₄) приведены на **Рис. II.3**.

Кумарин-замещенные тиа-аза-гетероциклы, в частности 1-(7-метоксикумарин-4-метил)-1-аза-4,7,10-трис-тиацклододекан (**L1**), 1,7-бис(7-метоксикумарин-4-метил)-1,7-диаза-4,10-дитиацклододекан (**L2**), 5-(7-метоксикумарин-4-метил)-2,8-дитиа-5-аза-2,6-пиридинофан (**L3**) были синтезированы на факультете Химических и Геологических наук университета Калгари, Монсеррато, Италия. Оксихинолин производные диаза-18-краун-6 эфиров, в частности 1,10-бис((8-окси-7-хинолинил)метил)-1,10-диаза-18-краун-6-эфир (DCHQ-H), 1,10-бис((5-нитро-8-окси-7-хинолинил)метил)-1,10-диаза-18-краун-6-эфир (DCHQ-NO₂), 1,10-бис((5-октанола-8-окси-7-хинолинил)метил)-1,10-диаза-18-краун-6-эфир (DCHQ-Ott), 1,10-бис((5-фенил-8-окси-7-хинолинил)метил)-1,10-диаза-18-краун-6-эфир (DCHQ-Ph) были синтезированы на Химическом факультете "G. Ciamician" университета Болоньи, Италия. Чистота полученных соединений и их соответствие ожидаемым химическим структурам были проверены методами ЯМР и масс-спектрометрии. Молекулярные структуры изученных гетеро-краун эфиров приведены на **Рис. II.4**.

Молекулярные структуры пластификаторов, коммерческих ионообменников и нонактина, использованные в настоящей работе, приведены на **Рис. II.5**. Молекулярные структуры исследованных пиррол-замещенных порфиринов представлены на В общей сложности были изучены 13 мономеров, процедура синтеза и которых подробно описана нами в работе [144]. Все химические соединения имели степень чистоты ЧДА (чистые для анализа). Для проведения экспериментов использовали (если не оговорено иначе) дистиллированную воду.

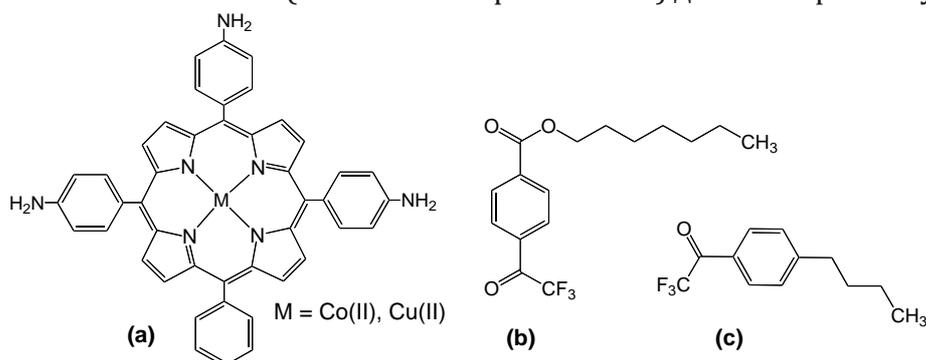


Рис. II.2 Молекулярные структуры (а) 5,10,15-трис(4-аминофенил)-20-фенилпорфиринов меди(II) и кобальта(II), (б) гептил-4-трифторацетилбензоата (Карбонатный ионофор I), (в) 4-бутил- α,α,α -трифторацетофенона (Карбонатный ионофор IV).

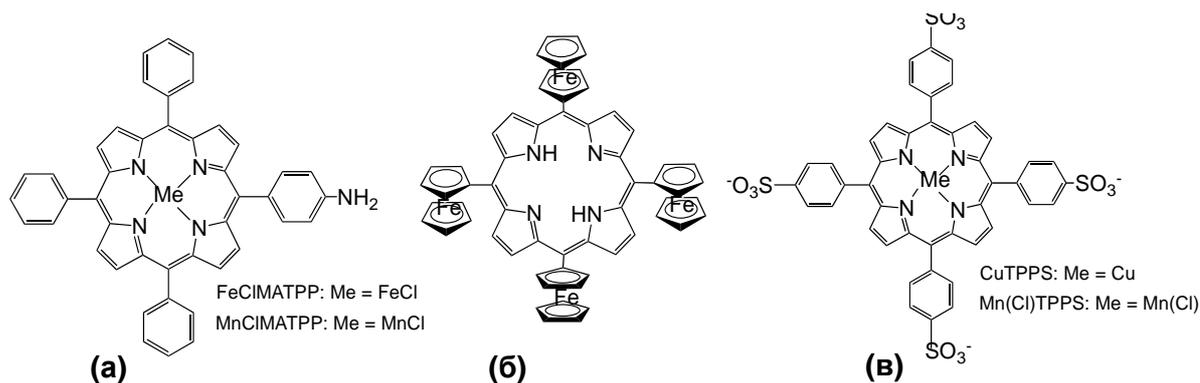


Рис. II.3 Молекулярные структуры (а) 5-моно(4-аминофенил)-10,15,20-трисфенилпорфиринхлоридов железа(III) и марганца (III) (б) мезо-тетраферроцилпорфирина (TPFc₄), (в) 5,10,15,20-тетра(4-сульфатофенил)-порфиринатов меди (II) и марганца(III).

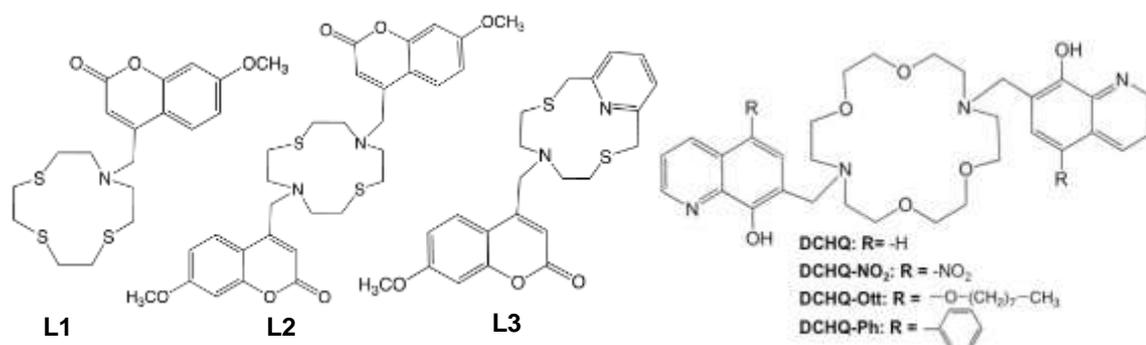


Рис. II.4. Структурные формулы изученных гетеро-краун эфиров.

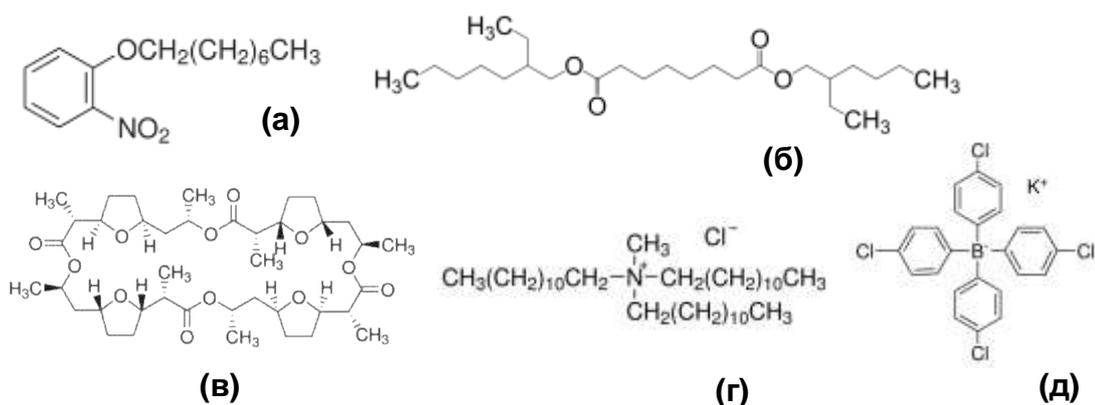


Рис. II.5. Молекулярные структуры пластификаторов , обычных ионофоров и ионообменников , используемые в этой работе : (а) ДОС , (б) онФОЭ , (в) нонактин, (г) тридодecilметиламмоний хлорид (ТДМАСl), (д) тетра-п-хлорфенилборат калия (ТпСlФБК)

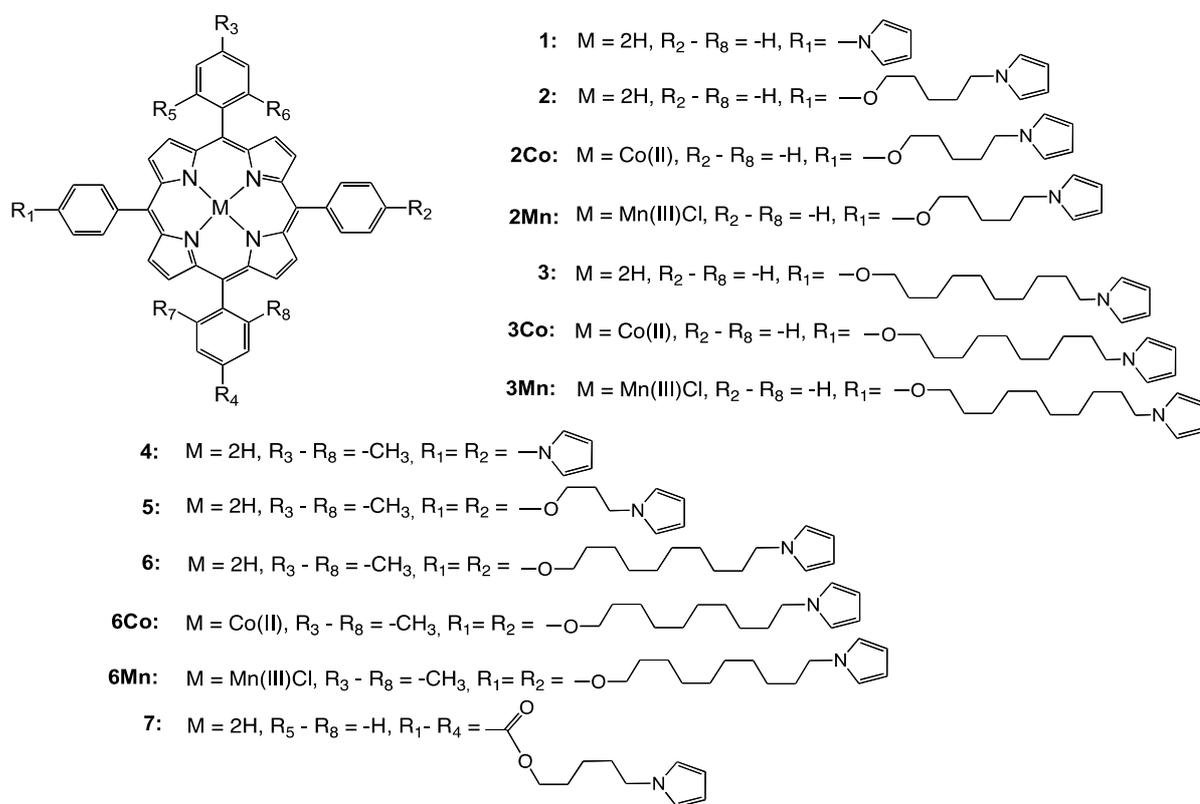


Рис. II.6 Структурные формулы синтезированных пиррол-замещенных порфиринов, печатается из работы [144].

II.2 Приготовление сенсоров

II.2.1 Потенциометрические сенсоры

II.2.1.1 Рабочие электроды для приготовления сенсоров с твердым контактом.

Для приготовления потенциометрических сенсоров с твердым контактом были использованы два типа рабочих электродов:

- Электроды из металлической платины (Pt) или стеклоуглерода (GC) с плоской поверхностью, заключенные в тефлоновый корпус (длина 3 см, 3 мм в диаметре, AMEL, Италия);
- плоские стеклянные электроды с поверхностью, модифицированной проводящим слоем оксида индия-олова (ITO электроды) высотой в 30 нм с номинальным сопротивлением 30-60 Ом/кв (Aldrich).

Перед нанесением чувствительных мембран поверхность Pt и GC электродов полировали с применением суспензий оксида алюминия (размер частиц 0,5, 0,03 и 0,01 нм), ополаскивали проточной водой и очищали от остатков полирующих суспензий в ультразвуковой ванне в течение 15 мин, затем промывали метанолом и сушили на воздухе. ITO электроды нужного размера вырезали с помощью специального резца с алмазным наконечником, промывали метанолом и сушили

на воздухе. Чистоту поверхности обоих типов рабочих электродов контролировали методом ЦВА в водных растворах 1 моль/л H_2SO_4 при сканировании потенциала в диапазоне от -0.2 до 1.2 В до получения стабильных значений поверхностного тока.

II.2.1.2 Приготовление полимерных мембран на основе ПВХ и сенсоров с твердым контактом.

Общий вес мембран на основе ПВХ составлял 100 мг. Соотношение пластификатора и ПВХ во всех мембранах было фиксированным и составляло 2:1 по массе. Содержание МАК (ионофора либо флуорофора и различных липофильных добавок) в мембранах составляло 1-10 % по весу. Все компоненты растворяли. Для приготовления мембранной композиции все компоненты растворяли в 1 мл ТГФ. Для получения твердоконтактных сенсоров около 20 мкл мембранной композиции наносили с помощью микропипетки на поверхность соответствующего рабочего электрода (Pt, GC или ITO-модифицированного стекла). Растворитель испаряли в течение суток.

II.2.1.3 Приготовление сенсоров с ПВХ мембранами с внутренним жидкостным заполнением.

Для получения сенсоров с внутренним жидкостным заполнением готовили мембранные коктейли с общим весом 300 мг, которые затем переносили в чашки Петри. Из полученных в результате испарения ТГФ пленок вырезали мембраны нужного диаметра (около 9-12 мм), которые наклеивали на торцы электродных корпусов (трубки изготовленных из ПВХ, длиной 12 см и 1 см в диаметре) при помощи специального клея, представляющего собой 10 % по весу раствор ПВХ в циклогексаноне. После высыхания клея сенсоры заполняли 0.01 М раствором хлорида натрия и вымачивали двое суток перед началом измерений.

II.2.1.4 Мембраны, полученные методом электрополимеризации

Мембраны получали из 1-3 ммоль/л растворов порфириновых мономеров в различных растворителях на фоне 0.1М ТБАС ClO_4 методами циклической вольтамперометрии (ЦВА) и хроноамперометрии (ХА) на поверхности различных рабочих электродов: Pt, GC, ITO-модифицированного стекла или один из двух Au-затворов кварцевых микровесов (КМВ). Использовали стандартную 3-х электродную ячейку, снабженную НКЭ электродом сравнения и Pt вспомогательный электрод (проволока длиной 5 см и 0,5 мм в диаметре). Если не оговорено иначе в соответствующих разделах, растворы дезоксигенировали барботированием N_2 в течение 10 мин непосредственно перед началом электрополимеризации. до эксперимента. Потенциостат - гальваностат AMEL 7050 (AMEL, Италия) был использован для получения электрополимеризованных сенсорных материалов. Каждый раз использовали

свежеприготовленный раствор мономера. По окончании электрополимеризации электроды промывали дистиллированной водой и сушили на воздухе.

II.2.2 Оптические сенсоры

Оптические сенсоры получали нанесением на прозрачное предметное стекло необходимого размера (обычно 1.5*0.7 см) 5 мкл мембранного коктейля пластифицированной ПВХ мембраны, которая, после полного испарения растворителя ТГФ принимала форму точечного полимерного покрытия диаметром 2-5 мм, удерживаемого на поверхности стекла за счет адгезии. В качестве оптических сенсоров исследовали также электрополимеризованные пленки на основе порфирин-замещенного полипиррола.

II.2.3 Композитные материалы на основе nano-структур оксида цинка

Наноструктуры ZnO (в форме стержней) были синтезированы посредством гидротермального метода на ITO подложке. Для инициации роста стержней ZnO, на подложку ITO точно наносили маточный раствор, приготовленный путем добавления безводного ацетата цинка (54.9 мг) в 50 мл абсолютного этанола. Для повышения поверхностной адгезии к ITO субстрату и улучшения каплеобразования ZnO, подложку облучали УФ лампой в течение 20 мин. После формирования исходных центров кристаллизации ZnO на подложке, ее отжигали на воздухе при 400°C в течение 30 мин. Затем подложки с закрепленными центрами кристаллизации ZnO вертикально погружали в водный раствор А: 0.01 моль/л дигидроацетата цинка и гексаметилентетрамина в дистиллированной воде, освещали УФ-излучением и проводили синтез вертикальных стержней ZnO при температуре 90°C в течение 3ч. По окончании синтеза, полученные нанокompозитные материалы промывали дистиллированной водой и сушили на воздухе при комнатной температуре. Для получения металлопорфирин-декорированных структур 0.1 ммоль/л растворы CuTPPS (5.4 мл) и/или Mn(Cl)TPPS (5.5 мл) добавляли непосредственно в 50 мл раствора А. Дальнейший синтез проводили как описано выше. Процесс синтеза порфирин-декорированных nano-структур оксида цинка посредством гидротермального метода схемаически представлен на **Рис. II.7**.

Все исследованные в работе чувствительные материалы и сенсоры на их основе были изучены как минимум в трехкратном повторении. Приведенные далее в тексте работы численные параметры различных сенсорных характеристик являются усредненными значениями как минимум трех измерений (параллельных с тремя идентичными сенсорами либо последовательных для ситуаций, когда изготовление большого числа идентичных сенсоров было затруднено).

II.3 Измерения с сенсорами

II.3.1 Потенциометрические измерения

Потенциометрические измерения с сенсорами с внутренним жидкостным контактом производились в ячейке:

Hg| Hg_2Cl_2 , KCl_{нас.} || исследуемый раствор || мембрана || NaCl 0.01 мол/л, AgCl |Ag

Электродом сравнения служил насыщенный каломельный электрод, НКЭ (AMEL, Италия), заполненный насыщенным раствором хлорида калия. Измерения потенциалов сенсоров с точностью $\pm 0,1$ мВ производили при помощи 8-канального цифрового вольтметра Liquilab («Ecosense srl», Италия) с высоким входным сопротивлением, подключенного к персональному компьютеру для сбора и обработки данных. Сбор данных осуществлялся в программе ET_2.1 («Ecosense srl», Italy). Все измерения проводились при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$). Твердоконтактные электроды, в зависимости от материала рабочего электрода и конструкции тестировали в следующих ячейках:

Hg| Hg_2Cl_2 , KCl_{нас.} || исследуемый раствор || мембрана || Ag-паста |Cu-проводник

Hg| Hg_2Cl_2 , KCl_{нас.} || исследуемый раствор || мембрана || Pt/GC/ITOстекло

II.3.2 Амперометрические измерения

Вольтамперометрические измерения проводили методами ЦВА, ДИВ и ХА в стандартной 3-х электродной ячейке, состоящей из ITO модифицированного рабочего электрода, Pt-вспомогательного и НКЭ электрода сравнения. Для проведения измерений использовали лабораторный потенциостат-гальваностат AMEL 7050 (AMEL, Италия) и портативный потенциостат PalmSens³ с программным обеспечением PS-Trace (Palm Instruments, Нидерланды).

II.3.3 Оптические измерения

Для изучения оптической активности разработанных сенсорных материалов. применяли методы УФ-видимой спектроскопии и флуориметрии. Для этого использовали спектрофотометр Cary 50 и флуорометр SHIMADZU RF-1501 соответственно. Спектры адсорбции и флуоресцентной эмиссии регистрировали в прозрачной стеклянной кювете объемом 4 мл с длиной оптического пути 1 см. Тонкие пленки полимерных мембран отливали на предметных стеклах нужного размера (длина 1.5 см, ширина 7 мм) и помещали в кювету в присутствии (если не оговорено иначе) исследуемого аналита. Толщина полимерной мембраны составляла около 300 мкм. Композитные материалы на основе нано-структур оксида цинка и электрополимеризованные сенсорные материалы получали на стеклянных поверхностях нужного размера (длина 1,5 см, ширина 7 мм) с ITO подложкой и исследовали аналогично тому, как описано выше

в данном разделе. УФ-видимые спектры регистрировали после 3 и 10 мин вымачивания сенсорного материала в анализируемом образце при флуориметрическом и спектроскопическом анализе соответственно.

В CSPT-анализе в качестве полихромного источника облучения использовали экран компьютера (TFT-LCD Daewoo, модель L1711MN). В качестве источников монохромного облучения применяли портативную УФ-лампы (365 нм, Vilber Lourmat, модель VL-6.LC) либо коммерческий InGaN точечный светодиод, СД (385 нм, Roithner LaserTechnik, Австрия, модель H2A1-H385). Прозрачную измерительную ячейку из стекла или поликарбоната помещали фронтально, либо под углом 90° (при исследовании оптодов на основе флуорофоров) к источнику облучения. В ячейку помещали анализируемый образец и оптический сенсор (или массив сенсоров). Веб-камеру (Logitech QuickCam® для ноутбуков, разрешение 352x288 пикселей), размещенную перед измерительной ячейкой и подключённую к тому же компьютеру, экран которого служил источником излучения, использовали в качестве детектора оптического сигнала. Полученный видеосигнал обрабатывали специальным образом для экстракции цифровых выходных значений изменения оптической плотности сенсора при изменении концентрации аналита. Для обработки и конвертирования видеосигналов использовали специально написанные алгоритмы MATLAB.

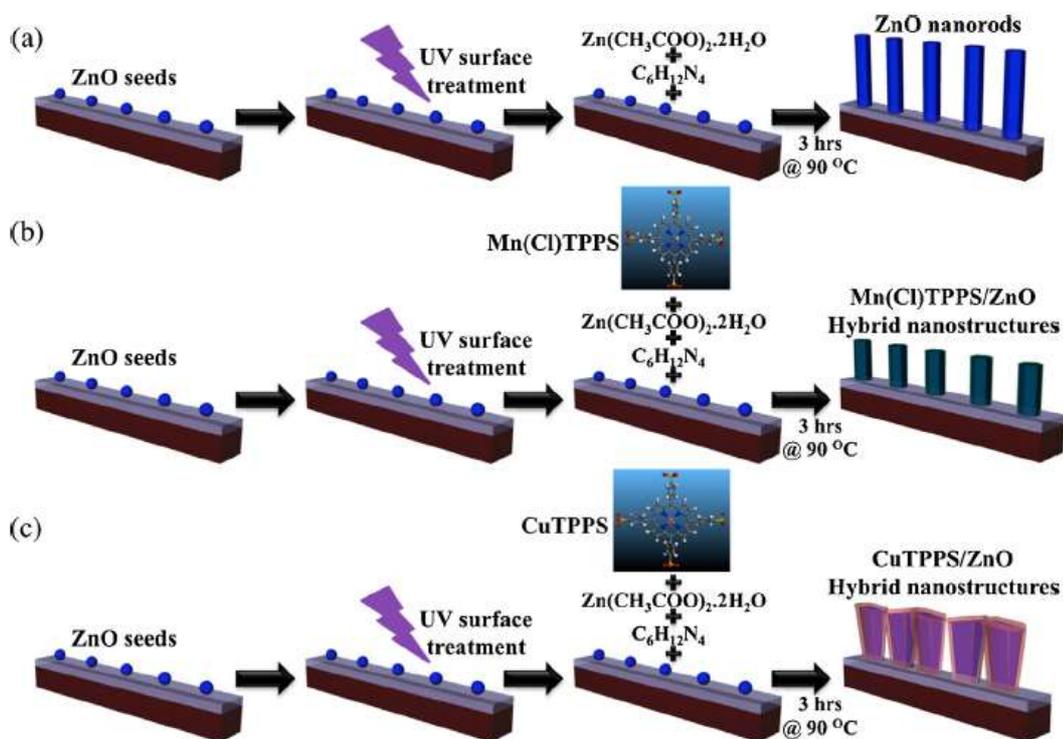


Рис. II.7 Процедура синтеза порфирина-декорированных нано-структур оксида цинка посредством гидротермального метода. Печатается из работы [145].

II.3.4 Фотозлектрохимические измерения

Фотозлектрохимическую активность композитных материалов на основе металлопорфирин-декорированного оксида цинка изучали при комнатной температуре в стандартной 3х-электродной ячейке. В качестве рабочего электрода служил стеклянный электрод с ITO (оксид индия-олова, Indium-Tin Oxide в англоязычной литературе) модифицированный наноструктурами оксида цинка (ZnO) или металлопорфирин-декорированным ZnO (ZnO/МП). Платиновый проволочный электрод и НКЭ (AMEL, Италия) служили в качестве вспомогательного электрода и электрода сравнения. Применяли методы ЦВА и ДИВ. Фототок измеряли в темноте и при облучении исследуемых материалов белой светодиодной подсветкой ($\lambda_{\text{возб}}=400 \text{ nm}$) в течение 30 секунд, либо под действием УФ-освещения ($\lambda_{\text{возб}}=365 \text{ nm}$, время отлучения 70 сек).

II.3.5 Условия экспериментов

Если не оговорено отдельно, отклик потенциометрических сенсоров изучали на фоне дистиллированной воды, либо в 0.01 моль/л буферных растворах с различными значениями pH: MES - NaOH (pH = 5,5), HEPES-HCl (pH = 7.5), 0,01 M TRIS-HCl/H₂SO₄/HNO₃ (pH = 8.6) и ацетатного буфера (pH = 4.7) путем градуировки по серии стандартных растворов в диапазоне концентраций 10⁻⁷ – 10⁻¹ моль/л. Для этого производили последовательные добавки рассчитанных количеств стандартных концентрированных растворов исследуемого аналита (обычно с концентрациями 10⁻⁴ моль/л, 10⁻² моль/л и 1 моль/л) в фоновый раствор при перемешивании (150 об/мин, с помощью магнитной мешалки ММ 3М) каждые 100 с. Измерения проводили в индивидуальных солевых растворах хлоридов, содержащих следующие катионы: Li⁺, Na⁺, K⁺, NH₄⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Ni²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺, Cu²⁺, Hg²⁺ и в нитрате свинца, а также в индивидуальных растворах солей натрия, содержащих анионы: Cl⁻, Br⁻, I⁻, F⁻, NO₃⁻, NO₂⁻, HCO₃²⁻, SO₄²⁻, HPO₄²⁻, H₂PO₄⁻, ClO₄⁻, SCN⁻, Sal⁻.

Влияние pH на отклик сенсоров (потенциометрических и оптических) оценивали в универсальном буферном растворе (UBS) следующего состава: 6,7 ммоль/л лимонной кислоты, 11.4 ммоль/л борной кислоты и 0.01 моль/л NaH₂PO₄ начальный pH 2.8, путем последовательного добавления небольших количеств (50 мкл) 1 M NaOH , до конечного значения pH 10.5. Для контроля значений pH использовали стеклянный pH-электрод (AMEL, Италия). Между измерениями электрод промывали дистиллированной водой и хранили в 0.1 моль/л растворе HCl.

Чувствительность сенсоров к микроцистину изучалась методом градуировки по серии стандартных растворов в диапазоне концентраций 10⁻¹¹ – 10⁻⁷ моль/л, полученных разведением 10.2 мкмоль/л метанол-водный раствор 1:1 по объему в водопроводной воде (зона Тор Вергата, Рим, Италия, pH 7.8). Проводили потенциометрические исследования с массивом перекрестно-чувствительных сенсоров на основе металлопорфиринов, а также оптические CSPT тесты.

Чувствительность сенсоров к жирным кислотам, компонентам растительных масел, изучали потенциометрически в проточной ячейке на фоне 0.1 моль/л водного KCl в качестве подвижной фазы посредством последовательных инъекций отдельных аналитов в диапазоне концентраций 1-500 ммоль/л. Несущей поток генерировали с помощью перистальтического насоса (Minipulse3, GILSON, модель M312), скорость потока составляла 1 мл/мин. Свежеприготовленные 0.1 моль/л водные растворы L-аскорбиновой кислоты, L-глутаминовой кислоты и L-лейцина и 0.1 моль/л растворы олеиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот в этаноле, были использованы для градуировок. Чувствительность сенсоров к исследованным аналитам и pH оценивали посредством нахождения угловых наклонов градуировочных функций в координатах E, мВ – рХ, как описано в разделе II.3.6.1.

Отклик электрополимеризованных мембран на основе порфирин-замещенного полипиррола в растворах пищевых красителей Судан I и Судан IV в диапазоне концентраций от $8.6 \cdot 10^{-8}$ до $3.8 \cdot 10^{-5}$ моль/л в 0.01 моль/л ацетатном буфере (ABS, pH 4.7) изучали методом дифференциально-импульсной (ДИВ) вольтамперометрии. Вольтамперограммы регистрировали в диапазоне от 0 до -0.8, -1.0 В, с импульсами в 0.025 В и размером шага в 0.005 В, в инертной N₂ атмосфере. ABS получали путем растворения соответствующих количеств ацетата натрия и уксусной кислоты в дистиллированной воде. Стандартные растворы Судана I ($5 \cdot 10^{-3}$ моль/л) и Судана IV ($2.6 \cdot 10^{-4}$ моль/л) были приготовлены в этаноле и между измерениями хранились при 4 °С в темноте.

Для исследования проводимости порфирин-замещенных полипиррольных мембран, полученных методом электрополимеризации, и композитных материалов на основе порфирин-декорированного оксида цинка использовали метод ЦВА в 2-3 ммоль/л растворе Fe(CN)₆^{3-/4-}, который готовили перед каждым новым измерением посредством добавления рассчитанных количеств стандартных 0.1 моль/л водных растворов K₃[Fe(CN)₆] и K₄[Fe(CN)₆] солей в 0.1-0.2 моль/л фоновом растворе KCl. Потенциал изменяли в диапазоне от -0.5 до 0.6-1.1 В с частотой развертки 100 мВ/сек.

Фотохимическую отклик ZnO/МП композитных материалов изначально изучали в 2 ммоль/л Fe(CN)₆^{3-/4-} пробе на фоне 0.01 моль/л HEPES (pH 7.5) и 0.2 моль/л KCl методом ЦВА, изменяя наложенный потенциал в диапазоне от -0.5 до 1.2 В, и скоростью развертки потенциала 100 мВ/сек в темноте и при облучении белой светодиодной подсветкой ($\lambda_{\text{возб}}=400$ nm) в течение 30 секунд. Анодный ток в процессе фотоэлектрохимического окисления L-цистеина регистрировали методом ДИВ на фоне 0,01 моль/л HEPES (pH 7.5 в диапазоне от 0 до 1,1 В, с импульсом в 0.025 В и размером шага в 0,005 В, в темноте и под действием УФ-освещения ($\lambda_{\text{возб}}=365$ nm, время отлучения 70 сек). Избирательный отклик порфирин-декорированных ZnO композитных материалов L-цистеину тестировали в бинарных растворах, содержащих $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л L-цистеина и десятикратно-превышающее количество (5 ммоль/л) близких по химическим

свойствам соединений: аминокислот L-пролина, L-аланина, L-глицина, L-лизина, L-аргинина, а также в растворах глюкозы, оксалата натрия и физиологически важных аскорбиновой и мочевой кислот.

II.3.6 Изучение электродных свойств сенсоров

II.3.6.1 Градуировочные зависимости и чувствительность потенциометрических сенсоров

Чувствительность потенциометрических сенсоров изучали в стандартных растворах индивидуальных ионов в диапазоне концентраций 10^{-7} – 10^{-1} моль/л (если не оговорено иначе) в процессе динамической градуировки. Динамический отклик катион-селективного сенсора при последовательном добавлении увеличивающихся количеств анализируемого вещества, и стандартный градуировочный график в координатах: E, мВ против $(-\log a)$ для данного сенсора отображены на **Рис. II.8**. Чувствительность ($S = \text{tg } \alpha$) определяли как наклон линейного участка электродной функции $E = f(-\log a)$, где a – активность иона в градуировочном растворе. Нижний и верхний пределы обнаружения анализируемого вещества определяли как изображено на **Рис. II.8**.

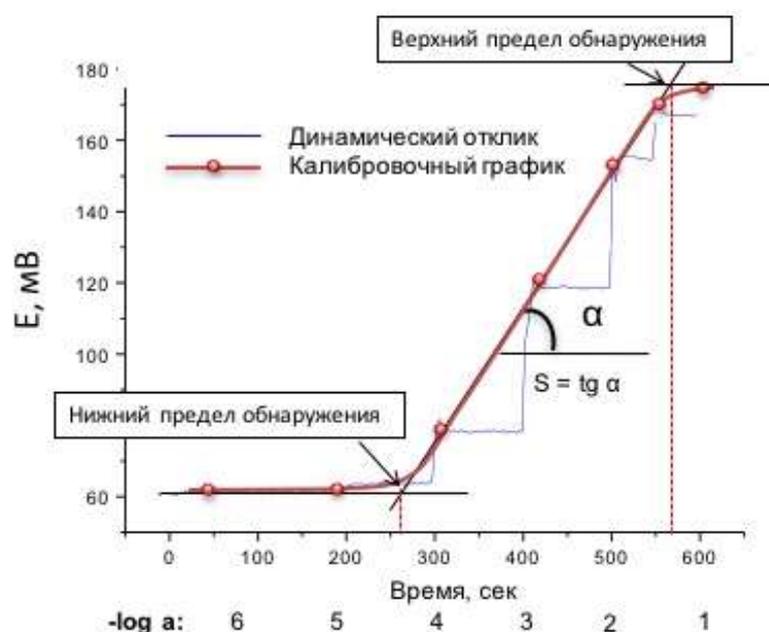


Рис. II.8. Динамический отклик и градуировочная зависимость катион-селективного потенциометрического сенсора.

Активности ионов в градуировочных растворах с концентрациями ниже чем 0.001 моль/л рассматривались равными концентрациям. При более высоких концентрациях активность рассчитывали как $a = \gamma \cdot c$, где c – концентрация иона, γ – коэффициент активности, рассчитанный по второму приближению теории

Дебая- Хюккеля [47]:

$$\lg \gamma_i = -0.512 \cdot z_i^2 \cdot \frac{\sqrt{I}}{1+0.328 \cdot a \cdot \sqrt{I}} \quad (\text{II.1})$$

где z_i - заряд иона i , a - эффективный диаметр иона в ангстремах, значения константы 0,512 и 0,328 при 25°C, зависят от растворителя (здесь для воды), I - ионная сила раствора, рассчитанная в соответствии с уравнением:

$$I = \frac{1}{2} \sum_i c_i \cdot z_i^2 \quad (\text{II.2})$$

где c_i и z_i – концентрация и заряд ионов i .

II.3.6.2 Градуировочные зависимости и чувствительность оптических сенсоров

Чувствительность оптических сенсоров изучали в стандартных растворах индивидуальных ионов в диапазоне концентраций 10^{-7} – 10^{-2} моль/л (если не оговорено иначе) в процессе динамической градуировки при последовательном добавлении увеличивающихся количеств анализируемого вещества. Измеряли флуоресцентный или люминесцентный отклик сенсора и строили стандартный градуировочный график в координатах: оптическая плотность/интенсивность флуоресценции против концентрации или $(-\log c_i)$ для i -го аналита. Чувствительность определяли как наклон линейного участка градуировочного графика.

II.3.6.3 Градуировочные зависимости и чувствительность композитных материалов на основе ZnO

Чувствительность композитных материалов на основе наноструктур оксида цинка изучали в условиях темноты и УФ-облучения ($\lambda_{\text{ex}}=365$ нм, продолжительностью светового излучения 50 сек) в диапазоне концентраций L-цистеина от 5.2 мкмоль/л до 4.8 ммоль/л на фоне 0.01 моль/л HEPES, pH 7.5. По результатам измерений получали градуировочные графики в координатах: фототок (I, A) измеренный при потенциалах окисления $E_{\text{ox}} = +0.2$ и 1.0 В, против концентрации аналита в индивидуальных растворах для каждого сенсора, либо величины первого главного компонента, ГК1 (полученного в результате обработки ЦИВ вольтаммограммы как мультисенсорного сигнала) против концентрации аналита. Селективность ZnO/МП материалов исследовали посредством сравнения величин фототока при $E_{\text{ox}} = +0.2$ и 1.0 В в бинарных растворах с содержанием $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л L-цистеина и $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л интерферирующих веществ в остальных условиях, как описано выше.

II.3.6.4 Изучение селективности потенциометрических сенсоров

Коэффициенты селективности сенсоров оценивались по методу смешанных растворов (MCP) и методу бионных потенциалов (БИП) [18,45].

При определении по методу БИП измеряли значения ЭДС гальванических ячеек, описанных в разделе II.3, включающих 0.01 моль/л раствор основного (E_I) или мешающего иона (E_J) и рассчитывали коэффициент селективности по формуле:

$$\log K_{I,J}^{pot} = \frac{(E_J - E_I) \cdot z_i \cdot F}{2.303 \cdot R \cdot T} + \left(1 - \frac{z_i}{z_j}\right) \cdot \log a_I \quad (II.3)$$

Применение метода БИП предполагало наличие теоретического отклика сенсора, в растворах основного иона.

При оценке селективности методом МРС, эдс гальванических ячеек, измеряли в растворах с изменяющейся активностью основного иона a_I на фоне постоянной активности мешающего иона, a_J . Зависимость потенциала электрода от активности основного иона в смешанном растворе имеет вид, изображенный на **Рис. II.9**. На участке (а), где выполняется функция основного иона I^{z_i} , ЭДС описывается уравнением Нернста (II.16). На участке (б) наблюдается переход к функции мешающего иона J^{z_j} . В точке пересечения участков (а) и (б) $E_I = E_J$ и значение коэффициентов электродной селективности $K_{I,J}^{pot}$ проводится в соответствии с уравнением:

$$K_{I,J}^{pot} = \frac{a_I}{a_J^{z_i/z_j}} \quad (II.4)$$

В случае если выход на плато (переход к функции мешающего иона) не достигается, за точку, соответствующую точке пересечения прямых в методе смешанных растворов принимается точка, в которой отклонение от теоретической зависимости $E - (-\lg a_i)$ достигает 18 мВ [45].

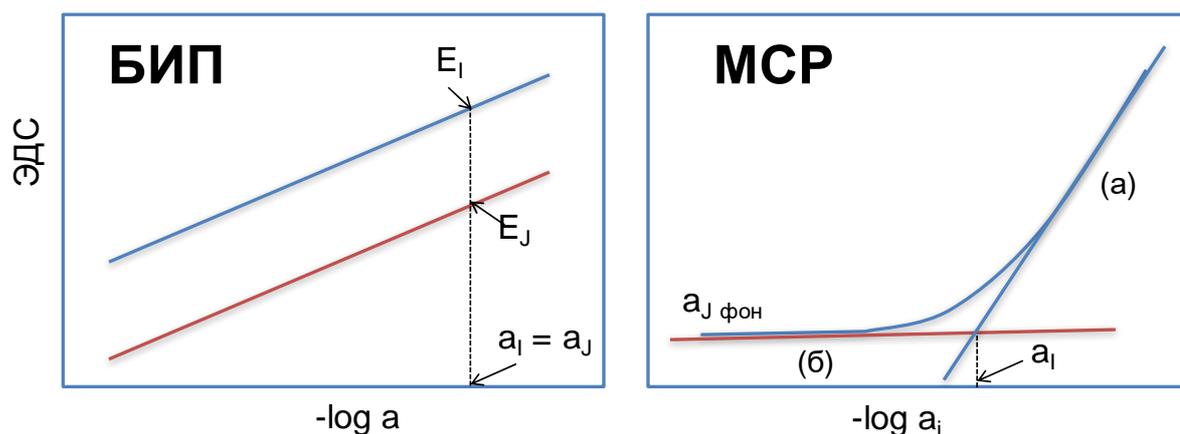


Рис. II.9. Схематическое представление методов БИП и МРС для определения потенциометрических коэффициентов электродной селективности $K_{I,J}^{pot}$.

Чувствительность массива сенсоров определяли как угловой коэффициент линейного участка электродной функции $E=f(\lg \text{СМС})$, рассчитанного посредством регрессионного метода наименьших квадратов, (PLS, Partial Least Squares regression) [29].

II.3.6.5 Оценка сопротивления электродов с полимерными пластифицированными мембранами

Сопротивления электродов с полимерными пластифицированными мембранами оценивали методом подсадки (делителя напряжения) [146]. Для этого была применена электронная схема, отображенная на **Рис. II.10**. Неизвестное сопротивление испытуемого сенсора R_x рассчитывали в соответствии с уравнением:

$$R_x = (E_1/E_2 - 1) \cdot R_{st} \quad (\text{II.5})$$

где R_{st} – известная величина стандартного сопротивления (близкая к ожидаемому сопротивлению сенсора), E_1 – ЭДС ячейки, измеренной при разомкнутом ключе на , E_2 - ЭДС ячейки при закрытом ключе.

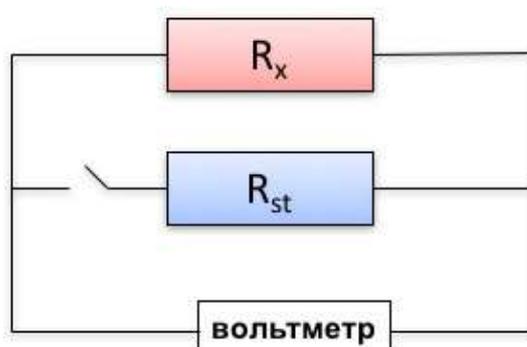


Рис. II.10 Схематическое представление электрической схемы для оценки сопротивления потенциометрических сенсоров.

II.3.7 Изучение электрохимической активности электрополимеризованных мембран.

Метод циклической вольтамперометрии был применен для изучения структуры и проводимости (процессов переноса электронов) в порфирин-замещенных электрополимеризованных мембранах на основе полипиррола. Измерения проводили в диапазоне потенциалов от -0,5 до 1,5 В в дихлорметане, содержащем фоновый электролит ТБАСlO₄ 0.1 моль/л и в отсутствие мономеров при различных скоростях сканирования (30-500 мВ/сек). Полученные значения максимального диффузионного анодного тока графически отображали против скорости сканирования (либо величины квадратного корня из скорости

сканирования). Применяли уравнение Рэндлса-Шевчика [40], для оценки влияния процессов массопереноса на протекание окислительно-восстановительных процессов в изучаемых электрополимерных материалах:

$$i_p = (2.69 \cdot 10^5) \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot C \cdot D^{1/2} \cdot v^{1/2} \quad (\text{II.6})$$

где n - число электронов, A - площадь электрода (см^2), C - концентрация (моль/л), D - коэффициент диффузии ($\text{см}^2/\text{сек}$), v - скорости развертки потенциала (В/сек).

В случае, когда наблюдается нелинейный отклик в координатах $I, A - v$, мВ/сек, редокс-процессы ограничены диффузией электронов внутри объемного полимерного слоя на поверхности рабочего электрода. Напротив, когда сила тока, протекающего через электрод линейно пропорциональна скорости развертки потенциала, это указывает на поверхностную локализацию редокс-активных частиц, и окислительно-восстановительные процессы, независимые от скорости диффузии (и как следствие, отсутствие, либо формирование сверхтонкого и/или неоднородного покрытия на поверхности электрода).

Линейная корреляция между значениями анодного тока и квадратного корня из скорости сканирования потенциала, $v^{1/2}$, указывает на прямую пропорциональность тока и коэффициента диффузии, и протекание обратимых диффузных процессов. При прочих равных условиях наибольшие значения диффузионного тока, измеренные на электрополимерном материале, указывают на наибольшую электропроводимость данного материала.

II.4 Изучение структурных свойств и морфологии сенсорных материалов

II.4.1 Оценка толщины электрополимеризованных пленок

Толщину покрытий, полученных методом электрополимеризации оценивали по: (i) изменению частоты колебания кварцевых микровесов после формирования на них полимерного покрытия; (ii) величине общего количества электричества, затраченного в процессе электролиза.

В первом случае одну из золотых пластинок-держателей кварцевого кристалла в КМВ использовали в качестве рабочего электрода, на котором получали полимерное покрытие. Массу пленок получали по разнице базовой частоты колебаний КМВ (20 МГц) без полимера и микровесов, покрытых полимером, согласно уравнению Сауэрбрея (см. раздел I.3.6). Толщину полимерных пленок рассчитывали затем, зная плотность полимера и учитывая изменения пористости полимера, которые в свою очередь зависят от структуры используемого мономера.

Процесс хроноамперометрической электрополимеризации проводили при фиксированном потенциале (0.7В и 1.1В) в течение определенного промежутка времени ($t=180$ сек). Измеряли результирующий анодный ток окисления (I, A) мономеров при формировании полимерного покрытия. Количество

электричества, затраченное в процессе осаждения, рассчитывали в соответствии с первым законом Фарадея как $Q=I \cdot t$. В случае нелинейного измерения тока во времени, количество электричества интегрировали как площадь участка под кривой тока электролитического осаждения за время осаждения t . Толщину полученных пленок определяли затем согласно уравнению:

$$d = \frac{Q \cdot (M_{Mon} + y \cdot M_A) \cdot \eta_i}{(a + y) \cdot F \cdot A \cdot \rho} \quad (II.7)$$

где M_M — молекулярная масса мономера, M_A - молекулярная масса вводимого контр-аниона, в данной работе - ClO_4^- ; y — коэффициент насыщения анионами в полипиррольном покрытии (как правило, $y = 0,3$); F - постоянная Фарадея, A - площадь поверхности электрода, ρ - плотность полимера (принимается в диапазоне от 1,5 до 2 г/см³ в зависимости от мономера, где плотность чистого полипиррола $\rho = 1.5$ г/см³); a - количество электронов на каждую электроактивную молекулу заместителя пиррола (2 для мономеров с одним замещенным пиррольным кольцом и 8 для мономеров с четырьмя замещенными пиррольными кольцами, с учетом 2-х электронного процесса окисления каждой пиррольной группы, участвующей в процессе электрополимеризации).

II.4.2 Атомно-силовая микроскопия (АСМ) и сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) для оценки морфологии сенсорных материалов

Для АСМ измерений использовали атомный силовой микроскоп с силиконовым зондом (Модель ТАР-300-А1, Budget sensors) длиной 125 мкм, шириной в 30 мкм, толщиной 4 мкм и чувствительным наконечником кончик высотой 17 мкм и радиусом действия [147]. Резонансная частота и силовая постоянная были соответственно 300 кГц и 40 Н/м. Следующие параметры шероховатости поверхности полученных полимерных покрытий оценивали бесконтактным АСМ методом [148]: средняя шероховатость, R_a (среднее арифметическое из абсолютных значений отклонений профиля в пределах базовой длины); наибольшая высота профиля, R_t ; самая низкая глубина, R_v ; среднеквадратичное отклонение шероховатости, R_{RMS} , рассчитанное как стандартное отклонение данных от среднего значения:

$$R_{RMS} = \sqrt{\frac{\sum_{n=1}^N (z_n - \bar{z})^2}{N-1}} \quad (II.8)$$

Во всех случаях, параметры шероховатости были измерены для области сканирования размера 5×5 мкм².

Измерения СЭМ проводили с использованием SUPRA™ 35, Carl Zeiss SMT, Oberkochen сканирующий электронный микроскоп с блоком LEO 1430, используя ускоряющее напряжение 10 и 15 кВ. Перед анализом исследуемые сенсорные материалы наносили на проводящую ITO-модифицированную стеклянную подложку.

II.5 Измерения с массивами сенсоров и мульти-трансдуктивный анализ

В общей сложности для анализа многокомпонентных жидких сред в работе было сформировано восемь мультисенсорных систем. Массив для анализа плазмы крови человека состоял из пяти потенциометрических сенсоров с мембранами следующего состава: поли-Co(II)ТАТРР, поли-Cu(II)ТАТРР, ПВХ/ДОС/Co(II)ТАТРР 1.5% вес./ТДМАСl 1% вес., ПВХ/ДОС/ГЭ 2.7%вес./ТДМАСl 2%вес., ПВХ/ДОС/ ТДМАСl 2%вес. и рН-электрода. Потенциометрический массив для определения содержания токсинов сине-зеленых водорослей включал: сенсоры с полимерными мембранами на основе ионофоров Co(ТРР)Cl (сенсор А1) и нонактина (сенсор С1), ионообменников ТпСlФБК и ТДАНО₃ (сенсоры С2 и А2 соответственно), сенсоры с халькогенидными стеклянными мембранами (сенсоры CG-Cu, CG-Pb, CG-Ag, произведенные ООО "Сенсорные системы, СПб, Россия), а также поликристаллический сенсор на основе LaF₃ (сенсор А3, ООО "Сенсорные системы, СПб, Россия). Измерения значений потенциалов сенсоров проводили аналогично измерениям с отдельными сенсорами, как описано в разделе II.3.1.

Массив оптических сенсоров для определения ионов ртути в природных водах состоял из двух ПВХ-мембран на основе флюорофора L3, содержащих 5.3 % вес. ТпСlФБК и пластифицированных двумя различными пластификаторами, ДОС и оНФОЕ, каждая в трёхкратном повторении. Оптический массив для определения микроцистина включал две чувствительные ПВХ-мембраны на основе флюорофора DCHQ-Ph, пластифицированные ДОС с различным количеством катионообменной добавки, ТпСlФБК, в 5 и 10 % вес., каждая в двукратном повторении. Измерения с массивами оптических сенсоров проводили методом CSPT, как описано в разделе II.3.3.

Массив сенсоров для анализа растительных масел состоял из ПВХ-мембран на основе различных порфириновых (CoAMТРР и PtOEP) и корроловых (H₃TPC, MnClTPC, FeClTPC, CuTtButPC) ионофоров. Данные мембраны были нанесены на предметное стекло с ITO подложкой, которое было помещено в проточную ячейку, через которую пропускали экстракты масел в этаноле на фоне 0.01 моль/л KCl и одновременно фиксировали их потенциометрический и CSPT-оптический отклик, **Рис. II.11.** Ячейку помещали сверху на TFT-LCD экране, используемом в качестве источника полихромного излучения для CSPT-анализа. Для каждой мембраны на ITO стекле был выделен отдельный проводящий канал, позволяющий раздельное измерение потенциала. Стандартный НКЭ электрод сравнения был размещен на выходе из проточной ячейки, в емкости сбора подвижной фазы.

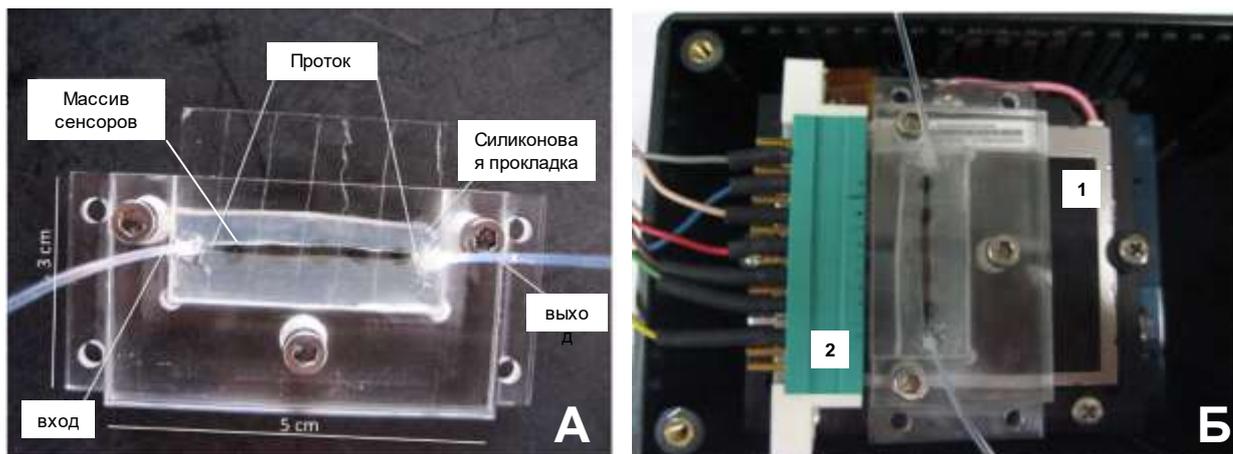


Рис.11.11 Изображение прозрачной проточной ячейки (А) и опто-потенциометрической установки (Б) для анализа растительных масел: (1) TFT-LCD экран, (2) - разъем потенциометра, печатается в переводе из работы [37].

Сенсорная матрица для опто-вольтамперометрического (CSPT-ДИВ) анализа диаза-ароматических красителей группы Судан состояла из Co(II) и Mn(III)Cl-порфиринов-замещенных полипиррольных пленок, в частности **Моно10**, **МоноMn10**, **МоноCo10** и **МоноCo5**. Измерения проводили в прозрачной кювете объемом 4.5 мл, изготовленной из полиметилметакрилата УФ качества с наибольшей пропускающей способностью в диапазоне от 280 до 800 нм (Kartell, Италия). В кювету одновременно помещали ITO стекло/стекла с нанесенным чувствительным материалом и комбинированный электрод Pt/НКЭ (AMEL, Италия, модель 800/CSG/6, 6 мм в диаметре), включающий в своей конструкции одновременно вспомогательный Pt электрод и НКЭ электрод сравнения. Кювету располагали перед экраном компьютера, используемом в качестве источника полихромного излучения для CSPT-анализа. Одновременно проводили ДИВ измерения с использованием портативного потенциостата PalmSens³, **Рис.11.12**.

CSPT-потенциометрический отклик массивов сенсоров для мониторинга загрязненности природных вод ионами переходных и тяжелых металлов на основе тетраферроценпорфирина (массив состоял из трех ПВХ-мембран состава: ПВХ/ДОС/TPFc₄(1%вес.); ПВХ/ДОС/TPFc₄(1%вес.)/TpClФБКР(0.25%вес.); ПВХ/ДОС/TPFc₄(1% вес.)/TpClФБКР(0.4 % вес.), а также TPFc₄ и **L3** (массив состоял из пяти ПВХ/ДОС-мембран, содержащих одновременно оба флуорофора в соотношении 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 и 1:3) регистрировали в измерительной установке, схожей с описанной в предыдущем параграфе и отображенной на **Рис.11.12**.

Детальная информация о составе использованных чувствительных материалов и измерительных процедурах приведена в соответствующих главах.

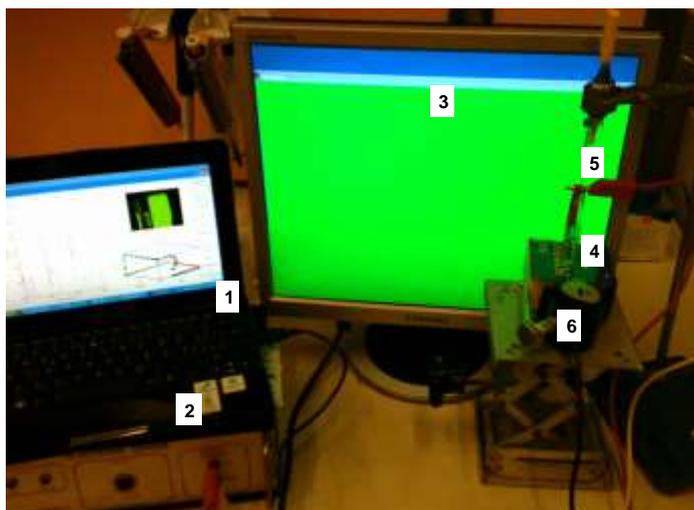


Рис. II.12 Измерительная установка, использованная для опто-электрохимических измерений. На рисунке: 1-ПК с программными обеспечением MATLAB для CSPT-анализа; 2- потенциометр/потенциостат; 3-внешний монитор ; 5-веб-камера; 4-измерительная ячейка; 5- Pt/НКЭ или НКЭ электрод; 6- ITO стекло модифицированное чувствительными мембранами.

II.6 Приготовление растворов

Стандартные растворы аналитов в наивысшей концентрации (обычно 1 моль/л в случае неорганических солей) готовили весовым методом, растворы с более низкими концентрациями получали затем методом последовательного объемного разбавления из соответствующих стандартных растворов. Все растворы готовили из реактивов марки “ЧДА” с применением дистиллированной воды.

Для измерений с массивами сенсоров готовили смешанные растворы, близкие к неорганическому составу плазмы крови человека. Многокомпонентные градуировочные растворы готовили из рассчитанных количеств концентрированных стандартных растворов. Всего было приготовлено 25 модельных растворов, содержащих определяемые компоненты в следующих соотношениях: 70-100 ммоль/л NaCl , 20-60 ммоль/л NaHCO₃ , 1-8 ммоль/л Na₂PO₄ , 1 ммоль/л NaSal. pH растворов фиксировали в диапазоне 7.2-7.4 добавлением 0,1 М HCl. Измерения в растворах одинакового состав проводились в начале и конце работы для контроля воспроизводимости потенциалов электродов и стабильности электродного поведения. Более подробно измерения с массивом сенсоров для анализа модельных растворов плазмы крови описаны в Главе VIII.

II.7 Подготовка и анализ образцов

II.7.1 Образцы плазмы крови человека

Артериальные образцы крови были взяты у 5 испытуемых мужчин (3 здоровых волонтера и 2 пациента с респираторным ацидозом, образцы А, В). Плазму крови отделяли центрифугированием свежих образцов и последующим удалением взвешенных клеток крови. Образцы анализировали непосредственно после пробоподготовки, спустя не больше трех часов после забора крови у пациентов. Как минимум три повторных измерения были выполнены для каждого образца плазмы в тот же день. В случае, если образцы не подвергали анализу в день забора, их хранили в морозильной камере при -20°C . Для определения содержания бикарбонат-ионов в образцах использовали метод двойной стандартной добавки. Для этого 50 мкл образца плазмы добавляли в растворяют в 50 мл 10^{-3} моль/л NaCl и измеряли значения потенциала/потенциалов карбонат-селективных сенсоров (E1), затем в исследуемый раствор последовательно добавляли две стандартных добавки по 150 мкл 0.01 моль/л раствора NaHCO₃ и регистрировали отклик сенсоров после каждой добавки (E2, E3). Концентрации ионов [CO₃²⁻] и [HCO₃⁻] оценивали из величины $R = \Delta E3/\Delta E2$ с учетом pH раствора и констант диссоциации угольной кислоты ($pK_{a1} = 6.4$, $pK_{a2} = 10.3$). Референтными данными о количестве бикарбоната в образцах плазмы служили данные, полученные с помощью анализатора крови GEM Premier 3000 (Instrumentation Laboratory, США).

II.7.2 Пищевые продукты

Были исследованы шесть образцов итальянского оливкового масла качества «extra vergin» (коммерческие марки "Forti", "Monini", и "Venturi", и 3 образца масла домашнего производства с из хозяйств в пригородах Рима "Civita Castellana", "Nerola", и "Nepi") и два коммерческих образца смешанного (подсолнечного и кукурузного) растительного масла ("Friol" и "Golden Sun"). Анализировали экстракты из масел, полученные добавлением 500 мкл каждого образца в 3 мл этилового или метилового спирта. Затем для проточного CSPT-потенциометрического анализа отбирали 100 мкл экстракта и впрыскивали в 0.01 моль/л раствор носителя KCl, протекающей со скоростью 1 мл/мин через прозрачную измерительную ячейку. Образцы измеряли в случайном порядке. Измерения повторяли 3 раза для образцов экстрагированных метанолом и 3 раза для образцов, извлеченных с помощью этанола ($n = 6$ в общей сложности). Полный цикл измерений восьми образцов растительных масел (каждый образец измеряли в шестикратном повторении), осуществляемых в случайном порядке, как правило, занимал 30 мин. Потенциометрические данные регистрировали каждые 2 сек. Полученные данные использовали для дискриминации масел методом МГК.

Три коммерческих образца томатного кетчупа (Kraft, Calve, Tabasco) были приобретены в продовольственных магазинах. 5 г каждого кетчупа в смеси 15 мл этилового спирта обрабатывали в ультразвуковой установке в течение 15 мин, процедуру повторяли дважды каждый раз с новой порцией этанола. Смесь фильтровали, после каждой обработки ультразвуком. Полученный экстракт помещали в мерную колбу и доводили объем раствора до 50 мл посредством добавления этилового спирта. Опто-электрохимические измерения в экстрактах из кетчупа проводили в прозрачной измерительной ячейке на фоне ABS (3 мл) фонового раствора содержащего 20% по объему этанола (600 мкл), к которому добавляли последовательно 50 и 100 мкл экстракта кетчупа, а затем 50 мкл $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л стандартного раствора Судана I и 100 мкл $2.6 \cdot 10^{-5}$ моль/л стандартного раствора Судана IV.

II.7.3 Неорганические удобрения

Исследовали водные экстракты коммерческого неорганического удобрения для цветущих комнатных растений марки Gesal, содержащего 2 вес. % водорастворимого MgO, а также такие макро- и микроэлементы, как N (8%), P₂O₅ (6.8%), K₂O (13%), Cu (0.04%), Fe (0.1%), Zn (0.02%), Mn (0.1%), Mo (0.06%). 1 г удобрения растворяли в дистиллированной воде (объемом около 40 мл). Полученный раствор фильтровали на бумажном фильтре, переносили в мерную колбу и доводили объем раствора до 50 мл. Оптическое определение содержания концентрации магния в удобрении проводили в прозрачной измерительной ячейке на фоне 0.01 моль/л MES (3 мл) фонового раствора, к которому добавляли последовательно две добавки раствора удобрения равного объема в 30 мкл.

II.7.4 Природные поверхностные воды и водопроводная вода

Исследовали пробы поверхностных природных вод, отобранных в пригородах г. Рим, Италия, в частности: образцы воды из рек Тибр (зона Isola Tiberina, Рим) и Лири (зона Frosinone) и поверхностную воду из озера Lago Albano (зона Castel Gandolfo), водопроводную воду из зон Tor Vergata, Ciampino, Pomezia, а также образец воды (с явными признаками цветения сине-зеленых водорослей) из публичного фонтана в зоне Ciampino. После забора образцы воды фильтровали через фильтр с размером пор 0.45 мкм, и хранили в полиэтиленовых бутылках емкостью 100 мл, предварительно обработанные в течение 12 часов 1 моль/л HNO₃, и затем промытых дистиллированной водой до нейтральных значений pH. Пробы воды хранили в холодильнике при 4°C и анализировали не позднее, чем через один месяц после пробоотбора. Измерения в воде проводили без какой-либо другой предварительной обработки. Последовательные добавления нескольких видов ионов металлов были выполнены в пробах воды, для симуляции загрязнения катионами переходных или тяжелых металлов и токсинами сине-зеленых водорослей на уровнях нормированных предельно

допустимых концентраций предписанных СанПин. Для этого в пробы воды добавляли рассчитанные аликвоты стандартных растворов аналитов, приготовленные как описано в разделе II.6. Более детальная информация о концентрациях загрязнителей приведена далее в работе в соответствующих главах.

II.7.5 Штаммы сине-зеленых водорослей

С целью мониторинга выделения токсичных продуктов жизнедеятельности, микроцистинов (МС) в частности, были два токсичных штамма (ТОХ, 17.85 и 44.86) и один нетоксичный штамм (NON ТОХ, 18.85) сине-зеленых водорослей *Microcystis aeruginosa*. Все штаммы были получены из коллекции культур водорослей SAG (Culture Collection of Algae, Германия). Эти культуры цианобактерий были выращены в лабораторных условиях на Биологическом факультете университета «Тор Вергата», Рим, Италия. Рост сине-зеленых бактерий и выделение ими гепатотоксинов (микроцистинов) как продуктов их жизнедеятельности наблюдали и контролировали в течение двух последовательных экспериментальных сессий, длинной в 1 месяц (период 16.09.2013 – 21.10.2013, цикл I) и 3 месяца (период 24.03.2014 - 23.06.2014, цикл II). Штаммы бактерий культивировали при естественном облучении и комнатной температуре 23°C в колбах объемом 1 л в 350 мл питательной среды BBM, представляющей собой многокомпонентный раствор неорганических солей, содержащий нитраты, фосфаты, хлориды и сульфаты магния, меди, железа и цинка, **Табл. II.1** [149]. Перед началом мониторинга роста цианобактерий, культуры акклиматизировали в течение 3 дней в условиях освещенности 40 мкмоль фотонов (PAR) ($\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$) под воздействием непрерывного светового излучения лампой дневного света (OSRAM L 30W/956, Италия). В течение обоих измерительных циклов, аликвоты BBM объемом 15 мл, содержащие штаммы ТОХ и NТОХ, отбирали из соответствующих инкубационных емкостей дважды в неделю, клетки цианобактерий отделяли фильтрацией на боросиликатном фильтре с размером пор 1.2 мкм (Ватман 1822-025). Образцы анализировали с применением мультисенсорной системы непосредственно в день отбора. Часть отобранных аликвот сохраняли при -20°C для дальнейшей анализа стандартными методами. Референтными данными о количестве гепатотоксинов в фильтраатах служили данные, полученные с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с детектором на основе массива диодов, ВЭЖХ-ДМД, и с применением колориметрического энзимного метода, основанного на подавлении активности протеинофосфатазы-2А (PP2A).

Измерения проводили посредством добавления известных количеств питательной среды BBM с выращенными в нем штаммами (ТОХ и NON ТОХ) к 50 мл питьевой воды каждые 100 секунд. Таким образом, были получены и проанализированы растворы с соотношением (аликвота штамма) : (питьевая вода):

- 1 : 10000 (5 мкл культуры в 50 мл воды);
- 1 : 3333 (15 мкл культуры в 50 мл воды);
- 1 : 1666 (30 мкл культуры в 50 мл воды);
- 1 : 1000 (50 мкл культуры в 50 мл воды);
- 1 : 500 (100 мкл культуры в 50 мл воды);
- 1 : 100 (500 мкл культуры в 50 мл воды);
- 1:20 (2.5 мл культуры в 50 мл воды).

Содержание токсинов в образцах было рассчитано с учетом объема добавленной аликвоты, концентрации токсина, определенной стандартными методами в неразбавленном образце, и разбавления.

Табл. II.1 Состав питательной среды ВВМ.

N	Соль	Концентрация	Добавка	Элемент
1	NaNO ₃	25	10	N
2	KH ₂ PO ₄	17.5	10	P
3	K ₂ HPO ₄	7.5	10	P
4	MgSO ₄ *7H ₂ O	7.5	10	Mg/SO ₄
5	CaCl ₂ *2H ₂ O	2.5	10	Ca
6	NaCl	2.5	10	C
7 Железо	FeSO ₄ *7H ₂ O +	4.98+1 мл/л	1	Fe
8 ЕДТА	ЕДТА+ КОН	50+31	1	
9 Бор	H ₃ BO ₃	11.42	1	C (неорг)
10	Олигоэлементы		1	
	MoO ₃	0.71		Mo
	MnCl ₂ *4H ₂ O	1.44		Mn
	ZnSO ₄ *7H ₂ O	8.82		Zn
	CuSO ₄ *5H ₂ O	1.57		Cu
	Co(NO ₃) ₂ *6H ₂ O	0.49		Co

II.8 Обработка данных

II.8.1 Оценка энергий комплексообразования Pt-порфирина с различными анионами.

Квантово-химические расчёты энергий комплексообразования Pt(IV)-порфириновых комплексов с различными анионами с проводили полуэмпирических методов PM3 и PM5 [150,151], также с применением теории функционала плотности с привлечением алгоритма DFT B88LYP [152]. Полуэмпирические расчеты были выполнены с использованием программного обеспечения CAChe Worksystem Pro (версия 6.01, Fujitsu America, Орегон, США). Расчеты DFT были сделаны с использованием PC GAMESS версии 7.0 [153], частично основанной пакете GAMESS (US) QC [154].

II.8.2 Обработка данных от мультисенсорных и мульти-трансдуктивных систем

Хеометрические методы анализа, в частности МГК, регрессионные методы ММР, ПЛС, РГК, а также классификационные методы SIMCA и ПЛС-ДА были использованы в данной работе для решения задач многомерного анализа. Более подробное описание вышеупомянутых методов дано в разделе I.4.2 настоящей работы. Данные, полученные от мультисенсорным систем с одним способом передачи сигнала (оптических или электрохимических) были использованы без предварительной обработки и масштабирования. К данным, полученным от мульти-трансдуктивных систем применяли процедуру нормировки, заключающуюся в пересчете каждой переменной посредством деления на стандартное отклонение, рассчитанное по всем измеренным образцам для всех сенсоров. Успешность построенных регрессионных моделей оценивали по оффсету, наклону и квадрату коэффициента корреляции (R^2) калибровочных графиков в координатах «введено-найдено». Для успешной регрессии величина оффсета, описывающая смещение прямой относительно начала координат, должна максимально приближаться к нулю, а наклон и R^2 - быть максимально близки к единице. Величины среднеквадратичной ошибки калибровки, SKOK (Root Mean Square Error of Calibration, RMSEC, в англоязычной литературе) и среднеквадратичной ошибки прогнозирования, SKOP (RMSEP) использовали для оценки прогнозирующей силы модели. Величины SKOK и SKOP имели размерности величины Y , по которой проводили калибровки. Данные величины для успешной модели должны быть минимальны. Более подробно расчёт параметров SKOK и SKOP приводится в разделе I.4.2.2 данной работы.

Поскольку большинство проведенных в настоящей работе исследований было ограничено небольшим набором экспериментальных данных, для валидации хеометрических моделей был использован метод полной перекрестной проверки (ППП). В случаях, когда размер матрицы исходных данных позволял, проводили разбиение исходных данных на калибровочные (66% данных) и тестовые (оставшиеся 33% данных). При использовании мультисенсорного анализа для определения микроцистина в природных водах использовали процедуру случайного разбиения (CP), в случайным образом отбирали подгруппы образцов, которые использовали как тестовые, и повторяли процедуру CP 20 раз.

Хеометрическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения Unscrambler (ст. 9.1, 2004, CAMO ПРОЦЕСС AS, Норвегия) и Matlab (v.7.0, 2005, The MathWorks, Inc., Natick, США).

Порфирины и корролы как ионофоры для анион-селективных потенциометрических сенсоров

Несмотря на большое количество известных природных и синтетических лигандов, применяющихся в ИСЭ, данные соединения в основном являются катион-чувствительными, в то время как число селективных анионных ионофоров и/или нейтральных переносчиков значительно ниже. Металлопорфирины (МП) и их аналоги, в частности металлокорролы, являются одним из немногих классов органических гетероциклов, которые оказались эффективными в качестве ионофоров в анион-селективных электродах. Анионный отклик мембран на основе МП происходит за счет осевой координацией анионов на центральном ионе металла. Связывание анионов на МП зависит от многих параметров, и селективность данных ионофоров отличается от ряда гидрофильности, приведенного выше. Более того, селективность сенсоров на основе МП возможно модулировать путем выбора центрального металла и варьирования макроциклической структуры и/или периферических заместителей порфириновых ионофоров. В данной главе описаны исследования свойств новых сенсорных материалов на основе порфириновых комплексов платины и корролатов марганца, меди и железа. Рассматривается влияние различных факторов, в частности вариации размера внутренней молекулярной полости; наличие, количество и природа боковых заместителей (ароматических или алифатических) в молекулярной структуре указанных макроциклов, а также природа центрального металла на устойчивость, селективность, оптическую и электрохимическую активность сенсорных материалов на их основе.

III.1 Порфирины в природе

Порфирины представляют собой класс макроциклических соединений, играющих важную роль в метаболизме живых организмов [155, 156]. Порфирины являются замещенными в периферийных положениях порфинами. Порфины представляют собой азотистые гетероциклы, основной структурной единицей которых является пиррол [157], **Рис. III.1**. В природе порфириновые комплексы железа участвуют в многочисленных клеточных процессах, таких как перенос кислорода (гемоглобин), дыхание (цитохромоксидаза), сосудистый гомеостаз (синтез оксидов азота), детоксикация (цитохромы P450) и некроз клеток (цитохром c).

Наиболее известный природный порфирин - гем - является железо-порфириновым комплекс, который эволюционно передался людям от бактерий.

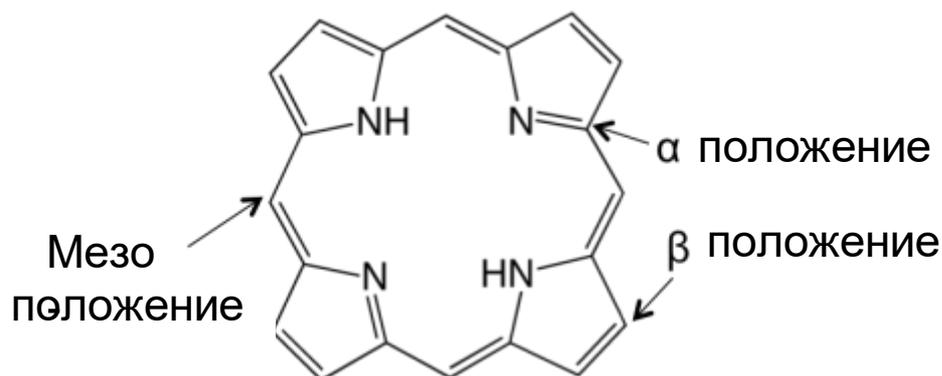


Рис. III.1 Порфин - простейший порфирин

Гемы формируются в митохондриях в результате сложных клеточных механизмов, вовлекающих восемь различных ферментов. В основе структуры гема лежит порфириновый макроцикл с четырьмя метильными, двумя винильными и двумя пропионовыми боковыми заместителями в бета-положениях (см. далее о номенклатуре). Существуют 15 различных изомеров гема, в которых вышеперечисленные заместители могут располагаться в различной последовательности, однако только один из них, протопорфирин IX, присутствует в биологических системах и выполняет важные биологические функции в процессах активации и переноса молекулярного кислорода в живых организмах, а также является основным красящим компонентом крови, **Рис. III.2.**

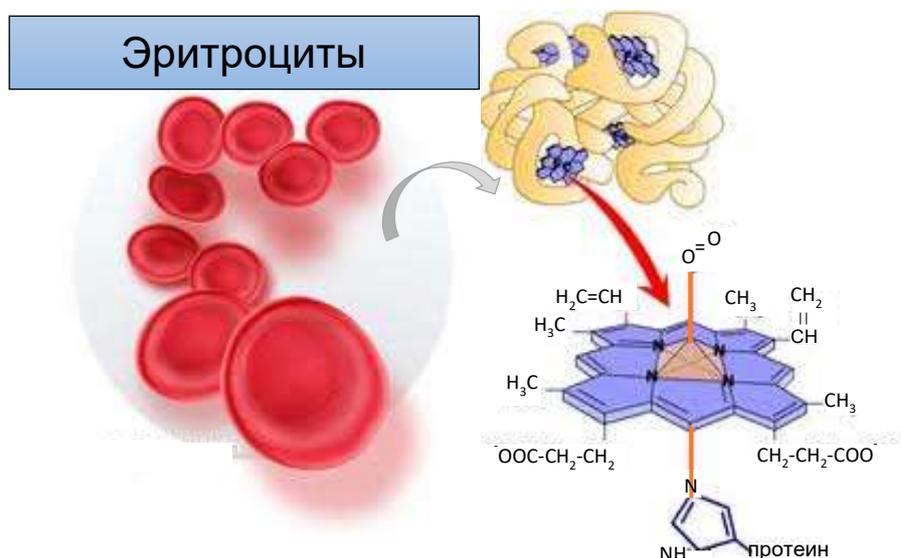


Рис. III.2 Схематическое изображение гема.

Другой распространенной в живой природе порфириновой структурой, присутствующей во всех зеленых растениях, является хлорофилл [158]. В хлорофилле восстановленная форма порфирина, хлорин, образует комплекс с магнием, **Рис. III.3.**



Рис. III.3 Хлорофилл а и его нахождение в зеленых листьях.

Хлорофилл является ключевым соединением в процессах фотосинтеза для преобразования солнечной энергии. Основной функцией магниевых хлорофинов в процессе фотосинтеза является поглощение облучения за счет наличия π -электронов в сопряженных двойных связях молекул хлорофилла.

Среди других порфириновых комплексов, встречающихся в природе и играющих важную роль в природных процессах, можно выделить уропорфирины, копропорфирины и витамин B₁₂, **Рис. III.4.**

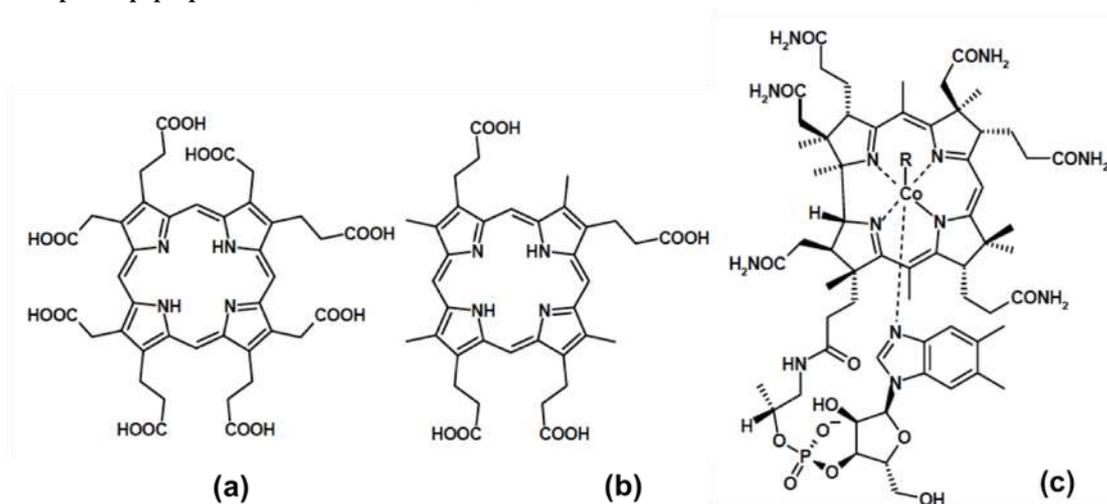


Рис. III.4 Природные порфирины: (А) уропорфирин III, (б) копропорфирин III, и (в) витамин B₁₂.

Первые два являются продуктами распада гема, а также играют важную роль в процессе синтеза протопорфирина IX. Последний является порфириновым аналогом с корриновым кольцом, лишенным углерода в С-20 мезо-положении и

играет важную роль в биологическом окислении белков и жиров, а также синтезе аминокислот [159]. В неживой природе порфириновые комплексы содержатся в различных полезных ископаемых, таких как сланцы, асфальтены, нефти и глубинных водах, а также в лунных и метеоритных породах [160].

III.2 Свойства порфиринов

Термин "порфирин" происходит от греческого порфирос, что означает "фиолетовый". В действительности, все порфирины и их производные и аналоги являются интенсивно окрашенными соединениями. Молекула порфирина содержит четыре пиррольных кольца, соединенных с помощью четырёх метиновых групп (=CH-), и представляет собой 16-атомный макроцикл, содержащий четыре атома азота [161]. Простейшая структура порфирина – порфин, имеющий молекулярную формулу $C_{20}H_{14}N_4$, изображен на **Рис. III.1**. Порфирины, и порфин в частности являются сопряженными ароматическими макроциклическими системами, содержащими 22 π -электрона, 18 из которых делокализованы и способны свободно перемещаться в молекуле, участвуя в формировании значительного кольцевого тока. Данная ароматическая 18 π -электронная система определяет химические свойства порфиринов, и в частности, образование комплексов с атомами переходных металлов. Среди наиболее распространенных и часто используемых симметричных порфириновых структур можно выделить тетрафенилпорфирин, ТФП (TRP в англоязычной литературе) и октаэтилпорфирин, ОЭП (OEP в англоязычной литературе), **Рис. III.5**.

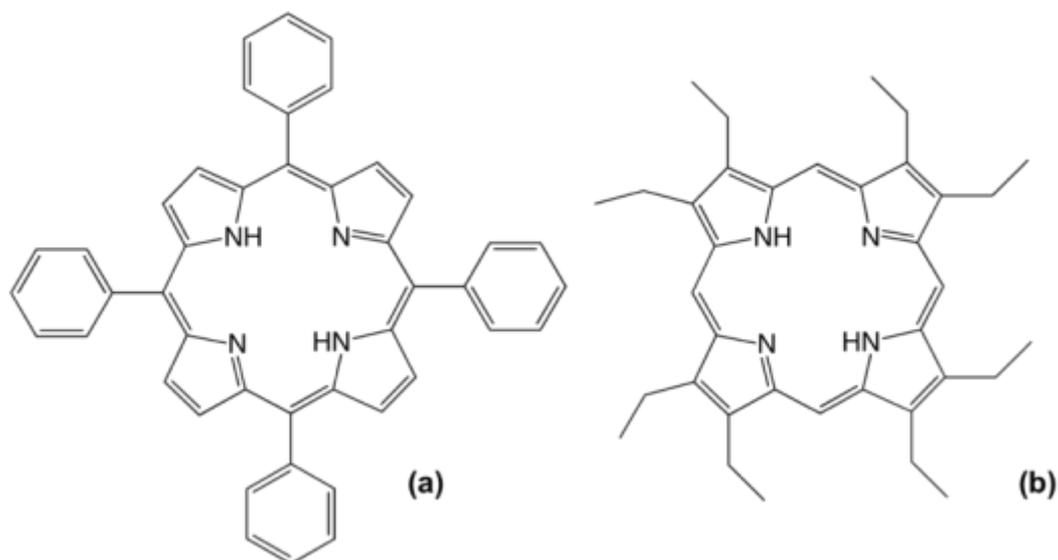


Рис. III.5 Молекулярные структуры симметричных порфиринов: (а) тетрафенилпорфирин, (б) октаэтилпорфирин.

На спектрах поглощения порфиринов в видимой области наблюдается интенсивное поглощение ($\epsilon > 100000$) до второго возбужденного состояния

($S_0 \rightarrow S_2$) при примерно 400 нм, так называемая полоса Соре [162], **Рис. III.6.** Полоса Соре характерна для высокосопряженного порфиринового макроцикла, и исчезает при нарушении ароматичности. На спектрах присутствуют также несколько более слабых сигналов поглощения энергии до первого возбужденного состояния ($S_0 \rightarrow S_2$) на более длинных волнах (от 450 до 700 нм), эти так называемые полосы Q.

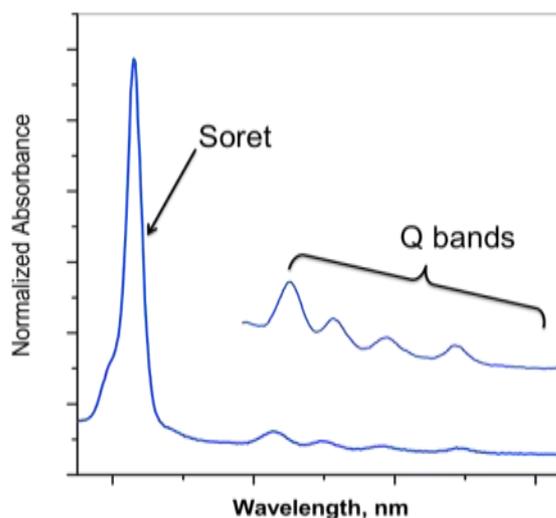


Рис. III.6 Типичный спектр поглощения порфирина.

Причиной незначительных изменений в интенсивности и длине волны полос Соре и Q часто является природа боковых заместителей порфиринового макроцикла. Напротив, при образовании комплексов с металлами, протонировании двух внутренних имин-азотных атомов, либо при осевой координации центрального металла в металлопорфинах происходят значительные изменения в видимом спектре поглощения порфирина. Данные изменения зачастую могут быть очень полезными для установления определенных структурных особенностей порфирина. Порфирин представляет собой тетрадентатный лиганд с максимальным диаметром внутренней полости в $3,7 \text{ \AA}$ [163]. Процесс комплексообразования с металлами происходит в результате образования трехцентровой четырехэлектронной связи, в которой два депротонированных отрицательно заряженных атома азота являются донорами двух электронных пар, а атом металла предоставляет свободную атомную орбиталь. При этом два других нейтральных атома азота также являются донорами электронных пар, т.е. в целом порфириновый макроцикл является дианионным восьмиэлектронным донором [164].

Порфириновые комплексы с ионами переходных металлов являются очень устойчивыми, например, константа стабильности для ZnTPP, Zn(II) тетрафенилпорфирин, равна 1029 [163]. В прошлом были синтезированы порфириновые комплексы, или металлопорфирины (МП), почти для всех металлов периодической таблицы [165]. Большинство металлов образуют с порфиринами комплексы в соотношении 1:1; однако щелочные металлы, такие как Na, Li, K, образуют комплексы с геометрией 2:1, в которых атомы металла расположены ниже или выше плоскости порфиринового макроцикла. МП, полученные в результате хелатирования двухвалентных ионов металлов (например, Co(II), Ni(II), Cu(II)) являются нейтральными и не несут остаточного заряда. Эти комплексы имеют плоскоквадратную конфигурацию, и дополнительное координирование Cu(II) и Ni(II) порфиринов обычно затруднено, в то время как Mg(II)-, Cd(II)- и Zn(II)-порфириновые комплексы способны к дополнительному координированию, приводящему к формированию пентакоординированных комплексов квадратно-пирамидальной геометрии. Металлы с более высокой степенью окисления, например Mn(III), Co(III), Fe(III), Pt(IV) имеют координационное число 6 и образуют с порфиринами комплексы октаэдрической геометрии в которых четыре позиции в одной плоскости заняты тетрадентатным порфириновым лигандом, а в аксиальных положениях над и под плоскостью порфирина обычно находятся контранионы либо молекулы растворителя.

III.3 Аналоги порфирина – корролы

Корролы являются аналогами порфиринов, с корриновым кольцом, которое содержит прямое пиррол-пирроловое соединение за счет удаления атома углерода в С-20 мезо-положении, Рис. III.7. Несмотря на это, корролы сохраняют ароматическую систему с 18- π -электронами[161].

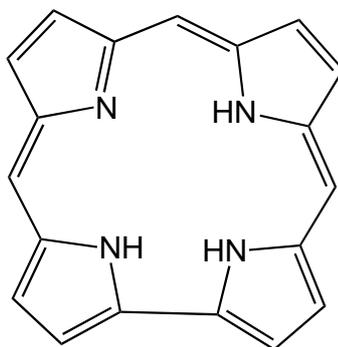


Рис. III.7 Химическая структура коррола

Корролы обладают люминесцентными свойствами с интенсивной полосой эмиссии на 600 нм, временем существования в наносекундной области и очень небольшими стоксовыми смещениями с квантовым выходом в 0.07-0.08; данная

люминесценция соответствует синглетному состоянию низшего их $\pi \rightarrow \pi^*$ переходов, наблюдаемых на спектре поглощения.

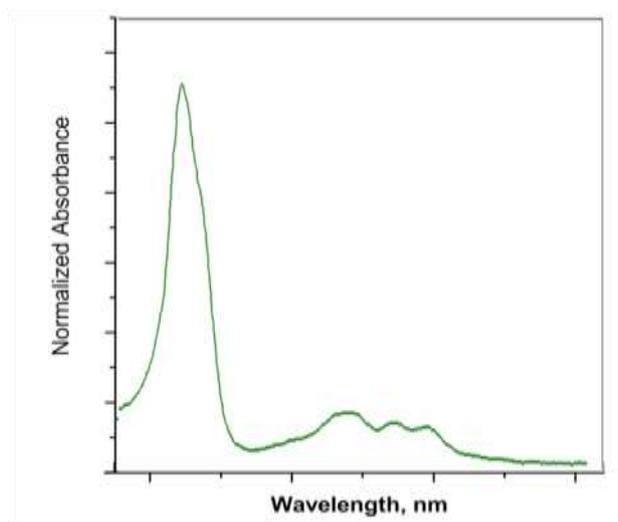


Рис. III.8 УФ-видимый спектр трифенилкоррола.

Корролы обладают превосходными хелатирующими свойствами; корроловые комплексы по меньшей мере 18 различных металлов были описаны к настоящему времени. Благодаря наличию трех амино- и одной имино- групп во внутреннем ядре коррола, корролы являются тетраденатными трианионными лигандами, способными к стабилизации металлов в более высоких, по сравнению с порфиринами, степенях окисления.

III.4 Применение порфиринов и корролов в аналитической химии

В течение двух последних десятилетий порфирины, их производные и аналоги активно использовались в аналитической химии [166]. Благодаря ярко выраженным комплексообразующим и каталитическим свойствам эти соединения нашли широкое применение в спектроскопии, электроаналитической химии, методах предварительной концентрации и хроматографии, а также в качестве лигандов в химических сенсорах [167]. Для анализа жидких сред был использован широкий спектр порфиринов в качестве МАК в мембранах ион-селективных электродов и хромофоров в оптодах [168]. Электрокаталитическая активность металлопорфиринов успешно используется в вольтамперометрических методах где электрополимеризованные порфириновые пленки служат в качестве модификаторов рабочего электрода [144]. Высокое сродство порфириновых покрытий к парам органических соединений и неорганическим газам позволили разработать аналитические системы для анализа газовой фазы и массивы сенсоров с перекрестной чувствительностью для анализа жидких сред [169]. Порфирины могут быть

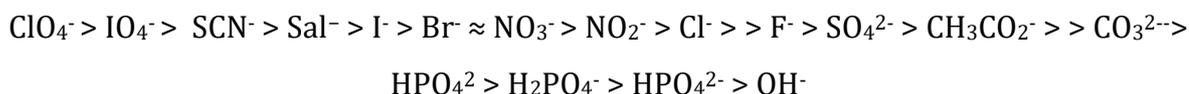
функционализируются различными способами, что позволяет существенно варьировать их свойства. При этом введение различных функциональных групп в структуру порфиринов, а также получение комплексов с различными металлами дает возможность использовать как отдельные молекулы порфиринов в качестве активных центров сенсорных материалов, так и получать чувствительные структурированные пленки, толщиной в несколько молекул, либо полимерные покрытия с варьируемыми свойствами. Более того, богатые оптические, фото- и электрохимические свойства порфиринов позволяют использовать различные способы преобразования сигнала в применении к сенсорным материалам на их основе. В следующих разделах данной работы рассмотрены примеры применения порфиринов для разработки новых химических сенсоров.

III.5 Порфирины и корролы в качестве ионофоров в полимерных пластифицированных мембранах для анализа жидких сред

Быстрое и селективное детектирование различных химических соединений является актуальной задачей во многих областях, таких например, как контроль безопасности и экологический мониторинг. Химические сенсоры позволяют эффективно определять многие аналиты. Важным шагом в разработке надежных химических сенсоров является рациональный выбор подходящих сенсорных материалов, так как большинство сенсорных характеристик непосредственно связаны с рецепторными свойствами последних. С этой точки зрения порфирины представляют собой универсальный класс сенсорных материалов благодаря богатству их химических и каталитических свойств. Ключевыми компонентами полимерных мембран ионоселективных электродов являются ионофоры, так как они во многом определяют ионную селективность ИСЭ [18]. Ранее порфирины широко использовались в качестве ионофоров в потенциометрических ИСЭ [19].

Порфирины являются сильными хелатирующими лигандами, способными формировать устойчивые комплексы со многими металлами. В полимерных пластифицированных мембранах порфирины функционируют в качестве нейтральных переносчиков, образующих так называемые «sitting-a-top» комплексы с несколькими катионами [170,171]. Металлопорфирины (МП) нашли широкое применение в качестве ионофоров в анион-селективных электродах [172], анионную селективность которых оказалось возможным модулировать путем выбора центрального металла и варьирования макроциклической структуры и/или периферических заместителей порфириновых ионофоров [173,174]. Было показано, что анионная чувствительность мембран на основе металлопорфиринов определяется осевой координацией анионов на центральным ионе металла [175]. В частности, переходные металлы, такие как Co(II), Zn(II), Cu(II), Mn(II), Fe(II) и пр., вследствие способности формирования комплексов гексагональной геометрии, в составе металлопорфиринов, способны

к дополнительному координированию анионов над и под плоскостью порфиринового лиганда. Селективность мембран на основе МП отличается от классической серии Гиндина-Хофмейстера для анионообменников на основе четверичных аммониевых солей, ЧАС. Согласно данной серии селективность ЧАС определяется энергиями гидратации ионов и имеет следующую последовательность:



Как следствие, можно с высокой долей вероятности спрогнозировать селективность мембранных электродов на основе ЧАС-анионообменников, но создание сенсоров на основе ЧАС для определения гидрофильных анионов с высокими свободными энергиями гидратации затруднено.

Согласно модели мембранного транспорта Морфа [47], существует строгая взаимосвязь между электрическими свойствами и транспортными процессами в жидких ионообменных мембранах. Коэффициент селективности Никольского при условии полной диссоциации обменника определяется в соответствии с уравнением IV.1:

$$K_{i/j}^{Pot} = \frac{k_j}{k_i} \times \frac{u_i}{u_j}, \quad (IV.1)$$

где k_i , k_j являются коэффициентами распределения ионов I и J между водным раствором и органической фазой мембраны; u_i , u_j подвижности ионов в фазе мембраны.

В соответствии с уравнением IV.1 селективность мембраны в случае диссоциированного обменника (при использовании полярного растворителя-пластификатора) определяется ее экстракционными свойствами. Коэффициент распределения ионов может быть термодинамически выражен следующим образом:

$$k = \exp(\{m^0(aq) - m^0(membr)\} / RT) = (\{DG_{aq}^0 - DG_{membr}^0\} / RT) \quad (IV.2)$$

где ΔG_{aq}^0 и ΔG_{membr}^0 являются стандартными свободными энергиями гидратации и сольватации ионов I^{Z_i} , J^{Z_j} в мембране и водной фазе. Основной вклад в значение величины коэффициента распределения k вносит свободная энергия гидратации ионов, ΔG_{aq}^0 и, следовательно, слабая степень гидратации ионов (высокая липофильность) способствует их предпочтительной экстракции в фазу мембраны [47,48].

Случай практически полной ассоциации ионообменника реализуется при использовании малополярных растворителей-пластификаторов и (или) специфических комплексообразующих активных центров ионообменника. В этой ситуации Морф [47] предполагает, что основной вклад в образование

мембранного потенциала вносит небольшое количество диссоциированных ионообменников, а мембранный потенциал имеет следующий вид:

$$E = E_i^0 + (1-t) \frac{RT}{z_i F} \ln[a_i(IJ) + K_{i/j}^1] + t \frac{RT}{z_j F} \ln[a_i(IJ) + K_{i/j}^2 a_j(IJ)] \quad (IV.3)$$

$$K_{i/j}^1 = k_j / k_i; \quad K_{i/j}^2 = \frac{K_{JR} k_j}{K_{IR} k_i}; \quad t = \frac{u_R}{u_R + u_i} \quad (IV.4)$$

где K_{IR} , K_{JR} являются константами устойчивости комплексов между ионообменником R и ионами I^{z_i} , J^{z_j} ; t - электрическое число переноса свободных активных центров в мембране.

Согласно уравнениям IV.3 и IV.4, потенциометрическая селективность мембран на основе ионообменников зависит не только от свойств пластификатора, но и от свойств обменника. Так, константа $K_{i/j}^2$ отражает способность обменника образовывать ассоциаты с ионами I^{z_i} , J^{z_j} . Важно подчеркнуть, что уравнение IV.3 можно приблизить к классическому формализму Никольского только для фиксированных ($t=0$) или неспецифических ($K_{IR} = K_{JR}$) активных центров. Однако в таких условиях может возникнуть проблема селективной проницаемости мембраны: активные центры становятся неспособны изменять мембранную селективность по отношению к противоионам. Из уравнения IV.3 следует, что при $t=1$ селективность мембраны зависит исключительно от свойств ионообменника, однако, такая ситуация на практике практически не выполняется.

В соответствии с вышеизложенным, селективность мембран на основе ионообменника может определяться природой растворителя-пластификатора, специфичностью самого обменника, а также коэффициентами распределения основного и мешающего ионов между водной и органической фазой. При условии отсутствия специфических взаимодействий ионов с компонентами мембраны, селективность мембраны на основе ионообменника будет выше к более липофильным ионам с меньшей энергией гидратации.

Возможность варьирования недостаточной селективности мембран на основе ионообменников заключается в использовании специфических переносчиков или ионофоров. Благодаря богатым каталитическим, оптическим и фотохимическим свойствам порфирины и их аналоги, а также гетерокраун эфиры (см. Главу IV) являются перспективными кандидатами для использования в качестве ионофоров в полимерных чувствительных мембранах.

Впервые теоретическая модель для описания поведения мембран на основе нейтральных (незаряженных) переносчиков была предложена Эйзенманом [176]. В соответствии с данной моделью, мембрана была проницаема только для катионов и условие электронейтральности не соблюдалось.

В модели Морфа [47] мембрана была электрически нейтральна, а исследуемый раствор содержал как первичные ионы I^{z_i} и мешающие ионы J^{z_j} , $z_i = z_j$. Все

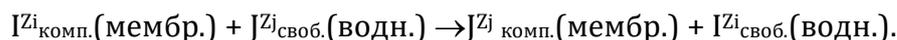
комплексы любого состава 1:n, образованные ионами и нейтральным лигандом, вносят вклад в мембранный потенциал. Электродная функция таких мембран описывается уравнением IV.5, в то время как коэффициент селективности рассчитывается по уравнению IV.6:

$$E = E_i^0 + \frac{RT}{z_i F} \ln [a_i(IJ) + \sum_{J^i} K_{i/j}^{Pot} a_j(IJ)] \quad (IV.5)$$

$$K_{i/j}^{nom.} = \frac{\sum \beta_{JR,n}^w k_{JR,n} (a_R / k_R)^n}{\sum \beta_{IR,n}^w k_{IR,n} (a_R / k_R)^n} \quad (IV.6)$$

где $\beta_{IR,n}^w$, $\beta_{JR,n}^w$ являются константами устойчивости комплексов ионов I^{z_i} , J^{z_j} в водной фазе, a_R - активность свободного ионофора в мембране; k_R - константа переноса свободного лиганда из мембраны в слой внешнего раствора, граничащий с мембраной.

Уравнение (1.6) описывает следующий процесс:



Из уравнения IV.6 следует, что селективность мембран на основе нейтральных ионофоров определяется селективностью реакций комплексообразования ионов с ионофором, т.е. комплексообразующей способностью лиганда (по значениям $\beta_{IR,n}^w$, $\beta_{JR,n}^w$), а также зависит от активности свободного лиганда a_R и коэффициентов распределения, описывающих перенос заряженных комплексов по отношению к переносу свободных лигандов. Свободная энергия переноса ион-ионофорных комплексов из водной фазы в мембрану зависит от экстракционных свойств растворителя-пластификатора и выражается в соответствии с уравнением поляризации Борна :

$$-RT \ln \frac{k_{IR,n}}{k_R^n} = -DG_B = N_A \frac{(z_i e)^2}{2r_c} \cdot \left(1 - \frac{1}{\epsilon}\right) \quad (IV.7)$$

где ϵ - диэлектрическая константа пластификатора, $z_i e$ - заряд, выраженный в электростатических единицах, $2r_c$ - диаметр комплекса, N_A - число Авогадро. Средняя активность ионов со знаком заряда, противоположным знаком определяемого иона в мембране, также определяет селективность мембраны. Эту величину можно варьировать, вводя в мембрану дополнительные липофильные частицы.

Изначально полимерные мембраны на основе металлопорфиринов готовили без введения каких-либо липофильных добавок, и селективность таких мембран по сути дела определялась присутствием внутренних (сформировавшиеся в результате синтеза полимера) анионных примесей в пластифицированной ПВХ-матрице [177]. Впоследствии выяснилось, что добавление в полимерные

мембраны на основе порфириновых ионофоров липофильных ионных различного знака заряда добавок имеет критическое значение для стабилизации свойств мембран и оптимизации их селективности [178]. Так, для полимерных мембран на основе порфириновых ионофоров, функционирующих в качестве нейтральных переносчиков, требуется добавление липофильных ионных частиц со знаком заряда, противоположным заряду основного иона; в случае заряженного ионофора (образовавшегося в процессе диссоциации или протонирования) требуется введение липофильных центров с зарядом того же знака, что и у основного иона, **Рис. III.9А,Б**. Более того, из-за частичной диссоциации или протонирования в мембранной фазе могут присутствовать как нейтральные так и заряженные формы ионофора, в данном случае рассматривается смешанный режим функционирования ионофора, который может требовать введения в фазу мембраны липофильных добавок с обоими знаками заряда, **Рис. III.9В**. При этом для достижения оптимальной селективности мембран на основе ионофоров, функционирующих в смешанном режиме, соотношение липофильных добавок обоих знаков заряда может варьироваться в зависимости от природы самого ионофора, а также используемых растворителя пластификатора и полимерной матрицы.

III.6 Отклик, отличный от теоретического Нернстовского: как устранить эту проблему?

В составе полимерной мембранной фазы металлопорфирины ведут себя как кислоты Льюиса и способны к образованию устойчивых комплексов с различными анионами, включая анионы с высокой энергией гидратации. Это позволяет разработать новые электроды, селективные по отношению к гидрофильным анионам. Так, например, Малиновская и др. ранее применяли цирконий(IV)-порфиринаты в качестве высокоизбирательных заряженных переносчиков для определения фторид-ионов. [179]. Эти же авторы установили, что механизм функционирования мембран на основе Zr(IV)-порфиринов зависит от присутствия и природы липофильных добавок и свойств пластификатора [180], при этом, посредством рационального подбора указанных компонентов мембран возможно избежать проявления так-называемого "супер-Нернстовский» отклик электродов по отношению к фториду.

В действительности, наличие супернернстовских величин чувствительности и неустойчивый электродный отклик, связанные с димеризацией ионофора в мембранной фазе, является серьезным недостатком при применении электродов с полимерными мембранами на основе металлопорфиринов [181]. Теоретическое Нернстовское значение чувствительности для однозарядных анионов составляет 59 мВ/дек, однако есть данные о чувствительности ИСЭ на основе МП с угловыми наклонами электродных функций величиной в 70-100 мВ/дек. Наряду с супер-Нернстовским откликом, в

результате димеризации и последующей кристаллизации ионофора при контакте мембраны с водным раствором, происходит его выщелачивание из фазы мембраны, что в свою очередь приводит к укорочению времени жизни и высокой перекрестной чувствительности электрода к рН среды.

Ранее были изучены различные подходы, призванные избежать димеризацию МП ионофоров в мембранной фазе, а также изучить природу данного явления. Так, Мейерхофф и коллеги установили, что причиной супер-Нернстовского поведения полимерных мембран на основе МП является комплексообразование двумя молекулами МП гидроксид-ионов, часто присутствующих в мембранной фазе [182]. Авторы сравнивали отклик ПВХ-пластифицированных мембран на основе октаэтилпорфиринов In(III) и Ga(III) с откликом мембран, допированных так-называемыми «picket-fence» порфириновыми комплексами тех же металлов, в которых возможность образования димеров стерически затруднена посредством введения в структуру ионофора периферических заместителей большого размера.

Малиновска и соавторы применяли схожие «picket-fence» порфириновые комплексы алюминия (III) в качестве мембраноактивных компонентов для разработки фторид-селективных полимерных мембранных электродов [183]. По сравнению с тетрафенилпорфиринатом и октаэтилпорфиринатом Al(III), также изученными авторами, использование «picket-fence» порфирината Al(III) позволило предотвратить димеризацию ионофора. Мембраны на основе данного ионофора, пластифицированные оНФОЭ, показывали быстрый и селективный отклик к фторид-ионам с нижним пределом обнаружения в 40 мкмоль/л и потенциометрическими коэффициентами селективности $K_{pot} < 10^{-3}$ для всех исследованных мешающих ионов (SCN^- , ClO_4^- , Cl^- , Br^- и NO_3^-) и приближались по свойствам к классическим твердотельным фторид-селективным сенсорам на основе кристаллического фторида лантана, LaF_3 .

Другие способы избежать димеризации МП ионофора в фазе мембраны заключались в ковалентной химической привязке ионофора к полимерной мембране [184], либо применении отличных от ПВХ полимерных матриц, например, силиконовой резины [185], полиуретана (ПУ) [186,187], или покрытий полученных методами электрополимеризации [188]. Хотя эти подходы дали весьма обнадеживающие результаты, проблема металлопорфириновой димеризации не была решена полностью.

III.7 Pt-порфирины - неоксофильные ионофоры, неподверженные димеризации

Ввиду низкой оксофильности центрального металла, порфириновые комплексы платины при их использовании в качестве ионофоров не должны подвергаться процессу димеризации в мембранной фазе, что, в свою очередь, позволит избежать супернернстовское поведение сенсоров на их основе.

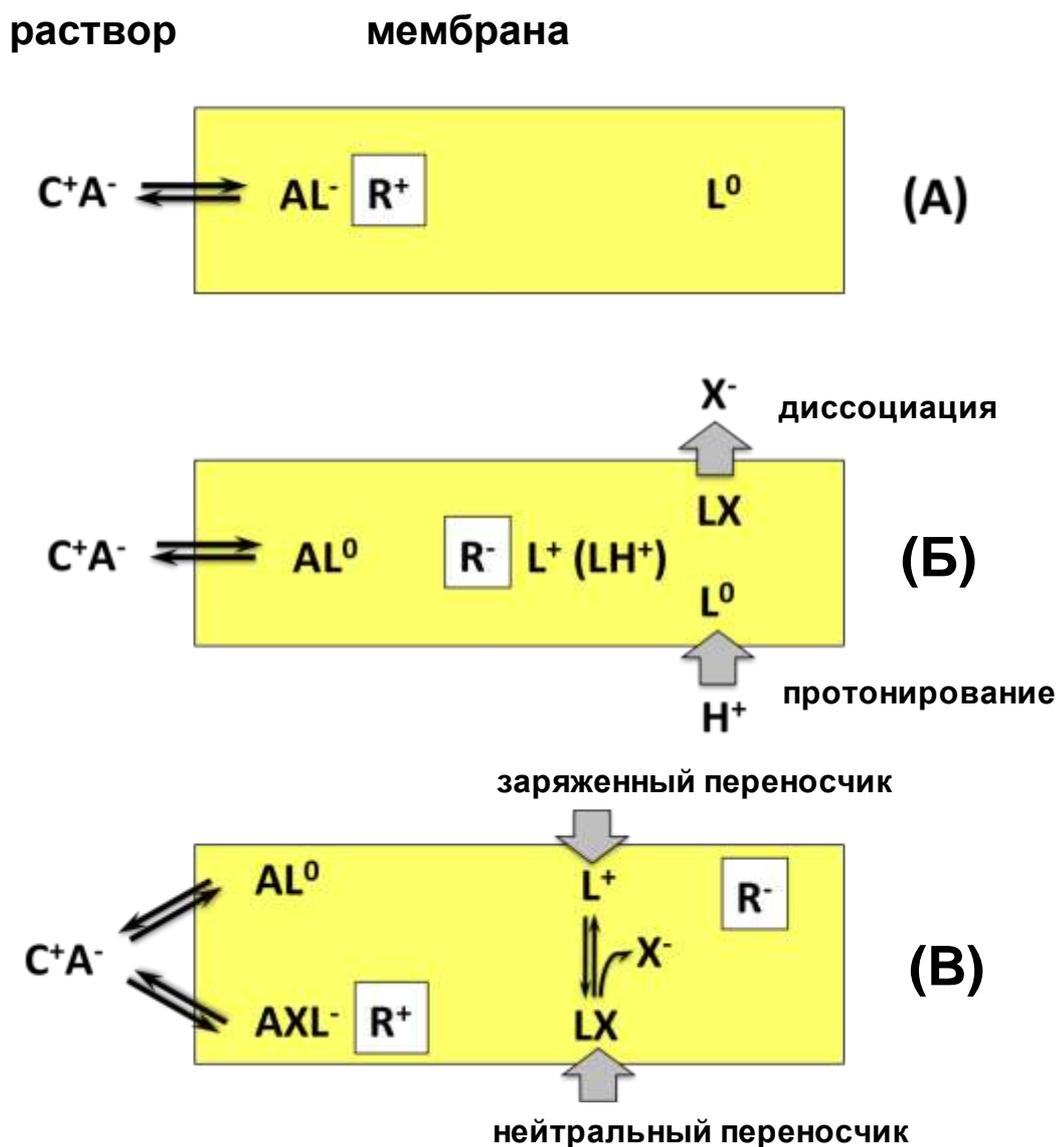


Рис. III.9 Механизм функционирования МП ионофора в фазе полимерной мембраны: (А) нейтральный переносчик, (Б) заряженный ионофор, (В) смешанный режим. На схеме: A^- – определяемый анион; C^+ – противоион; R^+ и R^- – липофильные катионные и анионные добавки соответственно; L^0 и LX – электрически нейтральный ионофор; L^+ – ионофор, заряженный в результате диссоциации, LH^+ – протонированный ионофор, см. [18] для более подробной информации.

Ранее Pt(II)-порфирины нашли широкое применение в оптических сенсорах для обнаружения молекулярного кислорода в широком диапазоне концентраций [189 - 191]. Принцип работы этих устройств основан на подавлении кислородом люминесцентного излучения Pt-порфирина [192, 193]. Однако к настоящему времени отсутствуют данные о потенциометрических исследованиях Pt-

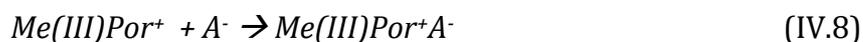
порфиринов в качестве ионофоров. Частично это может быть связано с низкой способностью Pt(II)-порфиринов к связыванию аксиальных лигандов что затрудняет их использование в качестве чувствительных материалов [194]. Однако, Pt(IV)-порфиринаты также синтезированы, и данные соединения могут быть перспективными мембраноактивными веществами [195, 196].

В настоящем разделе описывается использование Pt(II) и Pt(IV)-тетрафинилпорфиринов [Pt(II)TPP и Pt(IV)TPP₂ соответственно] и Pt(II)-октаэтилпорфирина [Pt(II)OEP] (см. Главу II для молекулярной структуры) в качестве ионофоров полимерных мембранных электродов. Изучено влияние типа и концентрации липофильных анионных добавок в составе полимерной мембраны и pH анализируемых растворов на потенциометрические свойства электродов с полимерными мембранами на основе Pt-порфиринов. Кроме того, был изучен механизм функционирования Pt-порфиринов в качестве иодид-селективных ионофоров и проведена компьютерная оценка энергий комплексообразования Pt-порфиринов с использованием квантово-химических расчетов. Результаты настоящих исследований, были опубликованы нами в работе [197].

III.7.1 Теоретические расчеты комплексообразования Pt-порфиринов с различными анионами

На примере Pt(IV)-порфириновых комплексов была проведена теоретическая оценка энергий их комплексообразования с различными анионами в качестве аксиальных лигандов с применением квантово-химических расчетов, в частности полуэмпирических методов PM3 и PM5, также теории функционала плотности с привлечением алгоритма DFT B88LYP [198, 203].

Поскольку большая часть металлопорфиринов с центральным металлом в степени окисления (+3) или (+4) функционирует в составе полимерной мембраны в качестве заряженных переносчиков [172], были рассмотрены следующие стадии процесса комплексообразования МП/анион:



где $Me(III)Por^+$ и $XMe(IV)Por^+$ - порфириновые комплексы металлов Me(III) и Me(IV) в степенях окисления (+3) и (+4) соответственно, ионизированные в результате диссоциации осевого контр-аниона, X - второй осевой лиганд (наиболее часто Cl⁻ или молекула воды), A⁻ - определяемый анион.

Для оценки значений энергий связи, в первую очередь в газовой фазе была оптимизирована геометрия всех МП и произведен расчет стандартных теплот их образования, H_f^{298} . Затем энергии взаимодействия МП/анион, выраженные посредством уравнений IV.8 и IV.9, рассчитывали как разницу между энергией

МП-анионного комплекса и суммой энергией несвязанного МП и целевого аниона, без учета изменений энтропии, как представлено в уравнении IV.10:

$$\Delta E(\text{MePor}^+ - \text{A}^-) = E(\text{MePor}^+ \text{A}^-) - [E(\text{MePor}^+) + E(\text{A}^-)] \quad (\text{IV.10})$$

На **Рис. III.10** представлены результаты расчетов методом PM5 энергии комплексообразования металлопорфиринов нормализованы относительно энергии комплексообразования с хлорид-ионом, и приведенные данные представляют собой разницу между энергией комплексообразования МП/А⁻ (А⁻ = ОН⁻, F⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻, NCS⁻, SCN⁻, NO₂⁻, O₂N⁻, NO₃⁻, ClO₄⁻, OAc⁻, Sal⁻) минус энергия комплексообразования МП/Cl⁻. Как можно видеть, сродство комплексообразования Pt(IV)PorCl⁺ по отношению ко всем оксоанионам, за исключением перхлорат-иона, ниже, чем для других металлопорфиринов. Интересно отметить относительно высокую энергию взаимодействия с ионами NO₂⁻ и SCN⁻, в то время как энергия образования комплекса с фторид-ионом для Pt(IV)PorCl⁺ крайне низка по сравнению с другими изученными МП. Наконец, сильное взаимодействие с йодид-ионом позволяет предположить потенциальное применение Pt(IV)Por в качестве ионофора для разработки йодид-селективного электрода. На основе теоретических расчетов было также установлено, что присутствие в качестве второго аксиального лиганда молекул воды не приводит к существенным изменениям энергии комплексообразования, подтверждая таким образом отсутствие тенденции к димеризации для этих ионофоров. Напротив, значительное влияние на энергию связи оказывает структура порфиринового макроцикла, и в частности наличие и природа боковых заместителей (в качестве модельных структур были использованы тетрафенил- и октаэтилпорфирин: TPP и OEP).

Сравнение энергий комплексообразования Pt(IV)TPPCL⁺ с различными анионами, рассчитанных методами PM3, PM5 и DFT/B88LYP приведено на **Рис. III.10**, нижний график. На графике видно хорошее согласование между теоретически рассчитанными величинами, полученными тремя квантово-химическими методами, подтверждая таким образом надежность выводов о селективности Pt(IV)TPPCL₂, оцененной с помощью метода PM5. Следует отметить, что для точного вычислительного прогнозирования сенсорной селективности на основе МП необходимо учитывать также энергию сольватации всех частиц, присутствующих в мембранной фазе.

К сожалению, неоднородность полимерной мембраны делает такую оценку довольно сложной задачей, что в свою очередь ограничивает возможности предварительной теоретической оценки потенциальной селективности новых ионофоров.

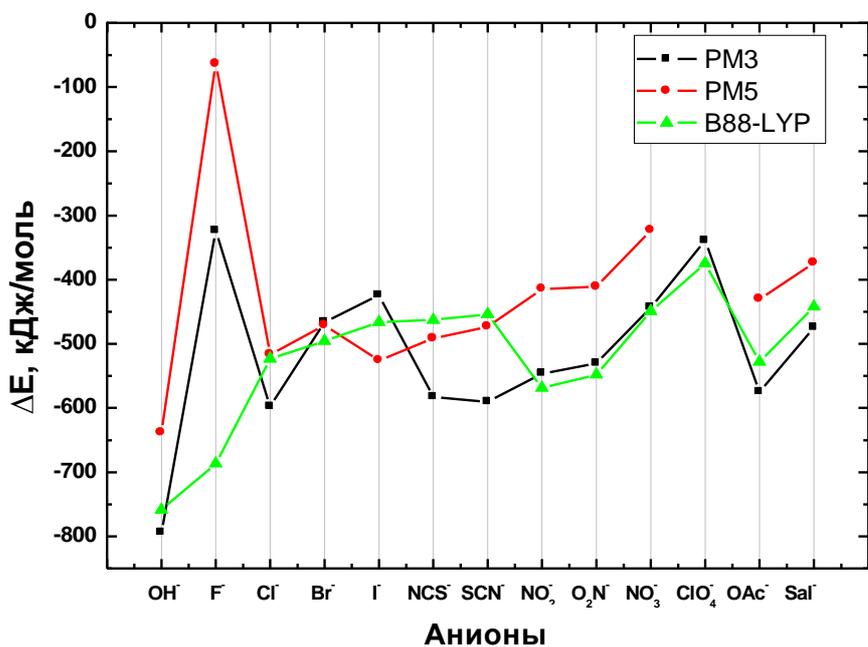
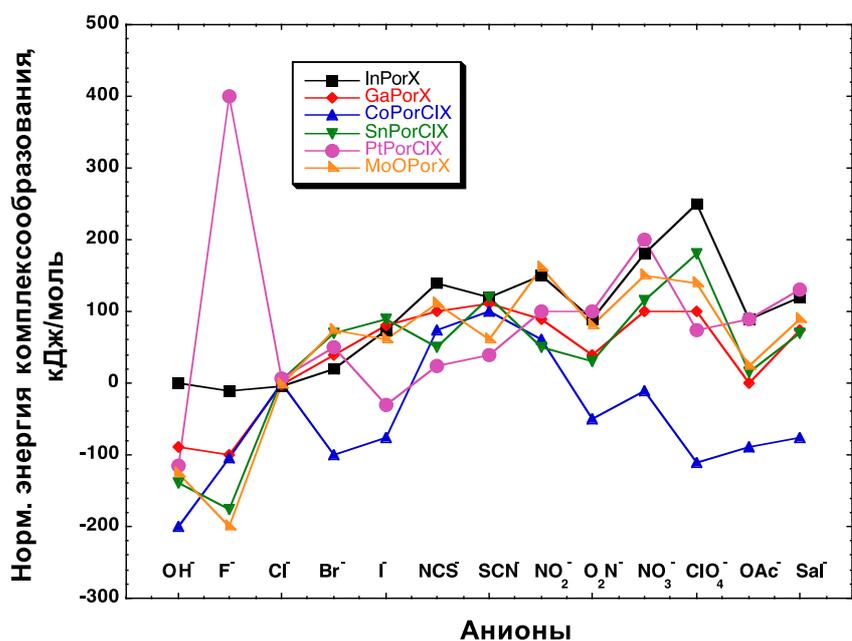


Рис. III.10 Результаты теоретических расчетов комплексообразования металлопорфиринов: (вверху) нормированные энергии связывания различных МП с несколькими анионами, рассчитанные с помощью полуэмпирического метода PM5; (внизу) сравнение энергий взаимодействия Pt(IV)TPP⁺-анион оцененных методами DFT, PM3 и PM5 соответственно [197].

Необходимо также отметить, что несмотря на то, что применение подхода вычислительной химии к разработке новых эффективных ионоселективных мембранных электродов является многообещающим [199], данная методика способна обеспечить только качественные результаты.

Ввиду большого количества различных процессов, одновременно протекающих на границе раздела фаз мембрана-раствор, а также необходимости учета многочисленных параметров (неоднородности мембраны и примембранного слоя, гидратации/сольватации и пр.), на сегодняшний день отсутствует четкое понимание влияния вышеперечисленных факторов на электродную функцию мембраны. В связи с этим, представленные расчетные данные должны интерпретироваться с определенной осторожностью.

III.7.2 Исследование свойств полимерных пластифицированных мембран на основе Pt(IV)TPPCL₂

Основываясь на результатах теоретической оценки селективного взаимодействия Pt(IV)-порфиринов с различными анионами, были проведены потенциометрические эксперименты с целью оценить возможность использования Pt(IV)TPPCL₂ в качестве иодид-селективного ионофора в составе полимерных мембранных электродов. Составы исследованных мембран приведены в **Табл. III.1**.

В целях повышения степени диссоциации Pt(IV)TPPCL₂-ионофора в органической фазе, для приготовления мембран 2-5 использовали полярный пластификатор оНФОЭ ($\epsilon_{\text{оНФОЭ}} = 24$); для сравнения мембрана 6 была сформулирована с помощью пластификатора ДОС. Первоначально предполагали, что Pt(IV)TPPCL₂ ионофор функционирует в фазе мембраны в качестве заряженного переносчика. По этой причине было исследовано также влияние добавления липофильных анионных частиц (ТпСлФБ-) на потенциометрические свойства мембран на основе Pt(IV)TPPCL₂. Свежеприготовленная мембрана 2, содержащая только с 1% по весу Pt(IV)TPPCL₂ и не содержащая анионных добавок, показывала анионный отклик в присутствии йодид-иона. На градуировочном графике мембраны 2 в координатах E, мВ-рI наблюдали два линейных участка: в диапазоне активности йодида 10^{-6} - 10^{-3} моль/л мембранный отклик был ниже теоретического Нернстовского и варьировался от -5 до -15 мВ/дек, при концентрации йодид-иона свыше 10^{-3} М был зарегистрирован супер-Нернстовский отклик с наклоном свыше -70 мВ/дек, **Табл. III.1**. Такое поведение указывает на присутствие в мембранной фазе нескольких активных форм ионофора и требует внесения липофильных добавок для повышения устойчивости электродной функции мембраны и улучшения воспроизводимости. Как ни странно, внесение ТпСлФБК (в количестве от 10 до 40 мол% по отношению к содержанию ионофора) в состав мембран на основе Pt(IV)TPPCL₂ привело к получению катионного отклика и селективности, типичной для мембран на

основе катионообменников для свежеприготовленных мембран. Однако, по прошествии 2-х недельного срока наблюдалась существенная детериорация анионного отклика вышеупомянутых мембран в присутствии йодида (данные не приведены).

Табл. III.1 Составы и потенциметрические характеристики полимерных мембран на основе Pt(IV)TRPPCl₂, Pt(II)TRP и Pt(II)OEP ионофоров.

Состав мембраны				Наклон электродной функции, мВ/рХ	
N	Ионофор, 1% по весу	Растворитель-пластификатор	ТДМА ⁺ , 10 мол%	I	pH
1	-	ДОС	10	-55.8±1.7	9.2±7.2
1 ^a	-	ДОС	10	-27.4±2.0	
2	Pt(IV)TRPPCl ₂	оНФОЭ	-	диапазон 10 ⁻⁶ - 10 ⁻³ М: -5.2±1.6	-18.7±1.1
			-	выше 10 ⁻³ М : -70.1±5.4	
2 ^a	Pt(IV)TRPPCl ₂	оНФОЭ	-	диапазон 10 ⁻⁶ - 10 ⁻³ М: -15.3±3.0	-
			-	выше 10 ⁻³ М : -95.1±15.4	
3	Pt(IV)TRPPCl₂	оНФОЭ	10	-61.1±2.0	-4.3±1.5
3^b	Pt(IV)TRPPCl₂	оНФОЭ	10	-58.3±3.2	-
4	Pt(IV)TRPPCl ₂	оНФОЭ	20	-61.8±1.8	-12.3±0.7
5	Pt(IV)TRPPCl ₂	оНФОЭ	40	-58.6±3.5	-25.2±0.1
6	Pt(IV)TRPPCl ₂	ДОС	40	-62.1±0.8	-16.5±0.1
7 ^a	Pt(II)TRP	ДОС	-	-17.3±2.5	13.4±8.5
7 ^b	Pt(II)TRP	ДОС	-	-49.7±0.8	14.4±6.0
8	Pt(II)TRP	ДОС	10	-58.8±1.4	26.9±1.1
9	Pt(II)TRP	ДОС	40	-62.5±2.0	34.1±3.0
9 ^b	Pt(II)TRP	ДОС	160	-53.2±2.3	-
10	Pt(II)OEP	ДОС	-	-8.1±2.5	33.7±0.4
11	Pt(II)OEP	оНФОЭ	-	-5.9±1.7	42.9±2.9
12	Pt(II)OEP	оНФОЭ	10	-40.3±3.7	12.6±3.0
12 ^r	Pt(II)OEP	ДОС	10	-44.3±2.5	13.6±2.7
13	Pt(II)OEP	оНФОЭ	20	-38.4±5.2	10.3±1.5
14	Pt(II)OEP	ДОС	40	-59.7±1.4	12.5±0.7
15	Pt(II)OEP	оНФОЭ	40	-39.1±1.3	8.5±3.5

^a2 недели и ^b2 месяца после приготовления соответственно; ^bселективность типичная для мембран на основе анионообменников; ^rбыло также исследовано влияние ДОС-пластификатора.

Введение в состав полимерных мембран 3-6 катионных сайтов ТДМА⁺ в количестве 10-40 мол% приводило к существенному улучшению чувствительности последних по отношению к иону йодида. Стабильный анионный отклик, с угловыми коэффициентами электродной функции, приближающимися к теоретическому Нернстовскому наклону, был получен для таких мембран во всем исследуемом диапазоне концентраций йодида, **Табл. III.1**. Оптимальные характеристики были зафиксированы для мембраны 3, содержащей 10 мол% катионных липофильных сайтов ТДМА⁺, для которой угловой коэффициент составлял $-61,1 \pm 2,0$ мВ/pI, а влияние pH среды было незначительным (наклон $-4,3 \pm 1,5$ мВ/pH). Как можно видеть из **Рис. III.11**, анионная чувствительность мембран на основе Pt(IV)TRPCl₂ уменьшалась с увеличением количества анионообменника ТДМАСl. На основании полученных данных, можно заключить, что Pt(IV)TRPCl₂ ионофор функционирует в фазе мембраны в качестве нейтрального переносчика, либо в так-называемом "смешанном режиме", когда ионофор присутствует в мембране одновременно в нейтральной и заряженной формах.

Ранее была показана возможность функционирования в качестве нейтральных ионофоров для Co(III)TRPX (где X = Cl⁻ или NO₂⁻) [200] и Zr(IV)-порфиринов (тетрафенил- и октаэтилпорфиринов) [180,187]. В случае Co(III)TRPX было показано, что основной нитрит-ион необратимо комплексуется на металлическом Co(III) центре МП, изменяя таким образом рабочий механизм Co(III)TRPCl ионофора с заряженного на нейтральный после первого контакта мембраны с раствором, содержащим нитрит-ионы. С другой стороны, было показано, что Zr(IV)-порфирины могут функционировать в фазе мембраны как заряженные и/или нейтральные переносчики, либо функционировать по смешанному механизму, благодаря способности Zr(IV)-иона образовывать комплексы с более чем шестью координирующими лигандами. В тех случаях, когда МП-ионофор функционирует в "смешанном режиме", одновременное присутствие в мембране заряженной и нейтральной форм ионофора (диссоциированной или аналит-скоординированной соответственно) требует внесения анионных и/или катионных центров для оптимизации селективности таких мембран. В большинстве случаев, при функционировании ионофора в "смешанном режиме" требуется введение меньшего количества липофильных ионных добавок (5-20 мол% по отношению к содержанию ионофора). Из-за наличия естественных анионных примесей, формирующихся в полимере в процессе его полимеризации, среднее количество которых было оценено для оНФОЭ-пластифицированной мембраны в 130 мкмоль/кг [201], критически важным для оптимизации мембранной селективности является добавление липофильных катионных сайтов.

Таким образом, снижение анионной чувствительности мембран 4 и 5, содержащих 20 и 40 мол% ТДМАСl соответственно, по сравнению с мембраной 3 указывает на смешанный режим функционирования Pt(IV)TRPCl₂ ионофора.

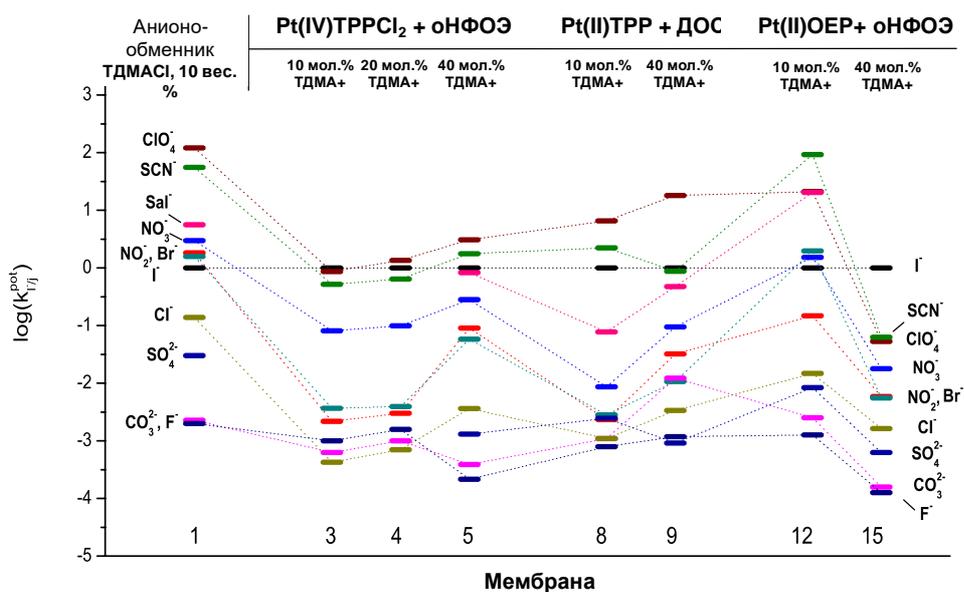
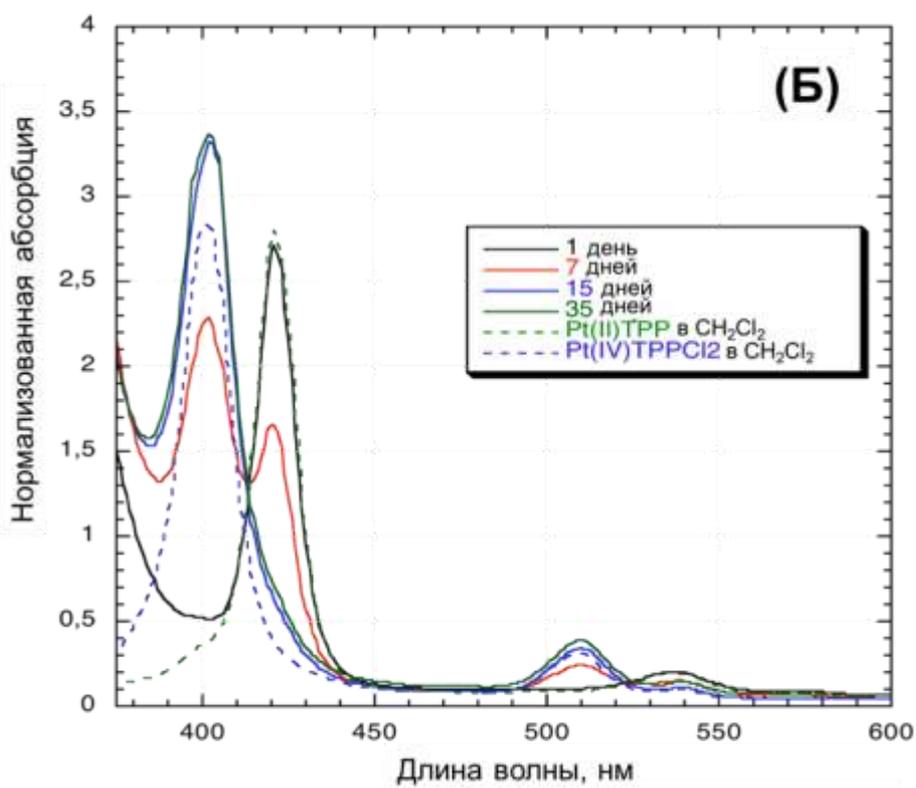
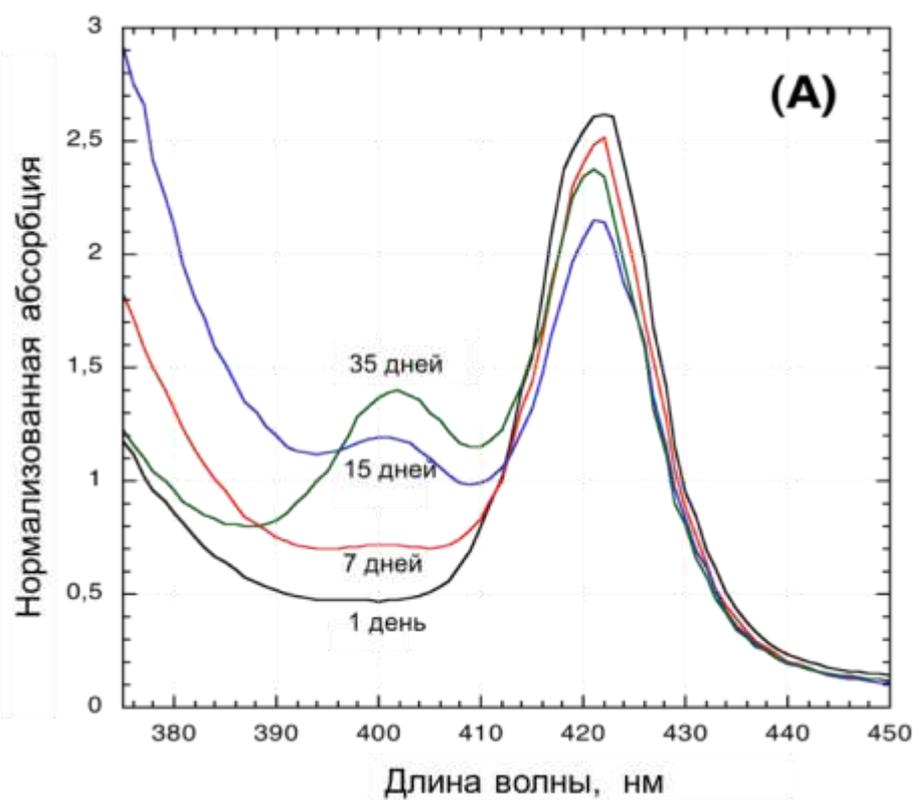


Рис. III.11 Коэффициенты селективности для электродов на основе Pt-порфирина-ионофоров (1% по весу) и ТДМАСl в различных количествах (обозначено как мол% по отношению к содержанию ионофоров), оцененные методом БИП. Все измерения проводили в MES-буфере, pH 5.5. Для вычисления значений $\log K_{i/j}^{pot}$ был использован теоретический наклон -59.2 мВ/pI. Для сравнения также показана селективность мембран, приготовленных только с ТДМАСl 10% по весу [197]. См. Приложение 1 для числовых данных.

Для прояснения механизма функционирования Pt(IV)TRPPCl₂ ионофора проводили исследование мембран на основе Pt(IV)TRPPCl₂ с использованием спектроскопии в видимой и ультрафиолетовой области спектра. На **Рис. III.12А,Б** приведены спектры свежеприготовленных мембран 2 и 5, и тех же мембран спустя 7, 15 и 35 дней после приготовления в дихлорометане. Для сравнения даны также оптические спектры чистых Pt(II)TRP и Pt(IV)TRPPCl₂ в CH₂Cl₂. Отсутствие гипсохромного сдвига полосы Core для Pt(IV)TRPPCl₂ ($\lambda = 420$ нм) подтвердило отсутствие димеризации ионофора в фазе мембраны; однако для обеих исследованных мембран со временем наблюдали уменьшение плотности адсорбции для полосы Core Pt(IV)TRPPCl₂ ($\lambda = 420$ нм), наряду с одновременным появлением новой полосы на 402 нм, соответствующей полосе Core для Pt(II)TRP. Такое поведение указывает на восстановление центрального иона металла и трансформации Pt(IV)TRPPCl₂ в Pt(II)TRP. При этом, присутствие ТДМАСl в мембране 5 значительно ускорило трансформацию Pt(IV)-порфирина в Pt(II)TRP, вероятно, за счет функционирования в качестве анионообменника для выходящих ионов Cl⁻, и тем самым способствуя диссоциации Pt(IV)TRPPCl₂. Природа растворителя-пластификатора в значительно меньшей степени влияла на процесс восстановления ионофора, как видно из **Рис. III.12В**.



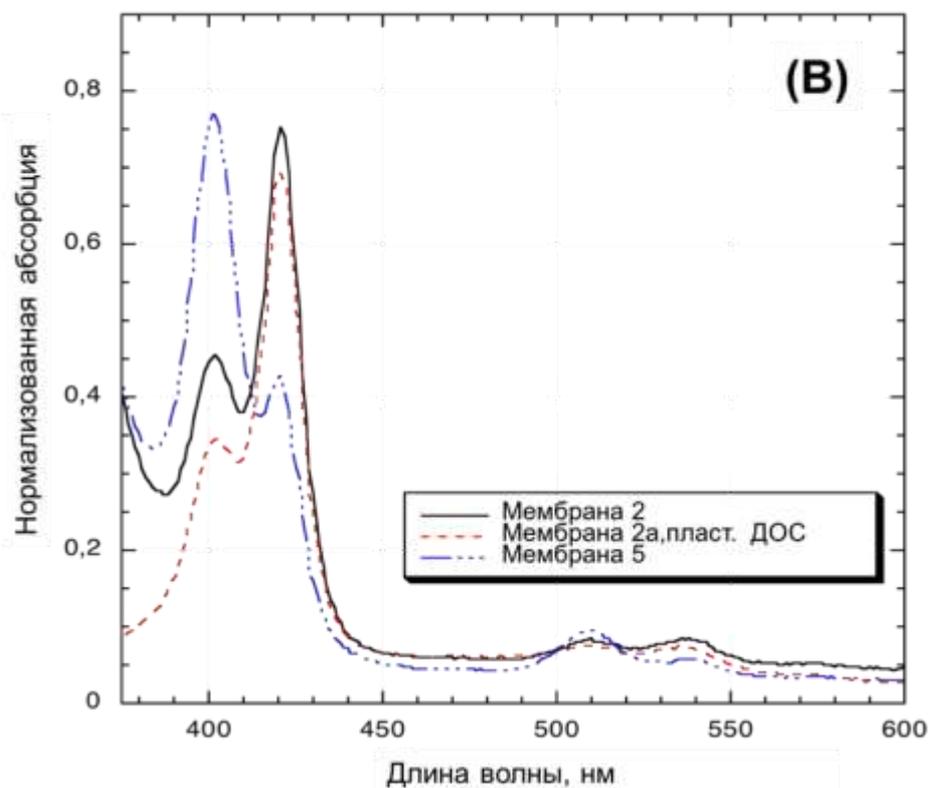


Рис. III.12 Спектры в видимой и УФ-области мембран на основе Pt(IV)TRPCl₂ в дихлорметане: (А) мембрана 2, пластифицированная с использованием ОНФОЭ, (Б) мембрана 5, пластифицированная с использованием ОНФОЭ и содержащая 40 мол% ТДМАСl, (В) сравнение спектров в видимой и УФ-области через 35 дней после приготовления мембран 2 и 2а, пластифицированных с использованием оНФОЭ и ДОС, соответственно, и мембрана 5. Спектры Pt(II)TRP и Pt(IV)TRPCl₂ в CH₂Cl₂ приводятся для сравнения [197].

Процесс восстановления Pt(IV)TRPCl₂ связывали с присутствием в полимерной мембране остаточных количеств тетрагидрофурана, легколетучего растворителя, в котором последовательно растворяли все компоненты полимерной мембраны вплоть до получения мембранного коктейля заданного состава (см. Главу II для более подробной информации). В литературе имеются данные о том, что ТГФ может быть окислен до различных продуктов, в частности 2-гидрокситетрагидрофурана (ТГФ-ОН), γ -бутиролактона (γ -BL), бутанодиаля, янтарной кислоты [202,203]. Гипотезу окисления ТГФ проверяли посредством мониторинга временной эволюции 10⁻⁵ моль/л раствора Pt(IV)TRPCl₂ в ТГФ, содержащем 10 мол% ТДМАСl (по отношению к ионофору) с применением оптической и газовой хроматомасс-спектрометрии (ГХ-МС). Оптические спектры Pt(IV)TRPCl₂ в ТГФ представлены на **Рис. III.13**.

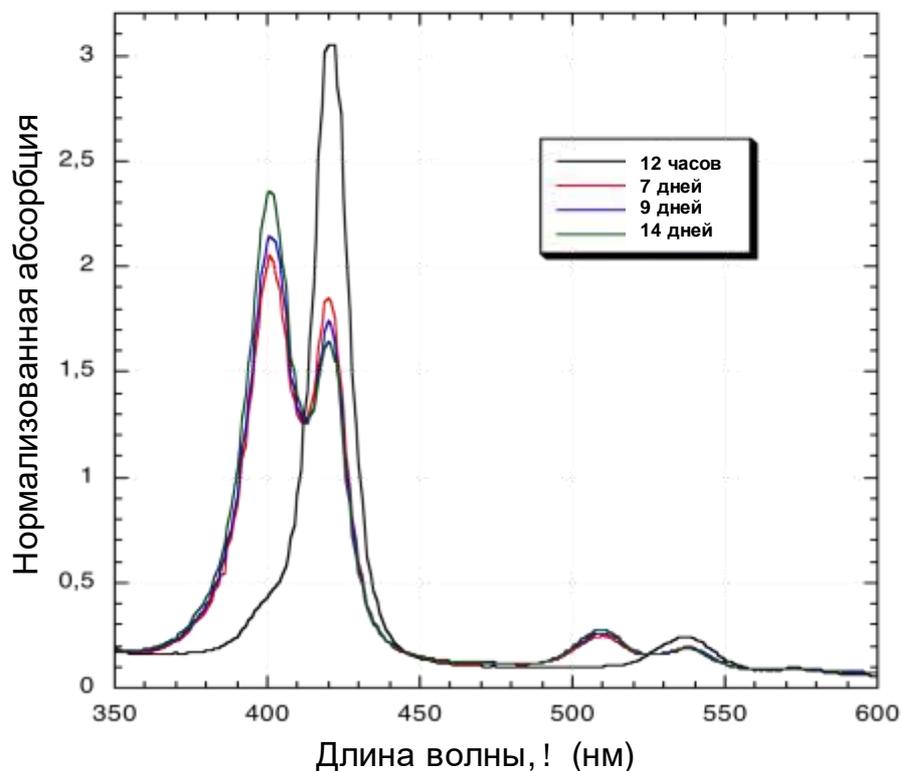


Рис. III.13 Двухнедельная эволюция спектров в видимой и УФ-области раствора 10^{-5} М Pt(IV)TPPCL₂ в ТГФ, содержащем 10 мол% ТДМАСI [197].

Возможно констатировать, что изменение видимого спектра исследуемого раствора во времени аналогично ранее приведенным спектрам мембраны 5 (**Рис. III.12**); при этом присутствие Pt(II)TPP в анализируемом растворе было зарегистрировано по истечении одной недели после приготовления раствора. Дополнительные эксперименты для подтверждения окисления ТГФ в присутствии Pt(IV)TPPCL₂ проводили методом газовой хромато-масс-спектрометрии посредством анализа состава 0.05 ммоль/л раствора Pt(IV)TPPCL₂ и 10 мол% ТДМАСI в ТГФ спустя две недели после его приготовления. Данные ГХ-МС измерений показали на хроматограмме наличие пика с временем удерживания 9.96 мин, массовое число которого соответствовало массе γ -BL, летучему продукту окисления ТГФ, который был впоследствии подтвержден путем сравнения с аутентичным образцом. В пользу гипотезы окисления остаточных количеств ТГФ и одновременного восстановления Pt(IV)TPPCL₂ свидетельствуют отрицательные значения угловых коэффициентов градуировочных графиков в координатах E, мВ - pH, полученных для мембран 2-6 на основе Pt(IV)TPPCL₂ в UBS, что объясняется увеличением пограничного мембранного потенциала в связи с образованием и накоплением ионов H⁺ в мембране в процессе окисления ТГФ в γ -BL.

Другая возможная окислительно-восстановительная отклик может иметь место между $\text{Pt(IV)TPP}\text{Cl}_2$ и йодидом непосредственно в процессе градуировки мембраны. Следующий эксперимент был проведен с целью проверить такую возможность: на предметное стекло были нанесены мембранные коктейли ($n=4$) того же состава, что и мембраны 2 и 3, но пластифицированные с помощью ДОС. После испарения ТГФ измеряли УФ-видимые спектры сухих пленок. В последующих экспериментах два предметных стекла для каждой мембраны были вымочены в 0.01 моль/л растворе хлорида натрия, в то время как других два предметных стекла с нанесенными на них мембранами выдерживали в 0.01 моль/л растворе KI. Оба раствора были приготовлены на фоне 0.01 моль/л MES буфера с pH 5.5. Спектры пленок в видимой и УФ-области регистрировали ежедневно в течение недели. Между измерениями предметные стекла с нанесенными на них пленками непрерывно вымачивали в указанных выше растворах. Практически никаких изменений не было обнаружено в спектрах мембран 2 и 3, вымоченных в хлористом натрии в течение всего времени экспозиции. Напротив, после 1 недели вымачивания мембран 2, 3 в 0.01 моль/л растворе KI интенсивность полосы Core на 420 нм, соответствующей $\text{Pt(IV)TPP}\text{Cl}_2$, уменьшилась почти на 20%, в то время как была зарегистрирована новая полоса на 402 нм (соответствующая образованию Pt(II)TPP). Для мембраны 3 процесс восстановления $\text{Pt(IV)TPP}\text{Cl}_2$ в присутствии йодид-иона ускорялся в присутствии ТДМАСI: за тот же период времени более 30% $\text{Pt(IV)TPP}\text{Cl}_2$ необратимо восстановилось в Pt(II)TPP . Поскольку при проведении потенциометрических измерений все мембраны на основе Pt-порфириновых ионофоров вымачивали в 0.01 моль/л растворе NaCl, и их отклик оценивали на следующий день после приготовления, влияние окислительно-восстановительного процесса между ионофором $\text{Pt(IV)TPP}\text{Cl}_2$ и йодид-ионами на образование в мембране Pt(II)TPP было пренебрежительно малым.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно заключить, что в составе полимерных мембран на основе $\text{Pt(IV)TPP}\text{Cl}_2$ одновременно присутствуют как положительно заряженные частицы $\text{Pt(IV)TPP}\text{Cl}^+$, так и восстановленная нейтральная форма Pt(II)TPP . В то время как анионные примеси, изначально присутствующие в ПВХ, играют положительную роль в стабилизации присутствующего в мембране небольшого количества $\text{Pt(IV)TPP}\text{Cl}^+$, для стабилизации Pt(II)TPP , который, по всей видимости, выполняет роль нейтрального переносчика, требуется добавление в состав мембраны липофильных катионных центров. Наличие на градуировочных кривых йодид-иона двух областей с суб- и супер-Нернстовскими наклонами для мембраны 2, содержащей только $\text{Pt(IV)TPP}\text{Cl}_2$ без каких-либо липофильных добавок, можно объяснить следующим образом: суб-Нернстовский отклик является результатом сильной ассоциации ионофора в фазе мемbrane, даже при использовании полярного растворителя-пластификатора оНФОЭ; последующее частичное восстановлением ионофора и образование Pt(II)TPP приводит к супер-

Нернстовскому отклику. Введение катионных липофильных сайтов ТДМА⁺, приводит к стабилизации Pt(II)TRP и получению градуировочных графиков с угловыми коэффициентами, близкими к теоретическим величинам для мембран 3-6. Более того, наблюдали улучшение селективности полимерной мембраны 3 на основе Pt(IV)TRPCL₂ и 10 мол% анионообменника ТДМАСI в отношении йодид-иона, по сравнению с классической анион-чувствительной мембраной, приготовленной только с использованием анионообменника с ТДМАСI в количестве 10% по весу. Однако необратимое и неконтролируемое восстановление Pt(IV)TRPCL₂ с течением времени препятствует разработке надежных полимерных мембранных сенсоров на основе данного ионофора. С другой стороны, неожиданное поведение Pt(II)TRP дало нам толчок для последующих исследований Pt(II)-порфиринов в качестве ионофоров для разработки селективных полимерных мембранных электродов.

III.7.3 Исследование свойств полимерных мембран на основе Pt(II)-порфиринов

В литературе имеются только несколько примеров эффективно функционирующих полимерных мембранных электродов на основе металлопорфириновых ионофоров с двухвалентным центральным металлом [173,204,205]. Для таких ионофоров очевиден механизм функционирования по схеме нейтрального переносчика [172]; при этом для стабилизации отрицательно заряженных комплексов МП/анион в фазе мембраны требуется включение в ее состав катионных липофильных сайтов, ТДМА⁺ в частности. В литературе описан единственный пример не-порфириновых комплексов Pt(II)R₂[NN] (где R = -Me, -p-MeC₆H₄ и -p-MeOC₆H₄, NN=2,2'-бипиридил), использованных в качестве ионофоров для перхлорат-чувствительных мембранных электродов [206].

Селективное определение йодида играет важную роль в экологическом мониторинге, анализе биологических образцов, продуктов питания и пр. Ранее в литературе были описаны йодид-селективные мембранные электроды на основе различных мембраноактивных веществ [207], в частности различных металлоорганических комплексов, такие как металлофталоцианины [208] и металлопорфирины [209, 210], салицилиденовых производных [211, 212], производные циклама [213], фосфинсульфида [214], а также свободных порфиринов [215,216] и производных тиопирана [217]. Общими недостатками этих электродов являются узкий диапазон линейного отклика, сильное влияние липофильных анионов (таких как перхлорат и салицилат), также существенная токсичность большинства используемых мембраноактивных веществ. По этой причине поиск новых нетоксичных, высокоселективных и устойчивых ионофоров для разработки йодид-селективных электродов является актуальной задачей.

III.7.3.1 Исследования Pt(II)TRP ионофоров

Результаты исследований электродных свойств полимерных мембран на основе Pt(IV)TRPCl₂, побудили нас рассмотреть возможность использования Pt(II)TRP в качестве нейтрального ионофора для разработки иодид-селективных сенсоров. Это довольно рискованное допущение, поскольку известно, что для плоскоквадратных комплексов Pt-порфиринов дополнительное координирование лиганда в аксиальных положениях затруднено, а время жизни пятикоординационных комплексов платины исчезающе коротко [218, 219]. Однако в работе Сео и пр. образование низкоспиновых пятикоординационных комплексов Pt(II)TRP в пиперидине было продемонстрировано путем анализа спектров люминесценции и оценки параметров их спин-орбитального взаимодействия [220].

Для приготовления мембран на основе Pt(II)TRP использовали ДЭС-пластификатор; влияние добавления анионообменника (ТДМА⁺) на селективность мембраны было изучено потенциометрическим и оптическим методами. Как и ожидалось, из-за низкой оксофильности Pt(II)TRP ионофора, мембрана 7, сформированная без добавок анионообменника имела очень умеренную чувствительность к изменению рН (13,4±8,5 и 14,4±6,0 мВ/рН спустя пять дней и два месяца после приготовления, соответственно, **Табл. III.1**). Через два месяца после приготовления для мембраны 7 было отмечено значительное улучшение потенциометрической отклика к йодид-иону: угловой коэффициент потенциометрической градуировочной кривой к активности йодида увеличился с -17,3±2,5 до -49,7±0,8 мВ/дек. Такое повышение наклона со временем эксплуатации мембраны можно объяснить частичным вымыванием из мембраны первоначально присутствующих в ней внутренних анионных примесей. Однако, ввиду неустойчивости электродных свойств мембраны 7 очевидна невозможность создания надежных потенциометрических сенсоров на основе Pt(II)TRP без введения в состав полимерной матрицы липофильной катионной добавки.

При добавлении ТДМА⁺ в количестве соответственно 10 и 40 мол% в мембраны 8 и 9 было зарегистрировано более высокое влияние рН среды (наклонами 26,9±1,1 и 34,1±3,0 мВ/рН соответственно) на потенциометрический отклик сенсоров, приготовленных на их основе, **Табл. III.1**. Такое повышение чувствительности к изменению рН объясняли тем, что присутствие фиксированных липофильных катионных центров стимулирует поток анионов в фазу мембраны, где затем образуются устойчивые отрицательно заряженные комплексы ионофор-анион, которые в свою очередь способствуют миграции протонов из основного объема раствора к поверхности мембраны. Для понижения рН чувствительности мембран на основе Pt(II)TRP проводили потенциометрическую оценку их свойств на фоне 0.01 моль/л буферных растворов MES рН 5,5 и TRIS рН 7,2. Более низкий предел обнаружения ($5,2 \times 10^{-6}$

моль/л по сравнению с $1,2 \times 10^{-5}$ моль/л) и более высокие наклоны градуировочных кривых к иодид-иону для (-58,8 мВ/pI по сравнению с -49,3 мВ/pI) были получены для мембраны 8 в фоновом растворе с более низким pH, и следовательно, все последующие измерения проводились с использованием MES-буфера с pH 5,5.

Селективность мембран содержащих Pt(II)ТРР ионофор оценивали методом БИП. Как видно из **Рис. III.11**, селективность ПВХ/ДОС мембран на основе Pt(II)ТРР ионофора существенно отличается от селективности мембраны 1, на основе с анионообменника ТДМАСI в количестве 10% по весу. На отклик мембраны 8 к иону йодида существенно воздействие оказывали только высоколипофильные перхлорат- и тиацианат-ионы.

На **Рис. III.14** показаны потенциометрические градуировочные кривые электродов, приготовленных из мембраны 8, содержащей Pt(II)ТРР 1% по весу и 10 мол% ТДМАСI (по отношению к ионофору). Теоретический нернстовский отклик данных электродов к изменению концентрации йодид-ионов с угловым коэффициентом в $-58,8 \pm 1,4$ мВ/pI был получен в диапазоне концентраций от 10^{-5} до 10^{-2} моль/л, **Табл. III.1**.

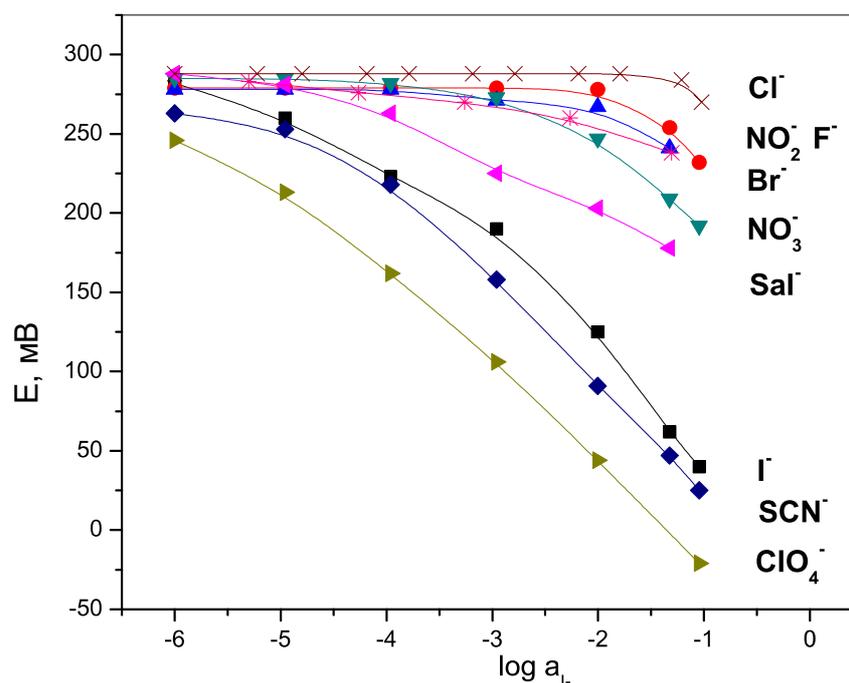


Рис. III.14 Потенциометрический отклик ПВХ/ДОС (1:2) электродов, с мембраной 8 на основе Pt(II)ТРР и 10 мол% ТДМАСI к различным анионам на фоне MES pH 5,5 [197].

При более высоких концентрациях йодида наблюдали супер-Нернстовское поведение сенсоров. Такое отклик является результатом недостатка анионообменных центров в мембране при достаточно высокой концентрации основного иона. Увеличение содержания липофильных катионных сайтов до 40 мол% по отношению к ионофору Pt(II)TRP в мембране 9 позволило устранить супер-Нернстовское поведения электродов на основе данной мембраны во всем исследуемом диапазоне активности иодид-ионам, **Рис. III.15**. Избыток добавленного TDMACl в количестве 160 мол% в мембране 9^в привел к снижению наклона потенциометрического отклика к йодид-иону из-за поглощения катионов из исследуемого раствора и нарушения селективной проницаемости мембраны [221]. Селективность мембраны 9^в была типична для мембран на основе анионообменников и определялась свободными энергиями гидратации ионов (данные не показаны). Важно отметить, что благодаря низкой оксофильности центрального Pt-иона в Pt(II)TRP ионофоре влияние салицилат- и нитрит-ионов, оксоанион оказывающ сильное влияние на потенциометрическую селективность многих ион-селективных электродов на основе металлопорфиринов, было незначительным для всех иодид-селективных электродов на основе Pt(II)TRP.

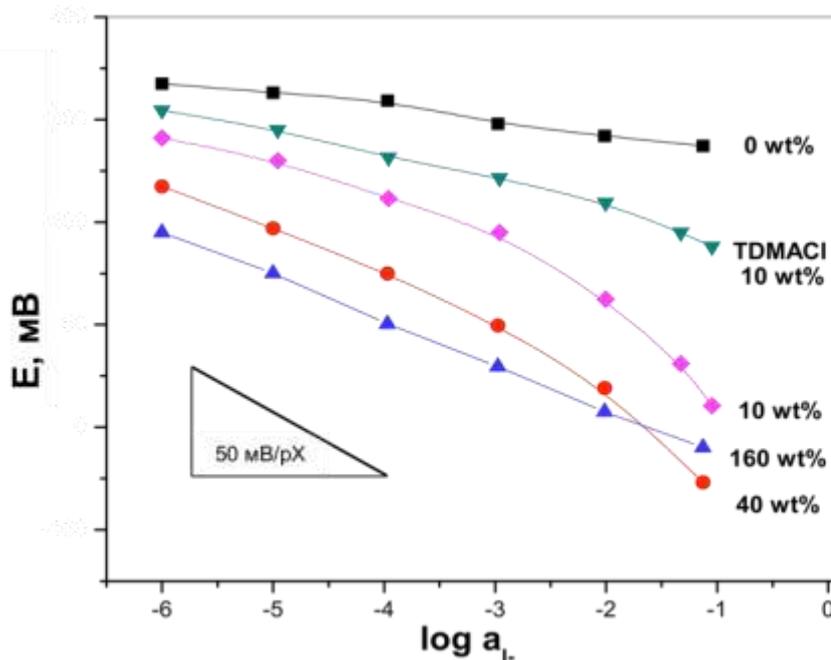


Рис. III.15 Потенциометрический отклик к йодид-иону ПВХ/ДОС (1:2), мембран 7-9 с содержанием Pt(II)TRP 1% по весу и TDMACl в различных количествах (обозначенные как мол% по отношению к содержанию ионофора в мембране). Для сравнения приводится отклик мембраны, содержащей только 10% по весу анионообменника (указанного как TDMACl) [197].

Благодаря специфическим оптическим свойствам порфиринов, очень эффективным методом для контроля за состоянием ионофора в полимерной мембране является оптическая спектроскопия. Возможность димеризации платиновых порфиринов в мембранной фазе при изменении концентрации основного йодид-иона в анализируемом растворе на фоне 0.01 моль/л MES буфера с pH 5.5 изучали методом спектроскопии на примере мембраны 8, пластифицированной ДОС и содержащей ионофор Pt(II)TPP в количестве 1 % по весу и 10 мол% (по отношению к ионофору) анионообменника ТДМАСІ. Наличие на оптических спектрах поглощения единственной полосы $\text{Co}_{\text{ре}}$, типичной для Pt(II)TPP в дихлорметане ($\lambda_{\text{макс}}$ 401 нм), подтвердило отсутствие димеризации ионофора. Небольшой bathochromic сдвиг в 2 нм с максимумом $\text{Co}_{\text{ре}}$ на длине волны в $\lambda_{\text{макс}}$ 403 нм был отнесен к аксиальному координированию йодид-иона на центральном Pt металле.

Чтобы выяснить характер изменений потенциометрических свойств мембран на основе Pt-порфиринов с течением времени, исследовали изменение электрического сопротивления мембран 1-3 и 7, содержащих только анионообменник, Pt(IV)TPPCL₂, Pt(IV)TPPCL₂ и ТДМАСІ 10 мол% и Pt(II)TPP, соответственно, **Рис. III.16**.

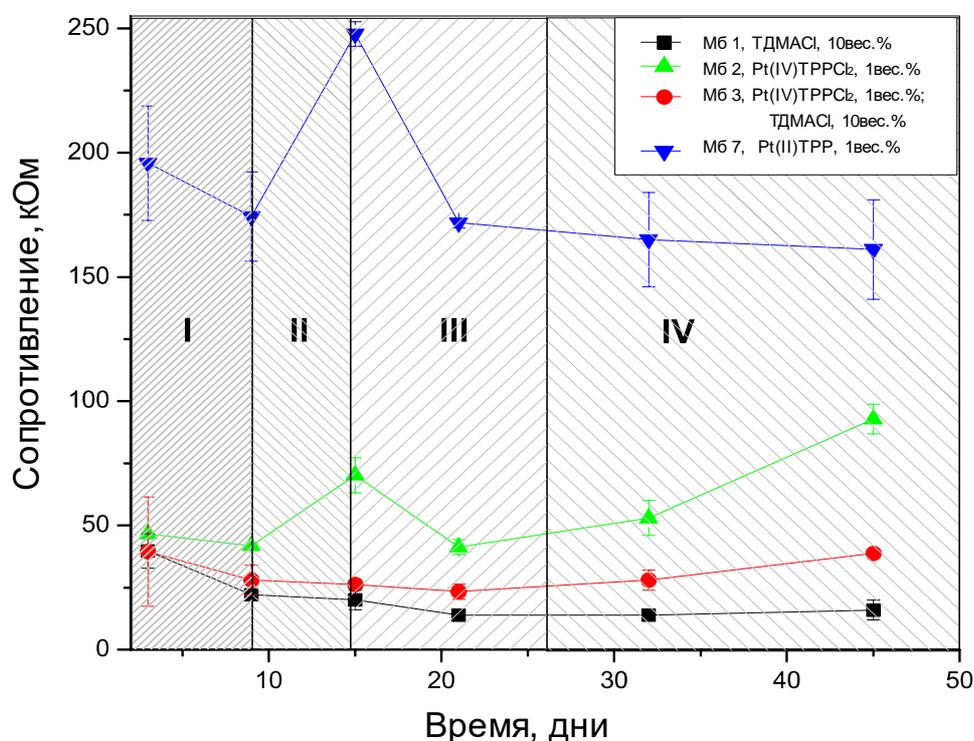


Рис. III.16 Изменение электрического сопротивления мембран на основе Pt-Порфоорофов во времени [197].

Как можно видеть, величина электрического сопротивления, а также профиль его изменения во времени зависят от природы ионофора и наличия анионообменника. Так, самое высокое значение электрического сопротивления имела мембрана 7, пластифицированная с использованием ДОС и содержащая нейтральный ионофор Pt(II)TRP (в количестве 1 % по весу) без анионообменника. Значительное снижение сопротивления для мембраны 2 на основе Pt(IV)TRPCl₂ ионофора, пластифицированной с использованием полярного пластификатора оНФОЭ и не содержащей липофильных ионных центров возникает в результате частичной диссоциации ионофора в мембране. Введение в состав мембраны 3 анионообменника ТДМАСl в количестве 10 мол% по отношению к количеству ионофора способствовало дополнительному снижению сопротивления. Полученные результаты находятся в соответствии с ранее полученными в работе [222] данными об уменьшении электрического сопротивления полимерных пленочных мембран при введении в их состав липофильных солей. Появление экстремумов на кривых R, кОм – t, дни можно объяснить следующими, параллельно протекающими, процессами диффузии: I) проникновение электролита внутрь мембраны; II) диффузия мембраноактивных веществ из объема к поверхности мембраны, III) стабилизация анионного мембранного отклика и формирование превалирующего потока анионов внутрь мембраны; с последующим IV) частичным выщелачиванием липофильных анионных сайтов во внешний раствор и образованием Pt(II)TRP (для мембран 2, 3) с течением времени. В действительности, очевидный рост электрического сопротивления мембраны 2 со временем дополнительно подтверждает нашу гипотезу о восстановлении Pt(IV) в Pt(II), сопровождающимся уменьшением количества ионофора Pt(IV)TRPCl₂ и образованием Pt(II)TRP в фазе мембраны. Добавление в состав мембраны 3 ТДМА⁺ центров позволяет в значительной степени стабилизировать ее сопротивление во времени. Данный результат находится в соответствии с устойчивым и приближенным к теоретическому Нернстовскому откликом мембраны 3 к йодиду на протяжении 60-дневного периода ее эксплуатации, **Табл. III.1.**

В заключение стоит отметить, что хотя полуэмпирические расчеты РМЗ показали достаточно низкие энергии (около -100/-150 кДж/мол) комплексообразования Pt(II)TRP с большинством анионов, оценка потенциометрической селективности полимерных мембран на основе Pt(II)TRP (с содержанием катионных липофильных сайтов в количестве 10 и 40 мол%) свидетельствует о значительном улучшении селективности в отношении йодид-иона, по сравнению с мембраной 1, образованной только с использованием анионообменника ТДМАСl 10% по весу. Pt(II)TRP функционирует в мембране как нейтральный переносчик, способный к аксиальному координированию определяемого иона на платиновом центре и образованию устойчивых пятикоординационных комплексов в фазе мембраны. Более того, исследования с применением метода оптической спектроскопии подтвердили отсутствие

димеризации Pt(II)TRP ионофора в мембранной фазе вследствие низкой оксофильности центрального Pt-иона.

III.7.3.2 Исследования Pt(II)OEP ионофоров

С целью изучения влияния структуры макроцикла, и в частности природы периферийных заместителей на активность порфириновых комплексов двухвалентной платины, в качестве ионофора для создания анион-чувствительных полимерных мембранных электродов исследовали также Pt(II)-откоэтилпорфирин, Pt(II)OEP. В зависимости от химической структуры боковых заместителей в порфирине, может изменяться способность макроцикла к агрегации в фазе мембраны, что в свою очередь может существенно влиять на устойчивость и селективные свойства полимерных мембран на основе порфириновых ионофоров. Ввиду наличия в Pt(II)OEP алифатических периферийных заместителей, данные комплексы могут иметь достаточно высокую подвижность в мембранной фазе, а применение органических растворителей пластификаторов с высокой диэлектрической проницаемостью может дополнительно способствовать агрегации ионофора в мембране [155]. С целью проверки изложенных выше предположений, для приготовления мембран на основе Pt(II)OEP были использованы два пластификатора с высокой и низкой полярностью, ДОС ($\epsilon_{\text{дос}} = 4,6$) и оНФОЭ, соответственно, **Табл. III.1**. По аналогии с Pt(II)TRP, предполагали функционирование Pt(II)OEP в составе полимерной пленки в качестве нейтрального переносчика.

В результате исследований потенциометрических свойств мембран на основе Pt(II)OEP, было обнаружено, что в сравнении с Pt(II)TRP, Pt(II)OEP ионофор проявлял повышенную селективность и обладал лучшей способностью к распознаванию йодид-ионов, **Рис. III.11**. Для мембраны 15, на основе Pt(II)OEP, пластифицированной оНФОЭ и содержащей 40 мол% ТДМАСl был получен следующий ряд селективности: $I^- > SCN^-$, $ClO_4^- > NO_3^- > NO_2^-$, $Br^- > Cl^- > F^- > CO_3^{2-} > SO_4^{2-}$, свидетельствующий об ее избирательном отклике к йодид-иону, по сравнению со всеми другими исследованными анионами. Мембраны 10, 11 пластифицированные ДОС и оНФОЕ соответственно, и не содержащие липофильных катионных добавок обладали лишь частичным анионным откликом ко всем исследованным анионам. Введение в состав мембран 12- ТДМА⁺ катионных центров в количестве 10-40 мол% привело к существенному улучшению отклика к иодиду и величинам угловых коэффициентов градуировочных кривых в диапазоне от -38,4 до -59,7 мВ/дек (**Табл. III.1**). Более того, для все мембраны на основе Pt(II)OEP обладали низкой чувствительность к изменению рН: наклон варьировался в интервале 8,5 – 12,5 мВ/рН при тестировании отклика мембран в USB буферном растворе с рН в диапазоне от 2,5 до 10,5 единиц. Несмотря на более высокую селективность для пластифицированной с использованием оНФОЭ мембраны 14, наивысший отклик к иону йодида в более широком диапазоне активности (от 10^{-6} до 10^{-1} М) с

наклоном в -59,7 мВ/дек была получена для мембраны 15, пластифицированной с использованием ДОС и содержащей аналогичное количество катионных липофильных сайтов (40 мол%). Спектры поглощения в видимой и УФ-области для мембран 12 и 12^г на основе Pt(II)ОЕР, пластифицированными с оНФОЭ и ДОС соответственно и содержащими 10 мол% ТДМА⁺ анионообменных центров в присутствии увеличивающихся концентраций иодид-иона приведены на **Рис. III.17**. Для обеих мембран можно наблюдать единственную полосу Соре ($\lambda_{\text{макс}}=382$ нм), совпадающую с полосою Соре Pt(II)ОЕР в дихлорметане ($\lambda_{\text{макс}}=380$ нм). Незначительный батохромный сдвиг полосы Соре для ДОС пластифицированной мембраны 12^г объясняли координацией основного иона на металлопорфирине. В случае оНФОЭ-пластифицированной мембраны 12 было отмечено существенное расширение пика Соре, типичное для процесса агрегации макроциклов, вызванное, по всей вероятности, использованием высокополярного пластификатора, что может объяснить более низкие наклоны градуировочных графиков в присутствии иодид-иона для мембран на основе Pt(II)ОЕР и пластифицированных оНФОЭ.

В настоящем разделе были исследованы свойства Pt(IV)TRPPCl₂, Pt(II)TRP и Pt(II)ОЕР комплексов и их использование в качестве ионофоров для создания анион-селективных полимерных мембранных электродов. Было показано, что причиной отсутствия димеризации ионофора в мембранной фазе является низкая оксофильность центрального Pt-иона, которая позволяет также избежать супер-Нернстовского поведения электродов и перекрестного влияния рН среды. Pt(IV)TRPPCl₂ функционирует в фазе мембраны по смешанному механизму из-за частичного необратимого восстановления Pt(IV)TRPPCl₂ и одновременного присутствия в мембране положительно заряженной формы Pt(IV)TRPPCl⁺ и нейтральных Pt(II)TRP частиц. В этих условиях количество внутренних анионных примесей играет положительную роль в стабилизации небольших количеств Pt(IV)TRPPCl⁺, в то время как для стабилизации нейтрального переносчика Pt(II)TRP требуется добавление липофильных катионных сайтов (в меньшем количестве, чем то, которое обычно применяется для оптимизации мембран на основе только нейтральных лигандов). К сожалению, необратимое и качественно неконтролируемое восстановление Pt(IV)TRPPCl₂ в мембране в процессе ее эксплуатации не позволяет разработки надежных полимерных мембранных электродов на основе данного ионофора. Напротив, в отличие от результатов полуэмпирических расчетов РМЗ, указывающих на небольшие энергии комплексообразования Pt(II)-порфиринов с большинством анионов, значительное улучшение селективности по отношению к йодид-иону было получено для мембран на основе Pt(II)TRP и, в особенности, Pt(II)ОЕР, содержащих катионные липофильные добавки в количестве 40 мол% по отношению к ионофору. Все указывает, что исследованные Pt(II)-порфирины выполняют в фазе мембраны роль нейтральных переносчиков, способных к образованию пятикоординационных комплексов с определяемым анионом.

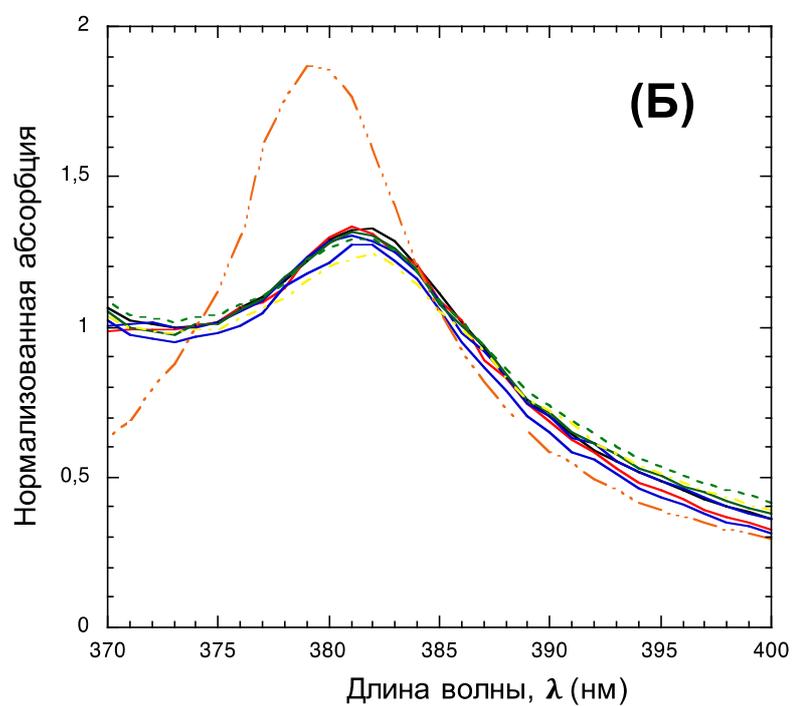
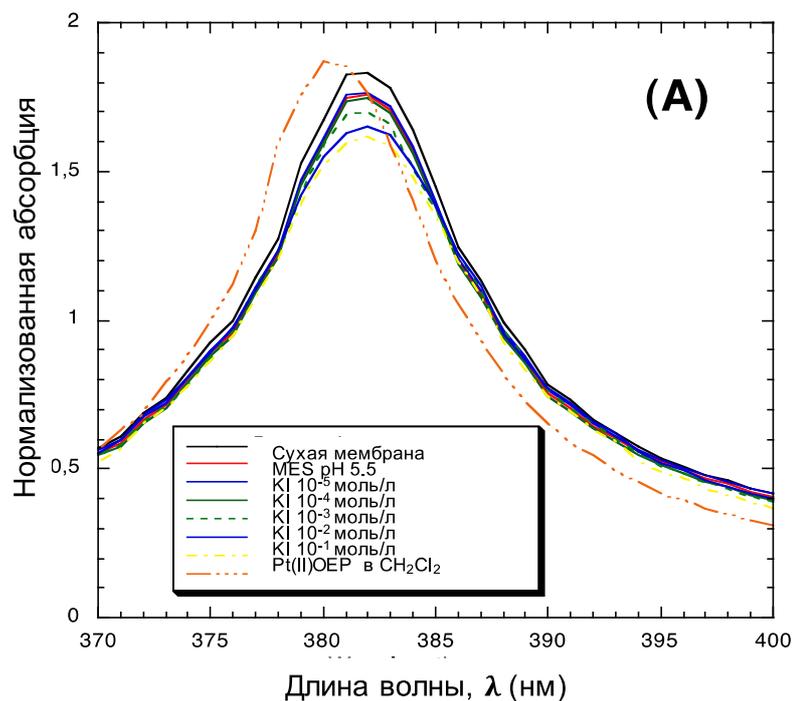


Рис. III.17 Спектры поглощения полимерных мембран 12 и 12Г, содержащих ионофор Pt(II)OEP и 10 мол% ТДМАСI и пластифицированных: (А) ДОС, (Б) оНФОЭ при воздействии различных концентраций йодида натрия в 0.01М MES, pH 5,5. Для сравнения показаны спектры Pt(II)OEP в CH₂Cl₂ [197].

III.8 ИСЭ на основе корролов

III.8.1 Обоснование выбора корролов в качестве мембраноактивных компонентов для ИСЭ

Корролы являются аналогами порфиринов с уменьшенным за счет отсутствия одного атома углерода в С-20 мезо-положении размером макроцикла. Корролы характеризуются особыми свойствами, такими как необычно высокая N-H кислотность, а также ярко выраженными металлосвязывающими свойствами с более быстрой по сравнению с порфиринами кинетикой обмена [223]. Кроме того, корролы являются тридентатными трианионными лигандами, благодаря чему в металлокорролах, МК, металлы присутствуют в более высоких степенях окисления, чем в МП [224]. Особенности координационной химии корролов делают их перспективными для использования в качестве рецепторов в химических сенсорах, и позволяют ожидать наличия специфических свойств для сенсорных материалов на их основе. Однако, к настоящему времени число работ, посвященных применению корролов в аналитической химии, и для разработки сенсорных материалов в частности, невелико. Одними из первых были работы Бахаса и соавторов, посвященные разработке ион-селективных электродов на основе природных корролов - производных витамина В₁₂ [225-227]. Позднее производные 5,10,15-трис(пентафторфенил) коррола TPFCorrH₃ применялись в качестве электроактивных материалов для приготовления Ag(I)-селективных ПВХ-электродов [228]. Тот же рецептор использовали в качестве флуорофора в флуоресцентном химическом сенсоре для определения ртути(II) [229]. В [230] Радеки и др., исследовали фтор- и хлор-замещенные трифенилкорролы в качестве мембраноактивных соединений в полимерных мембранных электродах чувствительных к салициловой кислоте и салицилату при низком рН.

Нами было осуществлено систематическое исследование свойств сенсорных материалов на основе корроловых комплексов марганца, меди и железа, а также 5,10,15-трифенилкоррола (TPCorrH₃). В общей сложности было исследовано 18 различных составов, **Табл. III.2**. По аналогии с Pt-порфиринами, в схожих экспериментальных условиях исследовали селективность, электродные свойства и механизм функционирования корроловых ионофоров в составе ПВХ пластифицированных мембран. Было исследовано влияние пластификаторов с низкой и высокой полярностью, а также введение в состав мембран липофильных добавок обоих знаков заряда на селективность и время жизни сенсоров на основе корролов. Кроме того, были проведены сопутствующие спектрофотометрические исследования оптимизированных составов мембран на основе МК для выяснения механизма функционирования МК ионофоров. Подробно детали эксперимента изложены в работе [231].

Табл. III.2 Составы ПВХ-пластифицированных мембран на основе корролов (пластификатор : ПВХ = 2 : 1) с содержанием ионофора 1% по весу.

N	Компоненты мембраны			
	Ионофор	Пластификатор	ТДМАСl, вес %	ТпСlФБК, вес %
1	TPCorrH ₃	ДОС	-	-
2	TPCorrH ₃	оНФОЭ	-	-
3	TPCorrH ₃	ДОС	0.4	
4.1	TPCorrH ₃	ДОС	-	0.1
4.2	TPCorrH ₃	ДОС	-	0.4
5	TPCorrMnCl	оНФОЭ	-	-
6*	TPCorrMnCl	оНФОЭ	0.5	0.5
7	Tt-butPCorrCu	ДОС	-	-
8	Tt-butPCorrCu	ОНФОЭ	-	-
9	Tt-butPCorrCu	ДОС	0.4	-
10	Tt-butPCorrCu	ОНФОЭ	0.4	-
11	TPCorrFeCl	оНФОЭ	-	-
12	TPCorrFeCl	ДОС	-	-
13	TPCorrFeCl	оНФОЭ	-	0.4
14	Et ₄ Met ₄ CorrFeCl	оНФОЭ	-	-
15	Et ₄ Met ₄ CorrFeCl	ДОС	-	-
16	Et ₄ Met ₄ CorrFeCl	ДОС	-	0.8
17	-	ДОС	5	-
18*	TRPMnCl	оНФОЭ	0.5	0.5

*количество ионофоров TPCorrMnCl и TRPMnCl составляет 5% по весу

III.8.2 Исследования механизма функционирования TPCorrH₃ ионофора

На электродные свойства мембран на основе свободных корролов могут влиять несколько факторов, например, рН фонового раствора, полярность пластификатора и характер периферических заместителей макроцикла. Повышенная N-H кислотность делает корролы более чувствительными к фоновым условиям, и в зависимости от рН исследуемой среды TPCorrH₃ может присутствовать в полимерной мембране в катионной, нейтральной или анионной формах[232], **Рис.III.18.**

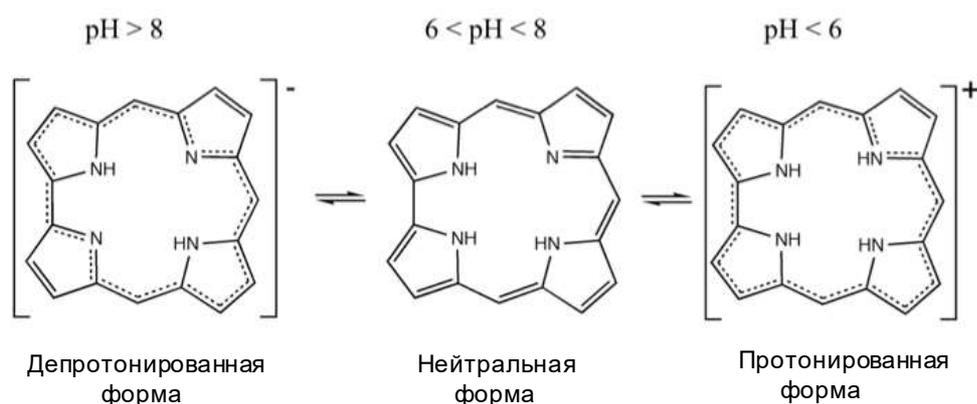


Рис. III.18 Схематическое представление кислотно-основного равновесия в молекуле коррола в процессе протонирования/депротонирования [231].

В анализируемых средах с низким рН проникновение ионов водорода в фазу мембраны приводит к частичному протонированию корролового ионофора, который впоследствии выполняет роль положительно заряженного переносчика, чувствительного к анионам за счет формирования водородных связей и и/или электростатические связывания с аналитом [233]. В литературе ранее сообщалось о разработке электродов на основе 5,10,15-трис(2,5-дихлорфенил)коррола для салицилат-селективных электродов эффективно функционирующих при низком рН 2.0 [230]. Для получения Нернстовского отклика, уменьшения сопротивления мембраны и улучшения ее селективности, требовалось включение анионных липофильных добавок в состав исследованных мембран. Напротив, в анализируемых средах с высокими значениями рН мембраны на основе свободных корролов проявляли катионную чувствительность за счет присутствия в мембране нейтральных или отрицательно заряженных форм ионофора. Например, в литературе есть данные о применении TFPCorrH_3 в качестве нейтрального лиганда для разработки Ag(I) -селективного электрода [228]. Разработанный сенсор имел отклик, близкий к теоретическому с наклоном в 54.8 мВ/дек в диапазоне концентрации ионов серебра от 5.1×10^{-6} до 1.0×10^{-1} моль/л, в рабочем диапазоне рН от 4.0 до 8.0 единиц и быстрым временем отклика > 30 секунд. Для стабилизации мембраны, содержащей 3% ионофора по весу требовалось добавление липофильных анионных центров (тетрафенилбората натрия) в том же количестве.

Таким образом, для мембран на основе TRPCorrH_3 мы исследовали влияние введения катионных (TDMA^+) и анионных (TpClFB^-) липофильных добавок, а также эффект применения растворителей-пластификаторов с низкой (ДОС) и высокой (оНФОЭ) полярностью. Предполагая механизм функционирования TRPCorrH_3 в качестве нейтрального переносчика, мембраны 1 и 3 были пластифицированы с использованием низкополярного ДОС, а в состав мембраны 3 было дополнительно введено 0.4 вес. % катионных липофильных сайтов TDMA^+ .

Мембрана 2 была пластифицирована с применением оНФОЭ; для проверки возможности функционирования TRCorrH_3 в качестве положительно заряженного носителя в мембраны 4.1 и 4.2 был введен катионообменник ТпСІФБК в количестве 0.1 и 0.4 вес.% соответственно. На **Рис. III.19** отображен потенциометрический отклик мембран 1-4 к изменению рН анализируемой среды в рН 2.8-10 в UBS, при его титровании 1 моль/л раствором NaOH.

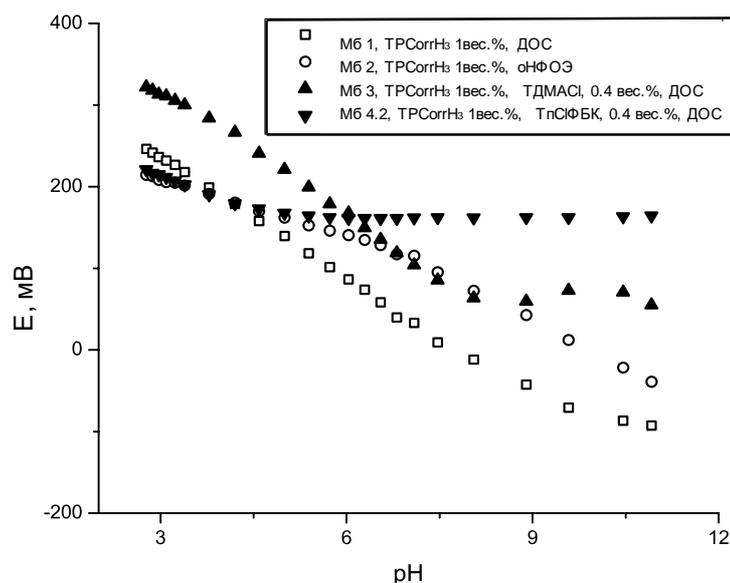


Рис. III.19 pH-отклик полимерных мембран на основе TRCorrH_3 [231].

Как видно, в диапазоне рН от 2.8 до 6.5 единиц отклик мембраны 1 на изменение рН был значительным с наклоном линейного участка градуировочного графика +52 мВ/дек. В диапазоне рН от 6.5 до 9.0 наклон уменьшился до +40 мВ/дек, а при более высоком рН мембрана 1 практически не реагировала на дальнейшее увеличение рН (наклон +16 мВ/дек). Такое поведение можно объяснить постепенным депротонированием частиц TRCorrH_4^+ в мембране с увеличением рН раствора. Более низкий наклон (+23 мВ/дек) пластифицированной с применением полярного оНФОЭ мембраны 2 в диапазоне рН от 2.8 до 6.0 указывает на меньшее количество протонированных частиц ионофора TRCorrH_4^+ изначально присутствующих в мембране. рН-отклик мембраны 3 диапазоне рН от 7.5 до 10.0 становится незначительным при добавлении TDMA^+ в количестве 0.4% по весу (37 мол% по отношению к ионофору). Очевидно, что введение в мембрану липофильных катионных центров в большом количестве ингибирует депротонирование ионофора при высоких рН, стабилизируя таким образом анионную чувствительность мембраны. Влияние рН фонового раствора почти отсутствовало для мембраны 4.2, приготовленной с добавлением анионных липофильных сайтов ТпСІФБ⁻ в количестве 43 мол% по отношению к молярному содержанию ионофора: в диапазоне рН от 2.8 до 5.0 рН был зарегистрирован

наклоном линейного участка градуировочного графика в +24.8 мВ/дек, а при pH выше 5.0 потенциал мембраны оставался неизменным. На основании полученных данных было подтверждено, что в зависимости от значения pH фонового раствора ТРСоргНз ионофор присутствует в полимерной мембране в протонированной или нейтральной форме.

С целью повышения анионной чувствительности мембран 1-4 на основе ТРСоргНз дальнейшие исследования проводили на фоне 0.01 моль/л MES pH 5.5 и оценивали отклик мембран к нескольким анионам в диапазоне концентраций от 10^{-5} до 10^{-1} моль/л, **Рис.III.20**.

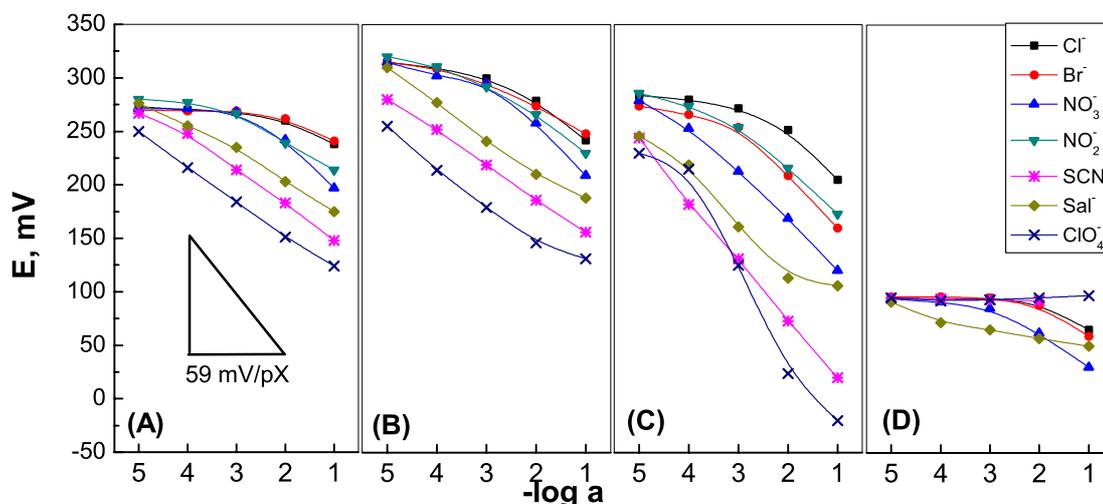


Рис.III.20 Потенциометрический отклик мембран на основе ТРСоргНз без липофильных добавок, пластифицированных с использованием (А) ДОС, мембрана 1; (Б) *o*-NPOE, мембрана 2; пластифицированные с применением ДОС и содержащие (В) ТДМАСl 0.4% по весу, мембрана 3; (Г) ТпСlФБК 0.1% по весу, мембрана 4.1 [231].

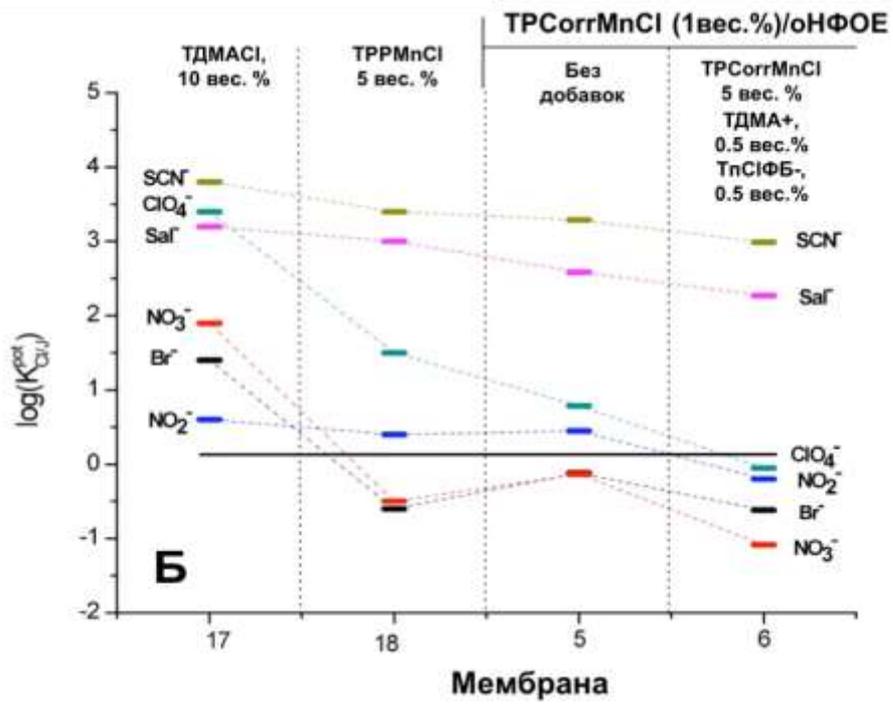
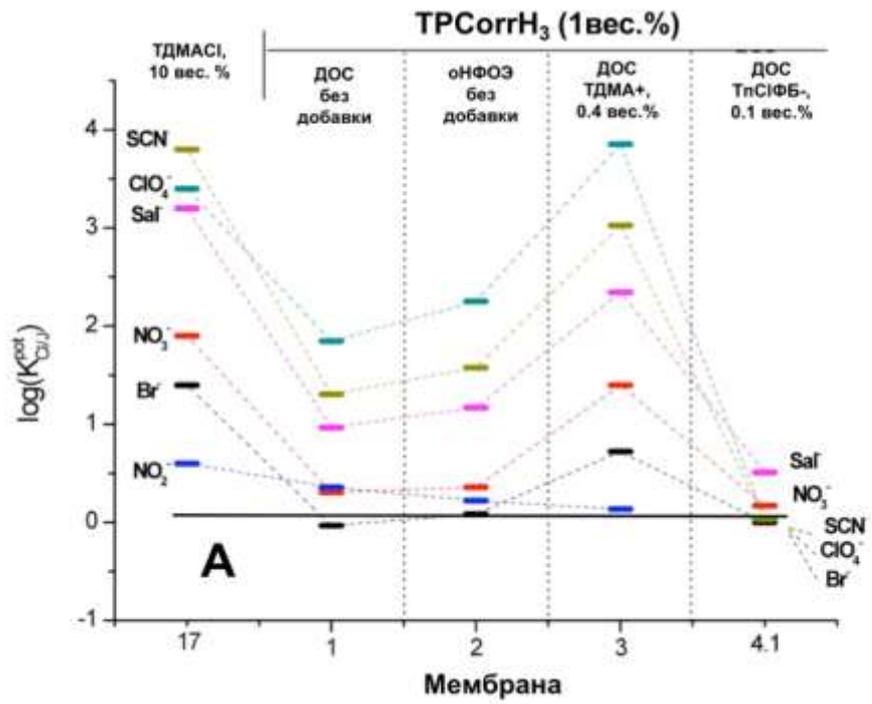
Селективность мембран 1-4 оценивали методом БИП в 0.001 моль/л растворах нескольких анионов; при оценке потенциометрических коэффициентов селективности рассматривали хлорид-ион в качестве первичного иона, **Рис.III.21А**. Как видно из **Рис.III.20**, введение липофильных катионов ТДМА⁺ в состав мембраны 3 привело к увеличению ее нижнего предела чувствительности; однако ухудшило селективность, которая не отличалась от ряда селективности Хоффмейстера для мембраны 17 на основе анионообменника ТДМАСl в количестве 10% по весу. Мембрана 4.1 приготовленная с добавлением липофильных анионов ТпСlФБ⁻ в количестве 10.7 мол% (по отношению к ТРСоргНз) обладала частичной анионной чувствительностью (**Рис.III.20Г**), в то время как определение анионов с применением мембраны 4.2 содержащей 43 мол% катионообменника представлялось невозможным (для мембраны был зарегистрирован частичный катионный отклик). Полученные результаты

находятся в соответствии с ранее изученным рН-откликом мембраны 4.2, **Рис. III.19.**

Добавление больших количеств анионообменника привело к значительному смещению значений рK_a ионофора, депротонированию ТРСоргН₃ и возникновению частичного катионного отклика мембраны 4.2. Наибольшей селективностью наряду со стабильным анионным откликом обладала мембрана 2, пластифицированная с применением полярного пластификатора оНФОЭ и не содержащая липофильных добавок. Очевидно, что в мембране 2 ТРСоргН₄⁺ присутствует в протонированной форме и выполняет роль заряженного переносчика, при этом количество внутренних анионных примесей, присутствующих в ПВХ и в пластификаторе, оказывается достаточно для стабилизации мембранного отклика. Ранее количество внутренних анионных примесей в пластифицированных с применением оНФОЭ ПВХ-мембранах было оценено на уровне 130 мкмоль/кг, и это значение соответствует содержанию ТРСоргН₃ 0.7 мол% (18,9 ммоль/кг) [201]. Принимая во внимание тот факт, что для стабилизации мембраны требуется добавление анионной добавки в 10-15 мол% в отношении ионофора, можно предположить, что в мембране протонировано около 10% от общего количества ТРСоргН₃. Коэффициенты селективности по отношению к хлорид-иону ($K^{Pot_{Cl-/J-}}$) для мембран 1 и 2 с содержанием ТРСоргН₃ без липофильных добавок были ниже, чем коэффициенты селективности для мембраны 17 приготовленной только на основе анионообменника ТДМАСІ в количестве 10% по весу. Следует однако отметить, что разработка эффективных анионных полимерных мембран на основе ТРСоргН₃, не представляется возможной ввиду сильного стороннего влияния рН исследуемого раствора на кислотно-основное равновесие ионофора и, как следствие, на механизм его функционирования в фазе мембраны.

III.8.3 Мембраны на основе ТРСоргMnCl

Ввиду диссоциации аксиально-координированного Cl⁻ - иона, предполагали, что в мембранной фазе корролат марганца, ТРСоргMnCl, может функционировать в качестве заряженного переносчика, либо (в случае частичной диссоциации) в соответствии со смешанным механизмом, **Рис. III.9Б,В.** С целью улучшения диссоциации ионофора для приготовления мембран 5, 6 на основе ТРСоргMnCl использовали полярный пластификатор оНФОЭ (**Табл. III.2**). В то время как мембрана 5 содержала ионофор 1% по весу без липофильных добавок, мембрана 6 была приготовлена с применением ТРСоргMnCl 5% по весу и липофильных добавок с обоими знаками заряда в равных количествах (по отношению к ионофору): 11.5 мол% ТДМА⁺ и 13 мол% ТпСІФБ⁻.



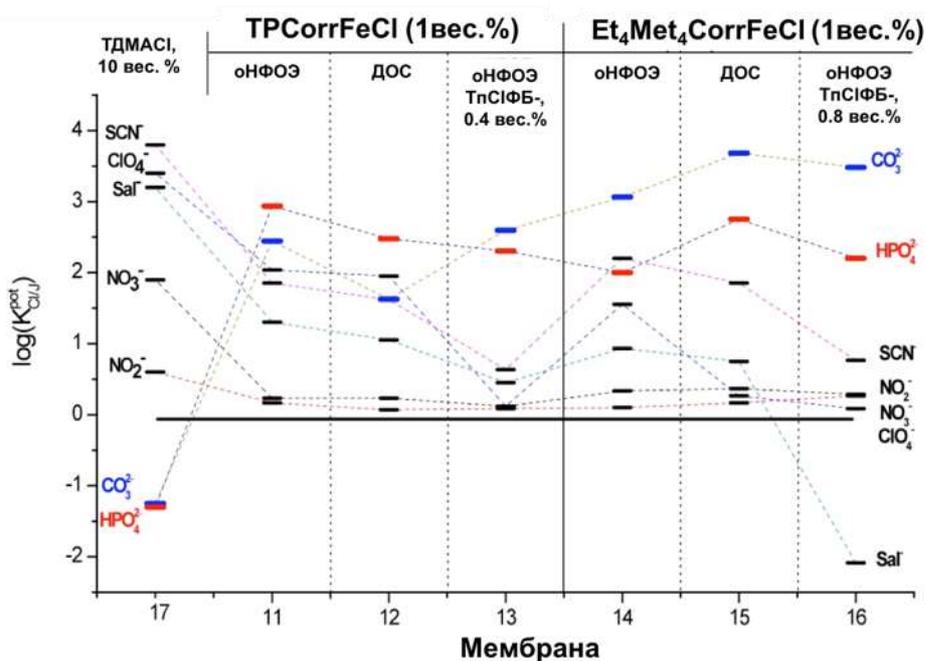
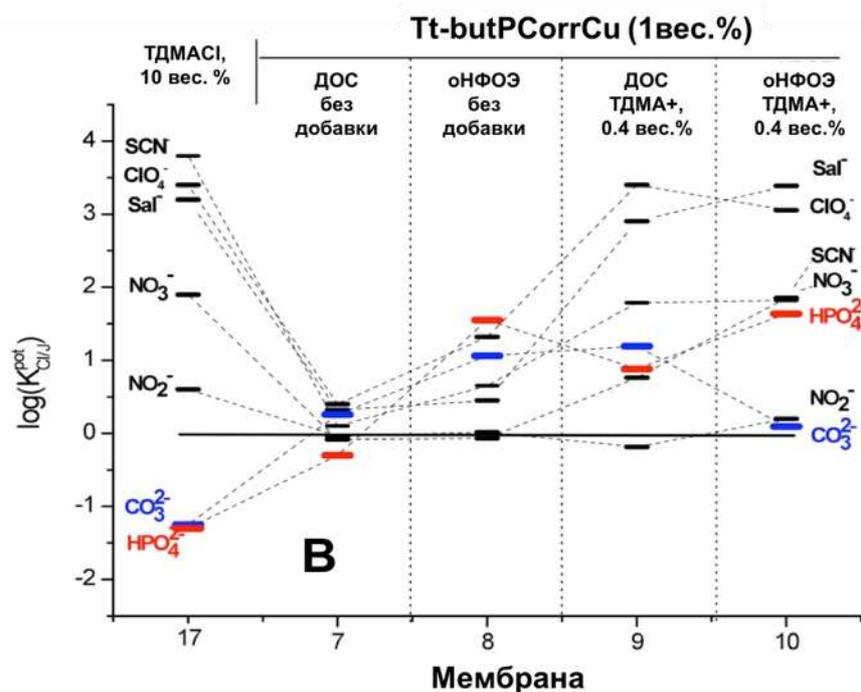


Рис. III.21 Коэффициенты селективности полимерных мембран на основе корролов, оцененные методом БИП в 0.001 моль/л растворах различных анионов. В качестве основного служил хлорид-ион, для расчетов использовали теоретическое значение углового коэффициента в -59,2 мВ/дек ($K_{Cl-/J}^{pot}$). Коэффициенты селективности для мембран, на основе анионообменника ТДМАСІ (мембрана 17) и хлоридного ионофора ТРРМnСІ (мембрана 18) приведены для сравнения [231].

Данный состав аналогичен составу хлорид-селективной мембраны на основе 5,10,15,20-тетрафенилпорфиринхлорида марганца(III) (TPPMnCl) широко используемой для изготовления хлорид-селективных сенсоров, применяемых в составе коммерческих анализаторов [173,182,234].

Потенциометрические градуировочные кривые по отношению к различным анионам для с мембран 5, 6 отображены на **Рис. III.22**. В то время как для мембраны 5 был зарегистрирован парциальный отклик по отношению ко всем анионам, мембрана 6 продемонстрировала Нернстовский отклик к хлорид-иону с наклоном в $-58,3$ мВ/дек, пределом чувствительности 8×10^{-4} моль/л и временем отклика менее 10 сек. Таким образом, можно заключить, что TPCCorrMnCl работает по принципу смешанного переносчика и для стабилизации свойств мембран на его основе необходимо внесение в состав полимерной матрицы равных количеств липофильных добавок с обоими знаками заряда.

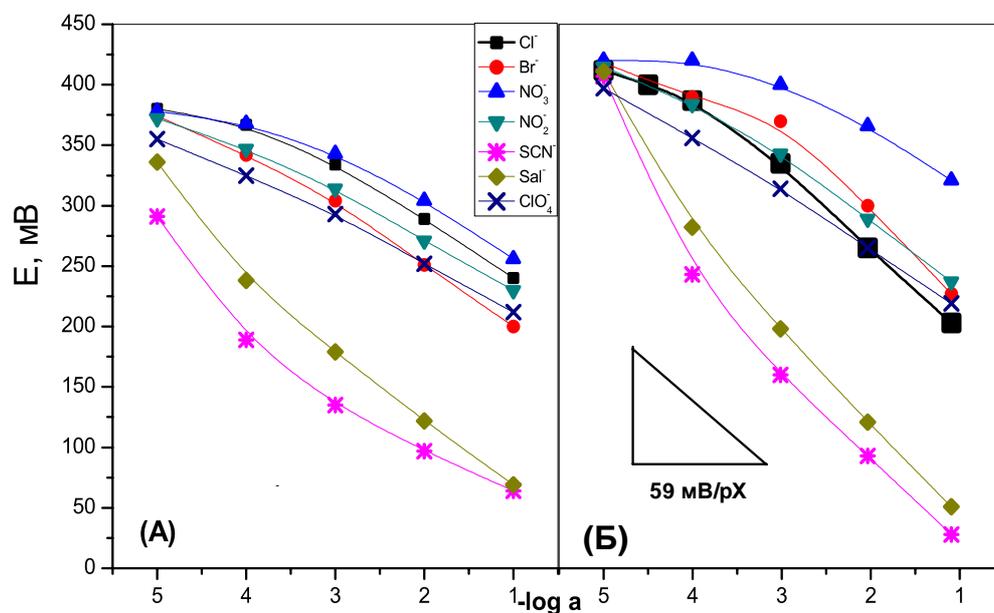


Рис. III.22 Потенциометрический отклик мембраны 5 (А) и мембраны 6 (Б), на основе TPCCorrMnCl [231].

Как можно видеть из **Рис. III.21Б**, более высокая селективность к хлорид-иону была зарегистрирована для мембран на основе TPCCorrMnCl по сравнению с классической анионообменной мембраной 17 на основе анионообменника ТДМАСл, а мембраной 18 на основе TPPMnCl [173]. Более того, очень небольшое перекрестное влияние рН среды ($-3,6$ мВ/рН) позволяет рекомендовать мембрану 6 для определения хлорида в присутствии равных количеств ионов нитрата, нитрита, бромида и перхлората.

Как упоминалось ранее, одним из серьезных недостатков применения в ИСЭ металлопорфириновых ионофоров является их димеризация в составе

полимерной мембраны. Такая димеризация происходит посредством образование гидроксидных мостиков и часто вызывает нестабильное супер-Нернстовское поведение сенсоров на основе таких мембран [182]. При анализе спектров видимого поглощения мембран на основе МП, процессу димеризации соответствует существенный (около 20/50 нм) гипсохромный сдвиг полосы поглощения $Soret$, типичной для мономера [182]. Процесс возможной димеризации $TPCorrMnCl$ ионофора в составе полимерной мембраны на основе ПВХ исследовали методом спектроскопии на примере мембраны 6, которая была нанесена на предметное стекло и подвергалась воздействию увеличивающихся концентраций раствора хлорида натрия на фоне 0.01 моль/л MES pH 5.5, **Рис. III.23**. На **Рис. III.23** можно отметить тройной пик поглощения $Soret$ с максимумами на 440, 469, 490 нм, типичный для $TPCorrMnCl$ мономера, при этом гипсохромного сдвига зарегистрировано не было. С другой стороны, снижение интенсивности поглощения с ростом концентрации Cl^- указывает на наличие сильной координации хлорида на $TPCorrMn$, что очевидно является причиной повышенной селективности данного ионофора к иону хлорида

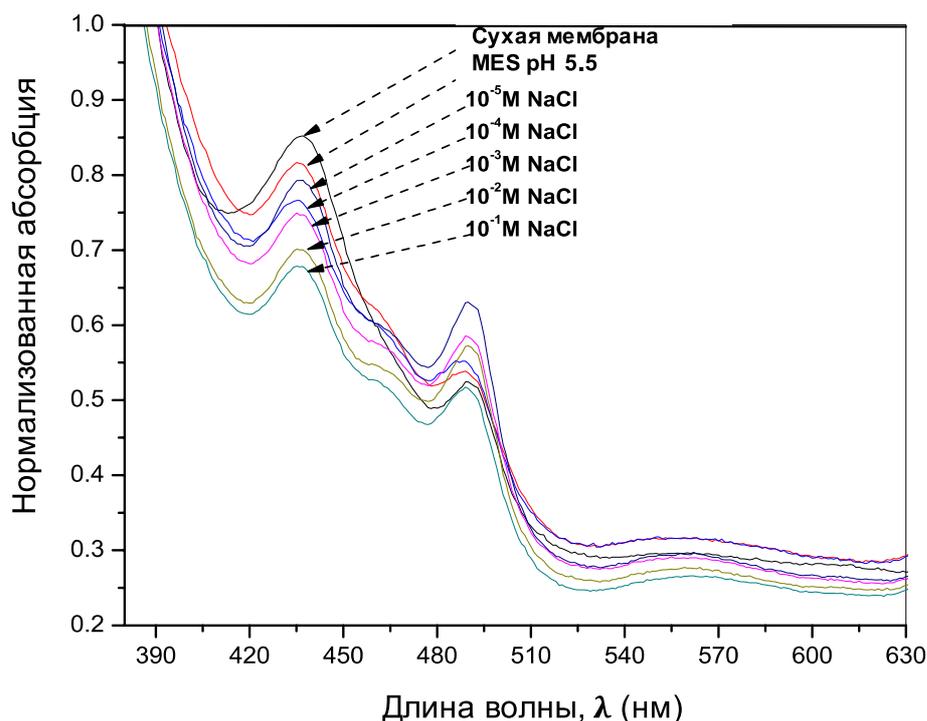


Рис. III.23 Спектры поглощения мембраны 6 при воздействии различных концентраций хлорида натрия на фоне 0.01 моль/л MES pH 5.5 [231].

Среди других металлопорфиринов, исследованных ранее в качестве анионных ионофоров, в хлорид-селективных электродах и оптодах широкое применение нашел октоэтилпорфиринохлорид Индия (III), $OEPIn(III)Cl$ [235].

Однако, в составе полимерной мембраны OEPIn(III)Cl легко подвергается димеризации, а также в существенной степени подвержен влиянию pH. Поскольку предложенные в данном разделе хлорид-селективные сенсоры на основе TPCorrMnCl обладают повышенной селективностью, теоретическим Нернстовским откликом и низким перекрестным pH-влиянием, они представляют собой хорошую альтернативу для широко используемых в настоящее время полимерных электродов на основе TPPMnCl и OEPIn(III)Cl .

III.8.4 Мембраны на основе *Tt-butPCorrCu*

Наличие формальной степени окисления меди (+3) делает корролы меди перспективными кандидатами для использования в качестве ионофоров в полимерных мембранных электродах. Ожидается, что селективность мембран на основе Cu-корролов может существенно отличаться от других известных ионофоров. В результате сильной стабилизации центрального иона металла коррольным макроциклом, предполагается, что *Tt-butPCorrCu* будет выполнять в мембране роль нейтрального переносчика, требующего дополнительного внесения в состав мембраны липофильных катионных центров (TDMA^+). В связи с этим, наряду с мембранами 7 и 8 не содержащими катионных добавок, исследовали также мембраны 9 и 10 с добавлением 40 мол%. TDMA^+ . Для приготовления мембран использовали пластификаторы ДОС и оНФОЭ, Табл. III.2.

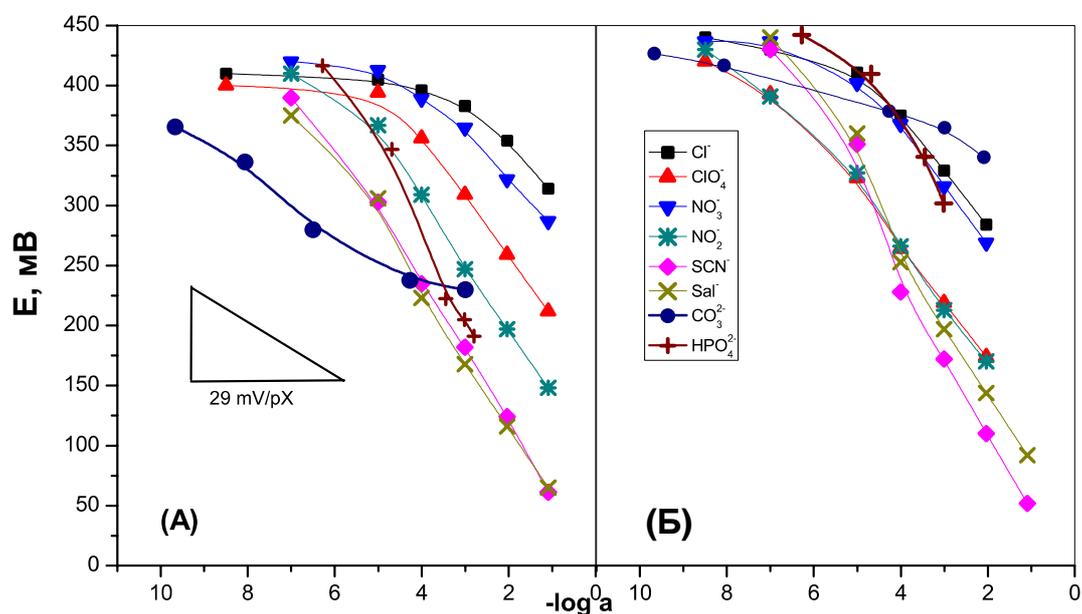


Рис. III.24 Потенциометрический отклик мембран 9 (А) и 10 (Б) [231].

На Рис. III.21В представлены коэффициенты селективности для мембран на основе *Tt-butPCorrCu* по отношению к хлорид-иону в присутствии нескольких липофильных и гидрофильных анионов. На Рис. III.24 показаны потенциометрические градуировочные графики мембран 9 и 10 на основе *Tt-butPCorrCu* с

содержанием катионных сайтов 40 мол% и пластифицированных с применением ДОС и оНФОЭ соответственно. Мембрана 9 обладала повышенной селективностью к гидрофильным ионам CO_3^{2-} и HPO_4^{2-} , наклоны линейных участков градуировочных графиков составили $-29.3 \text{ мВ/рCO}_3^{2-}$ и $-37.5 \text{ мВ/рHPO}_4^{2-}$ соответственно, а селективность отличалась от классической анионообменной системы. Влияние рН на отклик электродов приготовленных на основе мембраны 9 было незначительным (наклон кривой E-рН составил $+4.3 \text{ мВ/дек}$ в диапазоне рН от 3 до 10.2 единиц).

При анализе спектров видимого поглощения мембраны 9 в растворах Na_2HPO_4 гипсохромного сдвига, соответствующего димеризации ионофора, зарегистрировано не было, **Рис. III.25**. Единственный пик поглощения на 424 нм, соответствовал полосе Co^2+ Tt-butPCorrCu мономера; интенсивность поглощения данного пика уменьшалась с ростом концентрации HPO_4^{2-} , что указывало на селективную координацию гидрофосфата ионофором. После 5-дневного вымачивания мембраны в растворе 0.01 моль/л Na_2HPO_4 , наблюдалось значительное снижение интенсивности пика Co^2+ . Учитывая тот факт, что промытая в дистиллированной воде и вымоченная в MES-буфере мембрана показывала полное восстановление исходного спектра, такое изменение интенсивности поглощения можно объяснить процессами обратимой агрегации Tt-butPCorrCu в мембранной фазе в присутствии ионов HPO_4^{2-} .

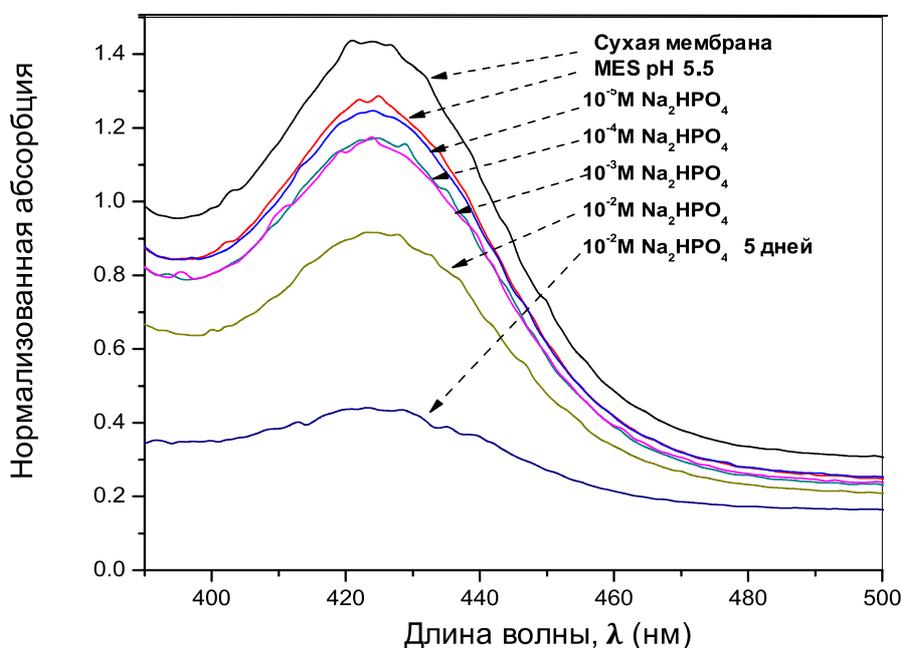


Рис. III.25 Спектры поглощения мембраны 9 в присутствии различных концентраций гидрофосфата натрия [231].

Разработка потенциометрических сенсоров для определения гидрофильных анионов является актуальной задачей. Однако, поскольку гидрофильные ионы находятся в самом конце серии Гиндина-Хофмейстера, определяющей селективность классических анионообменников - четвертичных аммониевых солей (ЧАС), создание высокоселективных сенсоров на их основе для данных ионов невозможно. Число существующих лигандов, обладающих повышенной чувствительностью к гидрофильным ионам невелико. Так, ранее были предложены фосфат-селективные электроды и оптоды на основе оловоорганических комплексов [236], циклических полиаминов [237 - 239], салофенов [240, 241], цвиттерионов бис-гуанидиния [242], фталоцианина кобальта [243]. В качестве ионофоров для карбонат-селективных электродов применяли производные трифторацетофенона (ТФАФ) [244,245] и нейтральные «tweezer-type» переносчики [246]. Был также исследован эффект включения акцепторных заместителей в пара- [247,248] и мета- [249,250] положениях фенильного кольца ТФАФ и влияние введения липофильных катионных сайтов [251] на электродные свойства сенсоров на основе ТФАФ. Чтобы уменьшить влияние липофильных анионов на чувствительность ИСЭ к карбонат-ионам, осуществляли также различные конструктивные изменения, например, включение ионофора ТФАП в фотоотверждаемый полиуретан [245], либо ацетатцеллюлозные мембраны [252]. В работе [253] возможность селективной жидкостной экстракции гидрофильных анионов, в частности, сульфата, была получена посредством одновременного применения стандартного ЧАС анионообменника (Aliquat-336) и нейтрального фтор-каликспиррольного носителя. Несмотря на то, что металлопорфирины являются одним из немногих классов органических гетероциклов, эффективных в качестве анион-селективных ионофоров, в литературе нет данных об использовании МП и их аналогов для определения гидрофильных анионов. Таким образом, изученный в настоящей работе трис-тербутилфенилкорролат меди, Tt-butPCorrCu, является первым примером нейтрального переносчика с повышенной чувствительностью к гидрофильным анионам, карбонату и гидрофосфату.

III.8.5 Корролы железа с алифатическими и ароматическими заместителями в качестве ионофоров полимерных мембран

Наличие, количество и природа боковых заместителей (ароматических или алифатических) в молекулярной структуре макроцикла может существенным образом влиять на координационную химию и процессы агрегации макроцикла в составе полимерной мембраны, что в свою очередь может значительно изменять потенциометрические свойства сенсоров на основе соответствующих полимерных мембран, содержащих корроловый ионофор. Следовательно, представлялось интересным провести сравнение свойств полимерных мембран на основе двух различных комплексов корролов железа с мезо-арильными (TPCorrFeCl) и β -алкильными (Et₄Met₄CorrFeCl) боковыми заместителями.

На **Рис. III.21Г** показаны результаты оценки потенциометрической селективности мембран 11-16 на основе корролов железа в зависимости от полярности пластификатора и включения в состав мембраны анионной добавки ТпСІФБ⁻ в количестве 40 и 80 мол% (по отношению к ионофору). Хлорид рассматривали в качестве первичного иона. Можно отметить, что оба корроловых комплекса железа обладают высокой способностью к распознаванию гидрофильных двухзарядных анионов CO_3^{2-} и HPO_4^{2-} : для этих анионов полученные значения $K^{Pot} Cl-/J-$ являются наивысшими, и следовательно, никакие другие анионы не взаимодействуют с ионофором в большей степени. Среди мембран 11, 12 и 14, 15, сформированных без введения липофильных анионных добавок, мембрана 11 на основе ТРСorrFeCl и пластифицированная оНФОЭ показала наивысшую селективность. Для приготовления мембран на основе β -алкил-замещенного ионофора $\text{Et}_4\text{Met}_4\text{CorrFeCl}$ оптимальным был пластификатор ДОС (мембрана 15 обладала наибольшей селективностью). Влияние введения анионообменника исследовали впоследствии для мембран 13 и 16 на основе ТРСorrFeCl и $\text{Et}_4\text{Met}_4\text{CorrFeCl}$, пластифицированных оНФОЭ и ДОС соответственно, **Табл. III.2**.

Ряд селективности, полученный мембраны 13 приготовленной с использованием ТРСorrFeCl и содержащей 40 мол% ТпСІФБК существенно отличался от серии Гиндина-Хоффмайстера для ЧАС: CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} > SCN^- > Sal^- > ClO_4^- > NO_3^- , NO_2^- . Для мембраны 16 на основе $\text{Et}_4\text{Met}_4\text{CorrFeCl}$ и 80 мол% ТпСІФБК был получен аналогичный ряд селективности, при этом влияние высоко липофильных салицилат- и перхлорат-ионов было выражено в меньшей степени. Наклон линейного участка градуировочного графика мембраны 13 в растворах HPO_4^{2-} приближался к теоретическому Нернстовскому (-30.5 мВ/дек), в то время как супер-Нернстовский отклик (-58.1 мВ/дек) мембраны 16 по отношению к тому же аниону была обусловлен, вероятно, парциальной димеризацией ионофора на фоне высокой концентрации (80 мол%) анионных липофильных центров [172]. Напротив, супер-Нернстовский наклон к карбонат-иону был получен для мембраны 13 (-63.7 мВ/дек), в то время как мембрана 16 показала наклон в -33.4 мВ/дек, близкий к теоретической величине для двухзарядных анионов. Влияние pH на отклик всех мембран на основе ТРСorrFeCl было существенным (наклон кривой E-pH составил +44 мВ/pH), в то время как для мембран на основе $\text{Et}_4\text{Met}_4\text{CorrFeCl}$ перекрестный pH отклик был ниже (наклоны около +24 мВ/pH).

Таким образом, сравнение свойств полимерных мембран на основе двух различных корроловых комплексов железа с мезо-арильными (ТРСorrFeCl) и алкильными ($\text{Et}_4\text{Met}_4\text{CorrFeCl}$) заместителями показало, что оба ионофора функционируют как заряженные переносчики, и электроды на их основе требуют введения анионных добавок тетрафенилбората, ТпСІФБ⁻, для стабилизации их отклика. Повышенная селективность в отношении гидрофильных ионов

карбоната и гидрофосфата была получена для мембраны 16 на основе алкил-замещенного ионофора Et₄Met₄CorrFeCl.

В настоящем разделе были исследованы потенциометрические свойства ион-селективных электродов на основе трифенилкоррола и корролатов меди, марганца и железа. Частичная анионная чувствительность мембран на основе TPCorrH₃ является результатом протонирования макроцикла (при pH ниже 6) и последующим его функционированием в качестве заряженного переносчика. Рабочий механизм металлокорроловых ионофоров зависит от природы и формальной степени окисления центрального металла. Так, корролат меди, Tt-butPCorrCu выполнял роль нейтрального переносчика и для стабилизации свойств мембран на его основе требовалось добавление катионных добавок (тетрааммониевых солей) в состав мембранной композиции; корролаты железа, TPCorrFeCl и Et₄Met₄CorrFeCl функционировали в полимерной мембране как заряженные переносчики и стабилизации свойств электродов на их основе добивались введением в состав мембранной композиции анионных тетрафенилборатовых добавок. При исследовании свойств мембран на основе корролата марганца, TPCorrMnCl, было показано, что данный ионофор функционирует в соответствии со смешанным режимом и требует одновременного введения липофильных добавок обоих знаков заряда для оптимизации электродных свойств сенсоров на его основе. Было обнаружено, что по аналогии с ранее исследованными низко оксофильными Pt-порфириновыми ионофорами, металлокорролы не подвергаются процессу димеризации в мембранной фазе, что положительно влияет на стабильность и селективные свойства электродов на их основе.

ГЛАВА IV

Исследование свойств мембран на основе порфири-замещенных полипиррола и полианилина, полученных методом электрополимеризации

IV.1 Почему электрополимеризация?

Как подчеркивалось ранее, благодаря простоте применения, низкой себестоимости и высокой чувствительности, химические сенсоры стабильно востребованы для определения отдельных аналитов и решения многих аналитических задач [254]. Наряду с поиском и изучением новых сенсорных материалов и синтезом мембраноактивных соединений с прогнозируемыми свойствами, для получения эффективных высокоселективных сенсоров важным фактором является также рациональный выбор материалов мембранных матриц. Такой выбор должен быть продиктован конкретной прикладной задачей, однако до сих пор в сенсорном анализе часто встречаются ситуации, когда необходимая чувствительность и длительный срок работы сенсора недостижимы вследствие вымывания мембраноактивных веществ из несущей матрицы при контакте с анализируемым образцом [255], вследствие химической нестабильности, либо недостаточной адгезии мембранного материала к поверхности трансдьюсера [8]. Проблема низкой адгезии особенно актуальна при многократных и часто повторяющихся измерениях, при измерениях в экстремальных условиях, например в образцах с повышенной температурой, в проточном анализе, и пр.

Одним из возможных путей решения проблемы низкой адгезии полимерных материалов и выщелачивания компонентов мембраны является электрохимическая полимеризация [256,257]. Этот способ достаточно прост и позволяет получить устойчивые чувствительные пленки, химически привязанные к поверхности трансдьюсера, и удлинить таким образом срок службы сенсоров, а также, например в случае МП, избежать димеризации ионофора. Более того, свойства электрохимически осажденного сенсорного материала могут изменяться в зависимости от условий электрополимеризации. Для получения чувствительных электрополимеризованных покрытий, используются различные подходы, среди них: сополимеризация МАК и мономеров, образующих структуру полимерной матрицы; химическая «пришивка» МАК на поверхности ранее полученных полимерных пленок; либо использование электродно-активных мономеров, несущих в своей структуре специфические заместители, призванные исполнять функции чувствительных рецепторов в составе полученного сенсорного материала. Так, анион-селективные мембранные электроды на основе сополимера полистиролпиридина и протопорфирина IX марганца(III) были разработаны в

работе [209]. Было показано, что за счет фиксации металлопорфирина на полимерной подложке возможно избежать его выщелачивание из полимерной мембраны, а также предотвратить димеризацию. Более того, отмечалось существенное снижение влияние высоколипофильных ионов на селективный отклик к йодид-иону в результате вытеснительного эффекта полимера, разделявшего мешающие ионы по размеру. Изящный метод предотвращения димеризации и кристаллизации индий(III)-порфиринов посредством введения метакрилатной группы в периферийную структуру порфирина с его последующей ковалентной привязкой к полиметакрилатной полимерной матрице был описан в работе [258]. Полученный в результате такого синтеза полимер использовался в ПВХ-мембранных хлорид-селективных электродах в качестве ионофора. Ванг и Мейерхофф использовали аналогичный подход, химически привязав Al(III)-тетрафенилпорфирин к полиметакрилатной матрице; полученные таким образом сенсорные материалы использовали в потенциометрических мембранных электродах и оптодах, селективных по отношению к фториду [259].

Благодаря возможностям молекулярного дизайна, а также легкости синтетических процедур, функционализация порфиринов фениламиновыми [260-262] или пиррольными [263-265] электроактивными заместителями активно исследовалась ранее и позволила синтезировать большое количество электродно-активных мономеров для получения полимерных покрытий, и в том числе сенсорных материалов. В процессе окислительной электрохимической полимеризации таких мономеров были получены хорошо структурированные многослойные пленки, сохраняющие электрохимическими и оптические свойства исходного мономера [263,266,267]. Именно этот метод был использован нами для получения сенсорных материалов на основе порфирин-замещенных полипиррола и полианилина.

В данной Главе проведено сравнительное исследование свойств 5,10,15-трис(4-аминофенил)-20-фенил-порфиринов Co(II) и Cu(II) в качестве ионофоров в двух различных типах мембранных матриц: в пластифицированных поливинилхлоридных мембранах и в синтезированных электрохимическим методом пленках полианилина (ПАНИ). Более того, рассмотрены условия синтеза и проведено систематическое исследование свойств ряда порфирин-замещенных полипиррольных полимеров, полученных в процессе анодного окисления п-алкил-(1-пиррол)-фенил-порфиринов и их Mn(III)- и Co(II)-комплексов. В последнем случае представлялось интересным оценить влияние количества пиррольных периферических заместителей (1, 2 или 4 в мономере) и длины алифатических цепочек вводящих пиррол в структуру порфирина на свойства полученных электрополимеризованных покрытий. Особое внимание уделялось синтезу чувствительных материалов для разработки потенциометрических и оптических сенсоров, а также пленок с высокой перекрестной

чувствительностью для использования в мультисенсорном анализе. Подробно детали эксперимента изложены в работах [144,268].

IV.2 Сравнительное изучение свойств Co(II)- и Cu(II)-порфиринов в составе пластифицированных ПВХ мембран и в пленках полианилина (ПАНИ), полученных электроосаждением

Ранее в работе [261] было показано, что окислительная электрополимеризация аминофенилзамещенных порфиринов происходит аналогично полимеризации анилина по так называемой схеме "голова-хвост". Полученный в результате электрополимеризации материал на практике является полианилиновой (ПАНИ) пленкой с включенными порфириновыми центрами. Имеются сведения о том, что селективность анион-чувствительных электродов на основе таких пленок отличается от селективности ряда Хоффмайстера [205,269]. В работе [270] Вольф и соавторы сообщали о повышенной чувствительности электродов модифицированных полимерными пленками на основе 5,15-бис(2-аминофенил) порфиринов в отношении гидрофильных анионов. Более того, существенными преимуществами таких электродов были устойчивость и длительный срок службы, достигаемые за счет жесткой фиксации ионофора в полимерной матрице.

В настоящем разделе были разработаны сенсоры на основе Co(II)- и Cu(II)-трис(4-аминофенил)порфиринов полученные методом электрополимеризации и проведена оценка их потенциометрических свойств в сравнении пластифицированными ПВХ мембранами, сформулированными с теми же ионофорами.

IV.2.1 Влияние растворителя на процесс электрополимеризации

На первом этапе исследований была произведена оптимизация условий электрополимеризации для осаждения поли-Co(II)ТАТРР пленок из четырех различных растворителей. Пленки осаждали методом циклической вольтамперометрии (ЦВА) на Pt-рабочем электроде (Pt-WE) из растворов $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л Co(II)ТАТРР или Cu(II)ТАТРР в присутствии 0.1 моль/л ТБАСlO₄ в (а) ацетонитриле, АЦН; (б) диметилформамиде, ДМФ; (в) пиридине; (г) ДМФ : анилин 0,5 моль/л в 1 моль/л H₂SO₄ = 1:1. Потенциал сканировали со скоростью 50 мВ/сек в диапазоне напряжений от -0.2 до 0.8 – 1.5В против насыщенного каломельного электрода сравнения, НКЭ. Для сравнения была приготовлена пленка ПАНИ, не содержащая добавок порфирина. Составы пленок приведены в **Табл. IV.1**.

При электрополимеризации из АЦН на поверхности Pt-WE формирование полимерного покрытия не наблюдалось; желто-окрашенные изолирующие пленки поли-Co(II)ТАТРР были получены из диметилформамида и пиридина, в то время как при анодном окислении из ДМФ/анилина на рабочем электроде наблюдали формирование проводящей пленки, сопровождающееся частичным включением молекул Co(II)- или Cu(II)ТАТРР в структуру ПАНИ в течение первых

5 циклов, подтвержденным наличием характерных пиков окисления и восстановления центрального иона металла порфирина, Co(II)/Co(III) в частности (мембрана I.г), **Рис. IV.1.**

Табл. IV.1 Состав сенсорных материалов, полученных методом электрополимеризации.

Мембрана	Мономер, 0.001 моль/л	Растворитель
I.a	Co(II)TATPP	АЦН
I.б	Co(II)TATPP	ДМФ
I.в	Co(II)TATPP	пиридин
I.г	Co(II)TATPP	ДМФ : (0.5моль/л анилин в 1моль/л H ₂ SO ₄) = 1:1
II	Cu(II)TATPP	АЦН
III	анилин, 0.5 моль/л	1 моль/л H ₂ SO ₄

Циклические вольтамперограммы после первого, пятого и десятого сканирования потенциала в процессе электроосаждения мембраны I.г в диапазоне напряжений от -0.2 до 1.5 В показаны на **Рис.IV.2.** Присутствие на ВА окислительной волны на +0.2 В объясняли образованием эмеральдиновой формы ПАНИ, а обратимый пик на +0.4 В соответствовал одноэлектронному окислительно-восстановительному процессу Co(II)/Co(III). Присутствующие в течение первых пяти циклов сканирования анодные пики на +0.65, +0.85 и +1.35В являются характерными процессами часто наблюдаемыми при окислении арилзамещенных порфиринов и анилина [265]. Причиной возникновения высокого фонового анодного тока в диапазоне напряжений 0.3 – 1.1 В, являлось по-видимому включение в пленку ПАНИ свободных ионов SO₄²⁻ либо отрицательно заряженных комплексов Co(II)TATPP/SO₄²⁻ [271].

Включение Co-TATPP в структуру ПАНИ, сформированную на стеклянных электродах с электропроводящей ИТО (оксида индия-олова) подложкой, подтверждалось также наличием характерной для порфиринового ароматического кольца полосы Core ($\lambda=454$ нм) на видимых спектрах поглощения мембраны I.г, **Рис.IV.3.** Расширение полосы Core указывает на формирование многослойной пленки, в то время как батохромный (длинноволновый) сдвиг максимума пика в полимерной пленке, в сравнении со свежим раствором мономера в CH₂Cl₂, может объясняться аксиальной координацией порфирин-аминофениловых фрагментов (которые частично остаются неокисленными в ходе электрополимеризации) на центральном металле соседних порфириновых комплексов.

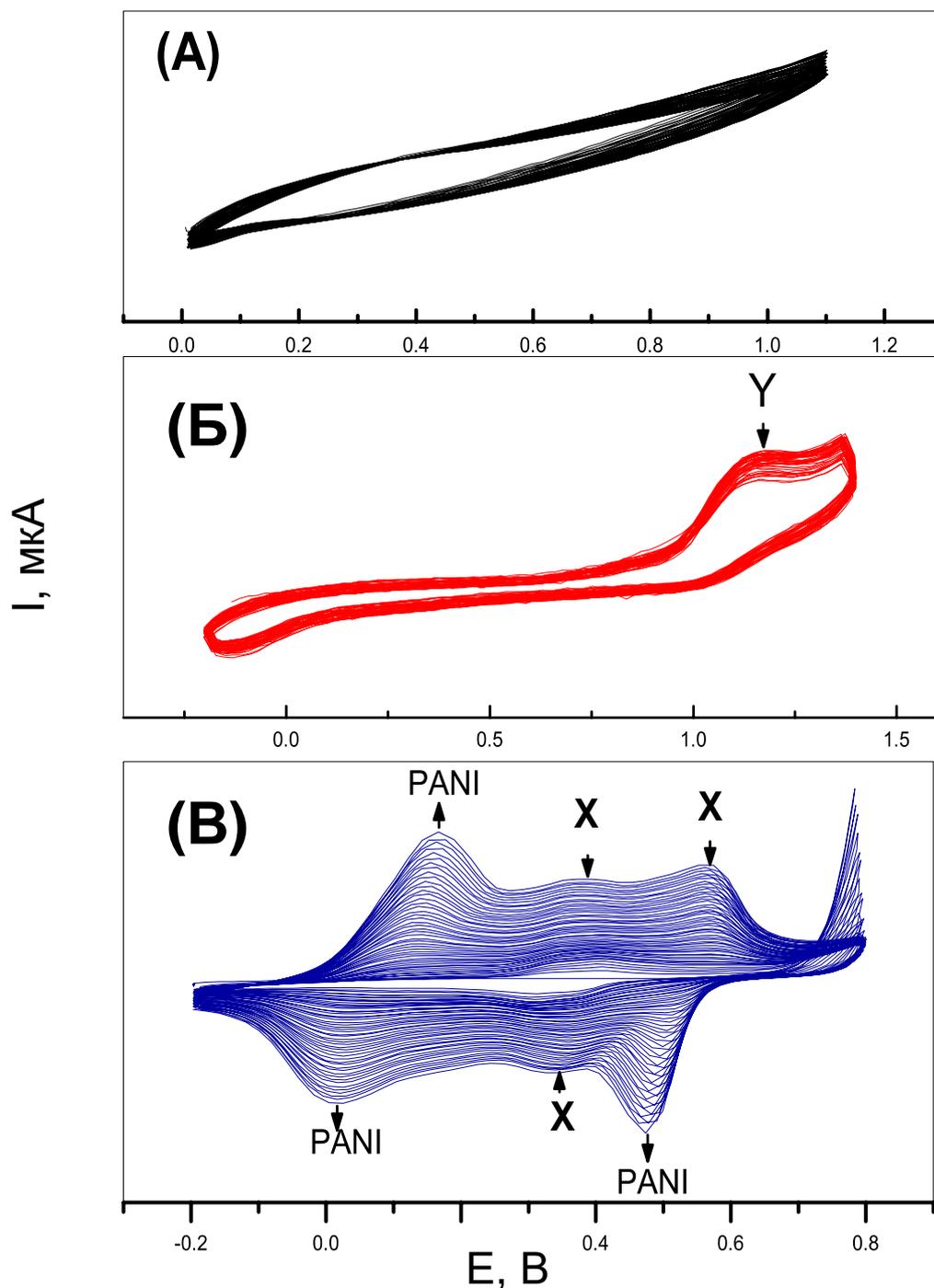


Рис. IV.1 Вольтамперограммы электроосаждения пленок ПАНИ- Co(II)TATPP на Pt-WE из: (А) - ацетонитрила; (Б) - ДМФ; (В) - ДМФ : (0.5моль/л анилин в 1моль/л H_2SO_4) = 1:1. Скорость сканирования составляла 100мВ/с. На рисунке X соответствует процессу включения Co(II)TATPP в пленку; Y указывает на уменьшение тока и образование электроизолирующей пленки [268].

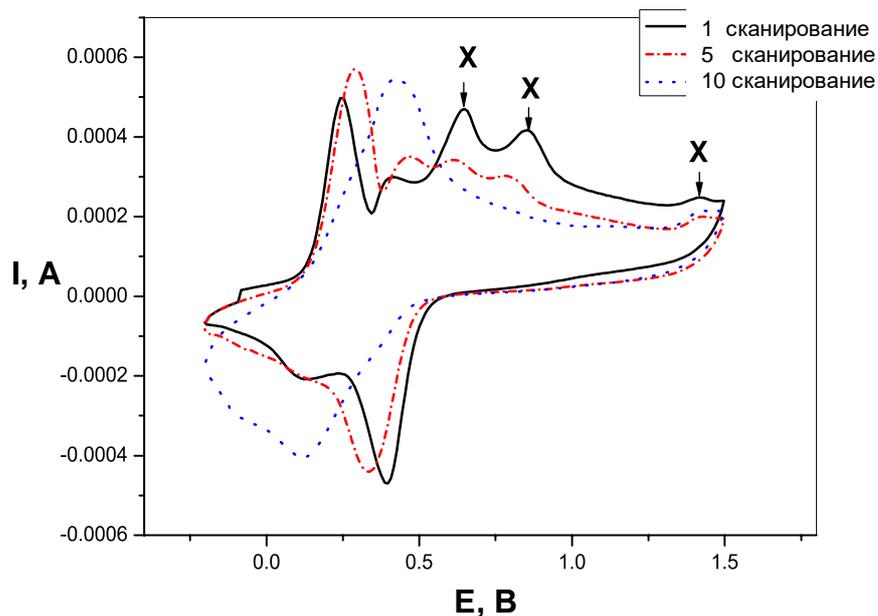


Рис. IV.2 Вольтамперограммы электроосаждения мембраны I.g (ПАНИ-Co(II)TATPP) на Pt-WE раствора ДМФ/анилина в течение первых 10 сканирований. X соответствует включению Co(II)TATPP в пленку ПАНИ [268].

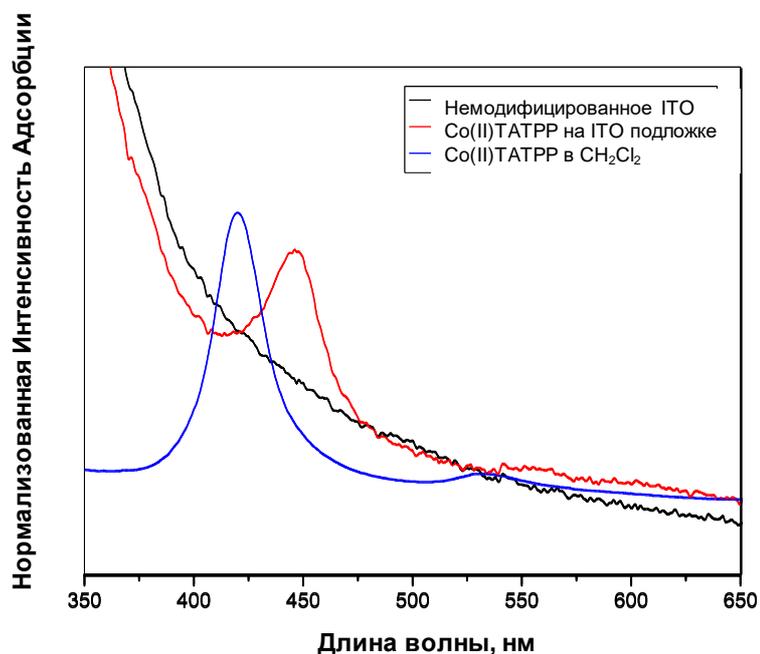


Рис. IV.3 Спектры поглощения пленки ПАНИ-Co(II)TATPP (мембрана I.g), осажденного на предметном стекле с ITO-подложкой. Для сравнения приводятся спектры Co(II)TATPP в CH_2Cl_2 и немодифицированного ITO-стекла без полимерного покрытия [268].

IV.2.2 Потенциометрические свойства сенсорных материалов на основе Co(II)- и Cu(II)-порфиринов

Были исследованы потенциометрические свойства поли-Co(II)ТАТРР электрополимеризованных мембран I.б-I.г, осажденных из ДМФ, пиридина и ДМФ/анилина, а также отклик ПВХ полимерных мембран на основе Co(II)ТАТРР в качестве ионофора и содержащие липофильную катионную добавку – ТДАСI. Селективность и срок жизни сенсоров на основе Co(II)ТАТРР были сопоставлены со свойствами известных мембранных композиций на основе ТФАП (Карбонатный-ионофор I, Карбонатный-ионофор IV), широко применяемых для определения карбонат-ионов, а также с мембраной 5 на основе анионообменника ТДАСI в количестве 6 вес. %. Составы исследованных ПВХ мембран приведены в Табл. IV.2.

Табл. IV.2 Составы исследованных карбонат-селективных ПВХ мембран

N	Ионофор, вес %	ТДАСI, вес %	Пластификатор
1	Co(II)ТАТРР, 1.5	ТДАСI, 1	ПВХ/ДОС
2	Co(II)ТАТРР, 1.5	-	ПВХ/ДОС
3	Карб. ионофор I, 2.7	ТДАСI, 2	ПВХ/ДОС
4	Карб. ионофор IV, 3.5	ТДАСI, 2	ПВХ/ДОС
5	-	ТДАСI, 6	ПВХ/ДОС

При приготовлении ПВХ мембран на основе Co(II)ТАТРР мы столкнулись с проблемой низкой растворимости последнего в ТГФ. Такая низкая растворимость может объясняться частичной агрегацией мономеров ионофора в результате аксиальной координации фениламиновых заместителей на металлических центрах соседних макроциклов. Добавление в состав мембранной композиции пиридина в количестве 7% по весу приводило к существенному улучшению растворимости ионофора за счет уменьшения его агрегации в связи с преобладающим координированием пиридина на центральном металле.

Мембрана 2, приготовленная на основе ионофора Co(II)ТАТРР в количестве 1.5% по весу и не содержащая липофильных добавок обладала парциальным анионным откликом ко всем исследованным анионам, в то время как добавление анионных липофильных центров ТпСIФБ⁻ в количестве 1 вес. % приводило к катионному отклику с наклонами линейных участков градуировочных графиков 40-45 мВ/дек в водных растворах всех исследуемых аналитов (данные не приводятся). Такое поведение указывает, что Co(II)ТАТРР функционирует в

мембранной фазе в качестве нейтрального переносчика. Как известно, для стабилизации потенциометрических свойств мембран на основе нейтральных переносчиков требуется введение в состав мембраны катионных липофильных сайтов [19]. В действительности, для мембраны 1, содержащей 60 мол.% анионообменника ТДА+, был получен потенциометрический отклик к CO_3^{2-} -ионам с наклоны линейных участков градуировочных графиков к CO_3^{2-} -иону были близки к теоретическому Нернстовскому и составили: -30.3 мВ/дек в диапазоне $3 \times 10^{-6} - 10^{-3}$ моль/л на фоне дистиллированной воды, и -28.7 мВ/дек в диапазоне $3 \times 10^{-5} - 10^{-1}$ моль/л в 0.1 моль/л $\text{TRIS-H}_2\text{SO}_4$ с pH 8.6. Исходя из количества введенных катионных добавок можно сделать предположение о возможной стехиометрии комплексов ионофор/определяемый ион [244]. Так было установлено, что при соотношении $\text{Co(II)TATPP/TДАCl}=1.5$ в мембране 1 ее селективность по отношению к карбонат-ионам приближается селективности мембран на основе производных ТФАП, **Рис. IV.4.**

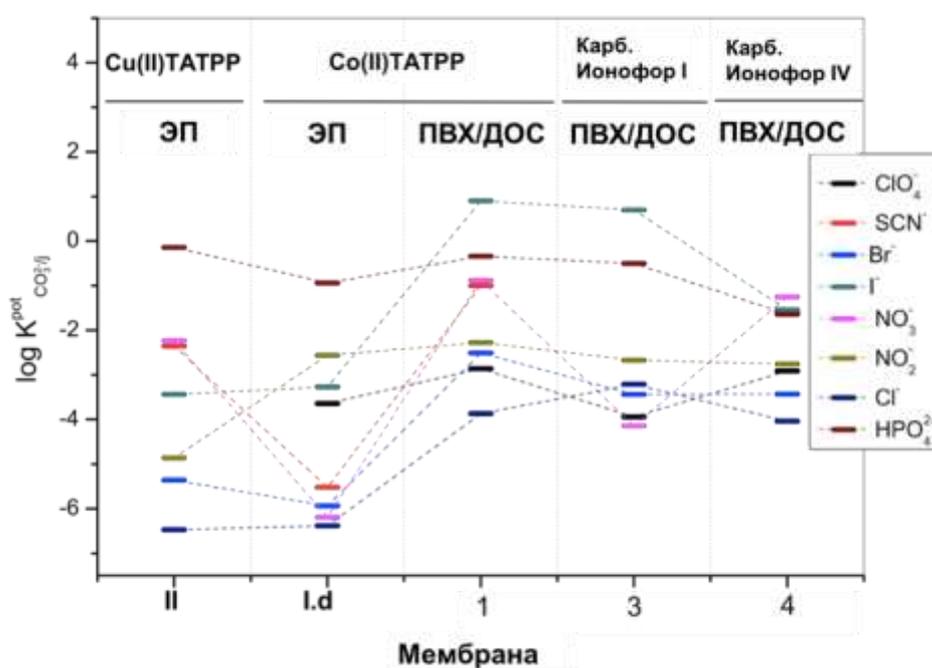


Рис. IV.4 Сравнение коэффициентов селективности электрополимеризованных (ЭП) мембран и полимерных мембран (ПВХ/ДОС) на основе Co(II) - и Cu(II) -ТАТРР и производных ТФАП (коммерчески доступные Карбонатные ионофоры I и IV). Оценка коэффициентов селективности была произведена методом БИП; в расчетах использовался теоретический Нернстовский наклон -29 мВ/ pCO_3 .

В Главе III (раздел III.7.1) данной работы были приведены результаты квантово-химических расчётов энергий комплексообразования нескольких металлопорфиринов с различными анионами. Было показано, что ион CO_3^{2-}

взаимодействует с металлическим центром металлопорфириновых ионофоров через атом кислорода. В случае электродов на основе Co(II)- и Cu(II)-ТАТРР ионофоров, частичный положительный заряд атома углерода в составе карбонат-иона может быть дополнительно стабилизирован посредством делокализации электронной плотности порфириновыми аминофенильными заместителями. Такое двойное взаимодействие по-видимому является причиной повышенной чувствительности данных сенсоров к карбонату. В мембранной фазе можно предполагать образование комплексов МП:CO₃²⁻ с различной стехиометрией (1:1 и 2:1).

Спектры поглощения мембраны 1, до и после вымачивания в растворах NaHCO₃ в диапазоне концентраций 10⁻⁶ – 10⁻² моль/л выявили наличие трех конкурентных процессов комплексообразования, **Рис. IV.5**.

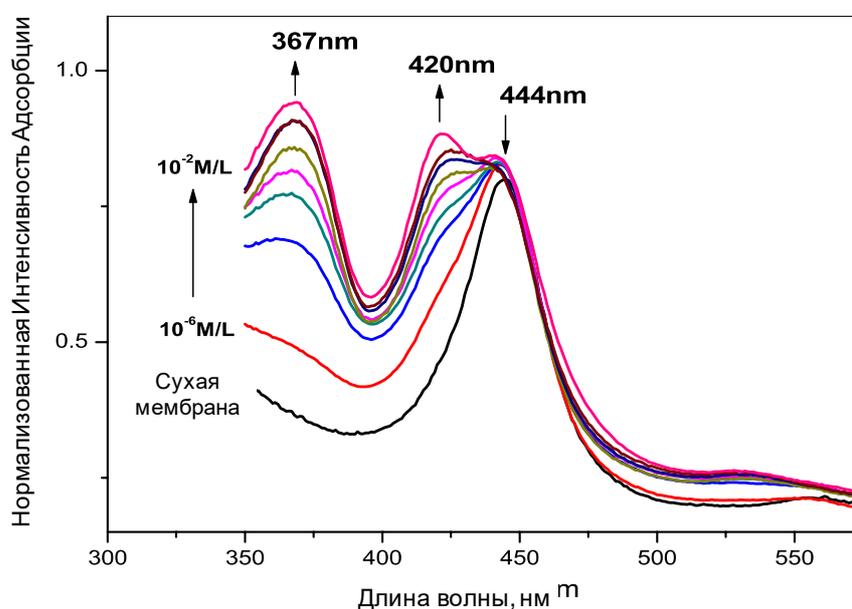


Рис. IV.5 Спектры поглощения мембраны 1 в растворах NaHCO₃ в диапазоне концентраций 10⁻⁶ – 10⁻² моль/л [268].

Уменьшение интенсивности пика поглощения на 444 нм и рост пика на 420 нм указывают на частичное замещение пиридина, первоначально скоординированного на металлическом центре ионофора, на основной карбонат-ион с последующим образованием димеров ионофора, связанных посредством гидроксид- и/или карбонат-ионов и соответствующего гипсохромного сдвига и роста интенсивности адсорбции на 367 нм [182]. Исследование оптических спектров поглощения мембраны 1 в растворах NaCl, NaNO₃ и NaSCN не выявило очевидных процессов димеризации ионофора (и гипсохромного сдвига), подтверждая таким образом селективную способность карбонат-ионов к смещению димер-мономерного равновесия Co(II)ТАТРР.

Как подчеркивалось выше, возможность избежать димеризацию ионофора, приводящую к неустойчивому во времени и невоспроизводимому отклику сенсоров на основе Co(II)- и Cu(II)ТАТРР ионофоров, дает электрополимеризация, в результате которой происходит жесткая фиксация порфириновых макроциклов в полимерной матрице ПАНИ.

При исследовании потенциометрических свойств поли-Co(II)ТАТРР и поли-Cu(II)ТАТРР пленок, полученных электрополимеризацией, в растворах различных анионов было выявлено, что мембраны I.б, I.в (см. **Табл. IV.1**) не обладали заметной анионной чувствительностью в результате низкой электропроводимости данных полимерных пленок. Напротив, для мембран I.г и II, полученных электрохимической сополимеризацией анилина с Co(II)ТАТРР или Cu(II)ТАТРР соответственно из ДМФ (см. **Табл. IV.1**) наибольший отклик с угловым коэффициентом градуировочных кривых, близким к теоретическому Нернстовскому была получен в отношении ионов CO_3^{2-} (-27 и -28 мВ/дек соответственно), **Рис.IV.6**. Однако было обнаружено сильное влияние липофильных ионов I^- и SCN^- (наклоны -56 и -59 мВ/дек соответственно) на электродные свойства указанных мембран. Селективность данных мембран значительно отличалась от серии Гиндина-Хоффмейстера, **Рис. IV.4**. Влияние pH среды на отклик Co(II)- и Cu(II)-5,10,15-трис(4-аминофенил)-20-фенил-порфириновых полимеров было незначительным в диапазоне pH от 6 до 10 (-2,9 и -14,0 мВ/pH соответственно), однако для учета всех присутствующих в анализируемом образце форм CO_2 (т.е. CO_2 , H_2CO_3 , HCO_3^- , CO_3^{2-}) с их применением требуется контроль pH, либо применение соответствующего буферного фона. Исследованная для сравнения мембрана 5 на основе ПАНИ не проявляла анионного отклика во всех исследованных растворах и находилась под сильным воздействием pH среды. В действительности, чувствительность пленок ПАНИ к изменению pH хорошо известна, так ранее были даже разработаны сенсоры для определения pH на основе полианилина [272,273].

Таким образом было показано, что Co(II)- и Cu(II)-5,10,15-трис(4-аминофенил)-20-фенил-порфиринатные полимеры могут избирательно координировать карбонат-ионы и являются перспективными чувствительными материалами для разработки карбонат-селективных сенсоров. Более того, по сравнению с полимерными ПВХ-мембранами на основе тех же ионофоров в электрополимеризованной пленке не происходит димеризации ионофора в результате его жесткой фиксации в составе матрицы полианилина. Благодаря улучшенной адгезии полимерной пленки к поверхности трансдьюсера был достигнут более длительный срок службы сенсора (до 30 дней при стабильной чувствительности). Улучшенная адгезия и длительный срок службы делают чувствительные материалы на основе поли-Co(II)ТАТРР и поли-Cu(II)ТАТРР пленок перспективными кандидатами для рутинных и часто повторяющихся измерений в растворах сложного состава, таких как, биологические жидкости.

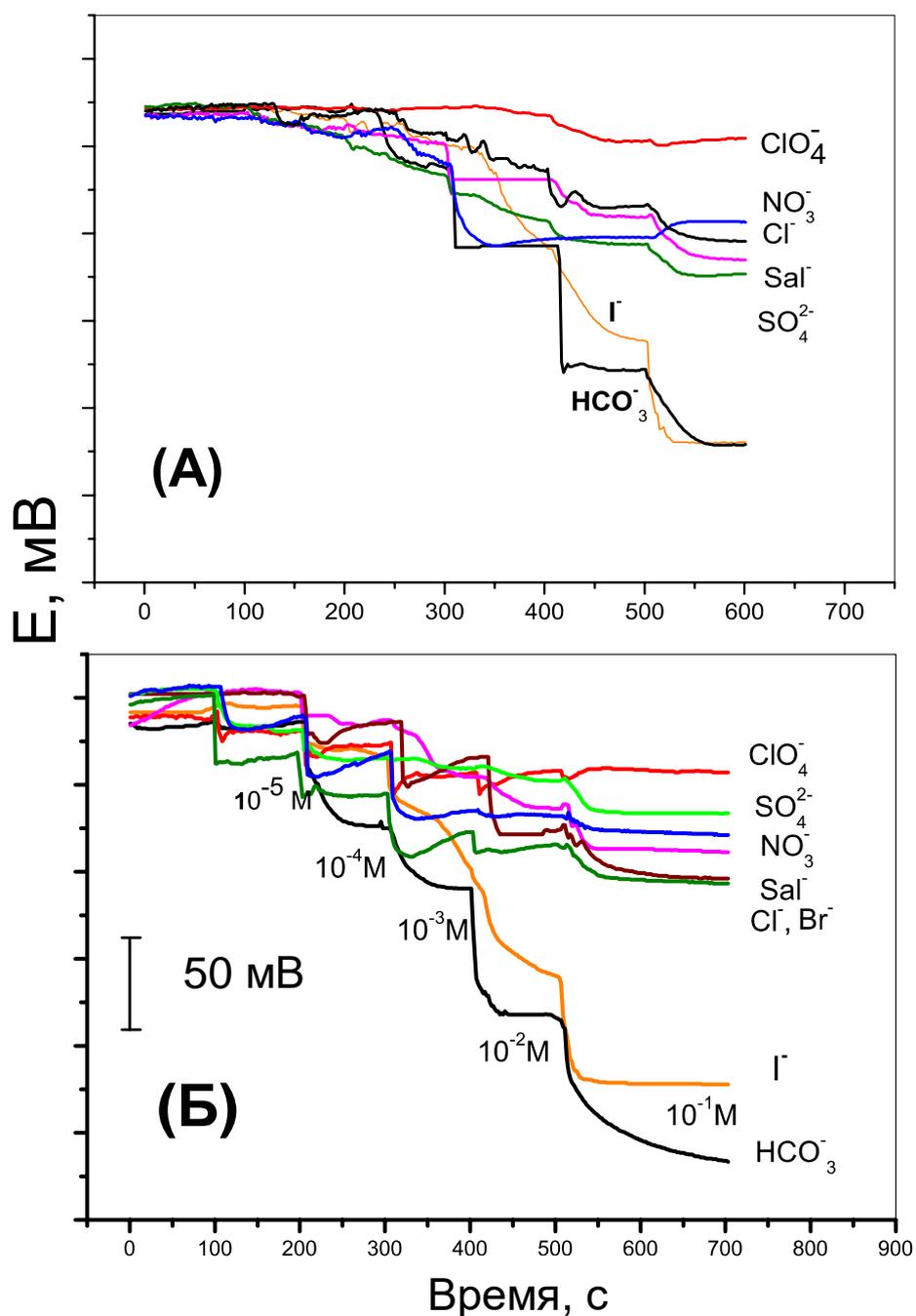


Рис. IV.6 Потенциометрический динамический отклик электрополимеризованных мембран по отношению к нескольким анионам: (А) мембрана I.g на основе Co(II)TATPP , (Б) мембрана II на основе Co(II)TATPP .

IV.2.3 Применение карбонат-селективных сенсорных материалов на основе Co(II) - и Cu(II) -порфиринов для анализа плазмы крови

Аналитическая полезность разработанных электродов была изучена при определении содержания бикарбоната в плазме крови человека. Результаты определения бикарбоната в плазме крови пациентов с респираторным ацидозом

(образцы А, Б) и здоровых пациентов (образцы В, Г, Д), с применением поли-Со(II)ТАТРР мембраны и в сравнении с пластифицированными ПВХ мембранами на основе Со(II)ТАТРР и коммерческого карбонатного ионофора I и референтными данными гематологического анализатора представлены в **Табл. IV.3.** Как видно, результаты, полученные с применением мембран на основе Со(II)ТАТРР близки к референтным данным и подтверждают их эффективность для обнаружения содержания ионов HCO_3^- при анализе физиологических образцов. Бесспорными преимуществами порфирин-замещенных полианилиновых сенсорных материалов является длительный срок службы благодаря удержанию ионофора в полимерной пленке, и возможность их миниатюризации, что существенно при анализе образцов малого объема или необходимости измерений *in vivo* (непосредственно в живом образце). При этом стоимость разработанных сенсорных материалов значительно ниже по сравнению с известными коммерческими ионофорами, а их применение менее трудозатратно в сравнении с методами инструментального анализа.

Табл. IV.3. Результаты определения бикарбоната в плазме крови человека с сенсорами на основе Со(II)ТАТРР и коммерческого карбонатного ионофора I.

Образец	HCO_3^- , ммоль/л			
	Поли-Со(II)ТАТРР	ПВХ/Со(II)ТАТРР	ПВХ/ Карб. Ионофор I	Анализатор крови
А	48.4±3.7	52.4±4.2	48.3±2.2	51.4
Б	31.9±2.3	-	29.7±1.7	31.8
В	-	-	42.1±1.5	42.8
Г	-	20.8±2.2	-	21.2
Д	30.7±4.6	25.2±4.4	30.3±2.2	28.9

IV.3 Электрополимеризованные сенсорные материалы на основе порфирин-замещенного полипиррола: синтез и свойства.

Наряду с фениламином, другим часто используемым электроактивным периферийным заместителем в структуре порфиринов является пиррол. Ранее были синтезированы и охарактеризованы порфирин-декорированные полипиррольные пленки [263- 265], однако данных о систематическом изучении влияния природы центрального металла в структуре порфирина, а также длины и количества алифатических цепочек (линкеров), вводящих порфирин в

структуру полипиррола, на свойства полученных электрополимеризованных покрытий в литературе не приводилось. Более того, богатство химических и оптических свойств порфиринов делает их универсальными чувствительными материалами и дает возможность сравнить эффективность различных способов передачи сигнала для одного и того же полимерного слоя. Несмотря на это, на сегодняшний день практически отсутствуют исследования в области разработки сенсоров с одновременной регистрацией сигналов разной природы, так называемых мульти-трансдуктивных сенсоров. Поскольку порфирины широко применяются в разработке потенциометрических и оптических сенсоров для анализа сложных жидких сред, а использование электрически проводящих ИТО-модифицированных стеклянных электродов позволяет с легкостью скомбинировать эти два механизма трансдукции, в настоящем разделе исследовали возможности увеличения надежности и срока службы оптоэлектрохимических порфиринов-замещенных полипиррольных пленок, полученных методом электрополимеризации, и их перспективность в мультисенсорном и мульти-трансдуктивном анализе.

IV.3.1 Электрохимическая полимеризация пирролзамещенных порфиринов

Ранее было показано, что химическая структура исходного пирролзамещенного мономера (в зависимости если пиррольная группа связана с порфириновым макроциклом напрямую или посредством гибкого алифатического линкера), а также количество электроактивных пиррольных групп на одну молекулу мономера существенно влияют на эффективность процесса электрополимеризации, и в частности на степень перекрестного сшивания полученного полимера [265]. По этой причине было исследовано влияние количества пиррольных периферических заместителей (1, 2 или 4 в мономере) и длины алифатических $-(CH_2)_n$ цепочек, вводящих пиррол в структуру порфирина на свойства полученных полимерных пленок. Всего было синтезировано 13 мономеров, структурные формулы синтезированных соединений представлены на **Рис. II.6**. Для всех пиррол-замещенных порфиринов изначально были установлены оптимальные экспериментальные условия процесса электрополимеризации, после чего оценивали такие параметры полученных пленок, как толщина, собственная проводимость, структура полученного покрытия и морфология поверхности, потенциометрический и оптический отклик к различным анализам.

В целом, электрополимеризация полипиррола представляет собой многошаговый процесс. На основе данных электрохимического и спектроскопического исследований ранее были предложены несколько моделей роста полипиррольных покрытий на поверхности рабочего электрода. Среди них, классический механизм Диаза [274] предполагает первоначальное окисление мономера на поверхности электрода с последующей димеризацией двух катион-

радикалов ($R\bullet$) и потерей двух протонов, приводящей к образованию ароматического димера, **Рис. IV.7**. Данный димер в результате окисления дает катион-радикал, который при взаимодействии с новым катион-радикалом мономера и потерей двух протонов дает нейтральный тример. Процесс электрополимеризации продолжается далее по описанной выше последовательности: окисление, соединение катион-радикалов, депротонирование. Процесс формирования полимера останавливается в результате обрыва цепи вследствие, например, взаимодействия с водой и с другой полярной молекулой растворителя.

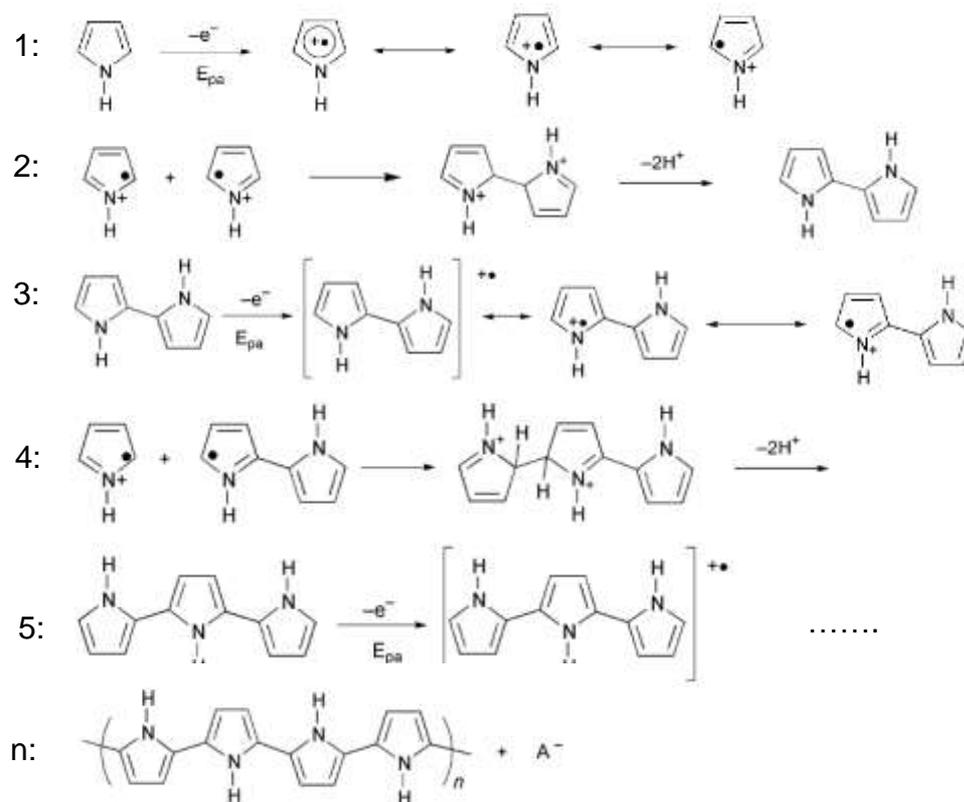


Рис. IV.7 Механизм электрополимеризации полипиррола по Диазу [274].

Другой механизм, предложенный Кимом и соавторами, предполагает первоначальную адсорбцию мономера на поверхности электрода с последующей инициацией полимеризации после потери двух электронов и протона молекулой пиррола и образованием активного промежуточного продукта Pu^+ [275], Затем на поверхности электрода формируется плотная электрополимеризованная пленка, образованная при взаимодействии таких промежуточных продуктов и новых молекул пиррола или агломератов полипиррола с низким молекулярным весом из раствора, **Рис. IV.8**.

1: Адсорбция мономера на поверхности электрода

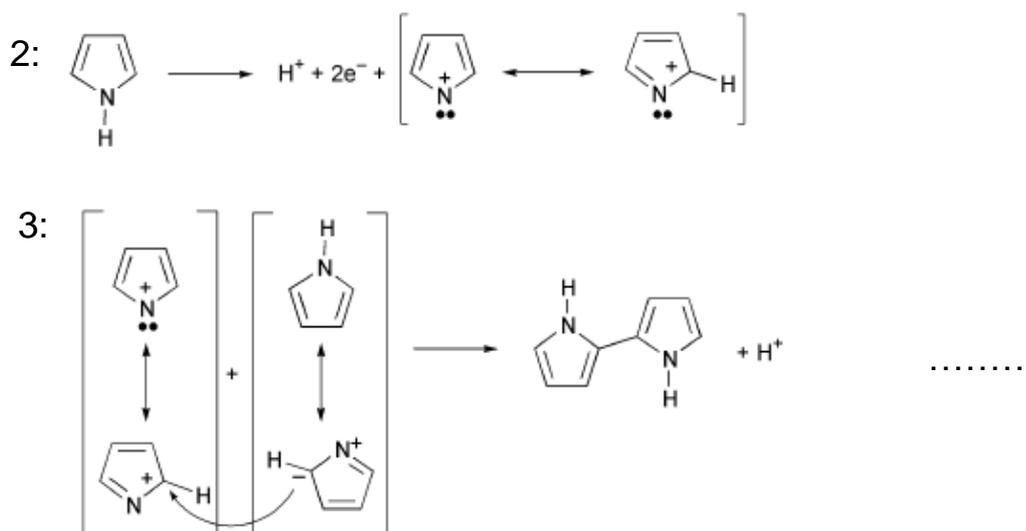


Рис. IV.8 Механизм электрополимеризации полипиррола по Киму [275].

Предложенные Плетчером [276] и Рейнольдсом [277] механизмы предусматривают окисление исходного мономера пиррола с последующей прогрессивной или мгновенной нуклеаризацией соответственно. Танака и др. описали различные пути объединения σ - или π -катион-радикальных пиррольных мономеров [278]. Лоуен и Ван Дайк предположили, что перед этапом соединения может произойти изменение в состоянии гибридизации мономера [279]. Было показано, что на начальных этапах электрополимеризации, положения 2, 5 (α , α') в молекуле пиррола элементов являются наиболее реакционноспособным, в то время как возможность полимеризации в положениях 3, 4 (β , β') увеличивается с ростом длины полимерной цепи.

Порфирин-замещенные полипиррольные пленки получали методами ЦВА и хроноамперометрии *n*-алкил-(1-пиррол)-фенил-порфиринов и их Mn(III)- и Co(II)-комплексов. Процесс формирования пленок на поверхности дисковых Pt-электродов и стеклянных электродов, модифицированных слоем оксида индия-олова (ITO электроды) высотой в 30 нм с номинальным сопротивлением 30-60 Ом/кв, из $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л растворов мономера в различных растворителях, содержащем 0.1 моль/л ТБАСlO₄ фоновый электролит изучали в стандартной 3-х электродной электрохимической ячейке с НКЭ электродом сравнения и вспомогательным Pt-металлическим проволочным электродом. Ввиду различной растворимости синтезированных мономеров, для приготовления их растворов были использованы несколько органических апротонных растворителей: ацетонитрил (АЦН), дихлорметан (CH₂Cl₂), хлороформ (CHCl₃), и диметилформамид (ДМФ). Большинство синтезированных мономеров показывали хорошую растворимость в ДМФ, однако этот нуклеофильный

растворитель ингибировал образование полипиррола, что согласуется с ранее опубликованными данными об электрополимеризации полипиррола [280]. Электрополимеризация мономеров происходила по 2,5-позициям пиррола; в результате на ИТО подложке образовывалась полипиррольная матрица, избыточный положительный заряд которой нейтрализовался контр-ионами из фонового электролита, перхлорат-ионами в частности, **Рис. IV.9**.

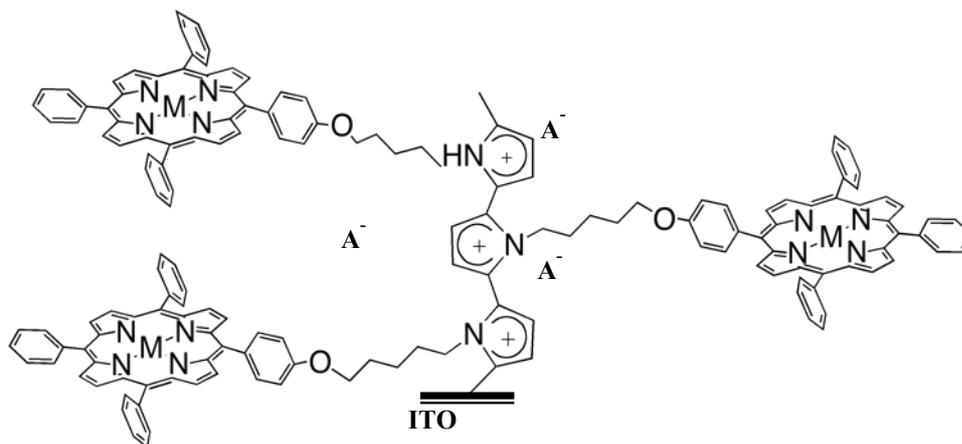


Рис. IV.9 Схематическое представление процесса полимеризации порфирин-замещенного полипиррола на ИТО подложке.

В **Табл. IV.4** приводятся условия электрополимеризации для различных мономеров, приведены потенциалы окислительных процессов и описан внешний вид полученных покрытий. Синтезированные полимеры обозначали в соответствии с наличием центрального иона металла в порфириновом макроцикле, числом пиррольных групп в мономере, а также длиной алифатического линкера, вводящего пиррольные заместители. Так, например, пленка, полученная из порфиринового мономера 3, с одним пиррольным заместителем введённым посредством $-(CH_2)_{10}$ фрагмента была сокращенно обозначена как Моно10 ($M=2H$, $n=10$), в то время как пленка, полученная из мономера 3Co - МоноCo10 ($M=Co$, $n=10$). Электрополимеризованная мембрана, полученная из мономера 4, несущего 2 пиррольных заместителя напрямую связанных с порфириновым макроциклом получила название БисПирр ($M=2H$, $n=0$).

На **Рис.IV.10** показаны ЦВА на ИТО WE в 10^{-3} моль/л растворах мономеров 2, 4, 6, 6Co, 6Mn и 7 в CH_2Cl_2 или АЦН и с содержанием фонового электролита ТБАСЮ₄ 0.1 моль/л. На всех вольтамперограммах двум одноэлектронным обратимым процессам окисления порфиринового макроцикла в катион-радикал $P^{\bullet+}$ и дикатион- P^{2+} соответствуют два пика на 0.8 и 1.0 В, хорошо видные при начальных сканированиях потенциала.

Табл. IV.4 Условия электрополимеризации и свойства полученных порфирин-замещенных электрополимеризованных пленок.

Момомер	Растворитель ^a	Диапазон сканирования потенциала, В против НКЭ	E _{1/2} , В против НКЭ	Внешний вид	Окислительный потенциал ^b , В/ материал рабочего электрода WE/ толщина пленки, мкм
1 МоноПирр	АЦН, CH ₂ Cl ₂	-0.2 - 1.3	-	Пленка отсутствует	-
2 Моно5	АЦН	-0.8 - 1.4	0.297; 1.05	Красная пленка	0.7 / ITO: 0,61 0.7 / Pt: 0,05
2Co МоноCo5	CH ₂ Cl ₂	-1.0 - 1.4	-0.58; 0.65; 1.13	Оранжевая пленка	0.7 / ITO: 0,52 1.1 / ITO: 7,67 1.1 / Pt: 0,29
2Mn МоноMn5	CH ₂ Cl ₂	-1.0 - 1.4	-0.55; 0.79; 1.13	Зеленая пленка	-
3 Моно10	CH ₂ Cl ₂	-0.5 - 1.5	0.334; 1.11	Зеленая пленка	1.1 / ITO: 2,77 1.1 / Pt: 0,44
3Co МоноCo10	CH ₂ Cl ₂	-0.5 - 1.5	0.69; 1.12	Желтая пленка	1.1 / ITO: 4,07 1.1 / Pt: 0,92
3Mn МоноMn10	CH ₂ Cl ₂	-0.5 - 1.5	0.78; 1.10	Зеленая пленка	0.7 / ITO: 0,44 1.1 / ITO: 5,45
4 БисПирр	CH ₂ Cl ₂ , CHCl ₃	-0.2 - 1.4	0.34; 1.045	Красная пленка	0.7 / ITO: 0,89 1.1 / ITO: 9,05 0.7 / Pt: 0,014
5 Бис3	CH ₂ Cl ₂ , АЦН	-0.5 - 1.4	0.35; 1.01	Красная пленка	0.7 / ITO: 0,35 1.1 / ITO: 3,44 0.7 / Pt: 0,054
6 Бис10	CH ₂ Cl ₂	-0.5 - 1.4	0.24, 0.95	Зеленая пленка	0.7 / ITO: 3,09 0.7 / Pt: 0,17
6Co БисCo10	CH ₂ Cl ₂	-0.8 - 1.4	-0.60; 0.69; 1.09	Желтая пленка	-
6Mn БисMn10	CH ₂ Cl ₂	-0.5 - 1.4	0.79; 1.12	Зеленая пленка	-
7 Тетра5	CHCl ₃ ; CHCl ₃ /A ЦН	-0.5 - 1.5	0.375; 1.007	Частичное покрытие Зеленая пленка	0.7 / ITO: 0,037 1.1 / ITO: 0,81 0.7 / Pt: 0,007

^a фоновым электролитом во всех случаях был 0.1М ТБАСlO₄; ^b пленки получены методом хроноамперометрии.

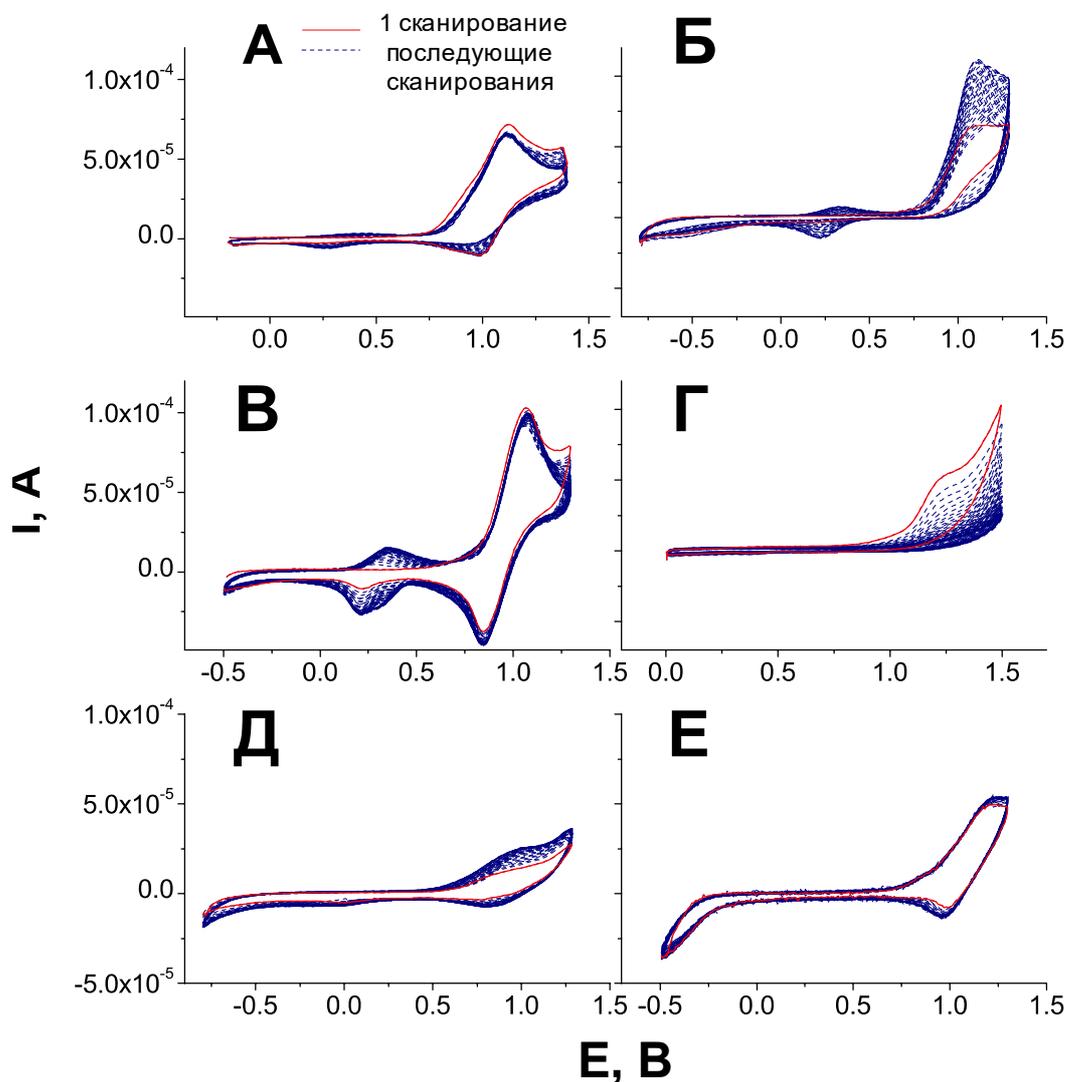


Рис.IV.10 Окислительная полимеризация порфирин-замещенных полипиррольных покрытий на поверхности ITO WE при развертке потенциала 100 мВ/с: (А) БисПирр; (Б) Моно5; (В) Бис10; (Г) Тетра5; (Д) БисСо10, (Е) БисMn10, [144].

При последующих сканированиях потенциала в диапазоне -0.2В - 1.4В и скорости развертки потенциала 100 мВ/с было зарегистрировано возникновение почти симметричной окислительно-восстановительной пары при напряжении $E_{1/2} + 0.2 - 0.3$ В и роста диффузного тока для частично обратимого процесса при $E_{1/2} = 1.1$ В. В то время как многие авторы [265] связывают этот последний процесс с окислением пиррольных групп, более спорным является процесс идентификации

окислительной волны на 0.3 В. Так, данный анодный процесс не был зарегистрирован при электрополимеризации пиррол-замещенных металлопорфинов, в то время как существует несколько противоречивых гипотез касательно его характера при окислении неметаллированных пиррол-замещенных порфиринов. Коснье и др. ранее сообщали об обратимом одноэлектронном процессе при напряжении в 0.38 В на вольтамперограммах электроосаждения поли(пиррол-медь-дейтеропорфириновых) пленок на Pt WE, и относили данный процесс к одноэлектронному окислению порфиринового кольца [267]. Напротив, Беттельгейм и др. при исследовании процесса электрополимеризации р-(N-пиррол)-тетрафенилпорфирина связывали окислительно-восстановительный процесс при 0.3 В с окислением пиррола до полипиррола.

В процессе электроосаждения из растворов неметаллированных пиррол-замещенных мономеров **2 (Моно5)**, **4 (БисПирр)** и **6(Бис10)** на поверхности электрода были получены полимерные пленки при окислении в течение первых 20 циклов сканирования потенциала. При этом с увеличением числа сканирований наблюдали непрерывный рост анодного и катодного токов при 0.3В и 1.1В, что свидетельствовало об образовании проводящих полимеров. По мере увеличения толщины пленок, ЦВА диаграммы становились менее обратимыми, что выражалось в увеличении разноса анодных и катодных пиков, а также замедленному росту значений диффузионного тока, что в свою очередь свидетельствовало о более медленном переносе электронов внутри слоя электроосажденного полимера. Исходя из **Рис.IV.10** и **Табл. IV.4**, можно с очевидностью отметить существенное влияние длины алифатического линкера и числа пиррольных заместителей в мономере на ход электрополимеризации. Так, из растворов мономера **1(МоноПирр)**, содержащего только один пиррольный фрагмент, непосредственно связанный в пара-положении с фенил-заместителем неметаллированного тетрафенилпорфирина, оказалось невозможным электроосадить полимерную пленку на поверхностях Pt-WE и ITO-WE рабочих электродов. Такую неудачную попытку электрополимеризации мы объясняли высокой основностью атомов азота в составе порфирина, которая делает их реакционноспособными по отношению к пирроловому катион-радикалу. Как сообщалось ранее, это приводит к формированию на поверхности электрода тонкой изолирующей пленки, которая блокирует дальнейший процесс электрополимеризации [281]. Введение в химическую структуру мономера **4 (БисПирр)** второй пиррольной группы, непосредственно связанной с порфириновым макроциклом, позволило преодолеть изначальную изоляцию процесса электрополимеризации, вероятно из-за кинетических факторов, и привело к образованию проводящей пленки **БисПирр**.

Введение между порфириновым макроциклом и пиррольными электроактивными группами в мономерах **2**, **3**, **5** и **6** соответственно одного - $(\text{CH}_2)_5$ или - $(\text{CH}_2)_{10}$ и двух - $(\text{CH}_2)_3$ или - $(\text{CH}_2)_{10}$ линкеров позволило получить

полимерные пленки с хорошей адгезией к поверхности WE после 20 повторных циклов. Однако различная форма полученных вольтамперограмм указывает на образование полимерных пленок с различными свойствами. Например, непрерывное увеличение катодного и анодного токов при наложенных потенциалах в 0.3 В и 1.05 В указывало на электроосаждение проводящей полимерной пленки из раствора, содержащего мономер **2 (Моно5)**, **Рис.IV.10**

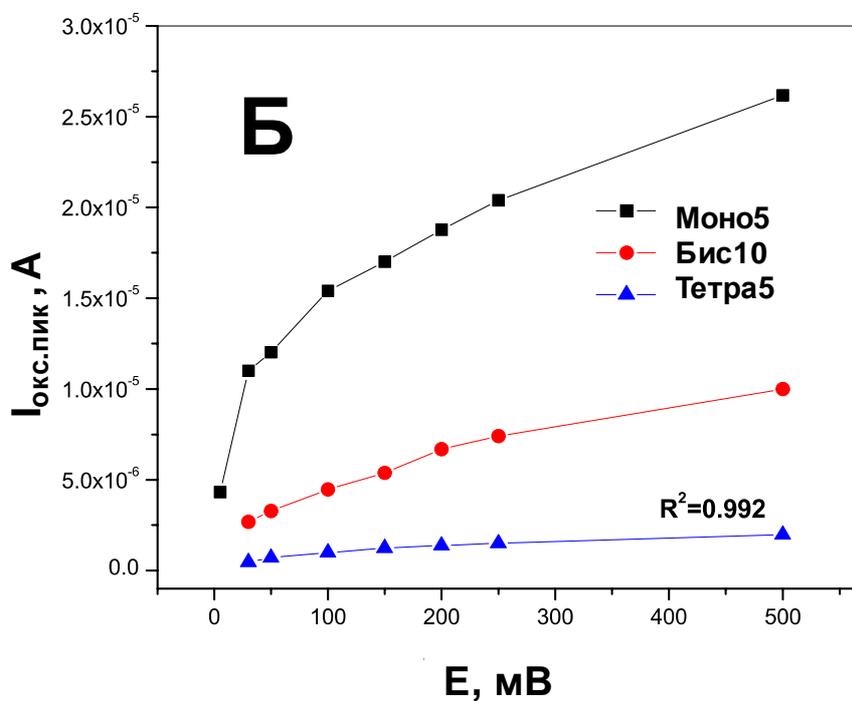
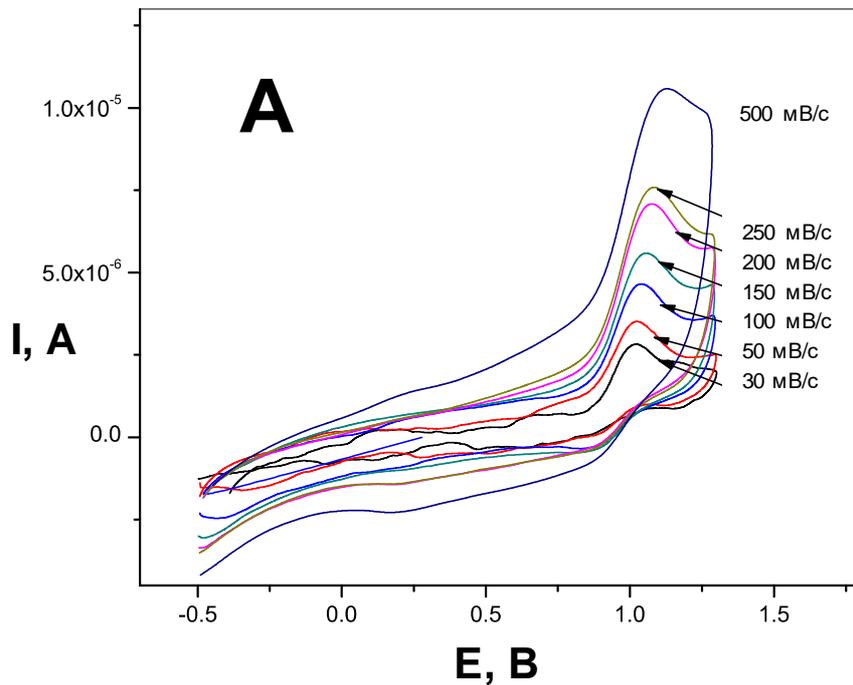
Рис.IV.10Б. С увеличением в монопирролзамещенном мономере **3(Моно10)** длины алифатического линкера $-(CH_2)_n$ от $n=5$ до $n=10$, окислительно-восстановительный процесс на 1.1 В становился менее интенсивным, что указывает на более низкую внутреннюю электрическую проводимость полученной пленки (данные не указаны). Примечателен тот факт, что при электрополимеризации мономера **Бис10**, несущим в своей структуре 2 пиррольных заместителя, связанных с порфириновым кольцом посредством двух алифатических линкеров $-(CH_2)_{10}$, был зарегистрирован квази-обратимый (разнос пиков ΔE около 80 мВ) окислительно-восстановительный процесс при $E_{1/2}=0.28V$, с более высокими значениями окислительных и восстановительных токов, чем для мономера **Моно10**, как видно из **Рис.IV.10В**. Кроме того, добавочные анодные и катодные процессы были зарегистрированы при $E_{1/2}=0.42V$, а их интенсивность возрастала с увеличением числа сканирований. Эти добавочные процессы могут быть отнесены к дополнительным процессам поперечного сшивания полимера. Визуальное сравнение электроосажденных пленок **Бис10** и **Моно10** и последующее изучение морфологии пленок методами атомно-силовой микроскопии (АСМ) и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) показало более равномерное покрытие поверхности в случае **Моно10** благодаря увеличению степени поперечного сшивания. Среди исследованных бис-пирролзамещенных порфиринов, электрополимеризация мономера **Бис5** приводила к образованию тонкой пленки с самыми высокими электроизоляционными характеристиками, а процесс электроосаждения был заблокирован после первых 10 циклов (данные не указаны). Это может быть связано с аналогичным процессом, ранее обсужденным для мономера который обсуждался для мономера **1(МоноПирр)**. Ввиду недостаточной длины линкеров $-(CH_2)_3$, образующиеся после первого сканирования катион-радикалы пиррола могут взаимодействовать с атомами азота порфиринового кольца на интрамолекулярном уровне. Это приводит к уменьшению количества доступных для полимеризации сайтов пиррола, и как следствие, повышению изоляционных свойств пленки. На вольтамперограмме электроосаждения мономера **7(Тетра5)** отмечали непрерывное снижение анодного тока при 1.1В, **Рис.IV.10Г**. Процесс электрополимеризации был заблокирован после нескольких циклов, и как будет обсуждаться далее, при исследовании морфологии пленки **Тетра5** было установлено отсутствие равномерного покрытия поверхности электрода полимерной пленкой и образование лишь нескольких разрозненных олигомеров. При электрополимеризации комплексов Co(II)- и Mn(III)-биспирролзамещенных

порфиринов (мономеры **БисСо10** и **БисMn10** соответственно), наблюдали дополнительные окислительно-восстановительные процессы, соответствующие окислительно-восстановительным системам Co(II)/Co(III) и Mn(II)/Mn(III) при 0.68 В и 0.79В соответственно, **Рис.IV.10Д,Е**. Эти результаты согласуются с ранее сообщенными данными о полимеризации пирролзамещенных металлопорфиринов [265]. Для **БисСо10** после 30 сканирований было зафиксировано непрерывное увеличение амплитуды анодного тока, соответствующего окислению пиррола, а также перекрывание процесса Co(II)/Co(III) с процессом окисления порфиринового кольца. В противоположность этому, вольтамперограмма **БисMn10** оставалась практически неизменной с ростом числа сканирований потенциала, и а на эволюцию электрополимеризации указывало лишь небольшое увеличение анодного тока на 1.1 В, соответствующего окислению пиррола до полипиррола, **Рис.IV.10Е**. Мы полагаем, осевая координация центрального Mn(III)-иона являясь основным фактором, стерически ингибирующим ход электрополимеризации. Несмотря на это, после 20 циклов сканирования потенциала на поверхности рабочего электрода была получена равномерная полимерная пленка, окрашенная в зеленый цвет.

IV.3.2 Исследование процессов переноса электронов в пленках на основе порфирин-замещенного полипиррола

Процессы переноса электронов в порфирин-замещенных полипиррольных пленках исследовали методом ЦВА. Для этого переносили Pt-рабочие электроды с электроосажденными полимерными покрытиями в 0.1 моль/л раствор ТБАСlO₄ в дихлорметане (в отсутствие мономера) и регистрировали силу тока, протекающего через электрод при различных скоростях сканирования потенциала. Регистрировали вольтамперограммы для таких модифицированных электродов в диапазоне потенциалов от -0.5 до 1.5 В, со скоростями сканирования в диапазоне от 30 до 500 мВ/с для сравнения проводящих свойств пленок.

На **Рис. IV.11А** приведена ЦВА для полимерной пленки **Бис10**, где явно видна разница в силе анодного тока для РедОкс процесса при 1.1 В в зависимости от скорости сканирования потенциала. Как видно, разнос потенциалов между пиками окисления и восстановления увеличивается при увеличении скорости развертки потенциала, что указывает на объемный (диффузионный) эффект пленки в процессе переноса электронов. Было найдено, что полимерные покрытия **Моно5**, **Бис10** показывают нелинейный отклик в координатах $I_{\text{окс.пик}}$, А - v , мВ/с, в то время как анодный ток для волны I при потенциале в 1.1В для полимера **Тетра5** изменялся пропорционально скорости сканирования потенциала ($R^2 = 0,992$), **Рис. IV.11Б**. В соответствии с уравнением Рэндлса-Шевчика, то, что проходящий через **Тетра5** ток не контролируется скоростью диффузии, указывает на протекание ред-окс процессов в непосредственной близости от поверхности электрода[40], и в свою подтверждало изначальную



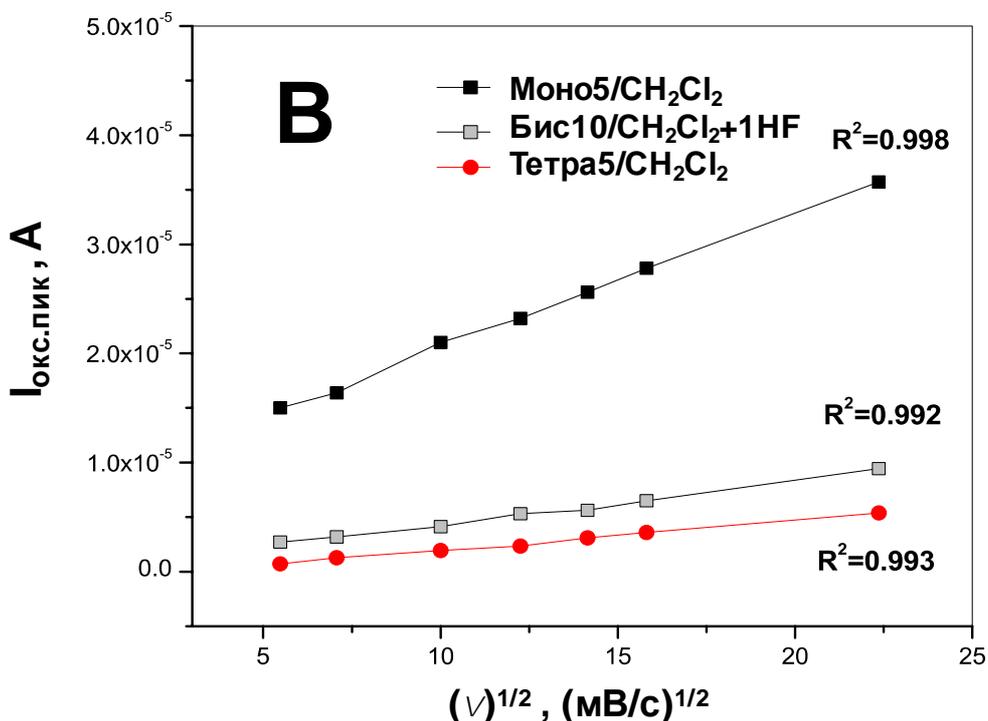


Рис. IV.11 (А) Диаграммы ЦВА в зависимости от скорости развертки потенциала для Pt/Бис10 в 0.1М ТБАСlO₄/CH₂Cl₂; (Б) сравнение I_{pA} на волне I для пленок **Моно5**, **Бис10** и **Тетра5**; (В) I_{pA} против квадратного корня скорости развертки потенциала для пленок **Моно5** и **Бис10**, осажденных из различных апротонных растворителей, [144].

гипотезу об образовании на поверхности электрода очень тонкой и прерывистой пленки. Напротив, для полимерных покрытий **Моно5** и **Бис10**, осажденных из разных растворителей, процесс переноса электронов определяется процессом диффузии, поскольку сила тока $I_{окс.пик}, A$, протекающего через такие полимерные покрытия, линейно пропорциональна квадратному корню скорости развертки потенциала $(v)^{1/2}$, **Рис. IV.11B**. Это указывает на образование на поверхности рабочего электрода однородных полимерных покрытий. При этом можно отметить, что независимо от характера растворителя проводимость пленки **Моно5** выше, чем проводимость пленки **Бис10**. Это может быть связано с ингибирующим эффектом более длинных алифатических линкеров, $-(CH_2)_{10}$ в **Бис10** против $-(CH_2)_5$ в **Моно5**, замедляющих процесс переноса электронов внутри полимера.

При исследовании электроактивности порфиринов-полипиррольных пленок в растворах содержащих ред-окс пару $Fe(CN)_6^{3-/4-}$, были зарегистрированы меньшие значения разности потенциалов пиков, ΔE , для окислительного и восстановительного процессов по сравнению с не модифицированным ИТО стеклянным электродом (352 мВ, 236

мВ, 290 мВ, и 326 мВ для **Моно10**, **МоноMn10**, **МоноCo10** и **МоноCo5** соответственно, против 463 мВ для ИТО стеклянного электрода), **Рис. IV.12**. Полученные результаты свидетельствуют о более быстром процесс переноса электронов в синтезированных электрополимеризованных пленках, и позволяют рекомендовать данные чувствительные материалы для определения ред-окс активных аналитов. Пример мультисенсорного анализа жирорастворимых пищевых красителей группы Судан обсуждается далее в разделе VIII.4.1.2.

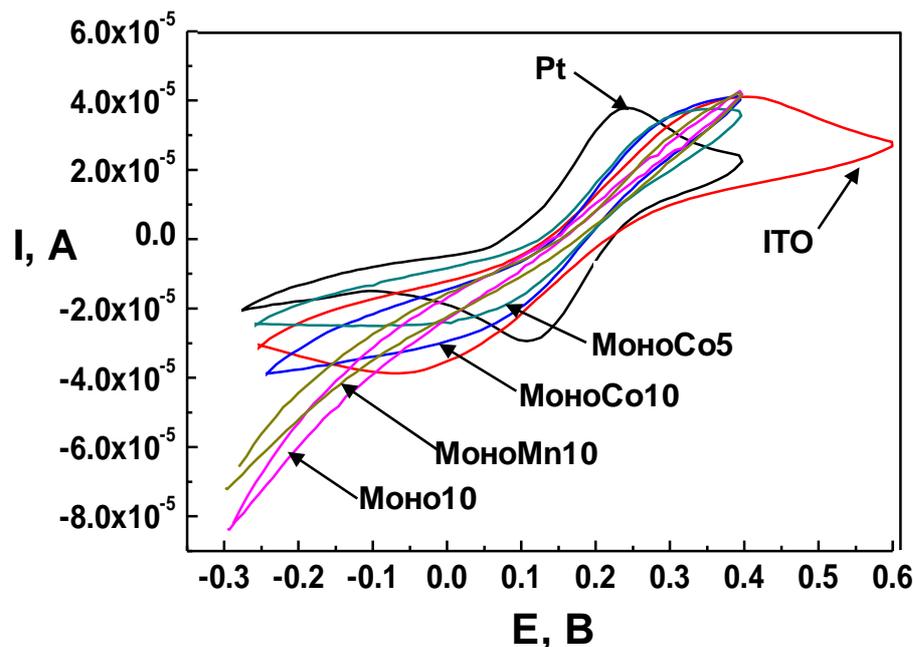


Рис. IV.12: ЦВА различных порфирин-замещенных полипиррольных пленок в 0.1 моль/л растворе KCl с содержанием электроактивных $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ и $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ в количестве 0.003 моль/л, скорость сканирования 100 мВ/с.

IV.3.3 Исследование морфологии пленок

IV.3.3.1 Оптическая спектроскопия

Морфологию порфирин-замещенных полипиррольных изучали с применением оптической спектроскопии, атомно-силовой микроскопии (АСМ) и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Для этой цели пленки электроосадили на плоские и прозрачные стеклянные электроды с подложкой из оксидов индия и олова (ИТО). На **Рис. IV.13** приводится сравнение спектров поглощения пленок **Моно5**, **Бис10**, **БисMn10** и **Тетра5** со спектрами поглощения соответствующих мономеров в АЦН и CH_2Cl_2 . Видно, что образованию пленки соответствует существенное расширение полосы S_{00e} , типичной для спектров поглощения порфиринов; а также был зафиксирован небольшой длинноволновый сдвиг максимума пиков S_{00e} , являющийся характерным

признаком полимеризации. Для пленки **Тетра5** наблюдали образование дополнительного пика на примерно 410 нм; такое разделение полосы Соре может указывать на J-агрегацию порфирина в составе полимерной матрицы, приводящую к образованию неоднородного полимерного покрытия. Этот результат находится в соответствии с описанными ранее исследованиями процессов переноса заряда в порфирин-полипиррольных пленках.

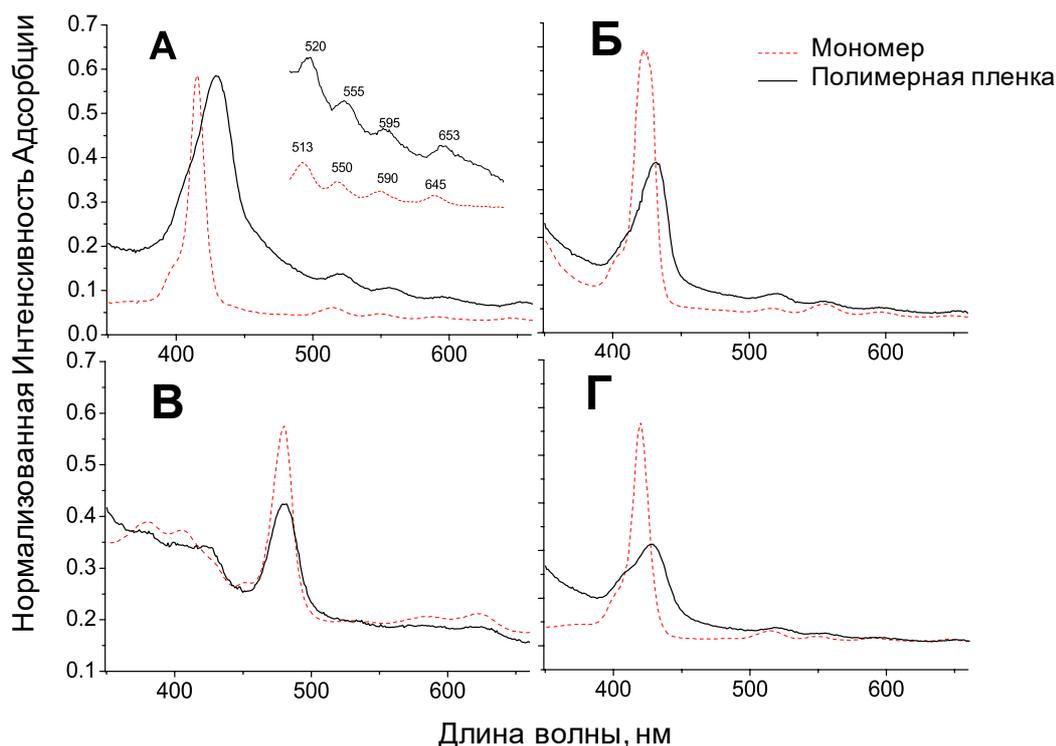


Рис. IV.13 Спектры поглощения мономеров (А) **Моно5**; (Б) **Бис10**; (В) **БисMn10**; (Г) **Тетра5** и соответствующих электроосажденных пленок, [144].

IV.3.3.2 Исследование морфологии пленок с применением АСМ

На **Рис. IV.14** приведены изображения пленок **Моно5**, **Бис10** и **Тетра5** полученные с применением АСМ. Для **Тетра5** наблюдали образование неоднородного покрытия, состоящего из нескольких молекулярных слоев в некоторых областях (толщиной около 10 нм) и более крупных скоплений (до 300 нм) в других зонах, **Рис. IV.14А**. Структура пленки **Моно5** определялась стерическими трудностями в процессе электрополимеризации, возникающими в результате отталкивания между соседними порфириновыми центрами в составе полимера, **Рис. IV.14Б**. В мономере **Бис10** более длинные алифатические линкеры $-(CH_2)_{10}$, вводящие пиррольные группы в структуру порфирина, позволили уменьшить стерические ограничения и привели к образованию равномерной проводящей пленки **Бис10** толщиной около 80 нм, **Рис. IV.14В**.

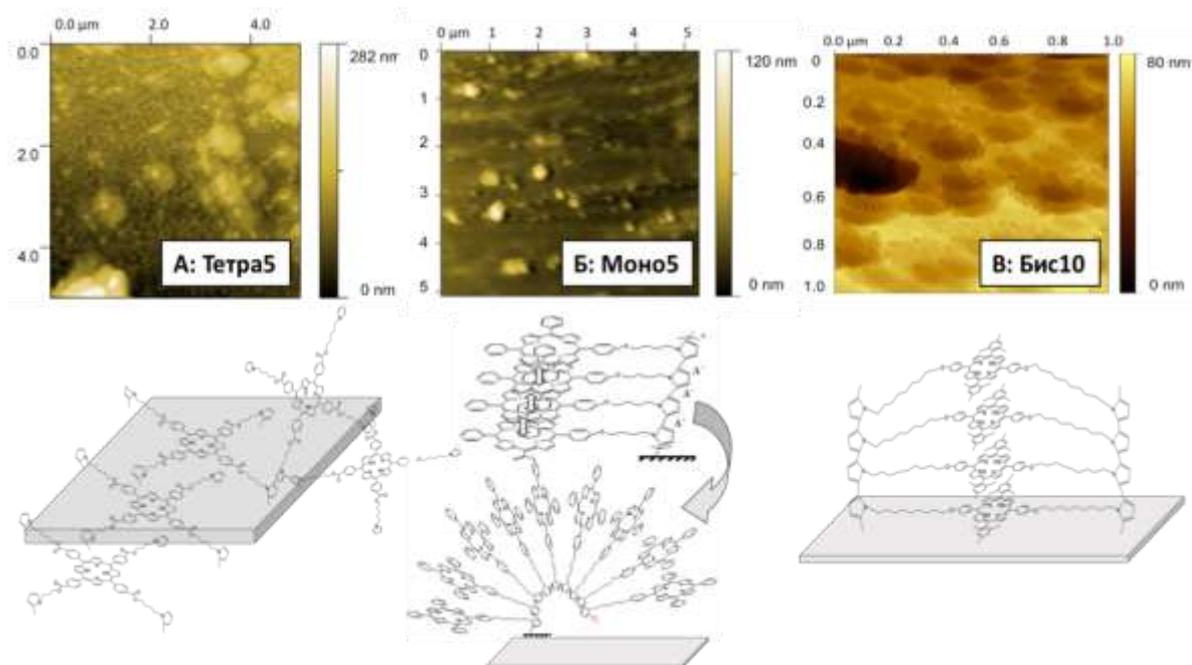


Рис. IV.14 Изображения АСМ для: (А) **Тетра5**; (Б) **Моно5**; (В) **Бис10**.

В бесконтактном режиме АСМ для непокрытого ИТО электрода и для пленок **Моно5** и **Тетра5** были определены следующие параметры шероховатости:

- **ИТО** ($R_a = 1,93$ нм, $R_{RMS} = 2,57$ нм, $R_t = 15,2$ нм, $R_v = 5,76$ нм);
- **Моно5** ($R_a = 1,19$ нм, $R_{RMS} = 1,62$ нм, $R_t = 10,7$ нм, $R_v = 4,88$ нм);
- **Тетра5** ($R_a = 3,4$ нм, $R_{RMS} = 4,5$ нм, $R_t = 28,1$ нм, $R_v = 14$ нм).

Из полученных величин видно, что поверхность **Моно5** является более гладкой (и имеет более низкие параметры шероховатости) по сравнению с поверхностью немодифицированного ИТО, что свидетельствует о формировании однородной полимерной пленки. по поверхности рабочего электрода из оксида индия и олова. Напротив, наибольшие параметры шероховатости были получены для **Тетра5**, что объясняли локальным образованием на поверхности трансдьюсера разрозненных олигомеров, состоящих из нескольких молекулярных слоев (толщиной около 10 нм), либо более крупных агломератов (до 300 нм) в других зонах, **Рис. IV.15**.

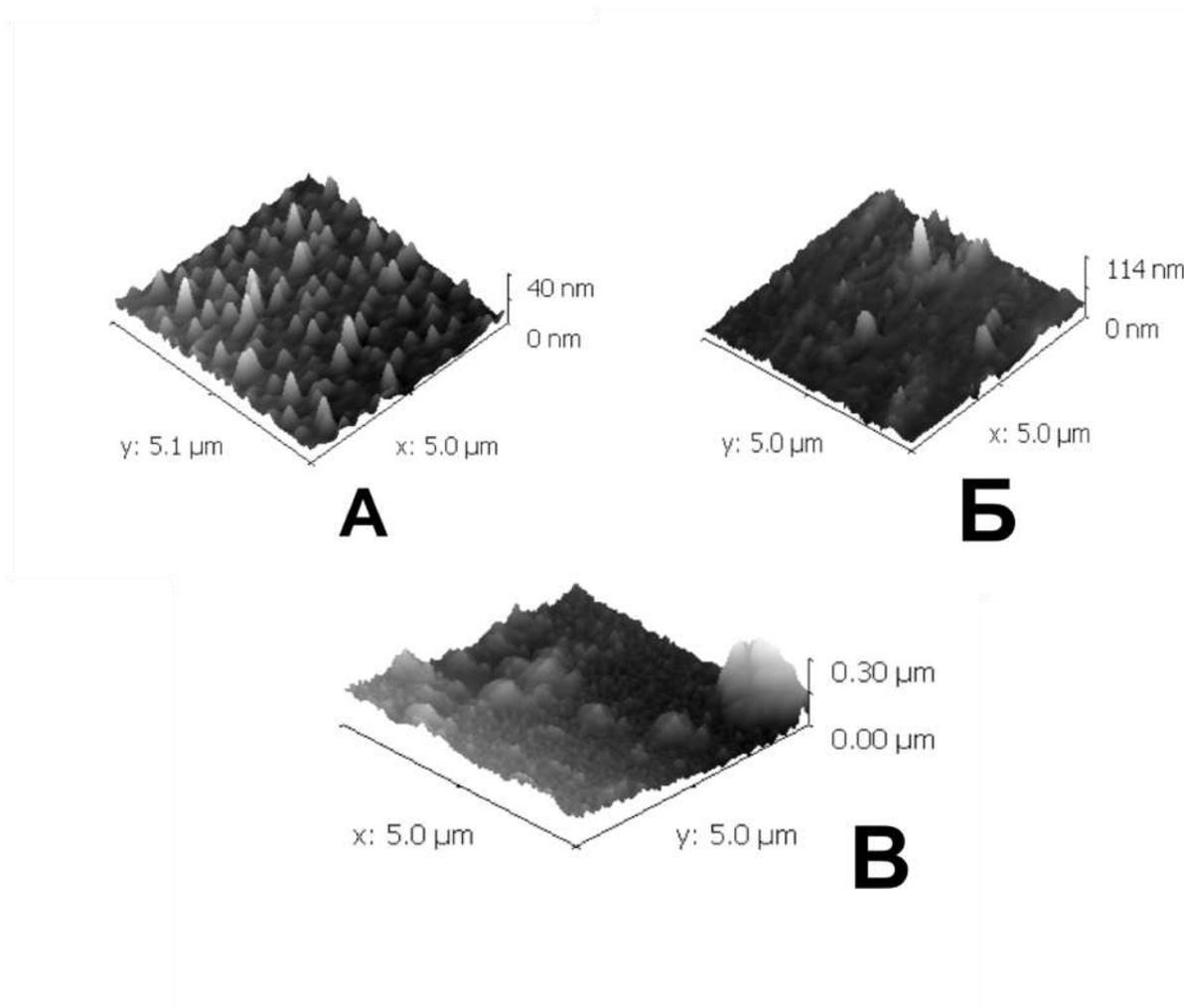


Рис. IV.15 Изображения, сделанные методом бесконтактной АСМ: А) Непокрытый ИТО; Б) **Моно5** и В) **Тетра5**. Размеры X и Y оба равны 5 мкм, в то время как Z-шкала отличается.

IV.3.3.3 СЭМ-визуализация

Исследование порфирин-полипиррольных пленок, электроосажденных в течение 180 с посредством окисления при контролируемом потенциале (методом хроноамперометрии) 0.7В методом сканирующей электронной микроскопии показало, что их морфология сильно зависела от структуры стартового мономера.

Так, моно- и бис-пиррол замещенные порфирины с алифатическими линкерами $-(\text{CH}_2)_5$ и $-(\text{CH}_2)_{10}$ давали в результате электрополимеризации однородные полимерные пленки прочно пришитые к поверхности ИТО. Более того, присутствие Co(II) - и Mn(III)Cl -ионов в структуре порфириновых мономеров позволило получить пленки с более развитой поверхностью, гарантирующей высокую проницаемость аналита и улучшенные сенсорные характеристики, **Рис.IV.16**.

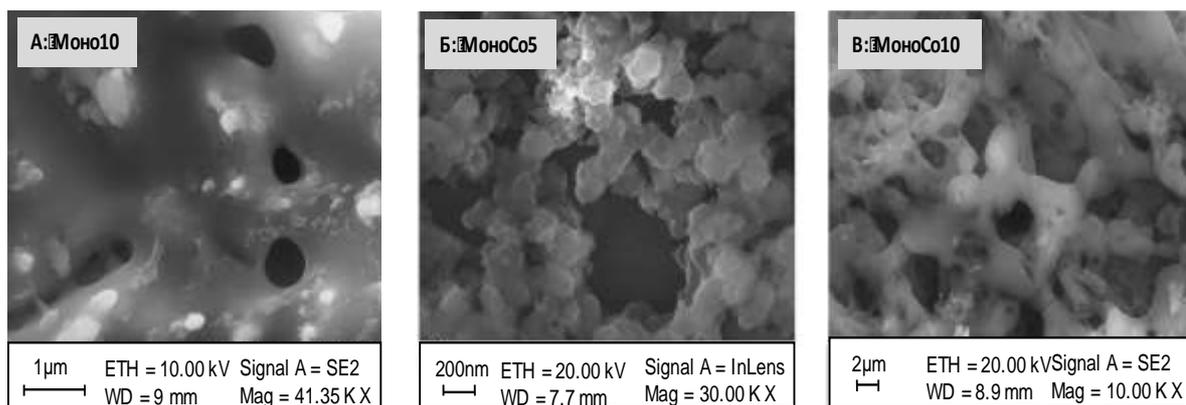


Рис. IV.16 Изображения полимерных пленок, полученные методом СЭМ: (А) **Моно10**; (Б) **МоноCo5** и (В) **МоноCo10**, образованные хроноамперометрически на ИТО WE при 0,7В для 180 с.

СЭМ визуализация бокового среза пленки **БисПирр**, позволила оценить примерную толщину электроосажденного материала в 0.8 мкм (**Рис. IV.17**). Это значение находится в хорошем соответствии с толщиной в 0.84 мкм, рассчитанной посредством пьезоэлектрического взвешивания на кварцевых микровесах (КМВ), которую рассчитывали по изменению частоты колебаний микровесов до и после нанесения покрытия в соответствии с уравнением Сауэрбрея, см. Раздел I.3.6.

Толщину полимерных пленок, хроноамперометрически осажденных на ИТО и Pt WE при 0.7В и 1.1 В в течение 180с, оценивали также из величин максимального анодного тока электрополимеризации. При расчетах, наряду с известной площадью электродов и молекулярным весом мономеров, использовали значение плотности полипиррола, равное 1.5 г/см³, и рассматривали двухэлектронный процесс окисления для каждой пиррольной группы, участвующей в процессе электрополимеризации. **Табл. IV.4.** Среди изученных неметаллированных пиррол-порфириновых мономеров, электроосажденных при 0.7 В и прочих равных условиях, самая толстая пленка в 3,09 мкм была получена из растворов мономера **Бис10**. Напротив, пленка **Тетра5** полученная как на ИТО, так и на Pt WE обладала наименьшей толщиной (0,037 и 0,007 мкм соответственно). Толщина электрополимерной пленки **БисПирр**, рассчитанная из значения максимального анодного тока электрополимеризации составила 0.89 мкм, что находится в очень хорошем соответствии с величинами, полученными методом СЭМ и пьезоэлектрическим взвешиванием на КМВ (0.8 мкм и 0.84 мкм соответственно).

В целом, адгезия и, следовательно, толщина осажденных электрополимеризованных пленок была выше для ИТО, чем для Pt WE, вероятно, из-за более шероховатой структуры ИТО подложки. Тем не менее, для обоих типов рабочего электрода наблюдали аналогичную тенденцию к снижению толщины пленки в ряду **Бис10 > Моно5 > Тетра5**. Из **Табл. IV.4** видно, что полимерные

покрытия большей толщины были получены при их электроосаждении при более высоком потенциале окисления в 1.1В. Мы объясняем это явление более высокой степенью поперечного сшивания в переокисленных пленках. Как обсуждалось ранее, потенциал в 1.1В соответствует также образованию полипиррольной матрицы в процессе электрополимеризации пиррол-замещенных порфиринов и приводит к получению изолирующих пленок. Еще более объемные пленки были получены из МП мономеров **МоноСо5**, **МоноMn5**, **МоноСо10** и **МоноMn10** при электроосаждении на ITO WE при 1.1В, **Табл. IV.4**. Это может быть объяснено повышением пористости пленки за счет неплоской геометрии металлопорфиринов и находится в соответствии с данными СЭМ о структуре металлопорфирин-замещенных полипиррольных пленок, **Рис.IV.16**.

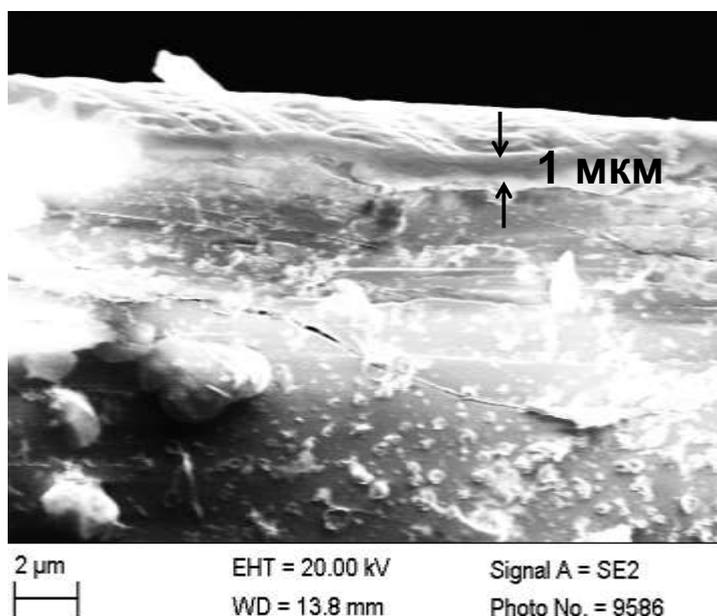


Рис.IV.17 Вертикальный срез пленки **БисПирр** электроосажденной хроноамперометрически на ITO WE при 0.7В в течение 180 с. Изображения получено методом СЭМ.

IV.3.4 Потенциометрические и оптические свойства порфирин-полипиррольных электрополимеризованных пленок

IV.3.4.1 Потенциометрический отклик

Результаты оценки потенциометрических свойств металлопорфирин-полипиррольных пленок показали их повышенную перекрестную чувствительность к анионам. В качестве примера на **Рис.IV.18А** показаны потенциометрические градуировочные кривые пленок **Бис10**, **БисСо10** и **БисMn10**. Как можно видеть, обе пленки на основе металлопорфиринов демонстрировали парциальный анионный отклик, с чувствительностью, убывающей в ряду: $\text{NO}_2^- > \text{SCN}^- > \text{Br}^- > \text{ClO}_4^- > \text{NO}_3^- \approx \text{Cl}^-$ для **БисСо10**; и : $\text{NO}_3^- > \text{NO}_2^- > \text{ClO}_4^- > \text{SCN}^- > \text{Br}^- \approx \text{Cl}^-$ для **БисMn10**.

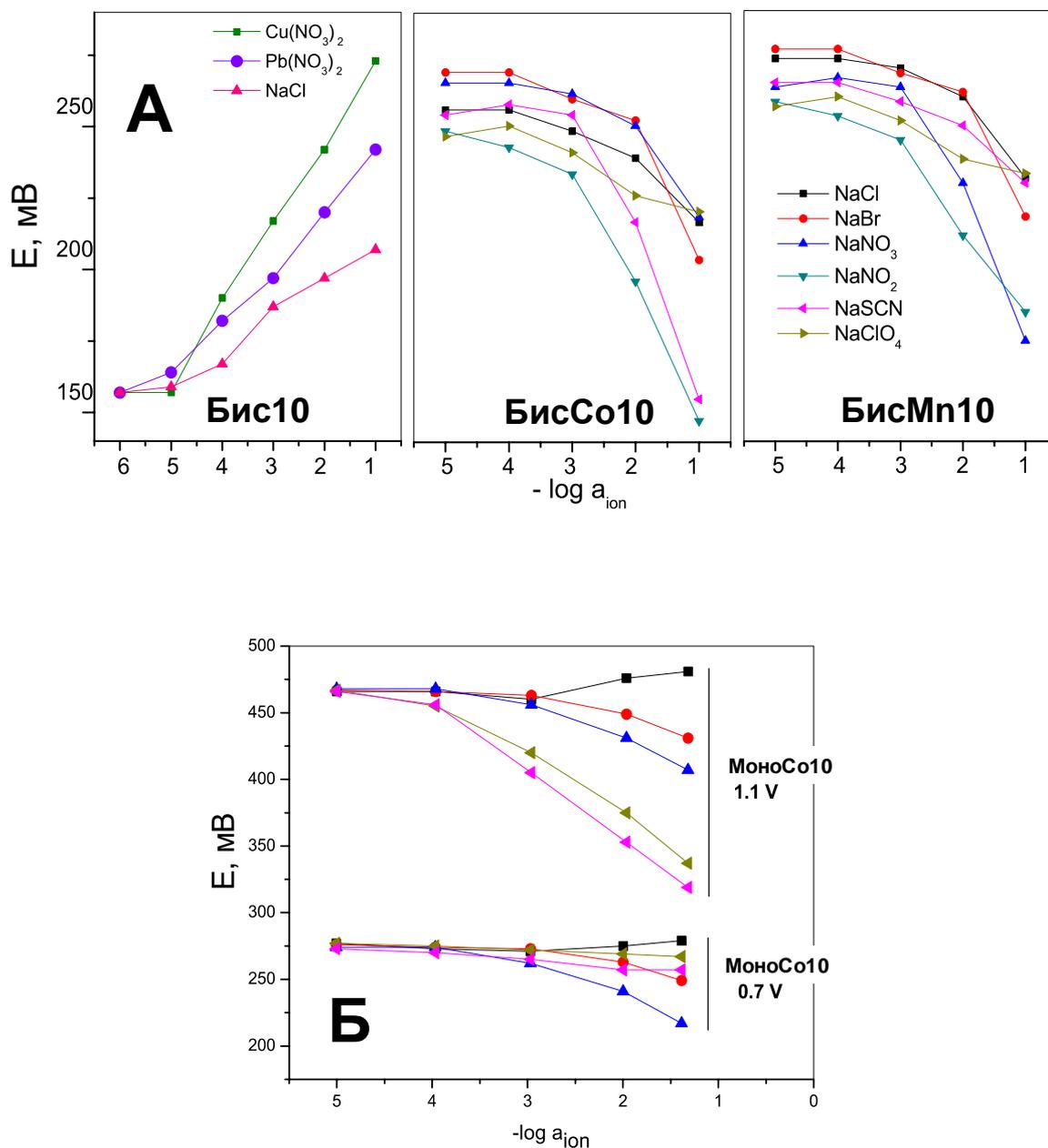


Рис.IV.18 Потенциметрический отклик порфирин-замещенных полипиррольных пленок в растворах различных целевых ионов: (А) пленки **Бис10**, **БисCo10** и **БисMn10**; (Б) **МоноCo10**, хроноамперометрически осажденные на ИТО WE при 1.1 В (вверху) и 0.7 В (внизу) , [144].

Напротив, выраженная катионная чувствительность наблюдалась для электрополимеризованной пленки **Бис10**, при этом наибольший отклик был получен в растворах катионов переходных металлов.

Переоxygenная пленка **МоноCo10**, полученная методом ХА осаждения при приложенном потенциале в 1.1В, проявляла более выраженную анионную

чувствительность по сравнению с такой же электрополимеризованной пленкой, полученной при более низком потенциале в 0.7В. Это можно объяснить более высокой степенью поперечного сшивания (зависящей от количества пиррольных групп в мономере и длиной алифатического линкера) и более упорядоченной структурой перекисленного полимера, что позволяет достичь лучшей проницаемости пленки и делает металлопорфириновые активные центры более доступными для аналита. В действительности, в литературе ранее сообщалось о том, что перекисленные пленки полипиррола являются более анионпроницаемыми [282]. Однако, по сравнению с упомянутой выше пленкой **БисСо10**, полученной посредством электрополимеризации бис-пирролзамещенного порфиринового мономера **б**, пленки **МоноСо10**, содержащие только одну пиррольную группу на молекулу мономера, обладали анионной чувствительностью в соответствии с классическим рядом Гиндина-Хоффмейстера: $SCN^- > ClO_4^- > NO_3^- > Br^- > Cl^-$.

Ряд селективности, полученный для пленки **МоноСо5** был идентичным рядуселективности для **МоноСо10**, однако более низкие наклоны линейных участков градуировочных графиков были получены для всех исследованных анионов, на **Рис.IV.18Б**. Такое уменьшение угловых коэффициентов мы объяснили более неупорядоченной структурой пленки, вызванной укорочением алифатического линкера с десяти до пяти фрагментов $-CH_2$. Такое укорочение вызывало дополнительные стерические трудности электрополимеризации в результате отталкивания между соседними порфириновыми центрами полимера.

Пленки неметаллированных порфирин-замещенных полипирролов исследовали в растворах, содержащих различные целевые катионы. Влияние ионов щелочных и щелочно-земельных металлов на электродные свойства пленки **Бис10** было незначительным, в то время как близкие к Нернстовским наклоны электродной функции были получены для ионов тяжелых металлов, таких как Pb^{2+} и Cu^{2+} ($+20.5 \pm 2.2$ и 26.9 ± 1.5 мВ/рХ соответственно), в диапазоне концентраций 10^{-5} – 10^{-1} моль/л, **Рис.IV.18А**. Для пленки **Моно5** были зарегистрированы суб-Нернстовский катионный отклик к катионам переходных металлов, в то время как влияние ионов Na^+ , K^+ , Ca^{2+} и Mg^{2+} было незначительно (данные не указаны). Потенциометрический отклик пленки **Тетра5** в большой степени зависел от рН фонового раствора, что вероятнее всего объясняется рН-чувствительностью непокрытого ИТО WE, вследствие неравномерного полимерного покрытия и проникновения частиц H^+ непосредственно к поверхности трансдьюсера.

К сожалению, значительное снижение катионного отклика при последующих градуировках были зарегистрированы для всех неметаллированных порфирин-замещенных полипиррольных пленок. Очевидна была необходимость включения в состав исследуемых полимерных матриц на основе полипиррола липофильных ионообменных сайтов [172]. Предполагается, что такое включение можно достичь как i) сополимеризацией мономеров с большими липофильными

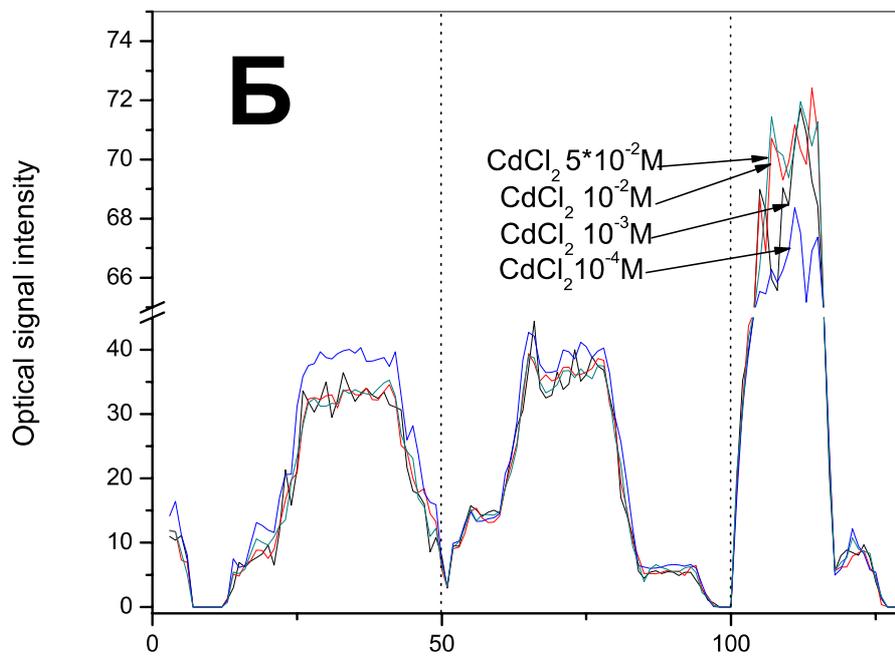
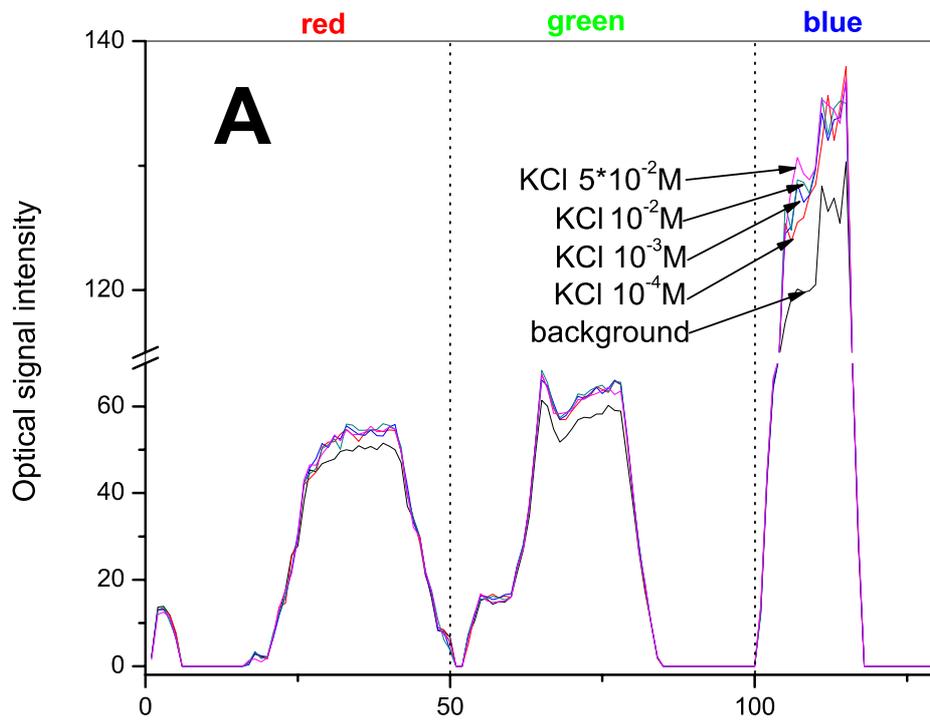
ионами, которые в полученной пленке будут выполнять роль ионообменников, ii) синтезом новых порфириновых мономеров, несущих в своей структуре как электроактивные пиррольные группы, так и ионообменные элементы. В настоящее время ведется работа в этом направлении.

IV.3.4.2 Оптический CSPT отклик

Оптические свойства порфирин-замещенных электрополимеризованных пленок исследовали с применением метода CSPT (см. Разделы I.3.4.2 и II.3.3 для описания метода и деталей эксперимента). В отличие от слабого потенциометрического отклика электрополимеризованных пленок, полученных из мономеров, не несущих в своей структуре металлических ионов, их оптический отклик был значительным в индивидуальных растворах ряда целевых катионов.

Так, например, было отмечено уменьшение люминесцентного отклика электрополимеризованных пленок **Моно5** и **БисПирр** при увеличении концентрации ионов K^+ и Cd^{2+} соответственно, **Рис. IV.19А,Б**. Наряду с этим, метал-содержащие полимеры демонстрировали увеличение оптического отклика в присутствии различных анионов, так, в частности, повышенная чувствительность к бромид-ионам была обнаружена для переоксисленной (полученной методом ХА при наложенном потенциале в 1.1В) пленки МоноСо10, **Рис. IV.19В**. В обоих случаях наблюдали устойчивые оптические сигналы с относительно коротким временем отклика (менее 150 с).

В настоящем разделе установлена взаимосвязь между структурой (морфологией), электрическими и селективными свойствами электрополимеризованных сенсорных материалов на основе порфирин-замещенного полипиррола в зависимости от природы центрального металла (марганца или кобальта) в структуре порфирина, а также длины и количества алифатических цепочек (линкеров), вводящих порфирин в структуру полипиррола, что позволило оптимизировать условия изготовления мембран сенсоров. Показано, что возможность выполнять комплементарные потенциометрические и оптические измерения с применением разработанных порфириновых электрополимеризованных покрытий может существенно расширить область применения разработанных порфирин-содержащих полимерных материалов. Учитывая простоту экспериментального оборудования, комбинированная опто-потенциометрическая аналитическая представляет собой перспективную платформу для сенсорного анализа с большим потенциалом. В Главе VIII данной работы будет проиллюстрирована применимость сенсоров на основе разработанных материалов для определения ред-окс активных аналитов, в частности, жирорастворимых пищевых красителей (красители группы Судан).



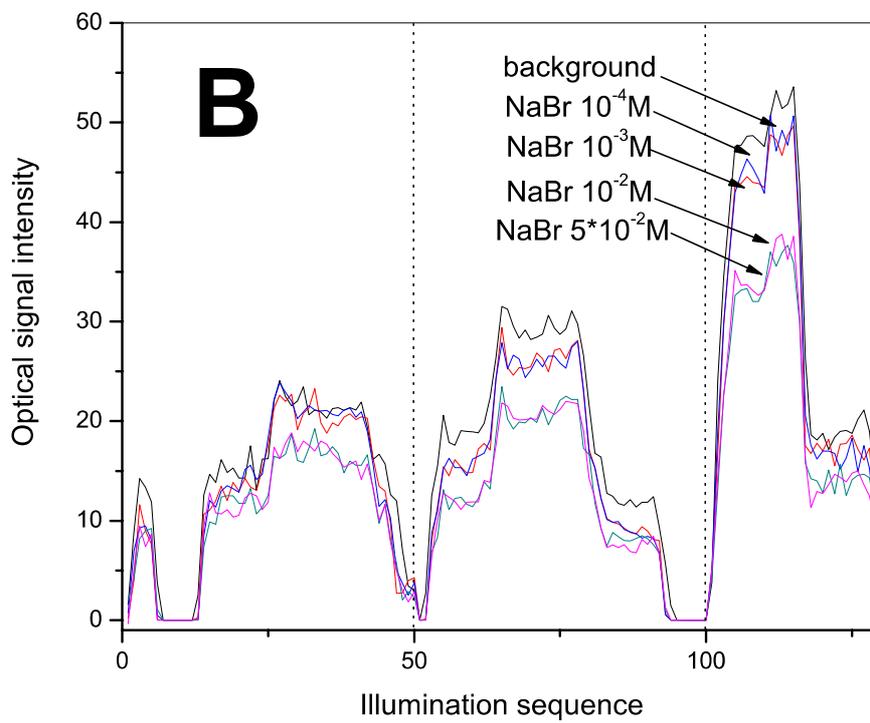


Рис. IV.19 Оптический CSPT отклик: (А) пленки **Моно10** по отношению к KCl; (Б) пленки **БисПирр** по отношению к CdCl₂; (В) пленки **МоноСо10** по отношению к NaBr.

Фотохимические свойства композитных материалов на основе металлопорфиринов-декорированных наноструктур оксида цинка

Наряду с чувствительными материалами на основе органических полимеров (пластифицированного ПВХ, полианилина, полипиррола и пр.) в химических сенсорах часто используют неорганические матрицы: поликристаллические, стеклянные, халькогенидные стеклянные, а также наноструктурированные композитные материалы на основе полупроводниковых соединений. Среди вышеперечисленных чувствительных матриц полупроводниковые композитные материалы на основе оксида цинка (ZnO), выращенные посредством направленного метода гидротермального синтеза и декорированные фоточувствительными рецепторами, являются перспективными для применения в фотоэлектрохимических сенсорах благодаря их повышенной устойчивости и светочувствительности [283]. В свою очередь, благодаря специфическим свойствам, богатой химии и каталитической активности, порфирины широко используются в фотовольтаике [284,285], применяются в медицине для фотодинамической терапии рака [286,287] а также для разработки фотоэлектрохимических сенсоров [168,288]. В фотоэлектрохимических сенсорах свет используется в качестве источника возбуждения и фототок, протекающий в цепи освещаемой электрохимической ячейки, регистрируется как полезный выходной сигнал. В настоящей главе были исследованы и оптимизированы условия фотоэлектрохимического обнаружения L-цистеина с использованием нанокompозитных материалов из оксида цинка, декорированных с применением 5,10,15,20-тетра(4-сульфонатофенил)-порфиринов Cu(II) и Mn(III)Cl (CuTPPS и Mn(Cl)TPPS соответственно), приготовленных методом одnoreакторного гидротермического синтеза на ITO подложках.

V.1 Важность определения L-цистеина

L-цистеин представляет собой серосодержащую аминокислоту, которая играет чрезвычайно важную роль во многих жизненных процессах, таких как, например, синтез белков и ферментов [289]. Будучи внеклеточным восстанавливающим агентом, L-цистеин защищает организм от негативного воздействия тяжелых металлов, модулирует радиочувствительность клеток и предотвращает повреждение ДНК [290,291]. Потенциально опасным для человеческого организма является слишком низкий или слишком высокий уровень L-цистеина, в то время как нормальное содержание цистеина в плазме крови человека должно быть на уровне 0.3 ммоль/л [293], а отклонения от этого значения могут указывать на наличие определенных заболеваний и расстройств [292,293].

На сегодняшний день электрохимические методы анализа наиболее часто используются для обнаружения L-цистеина, однако его измерение по-прежнему остается сложной задачей из-за высокого потенциала окисления [294]. Кроме того, отклик большинства существующих электрохимических сенсоров по отношению к L-цистеину часто неудовлетворителен ввиду медленной кинетики электрохимических процессов. Одним из приемлемых решений по преодолению вышеупомянутых недостатков при определении L-цистеина является применение химически модифицированных электродов [295-297], хотя и для этих устройств свойственны такие недостатки, как низкая чувствительность, сложность процесса подготовки и высокая себестоимость. Таким образом, очевидна необходимость поиска новых эффективных и недорогих чувствительных материалов для определения L-цистеина.

В последнее время применение полупроводниковых металл-оксидов с покрытием из органических молекул в качестве чувствительных материалов для разработки биосенсоров и химических сенсоров становится все более популярным [283]. Среди них фотоэлектрохимические сенсоры особенно интересны, поскольку позволяют достичь значительного снижения потенциалов окисления, более широкого диапазона линейного отклика и более низких пределов обнаружения аналита, чем при использовании прямых электрохимических методов [64]. В фотоэлектрохимическом сенсоре при облучении светом происходит возбуждение оптоэлектронного чувствительного материала, фотовозбужденные электроны которого провоцируют возникновение «дырочной» проводимости на НОМО орбитали органической молекулы медиатора. Аналит выступает в качестве донора электронов, которые поглощаются фотогенерированными лагунами медиатора в валентной зоне оксида цинка, с последующим возникновением полезного фототока на поверхности прозрачного и электропроводящего трансдьюсера (часто таким трансдьюсером является стекло с ITO подложкой).

В прошлом сообщалось о нескольких фотоэлектрохимических сенсорах для обнаружения биомолекул [65-71]. Среди них лишь несколько работ посвящены фотоэлектрохимическому определению L-цистеина [70,71]. Тью и др. разработали фотоэлектрохимическую платформу для обнаружения L-цистеина на основе ITO электрода с покрытием из наночастиц оксида цинка, декорированных 5,10,15,20-тетракис(4-карбоксифенил)порфирином [70]. Данный сенсор позволял осуществлять определение L-цистеина при достаточно низком наложенном потенциале а +0.3 В, в диапазоне концентраций от 0.6 до 157 моль/л с пределом обнаружения 0.2 моль/л. Сан и др. исследовали фотоэлектрохимический сенсор на основе протопорфирина IX (PPIX), триоксида вольфрама (WO_3) и восстановленного оксида графена (rGO) нанесенных на ITO электрод [71]. Данное устройство, после фотовозбуждения на 380 нм, давало высокие фототоки при +0.3 В в диапазоне концентраций L-цистеина от 0.1 до 100 моль/л и пределом обнаружения 25 нмоль/л. В обоих вышеупомянутых

исследованиях порфирины применяли в качестве активного светочувствительного компонента. Благодаря сверхбыстрому вбрасыванию электронов и $\pi \rightarrow \pi^*$ орбитальному переходу неметаллированные порфирины, а также их Zn(II)- и Cu(II)- комплексы являются наиболее распространенными покрытиями структур из оксида цинка в фотоэлектрохимии [69]. Также ранее было установлено, что металлопорфирины способны катализировать окисление тиолов, и L-цистеина в частности, путем активации переноса электронов с орбиталей атома серы на d_{z^2} и d_{xz} орбитали металла [298]. Таким образом, в настоящем разделе мы изучали возможность введения порфириновых лигандов в состав неорганической чувствительной матрицы на основе наноструктур оксида цинка, и исследовали морфологию и свойства полученных материалов с целью создания фотоэлектрохимических сенсоров для определения L-цистеина. Были приготовлены методом одnoreакторного гидротермического синтеза на ИТО подложках и исследованы свойства трех гибридных наноструктур: ZnO/Mn(Cl)TPPS, ZnO/CuTPPS и ZnO/[CuTPPS+Mn(Cl)TPPS] в сравнении с наностержнями чистого оксида цинка. Подробно детали эксперимента изложены в работе [145].

V.2 Исследование морфологии композитных материалов на основе оксида цинка методами СЕМ и оптической спектроскопии

V.2.1 СЭМ-визуализация

При исследовании морфологии методом СЭМ было выявлено, что форма порфирин-декорированных ZnO наноструктур существенно отличается от наностержней из чистого оксида цинка, выращенных без порфиринов. Природа центрального металла порфирина влияла на уменьшение длины стержня в случае ZnO/Mn(Cl)TPPS (0.88 мкм против 1.98 мкм ZnO) и на регулярный рост стержня, приводя к образованию наночешуек в случае ZnO/CuTPPS, **Рис. V.1(г,е)**. Длина стержня при введении CuTPPS уменьшалась до примерно 0.56 мкм. Наибольшие структурные изменения были получены при одновременном введении в наностержни из оксида цинка двух порфиринов, CuTPPS и Mn(Cl)TPPS. В последнем случае ZnO/[CuTPPS+Mn(Cl)TPPS] наноструктура имела "грибовидную" форму укороченной длины около 1.02 мкм, **Рис. V.1(з)**.

V.2.2 Оптическая спектроскопия

На видимых спектрах исследованных композитных материалов были получены характерные для МП пики поглощения Core, **Рис.V.2**. Можно наблюдать также существенное расширение полосы Core для Mn(Cl)TPPS-декорированных ZnO наностержней по сравнению со спектром водного раствора мономера Mn(Cl)TPPS, возникающее в результате агрегации макроцикла в твердой фазе. Кроме того на спектрах ZnO/Mn(Cl)TPPS можно наблюдать типичный для чистого ZnO пик поглощения на длине волны около 370 нм. Для полосы Core ZnO/CuTPPS был

зарегистрирован батохромный сдвиг в 14 нм по сравнению со спектром водного раствора мономера CuTPPS (с 412 нм до 398 нм), а также значительное растяжение пика. Это явление, гораздо более очевидное, чем в случае с ZnO/Mn(Cl)TPPS, что указывает на более выраженную агрегацию макроцикла в твердой фазе. На спектре поглощения [CuTPPS+Mn(Cl)TPPS]-декорированного ZnO присутствовали пики Core, характерные для обоих мономеров (данные не приводятся).

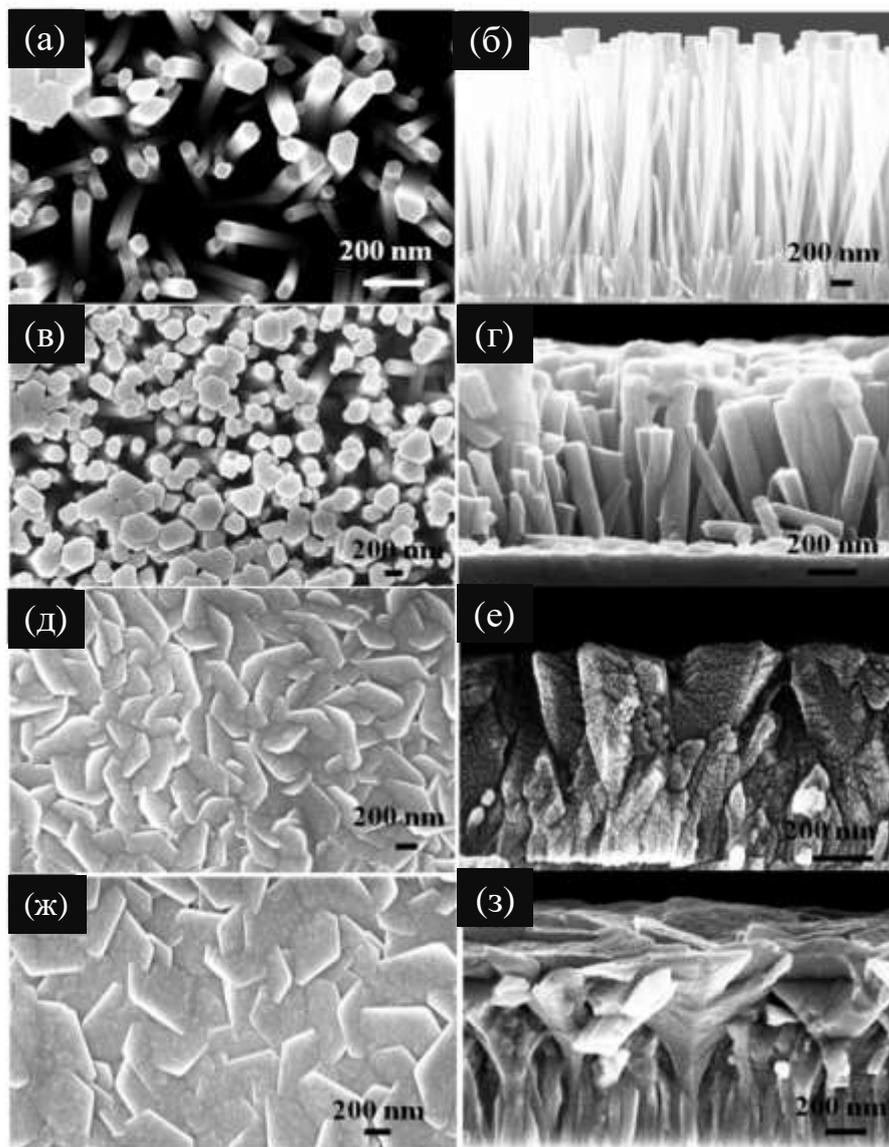


Рис. V.1 СЕМ-изображения изученных композитных материалов, вид сверху и в поперечном разрезе: (а) и (б) наностержни чистого оксида цинка; (в) и (г) гибридные наноструктуры ZnO/Mn(Cl)TPPS; (д) и (е) ZnO/CuTPPS; (ж) и (з) ZnO/[CuTPPS + Mn(Cl)TPPS]. Печатается из работы [145].

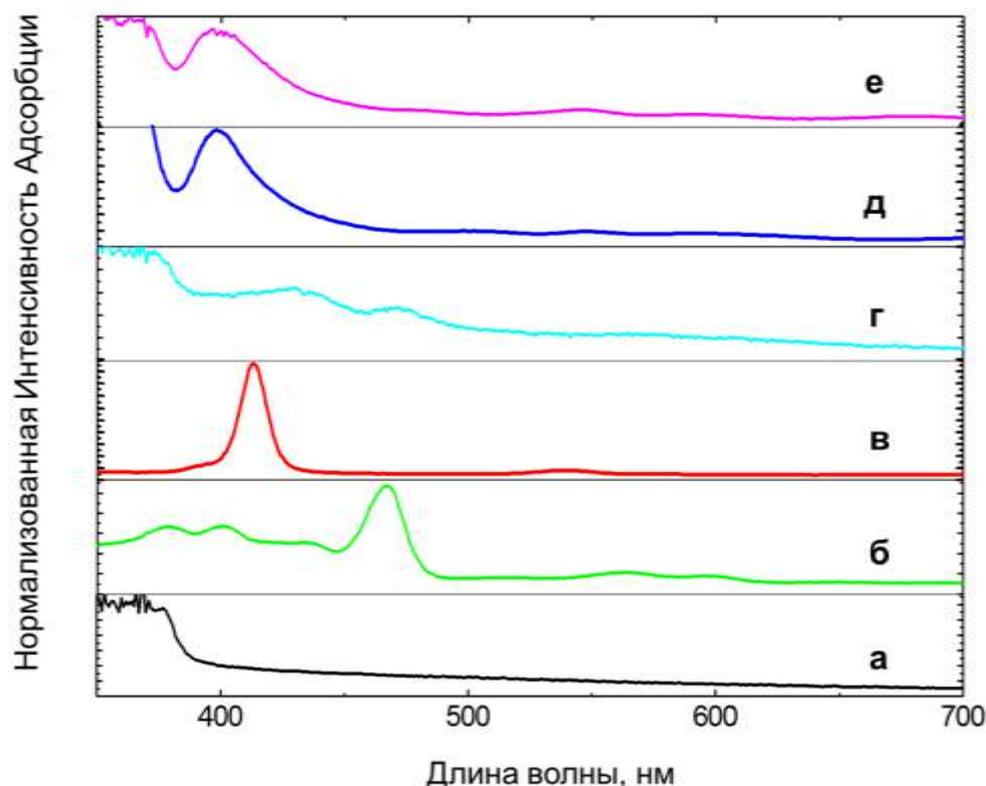


Рис.V.2 Спектры поглощения в видимой и УФ-области: (а) непокрытые наностержни из оксида цинка; водные растворы мономеров (б) Mn(Cl)TPPS и (в) CuTPPS; (д) наноструктуры ZnO/Mn(Cl)TPPS; (е) ZnO/CuTPPS, [145].

V.3 Электрохимические исследования нанокомпозитных материалов на основе металлопорфиринов-декорированного ZnO

ЦВА исследования нанокомпозитных материалов проводили в 0.01 моль/л PBS pH 7.4 и в 0.01 моль/л TRIS-буфере при pH 8.8; оба раствора содержали 0.2 моль/л KCl. На **Рис.V.3А** приведены вольтамперограммы для непокрытых и металлопорфиринов-декорированных наноструктур из оксида цинка в присутствии окислительно-восстановительной пары $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ в диапазоне наложенных потенциалов от -0.5 В до 1.2 В при pH 7.4. Для всех исследованных материалов был зарегистрирован одноэлектронный окислительно-восстановительный процесс, соответствующий процессу $\text{Fe}(\text{III})/\text{Fe}(\text{II})$. На немодифицированном оксиде цинка были получены более высокие токи окисления и восстановления, чем для наноструктур, декорированных металлопорфиринами. Однако, разность окислительно-восстановительных пиков для пары $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ для непокрытого ZnO был наибольшим ($\Delta E = 320$ мВ по сравнению с 220 мВ, 225 мВ и 260 мВ для материалов ZnO/CuTPPS, ZnO/Mn(Cl)TPPS и ZnO/[CuTPPS+Mn(Cl)TPPS] соответственно), что свидетельствует о положительном влиянии металлопорфириновых покрытий на электрохимические свойства наностержней

из оксида цинка и более быстрое переносе электронов в металлопорфирин-декорированных ZnO материалах. На вольтамперограмме ZnO/Mn(Cl)TPPS были зафиксированы ред-окс волны при +0.3В и +0.075 В (пара $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$), а также окислительно-восстановительный процесс при +0.76 В и +0.605В (пара $\text{Mn}(\text{III})/\text{Mn}(\text{II})$). ЦВА исследования ZnO/CuTPPS зафиксировали два пика окисления при +0.275В для (пары $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/4-$, соответствующей восстановлению при +0.05 В) и при +0.59 В. В случае с ZnO/[CuTPPS+Mn(Cl)TPPS] были зафиксированы два пика восстановления при +0.12 В (пары $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/4-$, соответствующей окислению при +0.22 В) и при +0.63 В (процесс восстановления центральных металлов МП). Необратимая волна восстановления при -0.07В не была зарегистрирована при последующих сканированиях потенциала, и мы отнесли этот процесс к восстановлению примесей анионного характера изначально присутствующих на поверхности исследуемого композитного материала (возможно абсорбированных в процессе гидротермического синтеза). Интересно также отметить, ток, протекающий через ZnO/[CuTPPS+Mn(Cl)TPPS] совпадает во величине с суммой токов, зарегистрированных для наноструктур ZnO/CuTPPS и ZnO/Mn(Cl)TPPS.

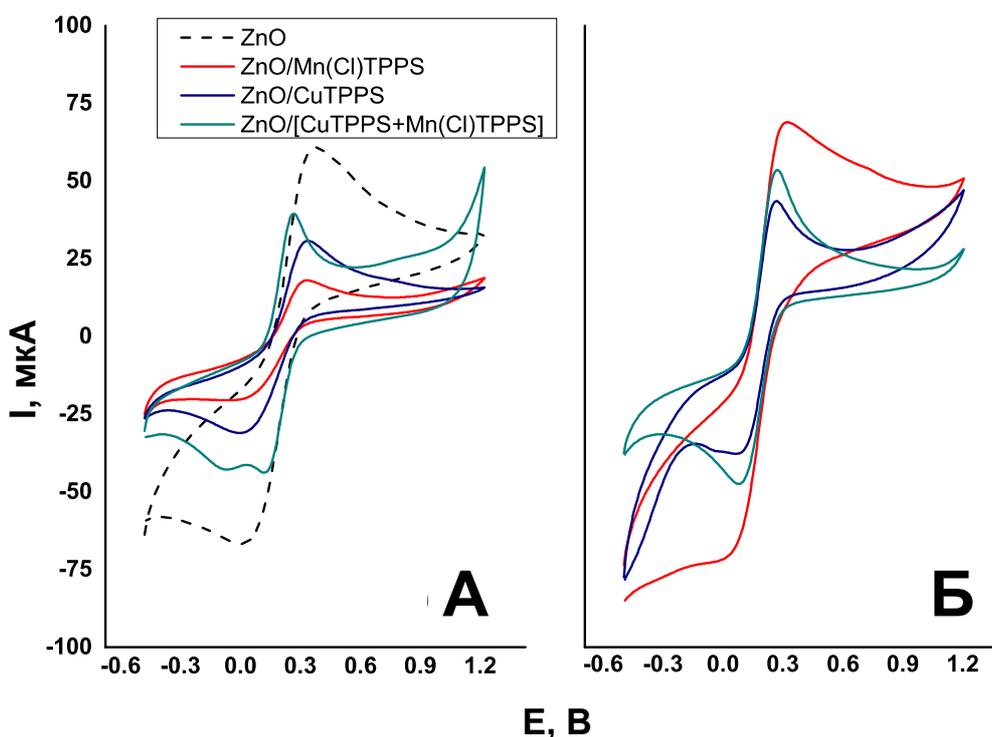


Рис. V.3 ЦВА диаграммы металлопорфирин-декорированных наностержней ZnO в 3 ммоль/л растворе $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/4-$ (соотношение 1:1): (A) фоновый раствор 0.01 моль/л PBS pH 7.4 + 0.2 моль/л KCl; (Б) фоновый раствор 0.01 моль/л TRIS-HCl pH 8.8 + 0.2 моль/л KCl. Скорость сканирования 100 мВ/с.

На **Рис.V.3Б** приведены вольтамперограммы для непокрытых и металлопорфирин-декорированных наноструктур из оксида цинка в присутствии окислительно-восстановительной пары $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ в диапазоне наложенных потенциалов от -0.5 В до 1.2 В при pH 8.8. Аналогично рассмотренному выше случаю (pH 7.4), на наностержней немодифицированного оксида цинка были получены более высокие токи окисления и восстановления, чем для металлопорфирин-декорированных материалов (данные не приведены). Более того, при более высоком pH для немодифицированного ZnO был получен меньший разнос окислительно-восстановительных пиков для пары $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ (225 мВ по сравнению с 320 мВ при pH 7.4) и $E_{1/2}$ при +0.173 В. Для нанокompозитных металлопорфирин-декорированных структур были следующие величины ΔE : 220 мВ, 160 мВ и 140 мВ для ZnO/Mn(Cl)TPPS, ZnO/CuTPPS и ZnO/[CuTPPS+Mn(Cl)TPPS] соответственно, свидетельствующие о более быстром переносе заряда в данных материалах и указывающие на их частичную ионную электропроводность. Поскольку наивысшие токи были получены для ZnO/Mn(Cl)TPP, этот нанокompозитный материал представляется наиболее перспективным при анализе сред с высокими значениями pH.

V.4 Фотоэлектрохимические исследования нанокompозитных материалов на основе металлопорфирин-декорированного ZnO

На **Рис.V.4** приведены фото-вольтамперограммы для немодифицированного ZnO и наноструктуры ZnO/Mn(Cl)TPPS, показавшей наиболее богатое электрохимическое поведение по результатам исследований, описанных в предыдущем разделе. ЦВА проводили в присутствии окислительно-восстановительной пары $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ в диапазоне наложенных потенциалов от -0.5 В до 1.2 В при pH 7.5 в темноте (первые два цикла) и при СД-освещении в течение 30 секунд, $\lambda_{\text{ex}}=400$ нм. Как видно из **Рис.V.4А**, для наностержней из немодифицированного оксида цинка наблюдалось увеличение катодного (восстановительного) фототока, что указывало на типичную проводимость n-типа. С другой стороны, для ZnO/Mn(Cl)TPPS доминирующим был фототок окисления, свидетельствующий о типичной «дырочной» проводимости p-типа, **Рис.V.4Б**. Такой анодный фототок указывает на образование в Mn(Cl)TPPS светогенерируемых пар электрон-дырка, с их последующим мгновенным разделением и переносом электронов в зону проводимости оксида цинка. Такой переход оказывается возможным благодаря более высокой энергии фотовозбужденных электронов металлопорфирина, локализованных на низшей незанятой молекулярной орбитали LUMO Mn(Cl)TPPS (с энергией около -3,5 эВ) по сравнению с энергией зоны проводимости оксида цинка (-4,2 эВ [70,299]). В результате данного процесса переноса фотовозбужденных электронов на ИТО трансдьюсере протекает полезный фототок. Таким образом, результаты

фотоэлектрохимических исследований указывают на то, что металлопорфирин-декорированные наноструктуры оксида цинка являются перспективными материалами для применения в фотоэлектрохимии. По этой причине мы исследовали данные материалы как чувствительные покрытия для фотоэлектрохимического определения ряда редокс-активных биологически важных аналитов, в частности различных аминокислот (L-цистеин, лизин, пролин, аланин, глицин и аргинин), глюкозы, оксалата натрия, мочевой и аскорбиновой кислот.

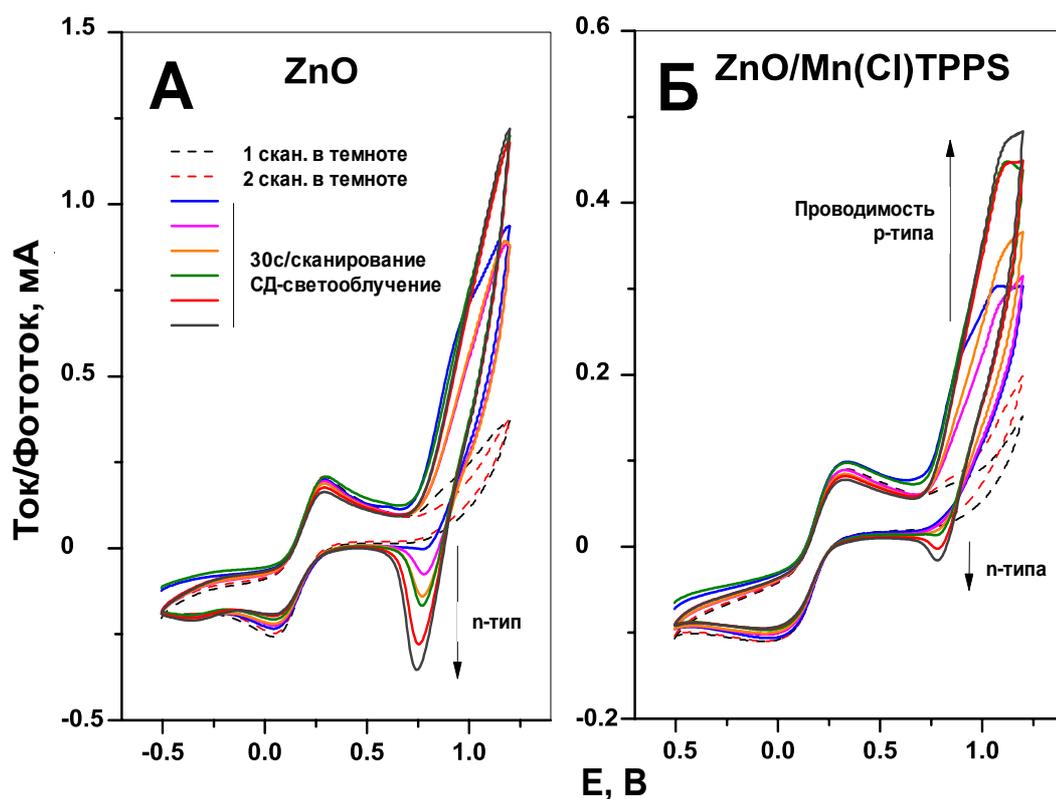


Рис.V.4 Фото-вольтамперограммы: (а) немодифицированного ZnO; (б) наноструктуры ZnO/Mn(Cl)TPPS на фоне 0.01 моль/л HEPES pH 7.5 + 0.2 моль/л KCl в присутствии 0.002 моль/л Fe(CN)₆^{3-/4-}. Скорость сканирования 100 мВ/с; белое СД-освещение, λ_{ex}=400 нм.

V.5 Фотоэлектрохимическое определение L-цистеина

Как упоминалось выше, в качестве целевого анализируемого вещества мы выбрали аминокислоту L-цистеин ввиду важной роли этого соединения в обмене веществ живых организмов. L-цистеин является редокс-активным соединением и в результате окислительной реакции образует цистин:



В большинстве предыдущих исследований для электрохимического и фотоэлектрохимического определения L-цистеина требовалось приложение достаточно высоких потенциалов окисления последнего, которые чаще всего варьировались в диапазоне от 0.4 до 0.7 В [296,297]. Ранее в литературе были описаны некоторые попытки снизить потенциал окисления L-цистеина [69,70, 300, 301]. Тем не менее, для упомянутых выше сенсоров полезный линейный диапазон концентраций цистеина по-прежнему весьма узок с высокими значениями пределов обнаружения в сотни микромолей на литр.

Фотоэлектрохимическое окисление цистеина на чистом оксиде цинка и на синтезированных металлопорфирин-декорированных композитных материалах изучали в диапазоне концентраций от 5.2 мкмоль/л до 4.8 ммоль/л в фоновом растворе HEPES pH 7.5 в темноте и при УФ-облучении (365 нм) методом дифференциальной импульсной вольтамперометрии (ДИВ). Все измерения были воспроизведены дважды для одного и того же чувствительного материала. Выбор облучения при 365 нм был обоснован результатами недавних исследований [70], где на порфирин-модифицированных наночастицах оксида цинка наивысшие фототоки были получены при облучающем излучении в 360 нм, в то время как при более длинных или коротких волнах облучающего излучения получали существенное уменьшение полезного аналитического сигнала.

Полученные результаты подтвердили способность ZnO/МП структур переносить электроны, высвобождаемые в процессе фотоэлектрохимического окисления L-цистеина. Для всех исследуемых материалов в отсутствие L-цистеина не наблюдали пиков в диапазоне потенциалов от 0 до +1.1 В (данные не приведены). После добавления L-цистеина отчетливый пик окисления цистеина в цистин был зарегистрирован на +1.0 В для немодифицированного оксида цинка, в то время как для наноструктур ZnO/CuTPPS и ZnO/Mn(Cl)TPPS были получены дополнительные процессы окисления на +0.3 В и +0.7 В соответственно (данные не приведены). Облучение композитных материалов посредством монохромного облучения на длине волны в 365 нм в присутствии L-цистеина приводило к протеканию в системе фототока, пропорционального концентрации L-цистеина, **Рис.V.5**. Кроме того, применение металлопорфирин-декорированных наноструктур оксида цинка для обнаружения L-цистеина фотоэлектрохимическим методом позволило понизить потенциал окисления L-цистеина до +0.2 В, по сравнению с предыдущими результатами исследований, проведенных в аналогичных экспериментальных условиях [70].

Наибольшую фоточувствительность наблюдали для ZnO/CuTPPS, для которого фототок был пропорционален концентрации цистеина во всем исследованном диапазоне концентраций с пределом чувствительности 1,2 мкмоль/л, **Рис.V.5**. Примечательно, что амплитуда отклика Mn(Cl)TPPS-декорированной наноструктуры оксида цинка к L-цистеину увеличивалась в 23 раза в условиях УФ-облучения, по сравнению с другими изученными нанокompозитными материалами, **Рис.V.6**.

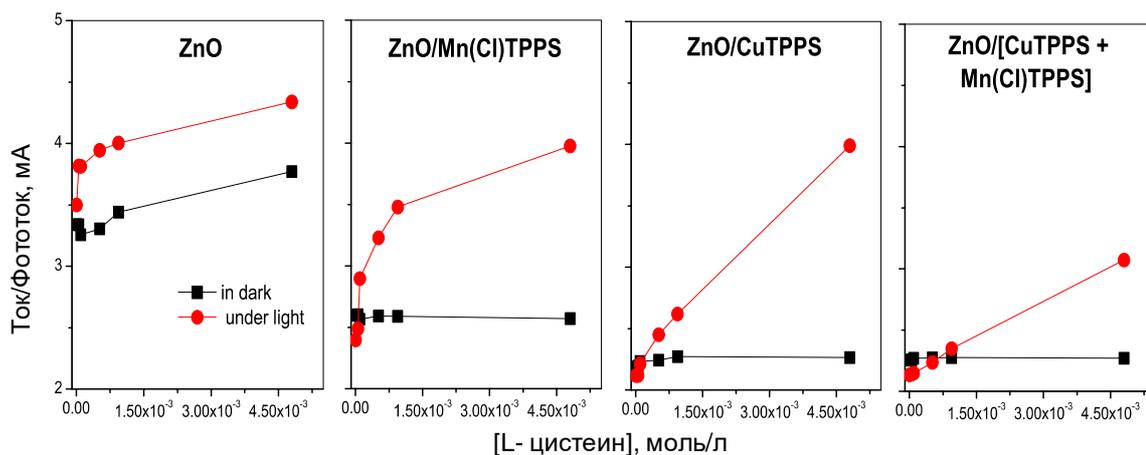


Рис.V.5 Фотоокисление L-цистеина на чистом оксиде цинка и ZnO/МП композитных материалах. $E_{ox} = +0,2$ В, $\lambda_{ex}=365$ нм, продолжительность светового излучения 50 с.

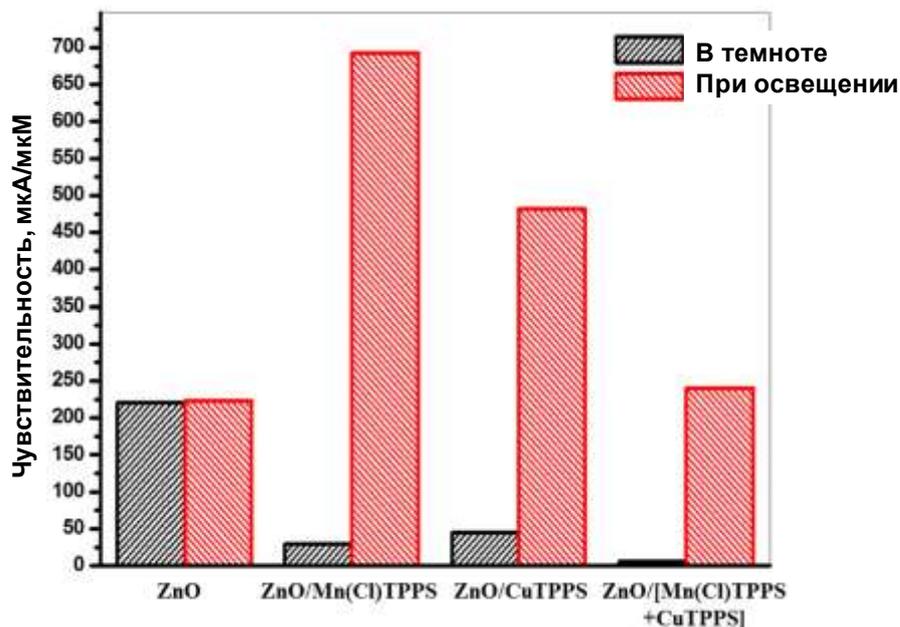


Рис.V.6. Сравнение чувствительности исследованных композитных материалов в условиях темноты и УФ-облучения в диапазоне концентрацией L-цистеина от 98 мкмоль/л до 940 мкмоль/л.

Селективность ZnO/МП структур к L-цистеину тестировали в бинарных растворах, содержащих, различные мешающие вещества с десятикратным превышением концентрации, таких как аминокислоты (пролин, аланин, глицин, лизин и аргинин), а также в растворах глюкозы, оксалата натрия и физиологически важных аскорбиновой и мочевой кислот. Как показано на **Рис.V.7**, протестированные аминокислоты, не влияли на определение цистеина при +0.2 В. Исключение составляли глюкоза и оксалат натрия, однако их влияние было незначительным. Более того, при увеличении окислительного потенциала

до +1.0В из всех исследованных соединений только десятикратная концентрация аскорбиновой кислоты влияла на фотоэлектрохимическое определение L-цистеина на нанокompозите ZnO/CuTPPS, в то время как другие соединения были неактивны.

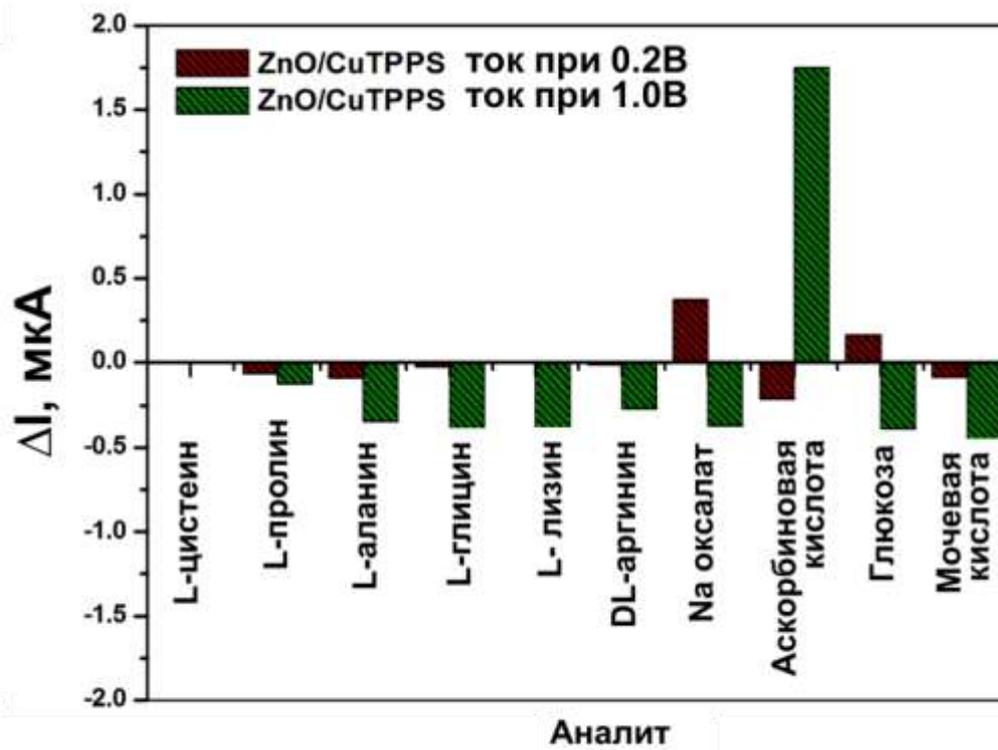


Рис.V.7 Исследование селективности ZnO/CuTPPS в бинарных растворах с содержанием $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л цистеина и $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л интерферирующих веществ на фоне 0.01 моль/л HEPES, pH 7.5, $E_{ox} = +0.2$ и 1.0 В, $\lambda_{ex} = 365$ нм, продолжительностью светового излучения 50 с.

В настоящей главе был разработан метод фотоэлектрохимического определения L-цистеина посредством введения металлопорфириновых лигандов в состав неорганической чувствительной матрицы на основе нанокompозитных структур оксида цинка, приготовленных методом одnoreакторного гидротермического синтеза на ИТО подложках. Согласно морфологическим исследованиям, размер и форма полученных МП-декорированных наноструктур ZnO зависит от природы металлопорфирина. Экспериментальные результаты показывают, что контактная поверхность металлопорфирин/оксид цинка способна переносить электроны, высвобождаемые в процессе окисления L-цистеина при +0,2 В, производя аналитически полезный фототок, пропорциональный концентрации L-цистеина в диапазоне от 5,2 мкмоль/л до 4,8 ммоль/л. Повышенная селективность композитных материалов на основе металлопорфирин-декорированных наноструктур оксида цинка по отношению к L-цистеину была продемонстрирована в бинарных растворах с десятикратным избытком различных аминокислот (пролина, аланина, глицина, лизина,

аргинина), глюкозы, оксалата натрия и физиологически важных аскорбиновой и мочевой кислот. Таким образом, применение композитных материалов на основе металлопорфирин-декорированных наноструктур оксида цинка для обнаружения L-цистеина фотоэлектрохимическим методом открывает новые перспективы для быстрого и чувствительного определения этого биологически важного соединения.

Свойства полимерных мембран на основе мезо-тетраферроценилпорфирина

Еще одним перспективным фоточувствительным рецептором является мезо-тетра-ферроцениловый порфирин-конъюгат (TRFc₄), который представляет собой простой пример донорно-акцепторной системы с пространственным разделением зарядов. В последние два десятилетия много внимания было уделено разработке таких донорно-акцепторных систем, имитирующих естественный процесс фотосинтеза [302]. Порфириновые макроциклы являются перспективными элементами для построения донорно-акцепторных систем, поскольку благодаря сильно делокализованной ароматической π-системе, обладают богатыми окислительно-восстановительным свойствам и характеризуются существенным оптическим поглощением практически во всем видимом диапазоне. Так, ранее сообщалось о нескольких ковалентно-связанных системах, подвергающихся фотостимулируемому переносу электронов, в которых порфирины выполняли функцию акцептора электронов, в то время как ферроцены использовались в качестве доноров электронов с относительно низким окислительным потенциалом [303]. Порфирин-ферроцены активно использовались в фотовольтаике для светособирающих и энергопреобразующих систем, а в так-называемых «интеллектуальных покрытиях» [304-306]. В TRFc₄ фотоактивный порфириновый макроцикл, обладающий высоко-делокализованной ароматической π-системой, выступает в качестве акцептора электронов, в то время как ферроценовые фрагменты являются донорами электронов. В растворе аналита, являющимся акцептором электронов, с более низким окислительным потенциалом, чем потенциал ферроцена, TRFc₄ может служить в качестве эффективной фотопереклюющей единицы, вызывающей сток электронов с поверхности рабочего электрода в процессе детектирования. Исходя из этого предположения, в настоящей главе исследуется потенциал применения TRFc₄ в качестве нового чувствительного материала в составе полимерных ПВХ-пластифицированных мембран для разработки комбинированного опто-электрохимического сенсора для определения переходных и тяжелых металлов. Подробно детали эксперимента изложены в работе [307].

VI.1 Необходимость мониторинга загрязнения тяжелыми и переходными металлами

На сегодняшний день загрязнение окружающей среды различными тяжелыми и переходными металлами является серьезной проблемой во многих странах и

регионах [308, 309]. Основными причинами такого широкомасштабного загрязнения являются промышленные выбросы, скопление бытовых отходов и неправильное природопользование. Высокое содержание переходных и тяжелых металлов в почве, воздухе и питьевой воде становится причиной их накопления в организме человека, и это явление связано с появлением аллергий, раковых опухолей и других серьезных заболеваний, например, генетических патологий, особенно у детей [310]. В связи с этим, очевидным является необходимость в осуществлении тщательного контроля и периодического анализа объектов окружающей среды, и в частности, природной и питьевой воды, на предмет содержания в них токсичных металлов. Применение химических сенсоров в экологическом мониторинге имеет большой потенциал благодаря их высокой чувствительности, простоты в применении, и низкой стоимости [311, 312]. Часто чувствительными материалами таких сенсоров являются специфические лиганды, содержащие в своей структуре атомы кислорода, серы и/или азота для достижения высокой координационной способности переходных и тяжелых металлов [313, 314].

VI.2 Принцип работы донорно-акцепторного конъюгата TPFc_4 в сенсорах

Как показано на **Рис. VI.1**, конъюгат TPFc_4 , сформированный из фотоактивной порфириновой группы (P) и электродонорной ферроценильной группы (Fc), и находящийся в контакте с раствором, содержащим акцептор электронов (A) с более низким окислительным потенциалом, чем окислительный потенциал ферроцена, представляет собой эффективное фотопереклюющее устройство со стоком электронов с поверхности рабочего электрода в процессе детектирования. Таким образом, в процессе взаимодействия фотоактивной порфириновой группы конъюгата TPFc_4 с растворами, содержащими ионы тяжелых металлов, ожидается возникновение электрохимического сигнала сенсора на основе TPFc_4 , а также изменения в его спектрах поглощения/эмиссии (изменение интенсивности люминесценции). Следуя этой концепции, исследовали изменение комбинированного опто-электрохимического отклика сенсоров на основе порфирин-ферроценового конъюгата TPFc_4 по отношению к ряду катионов.

Были исследованы три мембранных композиции, пластифицированные ДОС (ПВХ/ДОС= 1:2) и содержащие TPFc_4 в количестве 1% по весу следующих составов: **М61** ПВХ/ДОС/ TPFc_4 ; **М62** ПВХ/ДОС/ TPFc_4 /ТрСлФБК(0.25вес.%); **М63**: ПВХ/ДОС/ TPFc_4 /ТрСлРВК(0.4вес.%). Количество 1% по весу включенного в мембраны TPFc_4 было определено растворимостью лиганда в мембранной фазе. Мембраны наносили на прозрачные и проводящие предметные стекла с ИТО подложкой. Оценивали потенциометрический и CSPT-оптический отклик сенсоров по отношению к различным ионам металлов в диапазоне концентраций от 2.7×10^{-7} до 5.0×10^{-2} моль/л в дистиллированной воде или в 0.01 моль/л

буферном растворе ТРИС рН 7.4. В качестве целевых были выбраны Cu^{2+} - и Pb^{2+} -ионы, представляющие особый интерес при контроле загрязнения природных объектов. Предполагалось, что а аналитический сигнал ТРФС₄ могут повлиять такие явления, как гашение флуоресценции и/или фотоокисление ТРФС₄, вызванные световым воздействием и катализируемые присутствием этих металлов. Одновременно, комплексобразование целевых катионов на тетрадентатном дианионном порфириновом лиганде, может вызывать рост электрохимического потенциала мембраны на основе ТРФС₄.

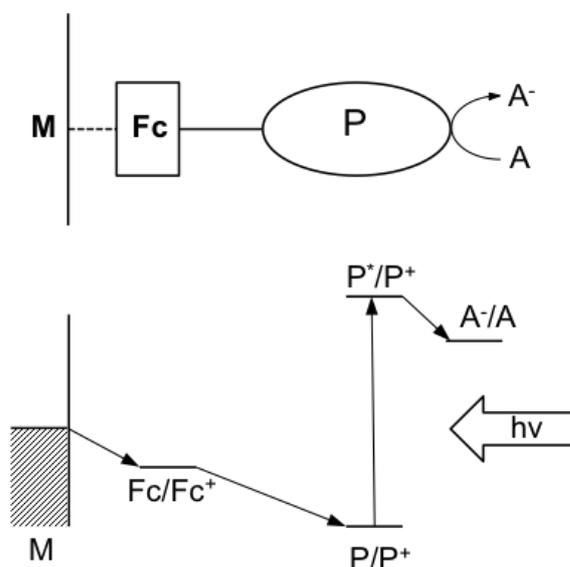


Рис. VI.1 Диаграмма энергетических уровней с возможными фотохимическими переходами в структуре ТРФС₄, контактирующего с трансдьюсером М и раствором, содержащим акцептор электронов А, [307].

VI.2.1 ЦВА исследования растворов ТРФС₄

Изначально проводили исследования электрохимической активности ТРФС₄ в растворах ДМФ и CH_2Cl_2 методом циклической вольтамперометрии. Вольтамперограммы в диапазоне сканирования потенциала от -0.1В до +1.1 В показали наличие обратимого процесса при +0.55В, соответствующего одновременному окислению всех четырех ферроценильных-заместителей (пара Fc/Fc⁺), в составе ТРФС₄ в обоих растворителях, **Рис. VI.2а**. Согласно ранее полученным данным об электрохимическом поведении порфирин-ферроценов, волны окисления при +0.81В в ДМФ и +0.85В в CH_2Cl_2 были связаны с окислением порфиринового макроцикла [306, 315]. Данное значение $E_{1/2}$ превышает потенциалы окисления Cu^{2+} и Pb^{2+} в водных растворах и указывает на потенциальную пригодность ТРФС₄ для электрохимического определения этих катионов. Как показано на **Рис. VI.2б**, циклическая вольтамперометрия ТРФС₄ в ДМФ в действительности подтвердила тот факт, что добавление

увеличивающегося количества катионов Pb^{2+} приводит к росту анодного тока системы в связи с окислением порфиринового кольца и одновременным уменьшением пика Fc/Fc^+ .

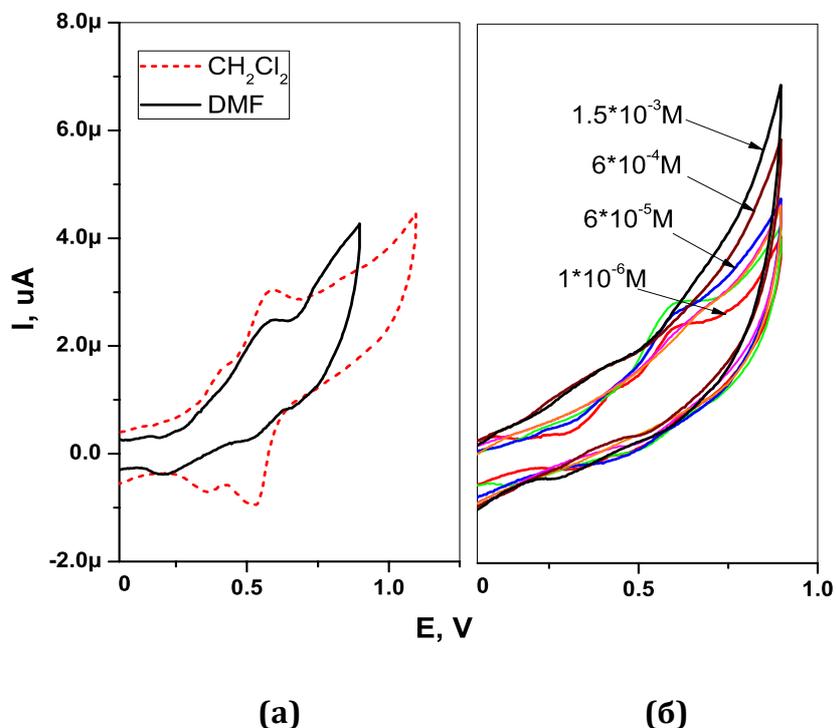


Рис. VI.2 ЦВА $TPFc_4$ в растворителях CH_2Cl_2 и ДМФ (а); в ДМФ при воздействии увеличивающихся концентраций ионов Pb^{2+} , [307].

VI.2.2 Потенциометрический отклик полимерных мембран на основе ионофора $TPFc_4$

Неметаллированный порфирин представляет собой тетраденатный дианион, на котором координация катионов происходит за счет взаимодействия электронных пар двух N-пиррольных атомов посредством внеплоскостной ионной связи и образованием так называемого «sitting-a-top» комплекса. Ожидается, что за счет внесения дополнительной электронной плотности от ферроценильных заместителей $TPFc_4$ будет обладать более выраженными комплексообразующими свойствами по сравнению с незамещенным порфирином, и следовательно, является перспективным лигандом для определения ионов переходных металлов. Предполагалось, что $TPFc_4$ функционирует в мембранной фазе в качестве нейтрального переносчика, поэтому вводили в состав мембран на основе $TPFc_4$ анионные липофильные центры ТпСІФБ- с целью усиления транспорта целевых катионов в фазу мембраны и снижения общего мембранного сопротивления [316]. Чтобы оценить возможную стехиометрию комплексов лиганд-металл, проводили сравнение свойств **М61** без какой-либо липофильной

добавки со свойствами **М62** и **М63**, содержащими анионные липофильные сайты ТпСІФБ- в количестве 0.25% и 0.40% по весу соответственно. Наклоны потенциометрических градуировочных кривых для мембран **М61** и **М62** во всех исследованных растворах приведены в **Табл. VI.1**.

Табл. VI.1. Наклоны линейных участков градуировочных графиков мембран на основе ТРРС₄ в растворах различных аналитов

Соль	Наклон, мВ/рХ ^а	
	М61: ПВХ/ДОС/ТРРС ₄	М62 ПВХ/ДОС/ТРРС ₄ / ТпСІФБК(0.25вес.%)
NaCl	1.0 ± 2.3	1.9 ± 1.3
KCl	1.1 ± 0.9	8.1 ± 5.5
LiCl	0.7 ± 0.15	0.9 ± 3.0
NH ₄ Cl	0.8 ± 0.3	7.3 ± 4.6
MgCl ₂	1.7 ± 0.3	1.8 ± 0.6
Zn(NO ₃) ₂	5.2 ± 0.6	6.0 ± 1.7
CdCl ₂	3.1 ± 0.6	3.0 ± 1.7
CoCl ₂	4.3 ± 0.8	3.2 ± 1.6
Pb(NO ₃) ₂	17.0 ± 5.1	23.4 ± 1.0
Cu(NO ₃) ₂	15.1 ± 1.8	30.8 ± 2.5
NaCl - TRIS	1.3 ± 0.6	11.7 ± 2.7
CdCl ₂ - TRIS	5.3 ± 3.9	6.5 ± 1.8
CoCl ₂ -TRIS	1.7 ± 0.8	1.3 ± 0.3
Pb(NO ₃) ₂ - TRIS	31.5 ± 2.2	34.8 ± 2.0
Cu(NO ₃) ₂ - TRIS	35.2 ± 1.5	36.8 ± 4.9
pH ^б	39.7 ± 1.8	13.2 ± 2.1

^асреднее значение для 3 воспроизведенных измерений ; ^б рН в диапазоне от 5.5 до 10.2 единиц

Как видно из **Табл. VI.1**, NH₄⁺, щелочные ионы (Na⁺, K⁺, Li⁺), щелочноземельные (Ca²⁺, Mg²⁺), а также катионы переходных металлов Co²⁺ и Cd²⁺ не оказывали какого-либо существенного влияния на потенциометрический отклик мембран **М61** и **М62**. Напротив, для этих мембран была получена высокая чувствительность по отношению к ионам свинца (угловые коэффициенты 15.1 и +30.8 мВ/рPb соответственно) и меди (+17.0 и +23.4 мВ/рCu). Благодаря введению ТпСІФБК в количестве 0.25% во весу, мембрана **М62** показала приближенные к теоретическому Нернстовскому значения угловых коэффициентов линейных

участков градуировочных графиков по отношению к ионам Cu^{2+} и Pb^{2+} , по сравнению с более низкими наклонами мембраны **М61**. Однако при дальнейшем повышении концентрации ТпСлФБК в мембране **М63**, ее потенциометрическое поведение энергией гидратации целевых катионов и для мембраны был получен ряд селективности, характерный для мембран на основе катионообменников, определяемый (данные не приводятся).

Кроме того, было зафиксировано более низкое перекрестное влияние pH на катионный отклик мембраны **М62** по сравнению с мембраной **М61**, приготовленной без катионообменника ($+13.2 \pm 2.1$ мВ/pH для **М62** по сравнению с $+39.7 \pm 1.8$ мВ/pH для **М61**). При фиксированном значении pH 7.4 в фоновом 0.01 моль/л растворе TRIS- HNO_3 для мембран **М61** и **М62** были получены более высокие наклоны по отношению как к ионам свинца ($+31.5$ и $+34.8$ мВ/pPb), так и меди ($+35.2$ и $+36.8$ мВ/pCu), приводя в результате к повышению перекрестной чувствительности мембран. Однако потенциометрический рабочий диапазон этих чувствительных материалов в отношении ионов меди и свинца был довольно ограниченным и находился в интервале концентраций от 1.1×10^{-4} до 5.0×10^{-2} моль/л целевого аналита. Такой высокий предел обнаружения является серьезным недостатком для применения сенсоров на основе ТРФС₄ в частности, для анализа питьевой воды, где ПДК для свинца и меди составляет 0.14 и 15.6 мкмоль/л соответственно (СанПиН 2.1.4.1074-01) [317]. Следовательно, прямое потенциометрическое обнаружение содержания этих токсичных металлов в природной и питьевой воде с помощью мембран на основе ТРФС₄ затруднено и требует предварительного обогащения образца.

VI.2.3 Оптический отклик мембран на основе ТРФС₄

VI.2.3.1 Исследования флуоресценции

Исходя из вышеизложенного, изучали возможность расширения рабочего диапазона сенсоров на основе ТРФС₄ посредством оптического обнаружения катионов. Ранее проведенные исследования оптических свойств порфиринов-ферроценов свидетельствуют о значительном разделении зарядов и их рекомбинации в структуре одной и той же молекулы, а также наличие нескольких трансдукционных энергетических состояний, указывающих на возможность функционирования таких молекул в качестве светочувствительных лигандов [318]. Было также показано, что ферроцен в значительной степени тушит флуоресценцию порфирина в связи с фотоиндуцированным переносом электронов от ферроценила к порфирину [319]. Фактически, квантовые выходы ферроценил-порфиринов в десятки или сотни раз ниже, чем для тетрафенилпорфирина, используемого в качестве эталона, и имеют тенденцию к уменьшению при росте числа ферроценильных заместителей [302]. По этой причине относительно небольшое количество исследований было посвящено изучению люминесцентных электроактивных систем на основе порфиринов-

ферроценовых конъюгатов. Так, Шмидт и др. исследовали неметаллированные порфирины и металлопорфирины, замещенные четырьмя ферроценильными группами, и сообщили о том, что флуоресценция ферроценил-порфирина увеличивается при окислении ферроценильных боковых групп с образованием ферроцен-ионов [320].

В соответствии с приведенными в литературе данными на спектре поглощения TPFc_4 в CH_2Cl_2 наблюдали полосу поглощения S_{0e} на 434 нм и две растянутых в результате влияния боковых ферроценильных заместителей полосы Q на 661 и 726 нм [306]. Исследования растворов TPFc_4 в ДМФ при возбуждении на 430 нм показали присутствие умеренной флуоресценции лиганда (10% относительно квантового выхода) на 650 и 720 нм, гашение которой наблюдалось при введении катионов Pb^{2+} и Cu^{2+} в диапазоне концентраций от $1.7 \cdot 10^{-6}$ до $2.2 \cdot 10^{-3}$ моль/л, **Рис. VI.3**.

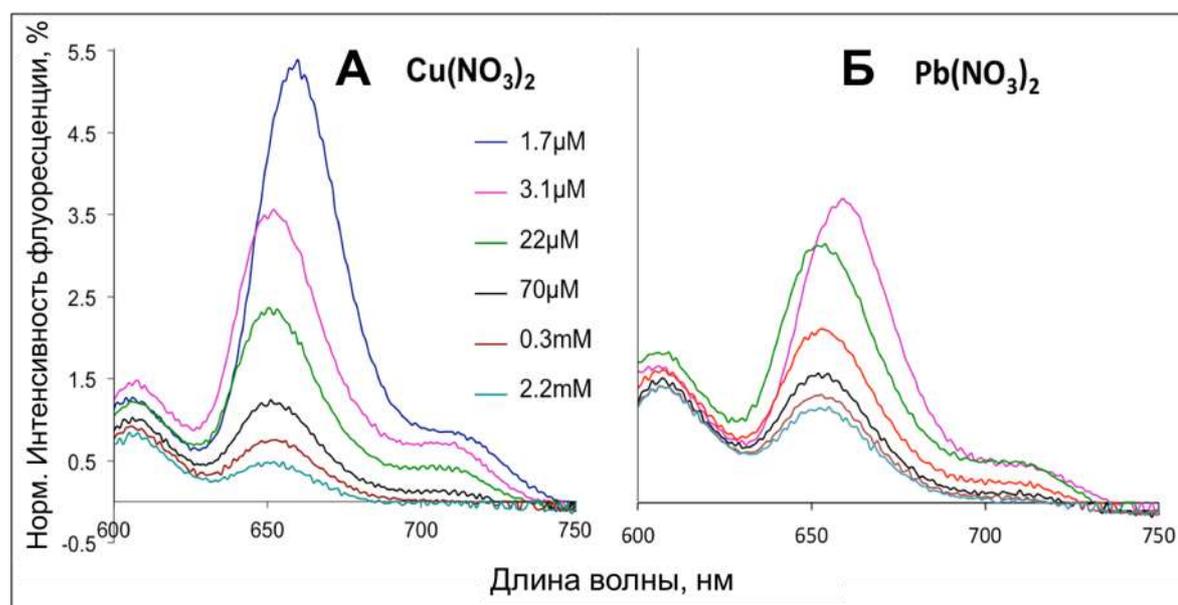


Рис. VI.3 Гашение флуоресценции TPFc_4 при добавлении увеличивающихся концентраций ионов (а) Cu^{2+} и (б) Pb^{2+} [307].

VI.2.3.2 Оптический CSPT-отклик полимерных мембран на основе TPFc_4

В целях упрощения аналитической оптической методики, люминесцентные свойства мембран на основе TPFc_4 исследовали CSPT-методом в растворах следующих целевых катионов: Na^+ , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Cu^{2+} и Pb^{2+} . Интенсивность измеренного оптического сигнала варьировалась в диапазоне от 60 до 250 единиц. Мембрана **М61** показала умеренный оптический отклик к изменению концентрации ионов Pb^{2+} (около 15% от максимального значения оптической интенсивности во всем интервале RGB) и Cd^{2+} (8% от максимального значения оптической интенсивности в основном в области голубого светового облучения), во всем диапазоне исследованных концентраций ($2.7 \cdot 10^{-7}$ - $3 \cdot 10^{-3}$ моль/л);

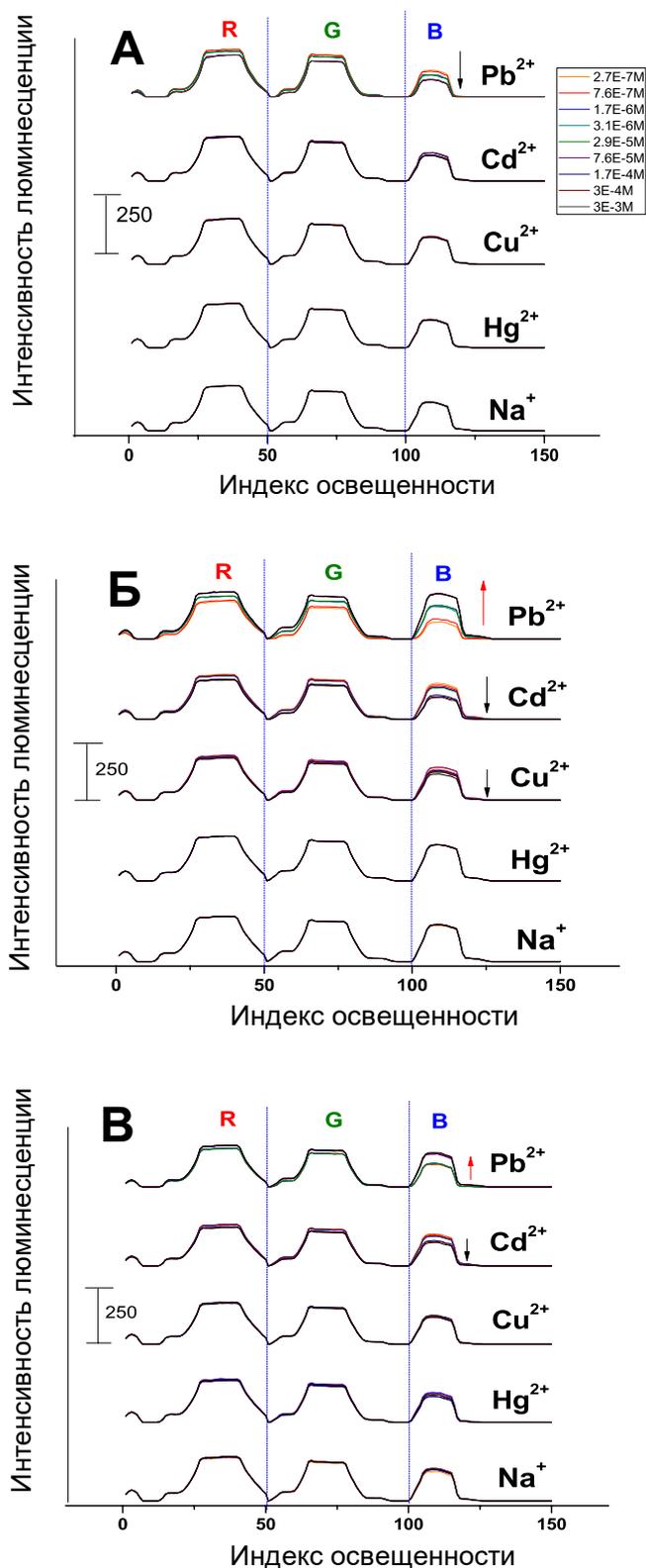


Рис. VI.4 CSPT-отклик полимерных мембран на основе $TPFC_4$ (1 вес.%) к серии целевых катионов: а) **M61**: ПВХ/ДОС/ $TPFC_4$; б) **M62**: ПВХ/ДОС/ $TPFC_4$ /ТрСІФБК (0.25вес.%) ; в) **M63**: ПВХ/ДОС/ $TPFC_4$ /ТрСІРВК(0.4вес.%) , [307].

в то время как наблюдали практически полное отсутствие влияния других целевых катионов, **Рис. VI.4а**. При этом, при контакте с раствором аналита люминесценция мембраны **М61** уменьшалась, и это поведение было схожим с вышеописанными данными об изменении флуоресценции растворов TRFс_4 в ДМФ.

Наибольший оптический отклик с чувствительностью, уменьшающейся в ряду: $\text{Pb}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Na}^+$ был получен для мембраны **М62**: ПВХ/ДОС/ TRFс_4 /ТпСІФБК 0.25%вес. Изменение оптической плотности составило около 77% для ионов свинца, 27% для ионов кадмия и 16% по отношению к ионам меди, **Рис. VI.4б**. Примечательно, что в растворах, содержащих ионы Pb^{2+} наблюдалось увеличение люминесценции мембраны **М62** с увеличением концентрации целевого иона. Активация люминесценции была особенно высока в области облучения синим светом. Очевидно, что наличие катионообменника в составе мембраны вызывало поток целевых ионов в фазу мембраны, где затем формировались агрегаты $\text{TRFс}_4\text{-Pb}^{2+}$ сложной геометрии, в результате чего «прозрачность» мембраны уменьшалась, в частности, в синем регионе, соответствующем длинам волн полосы Соре порфирина. В этой связи важно отметить, что на оптический отклик мембран **М61**, **М62** не влияли ни щелочные ионы Na^+ , ни ионы ртути, Hg^{2+} , являющиеся серьезными интерферентами при спектроскопическом определении многих переходных и тяжелых металлов [312]. Увеличении концентрации катионообменника ТпСІФБК до 0.4% вес. в мембране **М63** привело к уменьшению оптического отклика мембраны к ионам свинца (около 23% от максимального значения оптической интенсивности) и повышению перекрестного влияния мешающих Cd^{2+} , Hg^{2+} и Na^+ - ионов (23%, 16% и 5% от максимального значения оптической интенсивности соответственно), **Рис. VI.4в**.

Таким образом, были проведены систематические исследования потенциометрических и оптических свойств полимерных чувствительных мембран на основе мезо-тетраферраценилпорфирина для определения ионов тяжелых и переходных металлов. Полученные данные показывают, что применение только потенциометрического подхода не позволило достичь требуемых пределов обнаружения (в соответствии с нормами СанПин) для таких токсичных металлов, как медь и свинец. Оптический отклик чувствительных мембран на основе мезо-тетраферраценилпорфирина позволил проводить определение тяжелых металлов в более широком диапазоне по сравнению с потенциометрией. Повышения чувствительности анализа природных вод на предмет содержания в них тяжелых и переходных металлов возможно ожидать при измерении комбинированного опто-потенциометрического отклика сенсоров на основе TRFс_4 и последующей хемометрической обработки полученных данных. Результаты таких мульти-трансдуктивных исследований подробно рассматриваются в Главе VIII.

Кумарин-замещенные тиа-аза-гетероциклы и осихинолин-замещенные диазакраун эфиры как хромофоры оптических сенсоров

Несмотря на большое количество чувствительных молекул, предложенных и исследованных ранее в качестве эффективных катион-селективных лигандов, необходимость разработки новых сенсорных материалов и устройств для обнаружения катионов металлов в различных образцах по-прежнему остро ощущается. Во многих прикладных задачах, например в проточном анализе и тестах «in vivo» требуются селективные, устойчивые, портативные и не инвазивные датчики, часто малых размеров. Потенциометрические сенсоры удовлетворяют большинству из вышеперечисленных требований, однако при измерениях в живых организмах, или в образцах малого объема их применение затруднено. В таких ситуациях существенного улучшения аналитических методик на основе химических сенсоров можно достичь с использованием ионоселективных оптодов. На основе вышеизложенного, были охарактеризованы свойства кумарин-замещенных тиа-азо-гетероциклов, L1-L3, и осихинолин производных диаза-18-краун-6 эфиров, DCHQ-X, в качестве флуорофоров в оптодах для определения различных катионов, ртути и магния в частности.

VII.1 Исследование свойств флуоресцентных хемосенсоров на основе кумарин-замещенных тиа-азо-макроциклов

VII.1.1 Обоснование выбора кумарин-замещенных тиа-азо-макроциклов в качестве мембраноактивных флуорофоров

Наиболее распространенным синтетическим подходом к созданию новых флуоресцентных хемосенсоров является ковалентное связывание подходящего флуорогенного фрагмента (сигнальной единицы) с молекулой комплексообразующего лиганда (рецептором). Селективная комплексация целевого иона на рецепторе вызывает оптический отклик флуорогенного фрагмента, выраженный в повышении или гашения его световой эмиссии. Направленный выбор сигнальной единицы и рецептора имеет решающее значение для чувствительности и селективности химического сенсора, приготовленного на основе такого флуорофора.

В существующих флуорофорах в качестве сигнальной единицы обычно используются такие ароматические соединения как антрацен, 8-гидроксихинолин, фенантролин, кумарин и т.д.; в то время как макроциклические лиганды с определенным размером внутренней молекулярной полости и несущие в своем составе различные гетероатомы являются наиболее

подходящими рецепторами для катионов металлов [321 , 322]. Однако, до недавнего времени флуорофоры, содержащие в своем составе кумарин в качестве флуоресцентной сигнальной единицы и макроциклический лиганд, содержащий донорные атомы серы, практически не исследовались. При этом, кумарины как сигнальные единицы обладают многими преимуществами, такими как высокий квантовый выход флуоресценции, большой стоксов сдвиг (разница длин волн максимумов спектров поглощения и флуоресценции), высокая светостойкость и низкая токсичность. Поэтому, в настоящей главе были исследованы свойства и изучена пригодность кумарин-замещенных тиа-аза-гетоциклов в качестве флуорофоров для определения катионов переходных металлов, и в частности ионов ртути. В качестве макроциклических рецепторов тестировали 1,4,7-триаза-10-азациклододекан ([12]анNS₃), 1,7-диаза-4,10-дитиацклододекан ([12]анN₂S₂) и 2,8-дита-5-аза-2,6-пиридинофан ([12]анPyNS₂), ранее уже изученные в качестве рецепторов для разработки флуоресцентных хемосенсоров для ионов тяжелых металлов [323]. Химические структуры исследованных флуорофоров, **L1-L3**, представлены в Главе II. Подробно детали эксперимента изложены в работе [324].

VII.1.2 Исследования флуоресценции растворов L1-L3

Результаты флуориметрических исследований лигандов **L1-L3** в концентрации $3,5 \times 10^{-5}$ моль/л в растворах АЦН/Н₂О 4:1 (по объему), на фоне буфера MOPS (3-(N-морфолин)пропансульфоновая кислота) при рН 7.0 в присутствии 1 эквивалента следующих целевых ионов: Ca²⁺, Cd²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Hg²⁺, K⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, Ni²⁺, Pb²⁺, Zn²⁺, Al³⁺ и Fe³⁺, показали селективное комплексообразование лигандов с ионами ртути. В качестве примера на Рис.VII.1 приведена нормированная интенсивность флуоресценции лиганда **L1** в присутствии различных металлов.

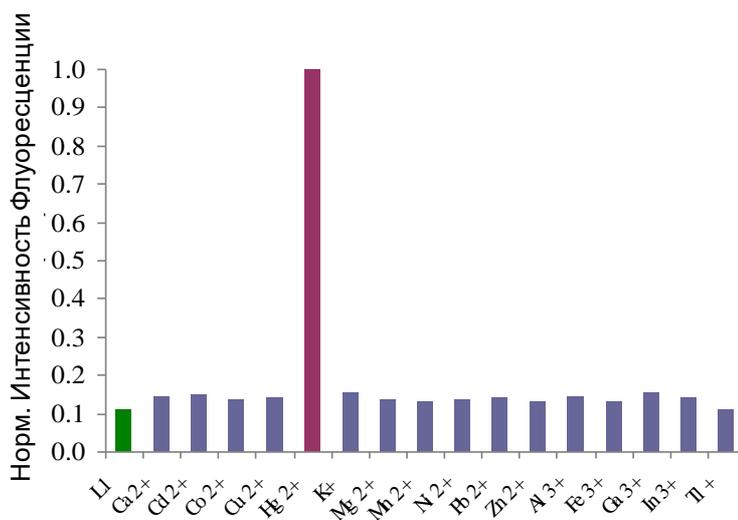


Рис.VII.1: Нормированная интенсивность флуоресценции лиганда **L1** в присутствии 1 эквивалента целевых металлов, печатается из работы [324].

Возможно отметить высокоселективный оптический отклик лиганда **L1** к ионам Hg^{2+} по сравнению с изменением флуоресценции в присутствии других ионов металлов. Схожее поведение с повышенной селективностью к ионам ртути было получено для лиганда **L2** и **L3** (данные не приведены). Также для **L1** в АЦН/ H_2O (4:1 по объему, 25 °С, рН = 7.0) в присутствии 1 эквивалента ионов Hg^{2+} , и 10-кратном избытке других ионов не было обнаружено исследования перекрестного влияния конкурирующих катионов, включая ионы переходных d^{10} и тяжелых металлов, такие как Cd^{2+} и Pb^{2+} , **Рис.VII.2**.

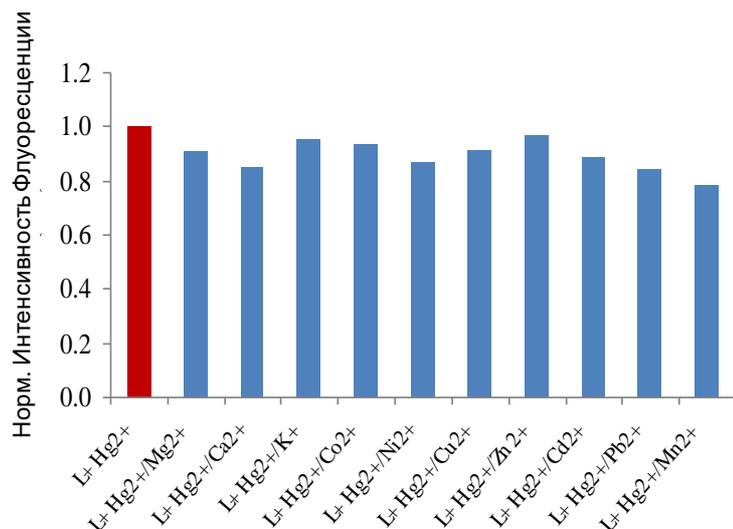


Рис.VII.2 Ион-конкурентное исследование флуоресцентного отклика **L1** в присутствии 1 эквивалента Hg^{2+} и 10 эквивалентов мешающих катионов.

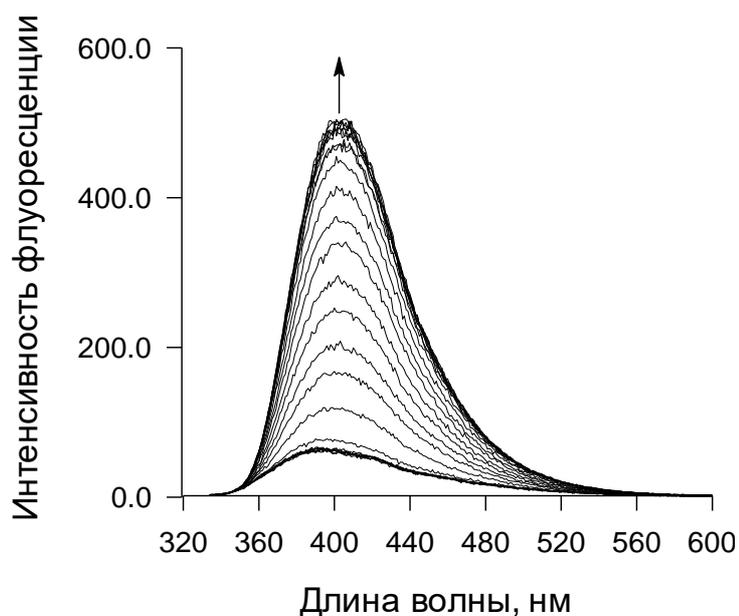


Рис.VII.3: Изменения в спектре эмиссии **L1** ($[\text{L1}] = 3,5 \times 10^{-5}$ М, АЦН/ H_2O 4:1 по объему, рН 7.0, 25°С, $\lambda_{\text{возб}} = 319$ нм) при повышении концентрации Hg^{2+} , [324].

Значительные изменения спектров эмиссии всех трех кумарин-замещенных флуорофоров наблюдали только при добавлении Hg^{2+} . Например при возбуждении лиганда **L1** на 319 нм регистрировали полосу эмиссии около 405 нм и увеличение интенсивности флуоресценции с ростом концентрации Hg^{2+} , **Рис.VII.3**.

VII.1.3 Изучение стехиометрии комплексов ртути с флуорофором **L1**

Лиганд **L1** был единственным соединением, для которого были получены кристаллы дифракционного качества. Кристаллографическая структура комплекса $[\text{Hg}(\text{L1-н})]\text{NO}_3$ представлена на **Рис.VII.4**. В этом комплексе катионы $[\text{Hg}(\text{L1-н})]^+$ образуют между собой димеры, образуя связи $\text{Hg}\cdots\text{O}$ с длиной связи 3,006 Å посредством взаимодействия ртути с донорными атомами кислорода из флуорогенных фрагментов.

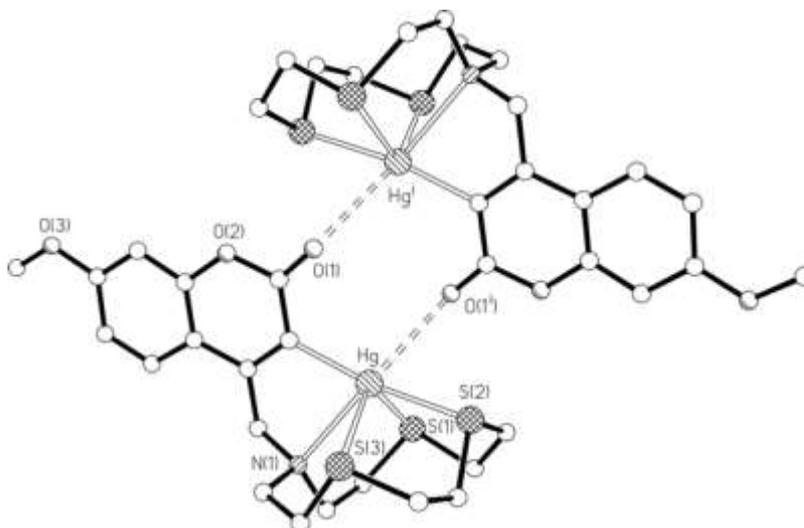


Рис.VII.4 Кристаллографическая структура димера $[\text{Hg}(\text{L1-н})]\text{NO}_3$, [324].

Внутри каждого комплекса ион Hg^{2+} координирован четырьмя донорными атомами макроцикла (три атома серы и атомом азота), а также посредством депротонированного атома углерода в положении 2 кумаринового фрагмента, образуя металлоорганический комплекс. Вероятно формирование такого металлоорганического соединения является причиной увеличения интенсивности флуоресценции лиганда **L1** в процессе селективной координации ионов Hg^{2+} . Более того, приведенные в настоящем разделе результаты кристаллографического анализа могут быть полезными для определения возможной стехиометрии комплексов кумарин-замещенных тиа-аза-гетероциклических флуорофоров в составе чувствительных сенсорных материалов, описанных в следующих разделах.

VII.1.4 Важность определения ртути в природных объектах

Ртуть является особо токсичным элементом, опасным для окружающей среды и здоровья человека и животных [325]. Учитывая активное использование ртути и ее соединений в промышленности и сельском хозяйстве, контроль содержания ртути в литосфере и в поверхностных водах необходим и важен. В результате накапливания в пищевой цепочке (от микроорганизмов и водорослей до, например, рыбы и морепродуктов) ртуть может попасть в человеческий организм, главным образом, при приеме пищи, и тем самым вызвать опасную интоксикацию, либо при продолжительном воздействии стать причиной серьезных метаболических, когнитивных нарушений и расстройств двигательной функции [326-329]. Очевидна необходимость разработки новых эффективных, высоко чувствительных и селективных аналитических инструментов для определения Hg^{2+} -ионов в различных средах, от природных вод до промышленных стоков, пищевых продуктов и пр. Существует несколько стандартных методов скрининга ртути, включая атомно-абсорбционную/эмиссионную спектроскопию [330] и масс-спектрометрию с индуктивно связанной плазмой, которые [331] обеспечивают очень низкие пределы чувствительности, однако требуют дорогого и современного оборудования, профессиональных операторов и кропотливой подготовки образцов. Более того, эти лабораторные методы сложно приложимы к онлайн-анализу или „полевым“ измерениям. Данные недостатки могут быть устранены с применением химических сенсоров, которым свойственна простота, надежность и быстрота.

Ранее были разработаны и исследованы несколько флуоресцентных чувствительных молекул для определения ртути [332 - 335]. Однако относительно немногие из этих соединений были успешно использованы для определения ионов Hg^{2+} в природных образцах из-за их плохой растворимости в воде, перекрестной чувствительности в отношении других металлов, слабой эмиссии и низкого квантового выхода флуоресценции. Было установлено, что при разработке химических сенсоров наряду с выбором подходящего флуорофора важным является также решение проблем практического/технического характера, связанных с иммобилизацией флуорофора в составе чувствительной матрицы и подбором подходящего трансдьюсера, особенно для твердоконтактных оптических сенсоров.

В следующих разделах исследуется возможность применения кумарин-замещенных тиа-аза-гетероциклических флуорофоров **L1-L3** в составе пластифицированных полимерных мембран для разработки флуоресцентных твердоконтактных хемосенсоров для определения ионов Hg^{2+} в природных водах. на основе кумарин-замещенных тиа-азо-макроциклов в качестве рецепторов.

VII.1.5 Разработка полимерных мембранных оптодов на основе L1-L3 для селективного определения Hg²⁺.

Основываясь на данных о специфическом взаимодействии ионов ртути и флуорофоров **L1-L3** в растворе, в дальнейшем исследовали возможность разработки полимерных мембранных оптодов на основе этих соединений для селективного определения Hg²⁺. Оптические свойства оптодов изучали методами прямой флуориметрии и CSPT-анализа. В последнем, в качестве полихромного источника облучения используется экран компьютера (планшета, смартфона, и пр.), а встроенная веб-камера, подключённая к тому же портативному устройству, служит в качестве детектора оптического сигнала. Полученный видеосигнал обрабатывается специальным образом для экстракции цифровых выходных значений изменения оптической плотности сенсора при изменении концентрации аналита.

Для использования в оптических сенсорах готовились пластифицированные ПВХ мембраны, содержащие от 1 до 3 вес.% флуорофора, которые наносили на прозрачные предметные стекла и тестировали изменение их люминесцентного сигнала в присутствии целевого иона. Составы исследованных мембран приведены в **Табл. VII.1**. Основываясь на предположении, что лиганды **L1-L3** в составе полимерной выполняют роль нейтральных переносчиков, селективно связывающих заряженные Hg²⁺ ионы, для стабилизации свойств мембран и придания им необходимых ионообменных свойств вводили в их состав липофильной анионные добавки ТпСІФБ-. В соответствии с ранними работами Липполиса и др., в которых изучали схожие по структуре флуорофоры [336], были приготовлены мембраны с содержанием **L1** или **L3** в количестве 3% по весу, в то время как содержание лиганда **L2** в мембранах Мб 4-6 было 1% по весу ввиду его низкой растворимости.

VII.1.5.1 Изучение влияния pH

Изначально изучали влияние pH фонового раствора на оптический отклик полимерных мембранных оптодов на основе L1-L3 по отношению к целевым ионам Hg²⁺. Интенсивность флуоресценции мембран измеряли на фоне UBS с первоначальным pH 2.7 в присутствии 2.7*10⁻⁶ моль/л Hg²⁺, с последующим титрованием 1 моль/л раствором гидроксида калия до достижения конечного значения pH=10.3. На **Рис.VII.5** в качестве примера приводится флуоресцентный отклик мембран Мб 2 и Мб 3 на основе **L1**; можно отметить несущественное влияние pH среды в диапазоне 4.8–8.0. Схожие результаты были получены и для мембран на основе **L2** и **L3** (данные не приведены). Таким образом, чтобы гарантировать оптимальное поведение исследованных мембран и гарантировать отсутствие перекрестного pH влияния все дальнейшие измерения проводили на фоне 0.01 моль/л MES при pH 5.5.

Табл. VII.1 Составы исследованных пластифицированных полимерных ПВХ-мембран на основе кумарин-замещенных тиа-аза-макроциклов, **L1-L3**.

N	Флуорофор	Молярность флуорофора ^а	Пластификатор	ТпСІФБК, вес. %	Мольное соотношение L/ТпСІФБ ^с
М6 1	L1	0.07	оНФОЭ	1	1 : 0.3
М6 2	L1	0.07	ДОС	1	1 : 0.3
М6 3	L1	0.07	ДОС	-	-
М6 4	L2^б	0.02	оНФОЭ	1	1 : 1
М6 5	L2^б	0.02	ДОС	1	1 : 1
М6 6	L2^б	0.02	ДОС	-	-
М6 7	L3	0.07	оНФОЭ	1	1 : 0.3
М6 8	L3	0.07	ДОС	1	1 : 0.3
М6 9	L3	0.07	ДОС	-	-
М6 10.1	L3	0.07	ДОС	1.8	1 : 0.5
М6 10.2	L3	0.07	ДОС	5.3	1 : 1.5
М6 10.3	L3	0.07	ДОС	8.2	1 : 2.3
М6 11.1	L3	0.07	оНФОЭ	1.8	1 : 0.5
М6 11.2	L3	0.07	оНФОЭ	5.3	1 : 1.5
М6 11.3	L3	0.07	оНФОЭ	8.2	1 : 2.3
М6 12	L3	0.07	оНФОЭ	2.6 ^в	1 : 0.5

^амоли лиганда на вес мембраны в кг; ^б**L2** в количестве 1% по весу из-за низкой растворимости в мембранной фазе; ^в T(CF₃)₂ФБК использовался в качестве катионообменника.

VII.1.5.2 Изучение влияния природы растворителя-пластификатора и присутствия катионообменника на свойства оптодов на основе L1-L3

Чувствительность полимерных мембранных оптодов существенным образом зависит от состава мембраны. В частности, выбор соответствующего растворителя-пластификатора является важным фактором для улучшения проницаемости мембраны для целевых ионов, уменьшения ее жесткости и получения оптимальной флуоресценции. В результате сравнения оптических свойств мембран, приготовленных с использованием ДОС и оНФОЭ, было установлено, что ДОС-пластифицированные мембраны являются наиболее эффективными для флуориметрического определения ионов Hg²⁺, **Рис.VII.6.**

Наибольшее изменение интенсивности флуоресценции при увеличении концентрации ионов ртути было получено для мембраны **М68** на основе **L3**, пластифицированной ДОС и содержащей сайты ТпСІФБК- в количестве 30 мол.%

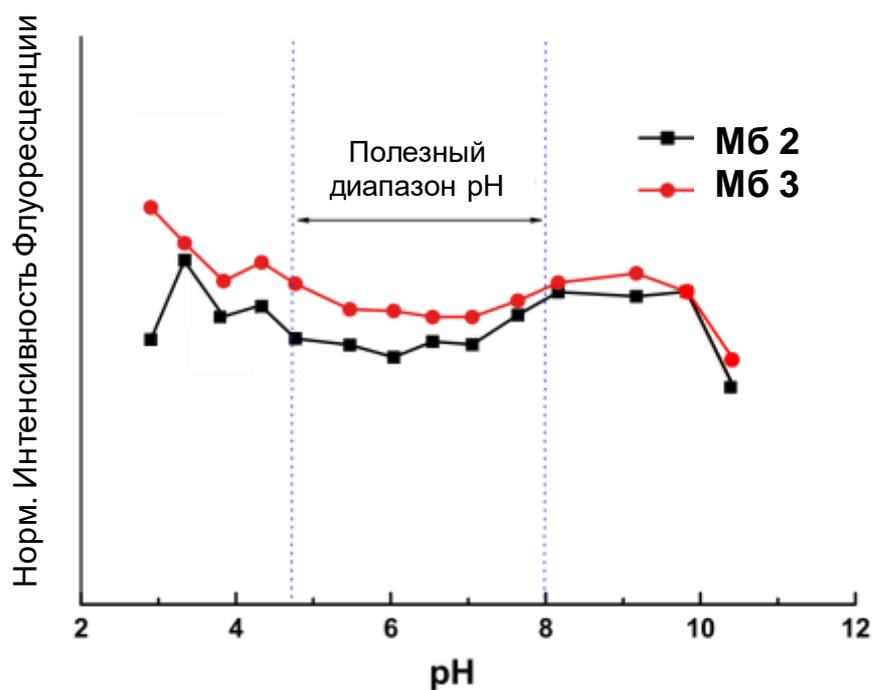


Рис.VII.5 Влияние изменения рН раствора на флуоресцентный отклик мембран М62 и М63 на основе L1 по отношению к ионам Hg^{2+} ($2,7 \cdot 10^{-6}$ М), [324].

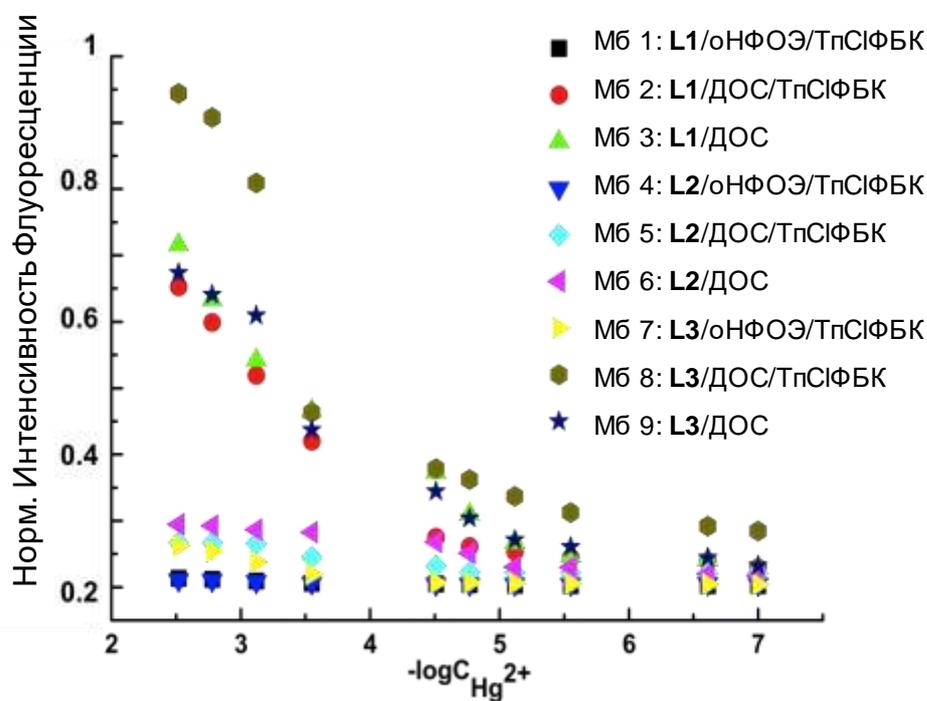


Рис.VII.6 Флуоресцентный отклик мембран на основе L1-L3 при добавлении возрастающих количеств ионов Hg^{2+} , [324].

(по отношению к флуорофору), свидетельствуя об оптимальной связывающей способности **L3** в отношении ионов Hg^{2+} в таких условиях. Напротив, для пластифицированных посредством оНФОЭ мембран **M61**, **M64** и **M67** на основе флуорофоров **L1**, **L2** и **L3** соответственно, и содержащих анионные липофильные центры ТрСІФБ- была зафиксирована низкая интенсивность флуоресценции даже в присутствии высоких концентраций целевого иона. В действительности, ранее было показано, что оНФОЭ, как и другие органические нитросоединения, может способствовать гашению люминесценцию многих флуорофоров [337].

VII.1.5.3 Оптимизация свойств полимерных мембран на основе **L3**

Дальнейшие исследования сосредоточили на изучении полимерных мембран на основе флуорофора **L3**, показавших наибольший флуоресцентный отклик к ионам ртути. При CSPT-исследованиях оптических свойств мембран на основе лиганда **L3** интересным оказался тот факт, что оНФОЭ-пластифицированная мембрана **M67** оказалась более эффективной при оценке содержания Hg^{2+} , и показала более значительные изменения оптической интенсивности по сравнению с ДОС-пластифицированной мембраной **M68**. Очевидно, что более полярный пластификатор оНФОЭ способствует более активной диссоциации катионообменника и что ускоряло процесс обмена ионов Hg^{2+} на границе раздела фаз мембрана/раствор. На **Рис.VII.7** представлен CSPT-отклик (рассчитанный как среднее значение оптической интенсивности сигналов RGB) для оНФОЭ-пластифицированной мембраны **M67** в присутствии ионов Hg^{2+} или других мешающих катионов (Na^+ , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} и Pb^{2+}) в различных концентрациях.

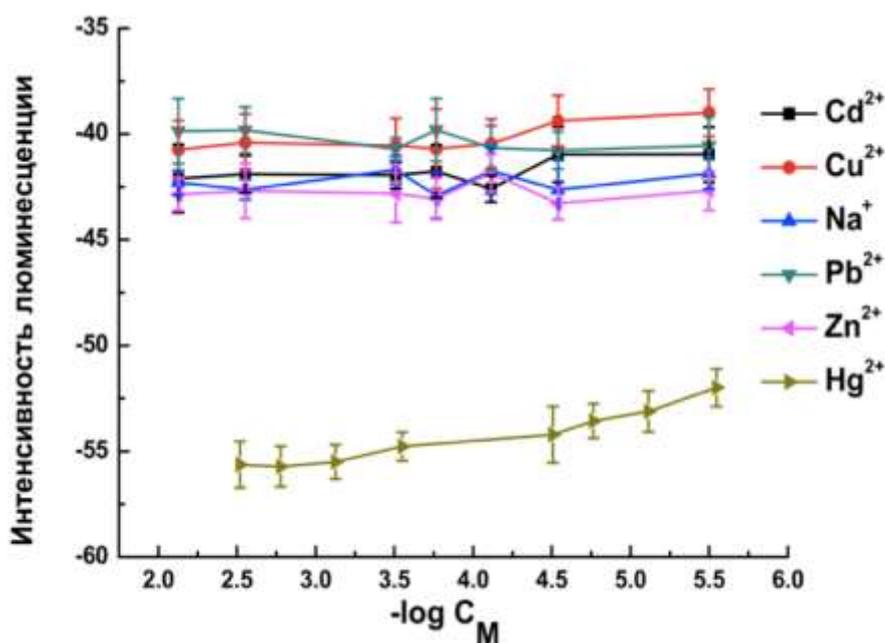


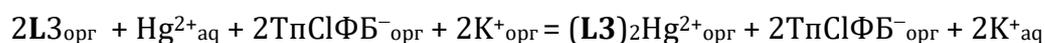
Рис.VII.7 CSPT-отклик мембраны **M67** (**L3**/оНФОЭ/ТрСІРВК) по отношению к ионам Hg^{2+} и другим мешающим катионам на фоне 0.01 моль/л MES pH 5.5, [324].

Чтобы оценить оптимальное соотношение между лигандом и катионообменником в составе Hg^{2+} -селективной оптодной мембраны, сравнивали свойства семи новых мембран **М610.1-М610.3**, **М611.1-М611.3** и **М612** на основе **L3** и содержащих ТпСлФБК в разных количествах (кроме **М612**, допированной с применением $\text{T}(\text{CF}_3)_2\text{ФБК}$), Табл. VII.1. Для оценки влияния пластификатора мембраны **М610.1-М610.3** были пластифицированы посредством ДОС, а мембраны **М611.1-М611.3** и **М612** готовили с использованием оНФОЭ.

Было повторно установлено, что ДОС-пластифицированные мембраны являются наиболее эффективными для флуориметрического определения ионов Hg^{2+} , а наибольшее изменение интенсивности флуоресценции было получено для мембраны **М610.3**, содержащей 3 % вес. флуорофора L3 и ТпСлФБК в количестве 8.2% вес., Рис.VII.8а. Такое количество липофильных анионных центров примерно соответствует молярному соотношению лиганд-катионообменник 1:2. Полученные данные свидетельствуют о формировании 1:1 комплексов между флуорофором, работающим по принципу нейтрального переносчика, и определяемым Hg^{2+} ионом. Для CSPT-определения Hg^{2+} -ионов наиболее эффективной оказалась мембрана **М611.2** состава ПВХ /оНФОЭ/ L3 / ТпСлФБК 5.3 % вес, Рис.VII.8б. Очевидно, что более полярный пластификатор оНФОЭ способствует более активной диссоциации катионообменника, меньшего количества которого оказалось достаточно для достижения аналогичных аналитических характеристик, что и для ДОС-пластифицированных мембран. Отрицательный градиент CSPT-оптической интенсивности на Рис.VII.8Рис.VII.8б указывает на повышение эмиссии пленки под воздействием Hg^{2+} . При замещении ТпСлФБК более гидрофобным катионообменником $\text{T}(\text{CF}_3)_2\text{ФБК}$ в мембране М612 ожидаемого улучшения селективного отклика мембраны к ионам ртути получено не было.

В результате проведенной оптимизации состава полимерных оптодных мембран на основе кумарин-замещенного тиа-аза-гетероциклического флуорофора **L3** было установлено, что молярное содержание липофильных анионов в количестве 30-50% по отношению к содержанию **L3** является достаточным для стабилизации ионообменного процесса при низкой концентрации ртути, в то время как при высоких концентрациях ионов Hg^{2+} число анионных липофильных центров должно быть в избытке для обеспечения эффективности мембранного ионообмена. Исходя из обсужденных ранее данных кристаллографического анализа о стехиометрии комплексов лиганда **L1** с ионами ртути (раздел VII.1.3), предполагали протекание следующих процессов ионного обмена в фазе полимерной чувствительной мембраны:

При низких концентрациях Hg^{2+} :



При высоких концентрациях Hg^{2+} :

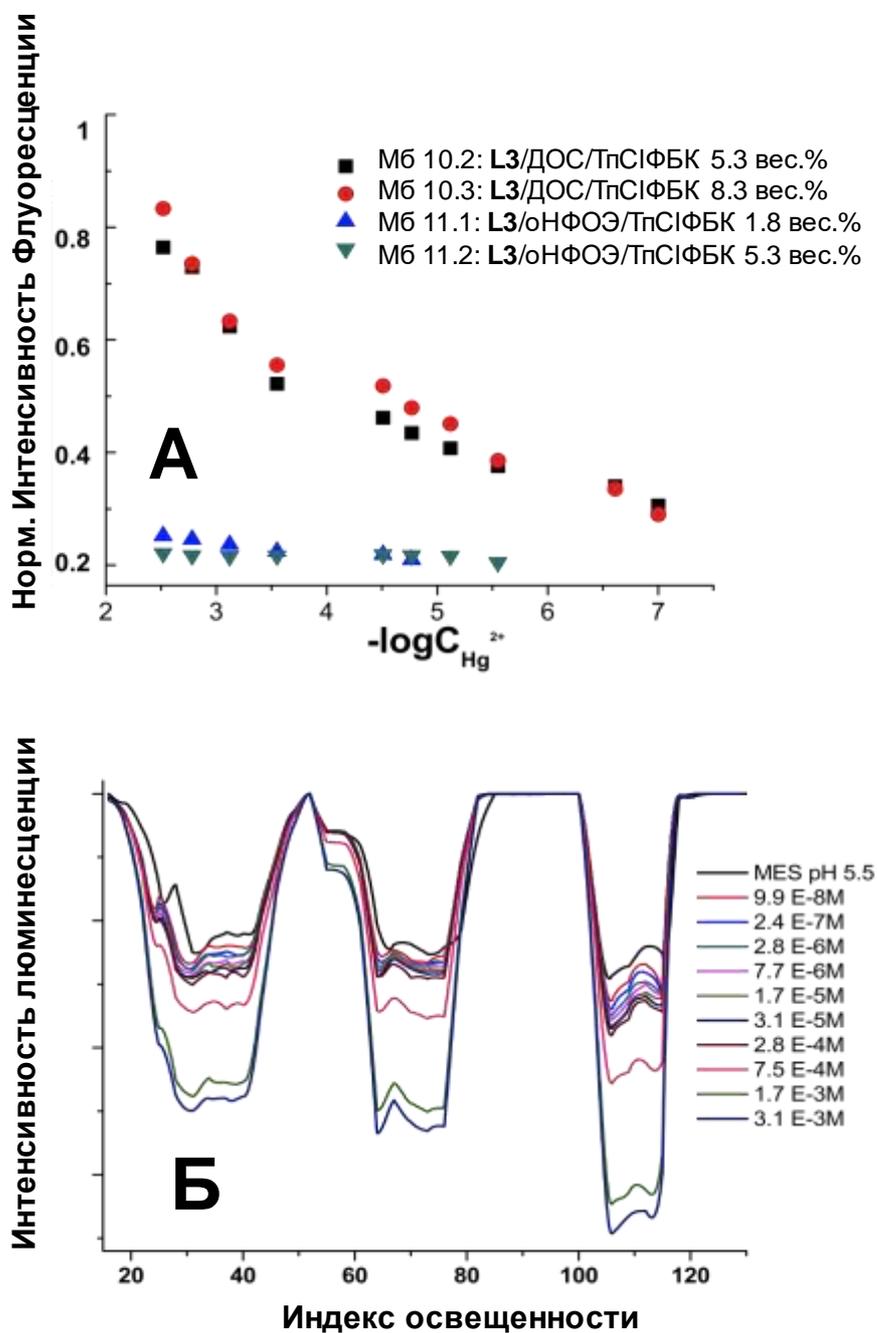


Рис.VII.8 (а) Флуоресцентный отклик мембран на основе **L3** с содержанием липофильных анионных сайтов в различных количествах при добавлении возрастающих количеств ионов Hg^{2+} ; (б) CSPT-отклик **M611.2** (**L3**/оНФОЭ/ТпСІФБК 5.3% по весу) к ионам Hg^{2+} , [324].

VII.1.5.4 Изучение светостойчивости и времени жизни полимерных чувствительных мембран на основе L3

На следующем этапе было изучено влияние длительного воздействия прямого облучения на свойства мембран на основе L3. Для этой цели свежеприготовленные мембранные коктейли М610.2 и М611.2 (пластифицированные с использованием ДОС и оНФОЭ соответственно) хранили в темноте либо в условиях прямого облучения дневным светом в течение периода времени от одного до трех месяцев. Полученные основе мембранных коктейлей М610.2 и М611.2 чувствительные пленки испытывали на следующий день после приготовления. Отклик пленок тестировали посредством прямой флуоресценции и методом CSPT.

Свежеприготовленная ДОС-пластифицированная мембрана М610.2 показала два пика эмиссии флуоресценции на 380 и 414 нм соответственно. Ход градуировочных зависимостей интенсивности флуоресценции измеренной на этих длинах волн от величины рНг в диапазоне 3,5 - 7 рНг единиц был идентичным, Рис.VII.9. При хранении мембраны под воздействием дневного света в течение одного месяца, пик 380 нм исчезал, и наблюдалось общее увеличение интенсивности флуоресцентного сигнала на 414 нм .

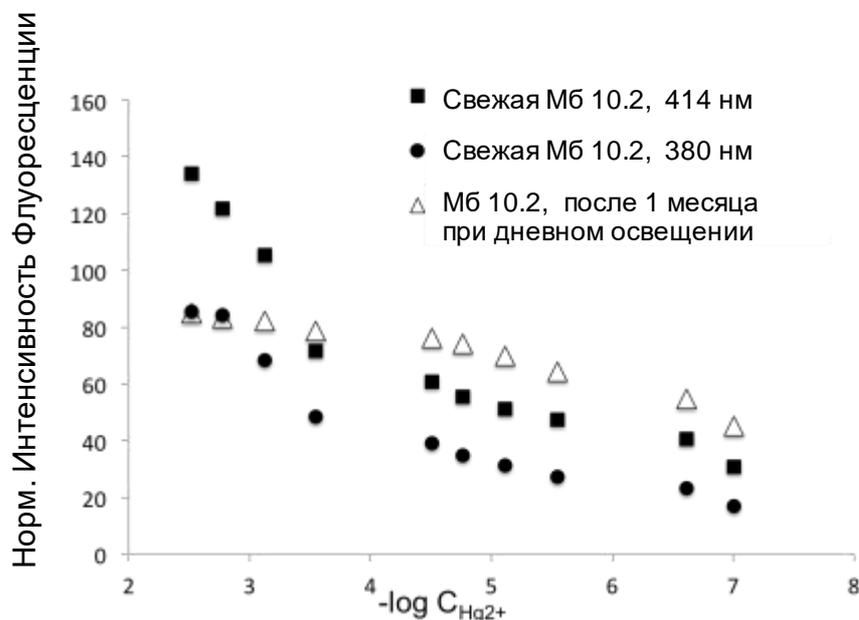


Рис.VII.9 Сравнение флуоресцентного отклика свежеприготовленных или выдержанных в течение одного месяца под воздействием дневного света мембран состава М610.2 (L3/ДОС/ ТпСлФБК 5.3% по весу) по отношению к Hg^{2+} в различных количествах, [324].

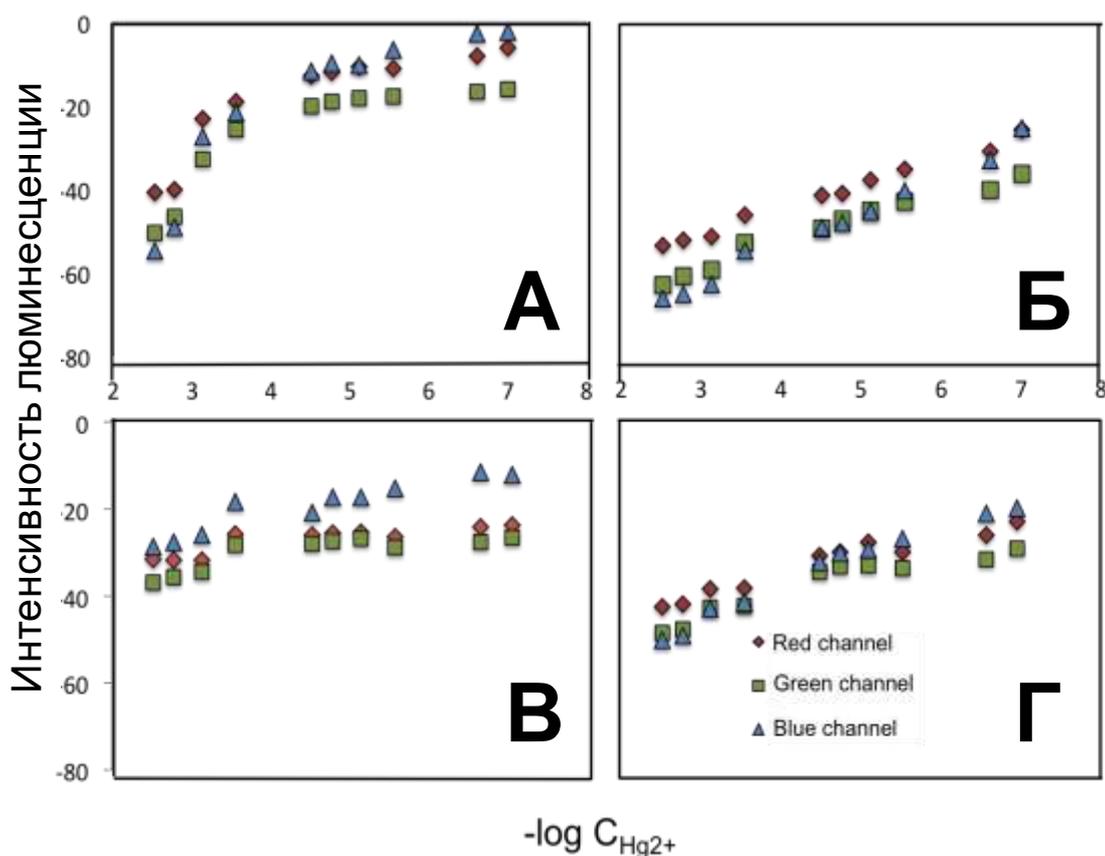


Рис.VII.10 Сравнение CSPT-отклика свежеприготовленных (А и В) и выдержанных в течение одного месяца под воздействием дневного света (Б и Г) мембран **М610.2** (L3/ДОС/ТпСлФБК 5,3% по весу) (вверху) и **М611.2** (L3/оНФОЭ/ТпСлФБК 5,3% по весу) (внизу) по отношению к ионам Hg^{2+} , [324].

Аналогичный результат был получен при CSPT-исследованиях оптического отклика **М610.2** (Рис.VII.10А,Б), в то время как пластифицированная оНФОЭ **М611.2** не показала уменьшения оптической интенсивности отклика по времени даже под воздействием дневного света (Рис.VII.10В,Г). Напротив после облучения дневным светом течение одного месяца, линейный диапазон градуировочного графика мембраны **М611.2** по отношению к rHg расширился, и наклон графика увеличился, Рис.VII.10Г. Полученные результаты указывают на то, что мембрана Мб 11.2 является наиболее эффективной для CSPT-определения ионов ртути(II), а также демонстрируют важность аккуратного приготовления и хранения таких светочувствительных сенсорных материалов. Так, очевидна необходимость сохранения свежеприготовленных ДОС-пластифицированных мембран на основе **L3** в условиях отсутствия внешнего облучения, что впрочем является распространенной аналитической практикой для большинства светочувствительных веществ и материалов.

VII.1.5.5 Практическое применение разработанных оптодов для определения содержания ртути в природных водах

Разработанные оптоды применяли для определения содержания ионов ртути в питьевой воде (зона Тор Вергата) и образцах природных поверхностных вод, отобранных в открытых водоемах (озеро Альбано и река Тибр) в пригородах г. Рима, Италия. Результаты приведены в **Табл. VII.2**.

Табл. VII.2 Определение содержания Hg^{2+} в образцах природной воды с применением оптодов на основе **L3**.

Образец	Концентрация Hg^{2+}				
	ААС ^а , мкг/л	Hg^{2+} -селективный оптод ^б			
		мкг/л	$[Hg^{2+}]$ введено, мкмоль/л	$[Hg^{2+}]$ найдено, мкмоль/л	R,% ^в
Озеро Альбано	<0.1	36	5.00	4.68	5.83
Река Тибр	<0.1	71	5.00	5.09	2.32
Питьевая вода	<0.1	35	5.00	4.48	9.81
Питьевая вода +0.89 мг/л $[Hg^{2+}]$	900	-	-	-	-

^а атомно-абсорбционная спектроскопия с использованием прямого анализатора ртути Milestone DMA-80; ^бсвежая **M610.2**, хранящаяся в условиях темноты; ^вR^в - средняя относительная ошибка определения, для 3 измерений

Полученные результаты сравнивали с референтными данными, полученными стандартным методом Атомной Адсорбционной Спектроскопии, ААС. Была показана возможность прямого определения ионов ртути в количествах значительно ниже предельно допустимой концентрации, ПДК, в 0.001 мг/л, рекомендованной Всемирной Организацией Здравоохранения (ВОЗ) и СанПиН 2.1.4.1074-01 [338]. Средняя относительная ошибка определения ртути по методу введено-найдено не превышала 10%, что позволяет сделать вывод о перспективности разработанных оптических сенсоров для анализа природных объектов и для целей экологического мониторинга.

В заключение можно отметить, что в процессе исследования свойств кумарин-замещённых тиа-аза-гетероциклические лигандов была показана их эффективность (особенно в случае с молекулой L3) для разработки полимерных мембранных оптодов для определения ионов ртути. Была показана возможность регистрации аналитических сигналов разработанных оптических сенсоров с помощью бытовых электронных устройств (дисплей компьютера как источник

полихромного излучения и вебкамера как детектор). Такой простой способ регистрации сигнала представляет особый интерес в сфере оптических измерений благодаря его простоте, низкой себестоимости и общедоступности и может быть использован широким кругом лиц без привлечения дорогостоящего спектроскопического оборудования и узкопрофильного квалифицированного персонала.

VII.2 Исследование оксихинолин-замещенных диаза-18-краун-6 эфиров флуорофоров для оптического определения катионов

В настоящем разделе были охарактеризованы свойства оксихинолин-замещенных производных диаза-18-краун-6 эфиров, DCHQ-X, в качестве флуорофоров для оптического определения различных катионов. Ранее соединения этого типа уже исследовали в водных растворах и некоторые из них, благодаря наличию в составе макроцикла донорных атомов азота и кислорода показывали высокую специфичность к ионам Mg^{2+} [339]. Однако влияние структуры флуорофора и в частности эффект наличия, количества и природы боковых заместителей в составе оксохинолинового сигнального фрагмента на получение твердотельных химических сенсоров с оптимальными характеристиками для определения этого конкретного аналита ранее в литературе не исследовали. Нами было проведено систематическое исследование сенсорных свойств четырех диаза-18-краун-6 гидрооксихинолиновых флуорофоров в зависимости от природы заместителя -X в положении 5 гидроксихинолинового сигнального фрагмента. Химические структуры исследованных флуорофоров DCHQ-X (где X=-H; -NO₂; -O(CH₂)₇CH₃; -Ph) представлены в Главе II. Также исследовалось влияние включения липофильных ионообменных сайтов и характера пластификатора на оптические свойства ПВХ-пластифицированных мембранных оптодов на основе DCHQ-X. Чувствительность оптодов, приготовленных с применением DCHQ-X, по отношению к ряду различных целевых катионов тестировали методами прямой флуориметрии и CSPT. В последнем случае для регистрации сигнала использовали бытовые электронные устройства, такие как портативная УФ-лампа (365 нм) или коммерческий точечный светодиод (СД с длиной волны 380 нм) в качестве источников монохромного излучения, и вебкамеру портативного компьютера как детектор.

VII.2.1 Важность селективного определения магния в сложных объектах

Селективное определение ионов Mg^{2+} представляет собой важную аналитическую задачу, поскольку магний является не только физиологически важным элементом присутствующим во всех живых существах, но и широко распространен в природных экосистемах, например, в почвенных и поверхностных водах, а также широко применяется во многих промышленных

процессах (например, в сухих батареях, катодных гальванических ваннах и т.д.). Ион Mg^{2+} является наиболее распространенным двухвалентным катионом в живых клетках и играет неотъемлемую роль во многих клеточных процессах в течение всего периода их существования, от пролиферации до смерти. В человеческом организме слишком высокие или слишком низкие концентрации Mg^{2+} могут вызвать серьезные заболевания [340]. По этим причинам большое внимание привлекает к себе разработка аналитических методов для обнаружения магния; при этом применение оптических хемосенсоров для определения $Mg(II)$ является особенно привлекательным из-за простоты их приготовления, приемлемой селективности и повышенной чувствительности.

Большое число исследований, направленных на разработку магний-селективных сенсоров было опубликовано ранее. Так, Гупта и др. использовали 4-метил-7-гидрокси-8-формил-кумарин (CS) в качестве Mg^{2+} -селективного хемосенсора [341]. Као и др. тестировали производные хинолина для анализа питьевой воды на содержание различных металлических ионов, в том числе ионов Mg^{2+} [342]. Вангом было предложено использование хемосенсора на основе производного соединения фталоцианина в качестве $Mg(II)$ -селективного флуорофора [343]. В работе [344] был синтезирован и протестирован конъюгат аза-краун-эфира с антрахиноном для селективного обнаружения $Mg(II)$ в живых клетках посредством флуоресценции. L-пролин использовали в качестве Mg^{2+} -селективного флуорофора в составе многокомпонентной сенсорной системы в [345]. В работе [339] была показана эффективность флуорофоров на основе диаза-18-краун-6 эфира с двумя гидроксихинолиновыми сигнальными фрагментами для оценки содержания и распределения ионов магния в живых клетках.

VII.2.2 Разработка твердотельных оптодов на основе производных DCHQ для селективного обнаружения Mg^{2+} .

При изучении свойств Mg -селективных оптодов особое внимание было уделено выбору растворителя-пластификатора, а также оптимизации состава мембран за счет введения липофильной катионообменной добавки ТпСІФБК в количестве от 0 до 10 % вес. Всего было протестировано 24 мембранных композиции на основе DCHQ-X флуорофоров, Табл. VII.3. Все приготовленные мембраны содержали флуорофор в количестве 1% по весу; соотношение растворителя-пластификатора и ПВХ в исследованных полимерных матрицах составляло 1:2 по весу. Оптический отклик приготовленных мембран к ионам Mg^{2+} и ряду мешающих катионов (среди которых Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , и т.д.) исследовали в 0.01 моль/л фоновом растворе MES (pH 5.5) в диапазоне концентраций от 10^{-7} до 10^{-2} моль/л путем последовательного добавления рассчитанных аликвот стандартных растворов солей (см. Раздел II.3.6.2). Мембраны наносили на прозрачные предметные стекла для проведения флуориметрических (длина волны возбуждения 367 нм, угол облучения: 90° или 30°) и CSPT-испытаний (облучение монохромным светом 365 нм и считывание цифрового сигнала веб-камеры).

Табл. VII.3 Составы изученных мембран на основе DCHQ-X.

№	Пластификатор	Флуорофор, 1 вес. %	ТпСІФБК, вес. %
М61	ДОС	DCHQ-NO ₂	-
М62	оНФОЭ	DCHQ-NO ₂	-
М63	ДОС	DCHQ-NO ₂	0.5
М64	ДОС	DCHQ-NO ₂	2
М65	оНФОЭ	DCHQ-NO ₂	2
М66	ДОС	DCHQ-Ph	-
М67	ДОС	DCHQ-Ph	0.5
М68	оНФОЭ	DCHQ-Ph	0.5
М69	ДОС	DCHQ-Ph	2
М610	ДОС	DCHQ-Ott	-
М611	ДОС	DCHQ-Ott	0.5
М612	оНФОЭ	DCHQ-Ott	0.5
М613	ДОС	DCHQ-Ott	2
М614	оНФОЭ	DCHQ-Ph	-
М615	ДОС	DCHQ-H	-
М616	оНФОЭ	DCHQ-H	-
М617	ДОС	DCHQ-H	2
М618	ДОС	DCHQ-Ph	5
М619	ДОС	DCHQ-H	5
М620	оНФОЭ	DCHQ-H	5
М621	оНФОЭ	DCHQ-Ph	5
М622	ДОС	DCHQ-Ph	10
М623	оНФОЭ	DCHQ-Ph	10
М624	ДОС	DCHQ-Ph	3

VII.2.3 Оптический отклик мембран на основе DCHQ-X

VII.2.3.1 Исследования флуоресценции

На первом этапе изучали флуоресценцию пленок на основе DCHQ-X при изменении концентрации Mg²⁺. Было установлено, что флуориметрический отклик существенно зависел от характера периферических заместителей -X в оксихинолине. Наибольший отклик был получен для мембран на основе флуорофоров DCHQ-Ott и DCHQ-Ph, несущих соответственно, длинноцепочечный октиоктанол, -O-(CH₂)₇-CH₃, и фенильную, -Ph, группы. При этом флуоресценция мембраны М69 (DCHQ-Ph/ДОС/2%ТпСІФБК) была в разы больше по сравнению с мембраной М613 на основе DCHQ-Ott, **Рис.VII.11**. Данный отклик обусловлен перераспределением электронной плотности лиганда в результате селективного связывания магния в полости диаза-краун-эфира, и последующем увеличением флуоресцентной эмиссии на 5-фенил-оксихинолиновом флуорогенном фрагменте. Мембраны М61-М65 на основе DCHQ-NO₂ не проявили полезного флуоресцентного отклика в отношении ионов магния и были исключены из

дальнейших исследований. Необходимо отметить, что в ходе целого ряда повторных измерений было установлено, что все исследуемые мембраны являются фоточувствительными. Чтобы избежать проблем фотонасыщения, все последующие измерения проводили для свежеприготовленных "одноразовых" оптических сенсоров. Светочувствительные мембраны на основе DCHQ-X хранили в темноте во избежание светонасыщения и деградации флуоресценции.

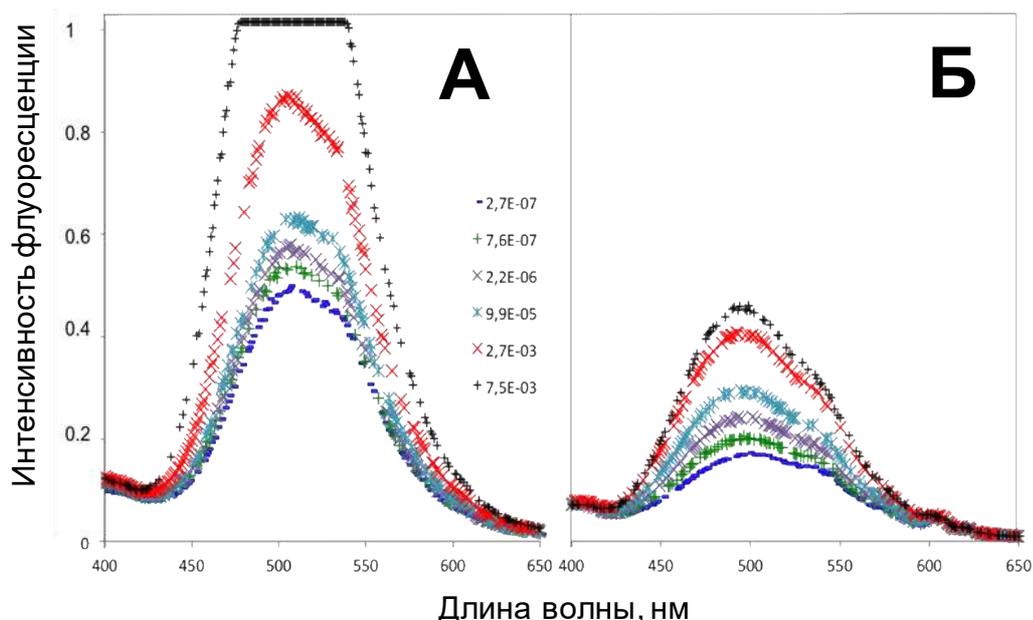


Рис.VII.11 Флуоресцентный отклик мембран на основе DCHQ-X в отношении увеличивающихся концентраций ионов Mg^{2+} : (А) М69 (DCHQ-Ph/ДОС/2%ТпСлФБК); (Б) М613 (DCHQ-Ott/ДОС/2%ТпСлФБК) в диапазоне концентраций от $2.7 \cdot 10^{-7}$ и $7.5 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $\lambda_{ex}=367$ нм.

VII.2.3.2 Оптимизация свойств полимерных мембран на основе DCHQ-X

Поскольку DCHQ-X флуорофоры являются органическими макроциклическими соединениями неионной природы, предполагали, что в фазе мембраны такие соединения будут выполнять роль нейтральных переносчиков и, следовательно, требуют одновременного присутствия катионообменных липофильных центров. Зависимость оптических свойств мембран на основе DCHQ-X от количества катионообменника ТпСлФБК, исследовали методом CSPT-UV, в котором в качестве источника монохромного света применяли портативную УФ-лампу (365 нм, Vilber Lourmat, модель VL-6.LC), а в качестве детектора - веб-камеру (Philips SPC900NC). Для измерений ПВХ-мембраны на основе DCHQ-H, DCHQ-Ott и DCHQ-Ph, пластифицированные ДОС или оНФОЭ с различным количеством катионообменной добавки, ТпСлФБК наносили на прозрачное предметное стекло в двукратном повторении. Содержание ТпСлФБК в мембранах составляло 0, 0.5, 2, 3, 5 или 10 вес.%; с этой целью были приготовлены новые составов

М614-М624, Табл. VII.3. Как видно из Рис.VII.12, добавление ТпСІФБ⁻ позволило существенно стабилизировать отклик мембран и улучшить их чувствительность. Так, добавление 2 вес.% ТпСІФБК в состав мембран М69,13,17 на основе DСНQ-Ph, DСНQ-Ott и DСНQ-Н соответственно привело к возникновению катионного отклика, выражающегося в увеличении интенсивности люминесценции, при увеличении концентрации ионов магния в диапазоне концентраций от 10⁻⁷ до 10⁻² моль/л на фоне буферного раствора 0.01моль/л MES (рН 5.5).

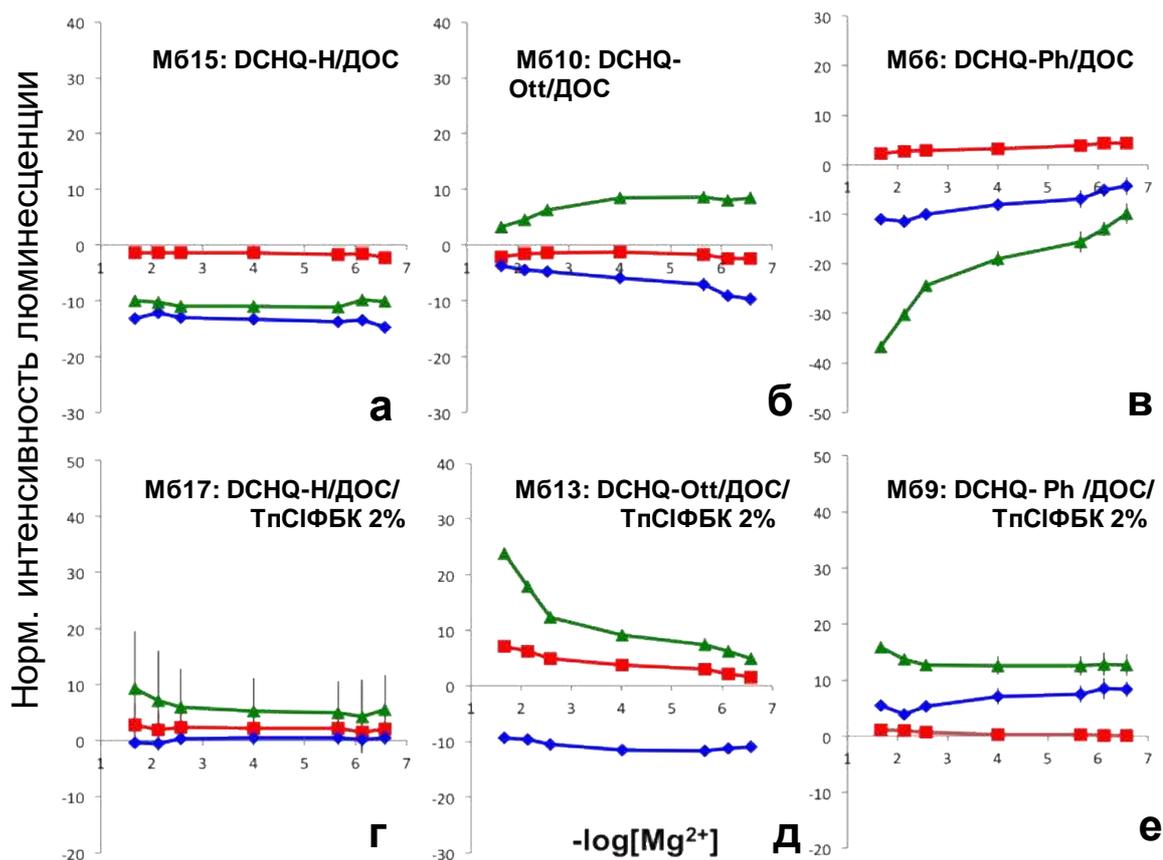


Рис.VII.12 CSPT-UV люминесцентный отклик мембран на основе DСНQ-X по отношению к иону Mg²⁺ в фоновом растворе 0.01M MES рН 5.5 в диапазоне концентраций от 2.7×10⁻⁷ до 2.2×10⁻² моль/л.

Наибольший эффект при добавке 2 вес.% катионообменника был получен для мембраны М613 на основе DСНQ-Ott. Однако ввиду невысокой растворимости данного флуорофора, дальнейшее увеличение содержания катионообменника в мембранах на его основе оказалось невозможным. Оптический катионный отклик мембран на основе DСНQ-Н был умеренным, в то время как 1,10-бис((5-фенил-8-окси-7-хинолинил)метил)-1,10-диаза-18-краун-6-эфир, DСНQ-Ph, обладал наибольшей связывающей способностью к ионам Mg²⁺, и для полимерной мембраны М618 состава ДОС/DСНQ-Ph/ТпСІФБК 5%вес. было зарегистрировано наибольшее изменение интенсивности люминесценции в присутствии целевых ионов магния, Рис.VII.13. Дальнейшее увеличение концентрации ионообменника

до 10 вес. % в мембране М622 (DCHQ-Ph/ДОС/ ТрСІФБК 10% вес.) не привело к значительному улучшению оптического отклика. Аналогично, не было получено существенных изменений в чувствительности мембраны М624 при снижении концентрации ТрСІФБК до 3 вес. %, тем самым подтвердив, что оптимальное количество ионообменника в мембранах на основе DCHQ-Ph должно быть на уровне 5 вес. %. Все мембраны на основе DCHQ-X, пластифицированные оНФОЭ показывали существенное снижение люминесценции по сравнению с мембранами, пластифицированными ДОС, схожий эффект был ранее получен для мембран на основе ртуть-селективных флуорофоров L1-L3 и объяснялся повышенной способностью органических нитросоединений к гашению люминесценцию многих флуорофоров [346].

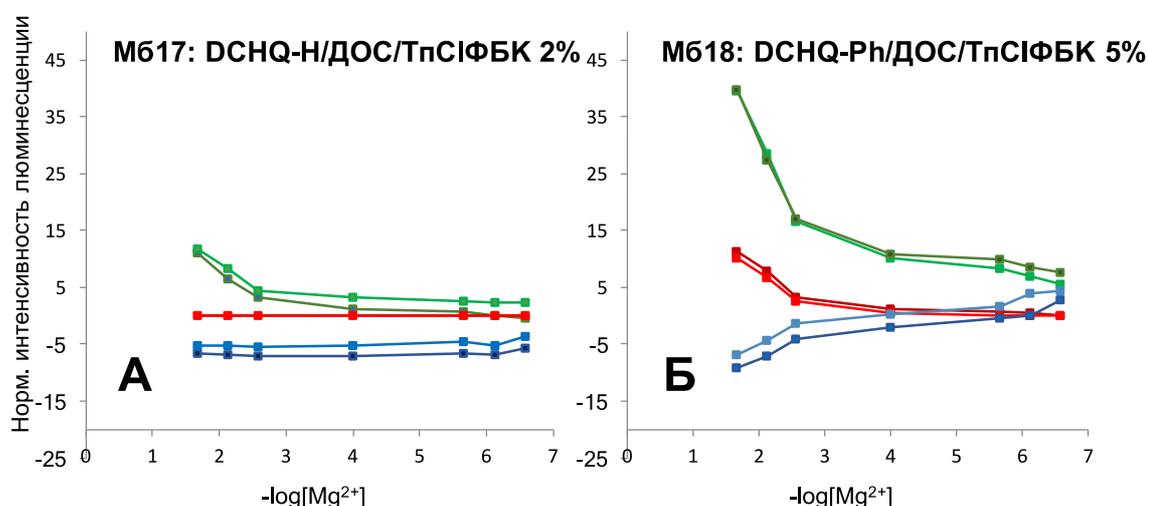


Рис.VII.13 CSPT-UV RGB отклик (считанный соответственно при красном (R), зеленом (G) и синем (B) видимом облучении) мембран М617 (А) и М6182 (В) на основе DCHQ-H и DCHQ-Ph соответственно при добавлении иона Mg^{2+} в фоновый раствор 0.01моль/л MES, pH 5.5 в диапазоне концентраций от 2.7×10^{-7} до 2.2×10^{-2} моль/л.

VII.2.3.3 Исследования селективности оптодов на основе DCHQ-X

Исследование селективности оптодов на основе DCHQ-X по отношению к возможным мешающим катионам проводили для мембран с оптимизированным составом: М613 (DCHQ-Ott/ДОС/ТрСІРВК 2%), М618 (DCHQ-Ph/ДОС/ТрСІРВК 5%) и М622 (DCHQ-Ph/ДОС/ТрСІРВК 10%). Люминесцентный отклик этих мембран к ионам Mg^{2+} и ряду мешающих катионов, в растворах следующих солей: $CaCl_2$, $NaCl$, KCl , $LiCl$, NH_4Cl , $Zn(NO_3)_2$, $CdCl_2$, $Cu(NO_3)_2$, $Pb(NO_3)_2$, $CoCl_2$ и $HgCl_2$, исследовали с помощью методики CSPT-UV в диапазоне концентраций от 2.7×10^{-7} до 2.2×10^{-2} моль/л. Для мембраны М613 была зарегистрирована очень умеренная селективность по отношению к ионам магния в сравнении с другими исследованными мешающими ионами (данные не приведены). Селективный

отклик к ионам Mg^{2+} был существенно выше для мембран Мб 18 и Мб22 на основе DCHQ-Ph и содержащих анионные центры ТпСІФБ- в количестве 5 и 10 вес. % соответственно. Так, для мембран Мб18 и Мб22 не было зарегистрировано существенных изменений оптического отклика в присутствии ионов аммония, щелочных Na^+ , K^+ , Li^+ и переходных металлов Pb^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} и в особенности в присутствии ионов кальция, которые часто затрудняют селективное определение магния с применением потенциометрических ИСЭ, **Рис.VII.14**.

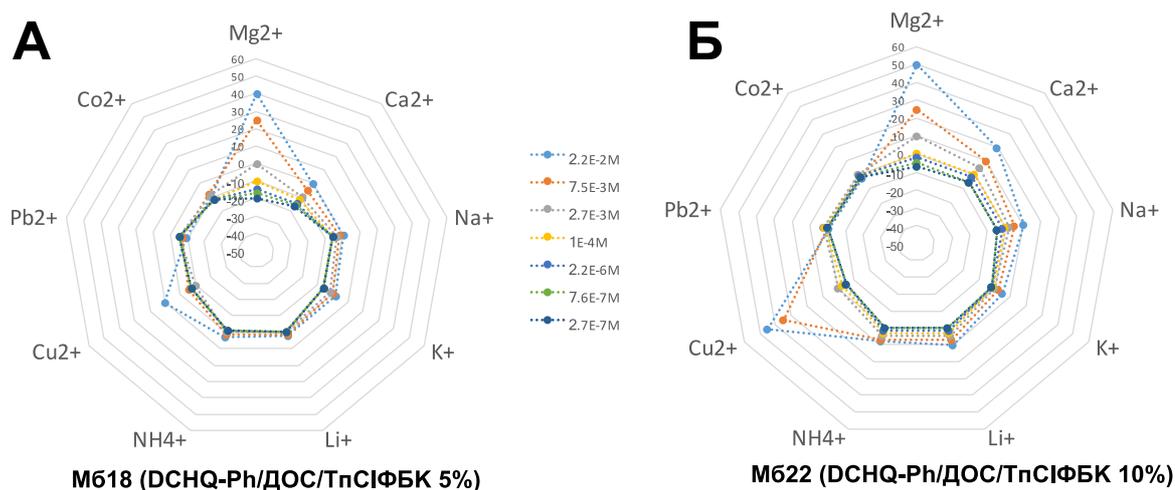


Рис.VII.14 Сравнение селективности оптодов на основе DCHQ-Ph (А): Мб18 (DCHQ-Ph/ДОС/ТпСІФБК 5%) и (Б) Мб22 (DCHQ-Ph/ДОС/ ТпСІФБК 10%).

Увеличение количества катионообменных сайтов ТпСІФБ- в мембране Мб22 приводило к увеличению перекрестного влияния катионов меди на селективный оптический отклик к магнию. Более того, что существенное влияние катионов переходных металлов Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} на оптический отклик мембран Мб18 и Мб22 было зафиксировано при концентрациях выше, чем 10^{-4} моль/л. Таким образом, полученные результаты указывают на возможность применения разработанных твердотельных оптических сенсоров на основе DCHQ-Ph для определения ионов магния(II) в сложных средах с низкими концентрациями ионов переходных и тяжелых металлов, таких как, например, природные и поверхностные воды, биологических жидкостях и т.д.

VII.2.3.4 Использование методики CSPT-LED при регистрации оптического отклика сенсоров на основе DCHQ-X

Применение бытовых электронных устройств в сочетании с твердотельными оптическими сенсорами может значительно упростить часто сложные и трудоемкие аналитические процедуры, сделав их доступными для операторов-непрофессионалов, а в ближайшем будущем, возможно, даже и для любого пользователя, желающего осуществить анализ интересующих его объектов в домашних условиях. Такой анализ в ближайшем будущем может быть выполнен

с помощью одноразовых сенсоров, например твердотельных оптодов, в которых чувствительный материал нанесён на гибкую и прозрачную полимерную подложку. Такой сенсор, помещенный на экране смартфона или планшета, позволит получить необходимую информацию об исследуемом образце посредством считывания аналитического сигнала с помощью встроенной цифровой камеры используемого бытового устройства. Для такого анализа в домашних условиях можно с легкостью применять методику CSPT. Из-за необходимости возбуждения флуорофора DCHQ ультрафиолетовым излучением, необходимо, однако подобрать монохромный источник света с достаточно небольшой длиной волны. В качестве такого источника света в наших дальнейших исследованиях использовали коммерческий светодиодный (СД) источник света на 380 нм.

Фотограмма CSPT-LED оптического отклика мембран оптимизированного состава М618 и М622 на основе DCHQ-Ph в сравнении с изменением люминесценции мембран М617 и М619, допированных DCHQ-H в присутствии увеличивающихся концентраций ионов магния приведена на **Рис.VII.15**. Возможно отметить, что использование в качестве источника возбуждающего света светодиода СД 380 нм позволило получить достаточный люминесцентный отклик для всех исследованных чувствительных мембран, включая мембраны на основе DCHQ-H.

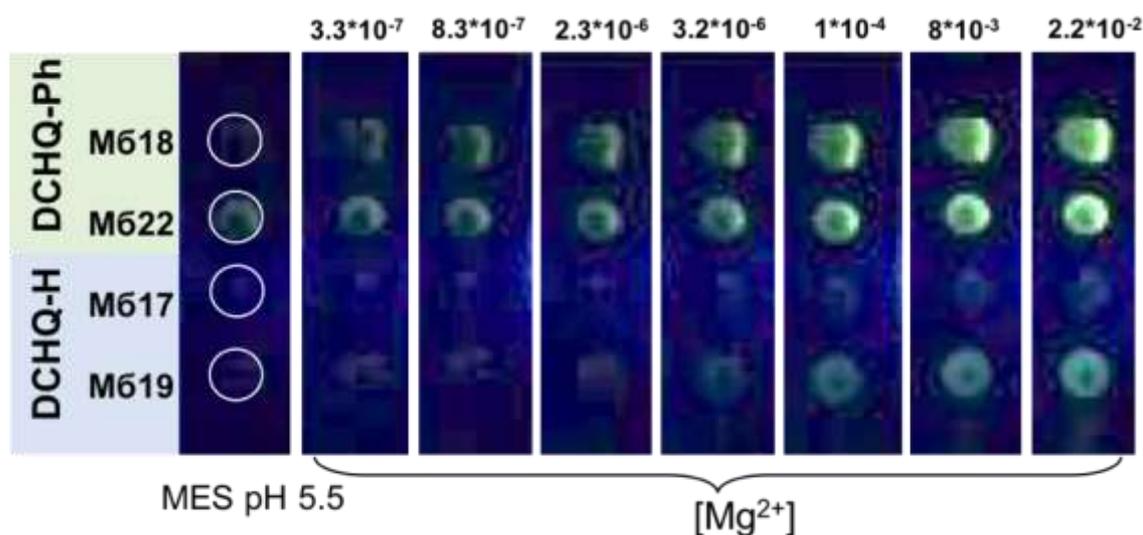


Рис.VII.15 Фотограмма оптического CSPT-СД отклика мембран на основе DCHQ-Ph и DCHQ-H в присутствии увеличивающихся концентраций ионов магния (II) на фоне 0.01 моль/л MES pH 5.5.

Изучение селективности мембран М618, М622 на основе DCHQ-Ph с применением СД 380 нм источника возбуждающего света подтвердило результаты, ранее полученные методом CSPT-UV, о низком перекрестном влиянии ионов K⁺, Li⁺, NH₄⁺, Ca²⁺, Co²⁺, Pb²⁺ и Cu²⁺ на оптическую чувствительность этих мембран к ионам

магния, явственно демонстрируя таким образом возможность упрощения методики определения магния(II) с применением бытовых электронных устройств.

Срок службы твердотельных оптодов на основе DCHQ-Ph с мембранами М618 и М622 (содержащими ионообменник в количестве 5 и 10вес.%) исследовали в течение одного месяца проводя их периодические градуировки с интервалом измерений каждые 5-6 дней к ионам Mg^{2+} в диапазоне концентраций от $2,7 \times 10^{-7}$ по $2,2 \times 10^{-2}$ М. Наклоны линейных участков градуировочного графика в координатах (относительная интенсивность люминесценции) против $-\log[Mg^{2+}]$ откладывали затем по оси ординат против шкалы времени в днях, как показано на **Рис.VII.16**. Устойчивое оптическое поведение мембраны М622 было зафиксировано в течение последних двух недель испытаний, в течение этого периода было получено лишь незначительное снижение (около 5%) люминесцентного отклика в процессе повторяющихся градуировок.

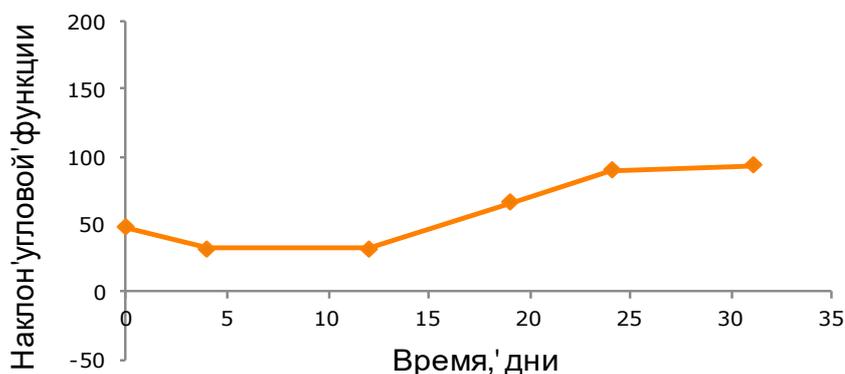


Рис.VII.16 Изменение наклона угловой функции мембраны М618 (DCHQ-Ph/ДОС/ТрСІРВК 5%) во времени.

VII.2.3.5 Применение мембран на основе DCHQ-Ph для определению магния в реальных образцах

Эффективность использования разработанных Mg^{2+} -селективных оптодов в сочетании с технологией CSPT-LED была продемонстрирована для определения содержания ионов магния в коммерческих удобрениях для комнатных цветов, а также при разработке метода косвенного определения микроцистина (МС), опасного гепатотоксина, выделяемого в процессе цветения сине-зеленых водорослей, в природных водах. Результаты анализа удобрений описаны далее, а метод косвенного определения МС, подробно рассматривается в Главе VIII.

Для определения содержания магния в удобрениях использовали метод прямой градуировки оптода с мембраной М622 состава ДОС/DCHQ-Ph/ТрСІФБК 5%вес. Для построения градуировочной кривой откладывали интенсивность люминесценции М622 по оси ординат, и изменение логарифма концентрации

ионов Mg^{2+} по оси абсцисс. Полученные значения наклона градуировочной кривой и ее пересечения с осью ординат использовали для расчёта концентрации ионов магния в водных растворах удобрений. Измерения проводили в шестикратной повторности. Полученные результаты приведены в **Табл. VII.4.**

Табл. VII.4: Результаты определения концентрации магния в коммерческих удобрениях с использованием твердотельного оптода на основе DCHQ-Ph.

Введено, мкмоль/л	Найдено, мкмоль/л	Средняя относительная ошибка определения, %
130.0	136.3	4.9
260.0	250.1	3.8

Относительная ошибка определения магния на уровне $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л (или 2.5 мг/л, соответствующий концентрации магния в живых клетках) не превышала 5 %, что указывает на высокую перспективность разработанных сенсоров для выполнения быстрого и экономически эффективного определения ионов магния(II) в образцах сложного состава (как, например, биологические жидкости, сельскохозяйственные удобрения, природные воды и пр.) с помощью бытовых электронных устройств. В частности, существенное упрощение аналитической процедуры определения магния с применением разработанного Mg^{2+} -селективного оптода было осуществлено посредством замены стационарного лабораторного оборудования (флуориметра) на метод CSPT с использованием портативной УФ-лампы (365 нм), а затем и коммерческого точечного светодиода (СД с длиной волны 380 нм) в качестве источников монохромного излучения.

Применение новых чувствительных материалов на основе гетероциклических органических соединений в мультисенсорном анализе

На протяжении трех десятилетий, прошедших с появления первых работ, посвященных анализу сложных жидких сред с применением массивов химических сенсоров, наблюдается неослабевающий рост не только популярности, но и эффективности использования мультисенсорного подхода для решения различных аналитических задач. Принцип функционирования "химических" чувств млекопитающих, послужил примером при разработке искусственных сенсорных систем, получивших, по аналогии с органами вкуса млекопитающих и человека в том числе, общее название «электронный язык». Согласно определению ИЮПАК, «электронный язык» представляет собой мультисенсорную систему, которая состоит из сенсоров с низкой селективностью и использует специальные математические (хеометрические) процедуры для обработки выходного сигнала, в частности методы распознавания образов и/или многомерный анализ данных ... " [82]. В Природе проблема недостаточной селективности вкусовых рецепторов разрешена способом, очень схожим с хеометрическим подходом, используемом в мультисенсорном анализе: рецепторы не избирательны по отношению к отдельным видам химических веществ, напротив они взаимодействуют с разной интенсивностью с группами соединений, схожих по свойствам. Информация, полученная от органов чувств, "обрабатывается" затем мозгом, с целью классификации и распознавания различных вкусов.

В применении к сенсорному анализу, такой подход может быть использован для многих важных аналитов, для которых не разработаны селективные ионофоры и методики определения. Более того, традиционные способы определения, такие как инструментальные методы анализа или использование отдельных селективных сенсоров могут быть заменены или существенно улучшены при применении мультисенсорного подхода и мульти-трансдуктивного способа передачи аналитического сигнала, как его разновидности.

В качестве экспериментальных доказательств такой возможности новые сенсорные материалы, разработанные в ходе данной работы, тестировали в составе мультисенсорных и мульти-трансдуктивных аналитических систем для количественного определения содержания неорганических анионов в биологических жидкостях, анализа качества пищевых продуктов и присутствия в них токсичных пищевых добавок, экологического мониторинга загрязнения природных вод тяжелыми металлами, оценки токсичности сине-зеленых

водорослей и количественного анализа микроцистина – опасного продукта их жизнедеятельности.

VIII.1 Мультисенсорный анализ плазмы крови человека с применением сенсорных материалов на основе Со- и Си-аминофенилпорфиринов

Преимущества применения мультисенсорного подхода вместо отдельных селективных сенсоров для увеличения селективности определения бикарбоната в плазме крови человека исследовали на примере порфирин-замещенных полианилиновых мембран. Для этой цели был составлен массив из пяти потенциометрических сенсоров с мембранами следующего состава: поли-Со(II)ТАТРР, поли-Си(II)ТАТРР, ПВХ/ДОС/Со(II)ТАТРР 1.5вес.% /ТДМАСІ 1вес.%, ПВХ/ДОС/ГЭ 2.7вес.%/ТДМАСІ 2вес.%, ПВХ/ДОС/ ТДМАСІ 2 вес.% и рН-электрода. Свойства данных мембран были изучены ранее и детально описаны в разделе IV.2 настоящей работы. Перед анализом массив калибровали в 25 искусственных растворах имитирующих состав плазмы крови человека. В каждом калибровочном растворе потенциалы сенсоров измеряли трижды, и окончательный набор данных состоял из $6 \cdot 25 \cdot 3 = 450$ показателей. Для моделирования отклика сенсорной матрицы с референтными количествами различных анионов в калибровочных смешанных растворах использовали ПЛС2, метод регрессии, позволяющий предсказывать сразу несколько интересующих параметров. Была получена линейная корреляция между откликом мультисенсорной матрицы и концентрацией ионов НСО_3^- ; ввиду ограниченного числа образцов плазмы, валидация полученной модели осуществлялась методом полной перекрестной проверки (ППП). Коэффициент корреляции для определения ионов бикарбоната составил $R^2 = 0.969$, при этом отклик сенсоров не зависел от присутствия основных мешающих ионов, салицилата и гидрофосфата, **Рис.VIII.1.**

Образцы плазмы крови пациента с респираторным ацидозом (образец А, референтное значение $[\text{НСО}_3^-] = 51.4$ ммоль/л) и здорового пациента (Д, референтное значение $[\text{НСО}_3^-] = 28.9$ ммоль/л) использовались в качестве тестовых образцов при валидации модели ПЛС1 для ионов карбоната, и полученные величины составили 50.2 ± 1.5 ммоль/л и 30.2 ± 1.1 ммоль/л для образцов А и Д соответственно. Применение мультисенсорного подхода позволило снизить среднюю относительную ошибку определения содержания НСО_3^- в плазме крови человека по сравнению с одиночными ионоселективными электродами (3.4% против 5.5%).

Бесспорными преимуществами массива сенсоров на основе порфирин-замещенных полианилиновых электрополимеризованных пленок является длительный срок службы благодаря удержанию ионофора в полимерной пленке, и возможность их миниатюризации, что существенно при анализе образцов

малого объема или необходимости измерений *in vivo* (непосредственно в живом образце). При этом стоимость разработанных сенсорных материалов значительно ниже по сравнению с известными коммерческими ионофорами, а их применение менее трудозатратно в сравнении с методами инструментального анализа.

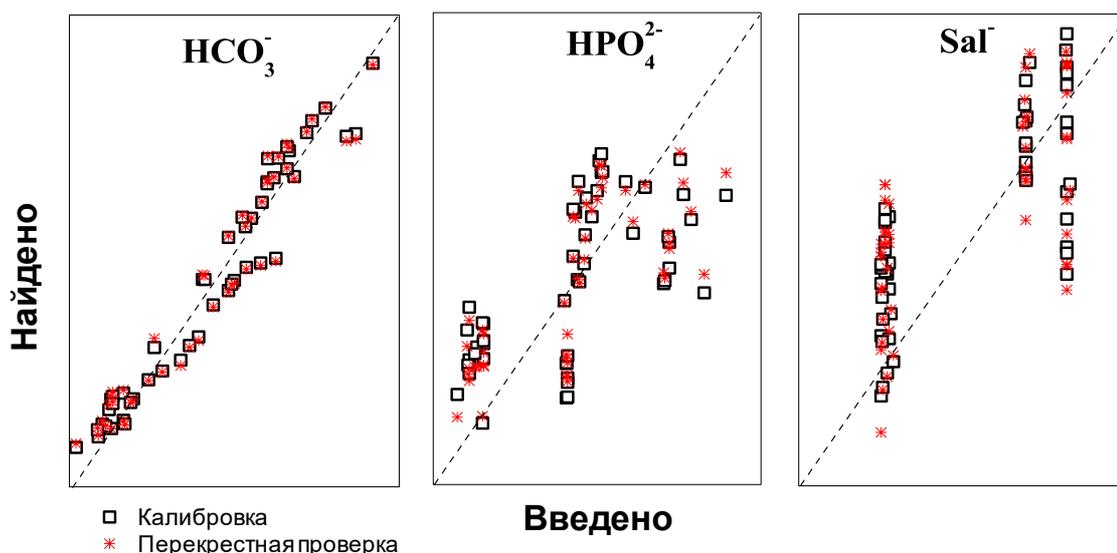


Рис.VIII.1 Результаты калибровки и ППП валидации модели ПЛС2 в многокомпонентных растворах искусственной плазмы, для определения содержания ионов бикарбоната, гидрофосфата и салицилата. Печатается из работы [268].

VIII.2 Массив оптических сенсоров на основе кумарин-замещенных флуорофоров для определения ртути в природных водах

Возможности увеличения селективности определения ионов ртути с массивом оптических сенсоров по сравнению с единичным Hg^{2+} -селективным флуоресцентным оптодом на основе лиганда **L3**, ранее описанным в разделе VII.1 настоящей работы, проиллюстрированы в Табл. VIII.1. Массив сенсоров был сформирован из двух ПВХ-мембран на основе **L3**, содержащих 5.3 % вес. ТпСІФБК и пластифицированных двумя различными пластификаторами, ДОС и оНФОЕ (Мб 10.2 и Мб 11.2, Табл. VII.1) каждая в трёхкратном повторении. В общей сложности на трансдюсера, которым служило предметное стекло было нанесено 6 чувствительных пятен. Для каждого чувствительного пятна измеряли интенсивность люминесценции в отношении трех главных цветовых компонентов видимого спектра – красного, зеленого и синего при увеличивающихся концентрациях Hg^{2+} . Определение концентрации ртути проводили в образцах природной поверхностной (озеро Альбано и река Тибр) и

питьевой воды (зона Тор Вергата), отобранных в пригородах г. Рима, Италия. Измерения проводили в трехкратной повторности. Одиночный флуориметрический оптод калибровали с применением стандартного метода градуировочной кривой; для получения корреляции между CSPT-откликом массива и содержанием ионов ртути в калибровочных растворах с известными концентрациями использовался метод регрессии ПЛС1. Набор данных для построения регрессионной модели состоял из: (2 мембраны)*(3 повторения)*(3 сигнала RGB)*(10 концентраций $[Hg^{2+}]$), в целом из 180 точек. В связи с ограниченным числом анализируемых проб, валидация проводилась методом ППП. Коэффициент корреляции для валидации полученной ПЛС1 модели составил $R^2=0.994$, СКОП=0.189 ммоль/л, **Рис.VIII.2**.

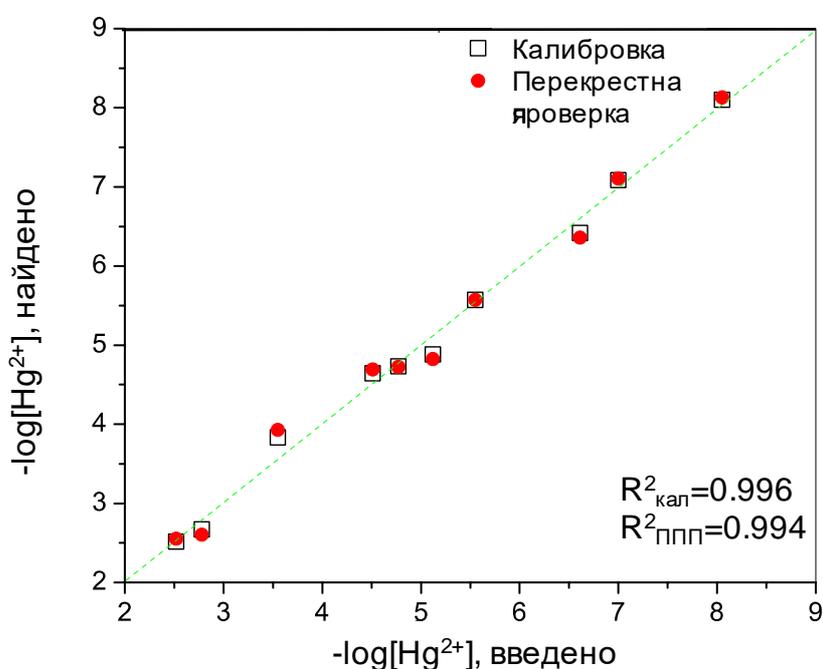


Рис.VIII.2 График «введено-найденно» ПЛС1-модели для определения концентрации ионов Hg^{2+} в природных водах.

Применение мультисенсорной матрицы позволило получить линейный отклик по отношению к иону ртути(II) в диапазоне концентраций от 9.0×10^{-9} до 3.1×10^{-3} ммоль/л, с нижним пределом обнаружения в 9.1×10^{-9} ммоль/л. В применении к анализу питьевой воды мультисенсорный подход ого подхода позволил снизить среднюю относительную ошибку определения содержания ионов Hg^{2+} с 9.81% до 4.60%, **Табл. VIII.1**. Учитывая ПДК концентрации ртути в питьевой воде 0.001 мг/л, рекомендованную ВОЗ и СанПиН 2.1.4.1074-01, данная система может быть применена для анализа реальных образцов.

Табл. VIII.1 Сравнение результатов определения содержания Hg^{2+} в образцах воды с отдельными оптодами на основе L3 и с помощью массива сенсоров.

Образец воды	$[Hg^{2+}]$ найдено после добавки в 1000 мкг/л			
	Hg^{2+} -селективный оптод		массив сенсоров	
	$[Hg^{2+}]$, мкг/л	R, %	$[Hg^{2+}]$, мкг/л	R, %
озеро Альбано	936	5.83	1136	13.6
река Тибр	1018	2.32	1088	8.80
питьевая вода	896	9.81	1046	4.60

R - средняя относительная ошибка определения.

VIII.3 Мультисенсорное определение токсинов сине-зеленых водорослей

Важной задачей при контроле качества поверхностных и питьевых вод является мониторинг распространения в них цианобактерий и выброс токсичных продуктов их жизнедеятельности. Вызываемое цианобактериальными токсинами отравление воды в настоящее время является серьезной проблемой мирового масштаба [347, 348]. Цианобактерии, известные также как сине-зеленые водоросли, могут заселять различные экосистемы, включая пресноводные, морские и почвенные среды, а также экстремальные среды обитания, такие как пустыни, горячие источники, а также арктические и антарктические среды [349]. В процессе роста токсичные штаммы цианобактерий высвобождают, как результат своей жизнедеятельности, высокие концентрации нейротоксинов и гепатотоксинов [350]. Хроническое воздействие цианобактериальных гепатотоксинов приводят к гастроэнтериту и болезням печени в организме человека [351]. Среди цианотоксинов самыми опасными токсинами являются микроцистины (MC) [352, 353]. MC относятся к семейству гепатотоксических циклических гептапептидов, и, будучи ингибиторами протеинофосфатазы, являются канцерогенами, даже если они присутствуют в наномолярных концентрациях [354]. MC состоят из семи аминокислот, среди которых наиболее токсичными являются такие фрагменты, как Adda (3-амино-9-метокси-2,6,8-триметил-10-фенилдека-4,6-диеновая кислота) и Mdha (N-метилдегидро-аланин), **Рис.VIII.3.** Основные структурные различия между различными гомологами MC, такими как LR, LA, RR и YR, обусловлены замещением отдельных аминокислот. Наиболее распространенными типами цианобактерий, производящих МЦ являются *Microcystis* и *Planktothrix*. Согласно ВОЗ, наибольшую опасность и особый интерес при определении представляют собой четыре гомолога MC: MC-LR, MC-RR, MC-LA и MC-YR [355].

Наиболее токсичным среди этих гомологов является MC-LR, содержащий фрагменты L-лейцин (L, фрагмент 2) и L-аргинин (R, фрагмент 4), и часто общее количество микроцистинов в исследуемом образце представляется по отношению к содержанию MC-LR. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) установила предварительную максимальную норму содержания MC-LR в питьевой воде на уровне 1 мкг/л [355].

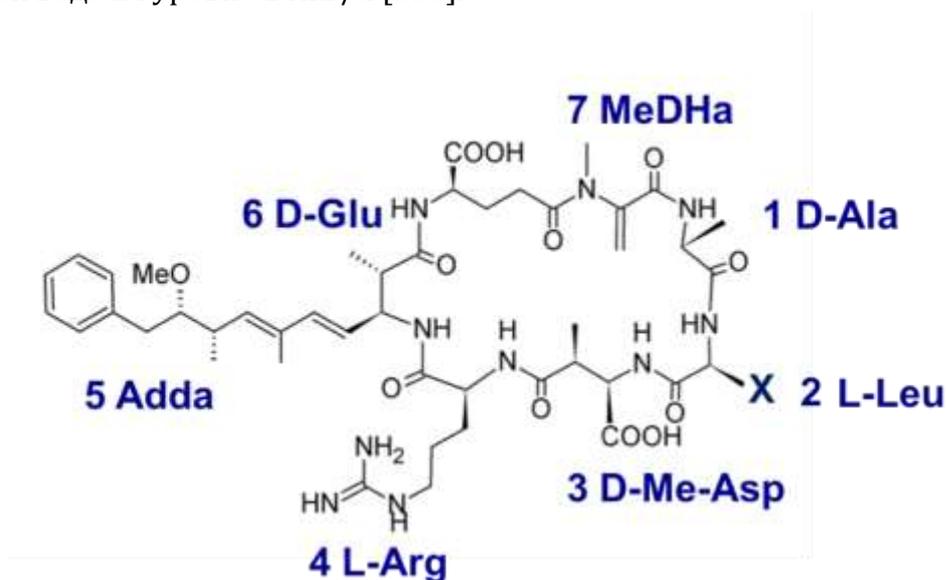


Рис.VIII.3 Химическая структура MC-LR.

Стандартные инструментальные методы анализа MC основаны на методах разделения, таких как жидкостная хроматография (ЖХ) в сочетании с масс-спектрометрией или флуориметрией [356,357]. Широко используются также сенсорные платформы с применением ферментов [358,359,360]. Основными недостатками вышеуказанных методов являются необходимость в специальном и дорогостоящем оборудовании для проведения инструментального анализа, в то время как нестабильность ферментов ограничивает возможности энзимных сенсоров. При этом примеров применения безэнзимных селективных сенсоров для прямого определения микроцистина в литературе очень немного, в основном такие сенсоры используют молекулярно импринтированные полимеры (МИП) и обладают чувствительностью на уровне мкг/л [361-363]. Приготовление чувствительных материалов на основе МИП трудоемко и требует присутствия аналита в процессе их синтеза (вокруг молекул аналита формируют МИП). Это в свою очередь приводит к добавочному загрязнению среды и большим финансовым затратам. В этой связи недорогие и нетрудоемкие аналитические системы, способные осуществлять быструю и надежную оценку токсичности MC в пробах воды, становятся все более востребованными. Применение мультисенсорного анализа с использованием безэнзимных неселективных сенсоров, отклик которых косвенным образом коррелирован с содержанием аналита представляется интересной

альтернативой стандартным методам анализа цианотоксинов. Применение такой мультисенсорной системы, или «Электронного языка», состоящего из 8 потенциометрических сенсоров, содержащих электроды с пластифицированными аниончувствительными мембранами на основе исследованных металлопорфириновых ионофоров, а также катиончувствительные датчики с халькогенидными стеклянными мембранами, для обнаружения МС в воде и распознавания различных штаммов сине-зеленых водорослей *Microcystis aeruginosa* рассмотрено в настоящем разделе.

Исследовались образцы водопроводной и природных вод, загрязненные аликвотами неорганической питательной среды ВВМ, в которой на протяжении 3-х месячного периода выращивали два штамма водорослей *Microcystis aeruginosa*: один токсичный (ТОХ), т.е. выделяющий МС в процессе метаболизма, и один не токсичный (НТОХ). Все образцы были исследованы с применением мультисенсорной системы, а также содержание в них МС было проведено стандартным методом ЖХ с флуориметрическим окончанием и с применением колориметрического энзимного метода, основанного на подавлении активности протеинофосфатазы-2А (PP2A). Подробно детали эксперимента изложены в работе [364].

VIII.3.1 Выбор сенсоров в составе мультисенсорной системы для скрининга микроцистина

В процессе роста цианобактерии выделяют большое количество различных метаболитов, мониторинг которых может быть полезным для детектирования и контроля сине-зеленых водорослей. Однако часто возможности такого мониторинга ограничены ввиду сложной биохимии бактериального роста и отсутствия селективных химических сенсоров для отдельных метаболитов. В качестве альтернативного подхода рассматривали общий качественный анализ изменения параметров среды обитания цианобактерий в процессе их роста, который, косвенным образом может дать информацию также и об изменении концентрационных профилей различных метаболитов. Для такого общего анализа могут быть успешно применены потенциометрические сенсоры, обладающие высокой чувствительностью по отношению к различным ионным частицам и имеющие обычно нижние пределы обнаружения ниже 10^{-6} моль/л. При формировании массива потенциометрических сенсоров для обнаружения МС в воде и распознавания различных штаммов сине-зеленых водорослей *Microcystis aeruginosa* учитывали необходимость одновременного детектирования наибольшего количества различных ионных частиц; в связи с этим в состав мультисенсорной системы ввели сенсоры с ярко выраженной чувствительностью по отношению к различным катионам (C1, C2), различным анионам (A1, A2, A3), а также сенсоры с отчетливой редокс-чувствительностью (CG-Cu, CG-Pb, CG-Ag), см. раздел II.5 для более подробной информации.

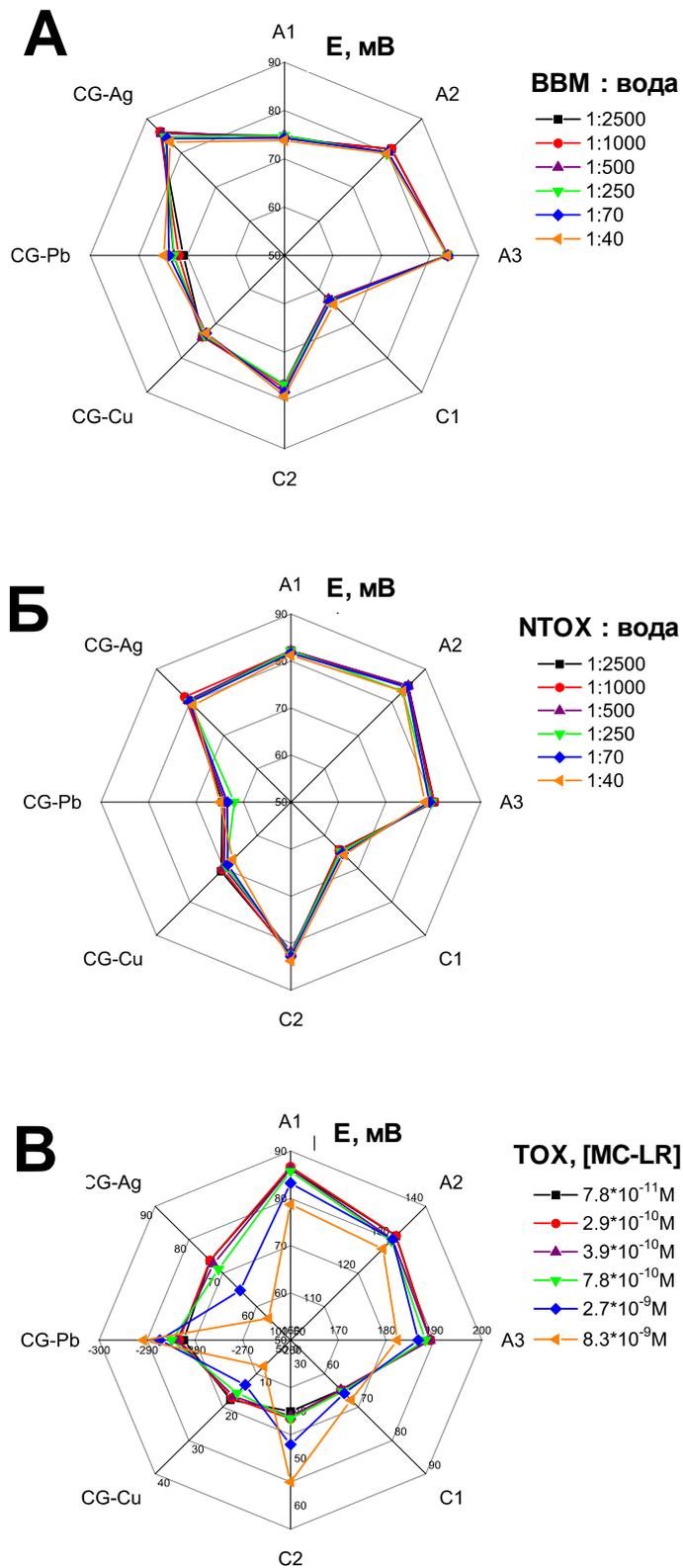


Рис.VIII.4 Отклик потенциметрических сенсоров в водопроводной воде, при добавлении: ВВМ среды (А), фильтратов выращенных в ВВМ штаммов *M. Aeruginosa* NON TOX (Б) и TOX (В), [364].

VIII.3.2 Отклик отдельных сенсоров по отношению к микроцистину

На **Рис.VIII.4** показан отклик отдельных потенциометрических сенсоров в водопроводной воде, при добавлении увеличивающихся количеств ВВМ неорганической питательной среды, а также фильтратов штаммов NON ТОХ и ТОХ *M. Aeruginosa*, выращенных в ВВМ среде. Представленные данные соответствуют 80-му дню роста штаммов водорослей, когда количество выделяемых метаболитов, и МС в частности должно быть существенным. На графике отклик каждого из сенсоров отложен по отдельной оси, при этом масштаб для всех осей сохраняли неизменным (40 мВ) чтобы иметь возможность сравнить между собой отклики отдельных сенсоров. Как видно из графика, увеличение количества добавленного в водопроводную воду неорганического питательного буфера ВВМ не вызвало существенного изменения потенциалов сенсоров, **Рис.VIII.4А**. Аналогичным образом, увеличивающееся количество фильтрата штамма NTOX *M. aeruginosa* не вызвало отчетливых изменений в отклике сенсоров, **Рис.VIII.4Б**. Напротив, добавление в водопроводную воду ТОХ фильтрата привело к значительным изменениям потенциалов сенсоров А1, А3, С2 с полимерными ПВХ мембранами, а также всех халькогенидных стеклянных сенсоров, **Рис.VIII.4В**.

Такое поведение сенсоров связывали с изменением химического состава среды, и, в частности, с выделением водорослями микроцистина. В соответствии с данными высокоэффективной жидкостной хроматографии с детектором на основе массива диодов, ВЭЖХ, количество МС-LR в изученном фильтрате ТОХ составляло 75.4 мкг/л. Таким образом, концентрация токсина в образцах рассчитанные с учетом разбавления была в диапазоне от 0.078 до 8.25 мкг/л. Ранее было показано, что при pH 7 МС проявляет высокую гидрофобность [352]. В связи с такой высокой гидрофобностью, МС будет иметь тенденцию к переходу из анализируемой водной среды и накоплению на поверхности полимерной органической мембраны, тем самым оказывая влияние на потенциал сенсора. В случае халькогенидных стеклянных электродов, возможно электростатическое взаимодействие между МС и положительно (сенсоры CG-Ag и Cu-CG) или отрицательно (CG-Pb) заряженными мембранами. Такие взаимодействия приводят к снижению потенциала сенсоров, которое может быть в свою очередь скоррелировано с изменениями в химическом составе анализируемой среды, и с содержанием МС-LR, в частности. Исходя из этих соображений, в дальнейших исследованиях использовали массив потенциометрических химических сенсоров для выявления присутствия и определения содержания МС в природных водах посредством методов хемометрического моделирования.

VIII.3.1 Мониторинг роста цианобактерий и определение содержания микроцистина

VIII.3.1.1 Калибровка массива сенсоров в стандартных растворах MC-LR

Первоначально отклик массива сенсоров по отношению к MC-LR тестировали в его стандартных растворах в диапазоне концентраций от 0,1 до 10 мкг/л на фоне водопроводной воды. Для получения корреляции между откликом массива и референтными данными о концентрации MC использовали метод ПЛС1. Нагрузки всех сенсоров были значительными и позволили получить количественную прогностическую модель. Коэффициент корреляции линейной зависимости между откликом массива и концентрацией MC в процессе ППП валидации данной модели приближался к единичному значению и составил $R^2 = 0.931$, а среднеквадратичное отклонение прогнозирования, СКОП – 0.16 мкг/л. Полученные данные свидетельствовали о возможности применения исследуемой мультисенсорной системы для определения микроцистина в реальных объектах.

VIII.3.1.2 Анализ штаммов цианобактерий *M. aeruginosa*.

На следующем этапе изучали возможность определения гепатотоксинов, выделяемых природными штаммами цианобактерий *Microcystis aeruginosa* в процессе их роста. Анализировали фильтраты питательной среды, в которой были выращены штаммы цианобактерий, в то время как собственно живые клетки водорослей предварительно отделяли, чтобы исключить возможность дальнейшего выброса их метаболитов в исследуемые образцы. С целью прогнозирования концентраций MC были выбраны наиболее репрезентативные периоды развития водорослей, соответствующие начальной стадии с низким содержанием выделяемых токсинов и конечному этапу, когда наблюдалось их старение и отмирание, сопровождающееся резким увеличением выброса токсинов. Забор проб производился дважды в неделю, тестировали образцы в семи различных разбавлениях, таким образом количество исследованных образцов составило 168 для каждого штамма.

Для получения корреляции между откликом массива сенсоров и референтными ЖХ данными о концентрации MC в исследованных растворах использовали метод ПЛС1. Коэффициент корреляции линейной зависимости между откликом массива и логарифмом концентрации MC в процессе ППП валидации приближался к единичному значению и составил $R^2 = 0.742$, **Рис.VIII.5**. Среднеквадратичное отклонение прогнозирования, СКОП, составило 0.49 единиц в логарифмической шкале концентрации MC. Предел чувствительности MC на уровне 0.014 мкг/л был оценен с применением метода 3σ ($ПЧ = 3\sigma/S$, где σ – это среднеквадратичная ошибка калибровки СКОК, рассчитанная в мкг/л, а S – угловой коэффициент регрессионной кривой на этапе калибровки, он составлял 0.803). Такой результат является перспективным, учитывая сложность

аналитической задачи и нижний предел обнаружения МС, меньше, чем установленное значение ПДК в 1 мкг/л.

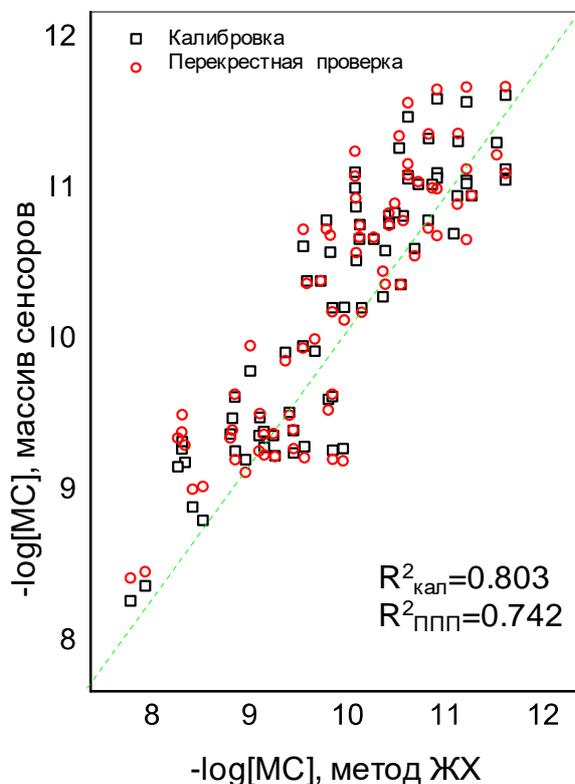


Рис.VIII.5 График «введено-найдено» ПЛС1-модели для определения содержания МС-LR в водопроводной воде с помощью массива потенциометрических сенсоров против референтного ЖХ метода [364]. См. Приложение 1 для исходных данных.

Хемометрическая коррекция дрейфа отклика сенсоров во времени была проведена посредством разбиения массива данных, измеренных потенциометрической мультисенсорной системой в течение всего периода роста цианобактерий на два подмассива, соответствующих двум различным фазам их роста: образцов с низким содержанием МС (1.9-8.3 мкг/л), собранных в течение первого месяца роста, а также образцов с существенным содержанием МС (28 - 300 мкг/л). Принимая во внимание последовательные разведения фильтратов штамма *M. aeruginosa* в питьевой воде (в соотношениях 1:3333, 1:1666, 1:1000, 1:500, 1:100, 1:20), в набор данных с низким и высоким содержанием МС входили 45 и 60 образцов соответственно. В каждом наборе в качестве тестового набора для ПЛС моделирования была произвольно выбрана одна треть образцов (15 или 20 образцов), оставшиеся образцы использовали для калибровки. Процедуру случайного разбиения (СР) повторяли 20 раз для наборов данных с низким и

высоким содержанием МС. Чтобы оценить полученные ПЛС модели, значения СКОК были усреднены для каждого из двух подмассивов данных. Результаты ПЛС прогнозирования МС посредством мультисенсорной системы представлены в **Табл. VIII.2.** Удовлетворительные коэффициенты корреляции и СКОК, ниже чем значения ПДК МС в питьевой воде, открывают новые перспективы для применения данной потенциометрической мультисенсорной системы в области экологического мониторинга.

Табл. VIII.2. Параметры регрессионных моделей для содержания МС в питьевой воде, [364].

МС, мкг/л	R ²	СКОК, мкг/л
Стандартный метод ЖХ		
1.9-8.3	0.880	0.035
28 - 300	0.954	0.297
Колориметрический энзимный анализ		
1.9-8.3	0.924	0.231
28 - 300	0.917	1.181

Табл. VIII.3. Результаты ПЛС-ДА классификации образцов токсичного и нетоксичного штаммов *M. Aeruginosa*, [364].

Ожидаемый класс	Найденная принадлежность к классу	
	ТОХ	НТОХ
ТОХ	9	2
НТОХ	0	8
не классифицирован	5	4

Была также показана возможность классификацию токсичного и нетоксичного штаммов *M. Aeruginosa* с применением метода ПЛС-ДА (ПЛС-дискриминантный анализ). Из 28 образцов, подверженных классификации, (14 фильтратов штаммов ТОХ и НТОХ соответственно), корректная классификация была получена для 61% образцов, и этот предварительный результат является удовлетворительным с учетом небольшого набора обрабатываемых данных, **Табл. VIII.3.** Применение математических методов коррекции дрейфа отклика сенсоров во времени

позволило достичь 100% корректной ПЛС-ДА классификации токсичного и нетоксичного штаммов *M. Aeruginosa*, Табл. VIII.4.

Табл. VIII.4 Результаты ПЛС-ДА классификации образцов токсичного и нетоксичного штаммов *M. Aeruginosa* после коррекции дрейфа сенсоров [365].

	Данные без коррекции дрейфа		Стандартизированные данные	
	ТОХ	НТОХ	ТОХ	НТОХ
ТОХ	16	7	23	0
НТОХ	7	10	0	17

Таким образом, эффективность мультисенсорного подхода для экспресс-оценки токсичности воды была показана на примере применения потенциометрической мультисенсорной системы на основе чувствительных материалов, разработанных в настоящей работе, для качественной оценки и количественного определения микроцистинов. Полученные результаты были сопоставлены с результатами, полученными стандартными методами ЖХ и колориметрического ферментативного анализа. Была продемонстрирована возможность успешного применения разработанного массива сенсоров для прогнозирования концентраций МС, выделяемых цианобактериями в процессе их роста.

VIII.3.2 Разработка косвенного метода определения микроцистина

Был также разработан косвенный метод определения МС с применением одиночного оптического магний-селективного оптода на основе 1,10-бис((5-фенил-8-гидрокси-7-хинолинил)метил)-1,10-диаза-18-краун-6-эфира, DCHQ-Ph, разработанного и подробно описанного в разделе VII.2. Суть метода косвенного определения МС состоит в регистрации подавления флуоресценции магний-селективного оптода, предварительно кондиционированного в растворе с известной концентрацией $MgCl_2$ с фиксированным щелочным рН, при увеличении концентрации МС-LR, Рис.VIII.6. Как упоминалось ранее, МС-LR является циклическим пептидом, несущим в своей структуре две карбоксильные (от 1 D-Me-Asp и 6-D-Glu) и одну иминогруппу от фрагмента 4 L-Ag, Рис.VIII.3. В зависимости от рН среды, МС может присутствовать в анализируемом растворе в различных формах ионизации [352]. В частности, в щелочной среде МС-LR несет двойной отрицательный заряд в связи с депротонированием карбоксильных групп. Частицы $MC-LR^{2-}$ являются потенциальными лигандами для катионов металлов за счет как электростатического взаимодействия, так и частичного комплексообразования с амидными группами пептида, служащими донорами электронной плотности. Таким образом, варьируя рН среды возможно получить

частицы МС нужного заряда, которые в процессе конкурентного взаимодействия с целевым катионом магния будут уменьшать степень комплексации DCHQ-Ph и снижать флуоресцентный отклик оптода при увеличении концентрации микроцистина.

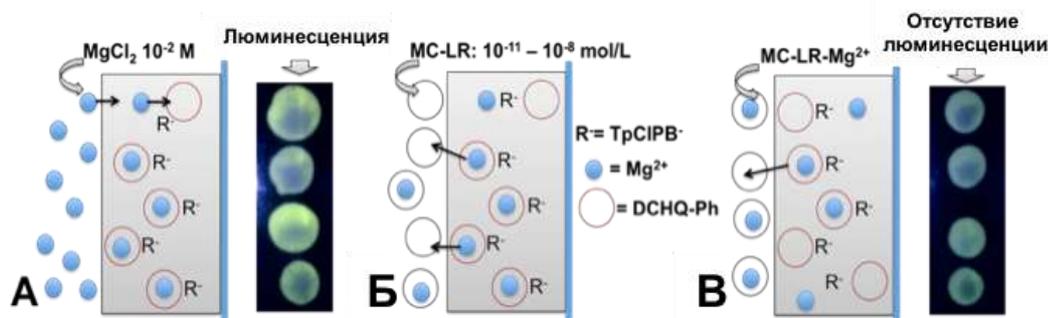


Рис.VIII.6 Схематическое представление метода косвенного определения микроцистина: А) стабилизация мембраны в растворе 0.01 моль/л $MgCl_2$ на фоне 0.001 моль/л TRIS pH 8.6; Б) добавление МС-LR; В) поток ионов Mg^{2+} из фазы мембраны, комплексация МС-LR с последующим снижением люминесценции чувствительной мембраны.

VIII.3.2.1 Анализ стандартов МС-LR

Для определения МС на прозрачное предметное стекло были нанесены две чувствительные ПВХ-мембраны на основе DCHQ-Ph, пластифицированные ДОС с различным количеством катионообменной добавки, ТрСлФБК, в 5 и 10 % вес., каждая в двукратном повторении. Предварительно мембраны кондиционировали в течение 15 минут в 0.01 моль/л растворе $MgCl_2$ с целью достижения динамического равновесия между раствором и мембранной фазой; в процессе кондиционирования регистрировали возникновение интенсивного люминесцентного свечения чувствительных пленок, возникающего в процессе комплексации целевых Mg^{2+} ионов с DCHQ-Ph. Оптический отклик мембран при добавлении МС тестировали методами прямой флуоресценции ($\lambda_{ex}=365$ нм) и CSPT-LED, в котором в качестве источника светового возбуждения служил точечный светодиод голубого цвета (380 нм). В обоих случаях была зарегистрирована линейная зависимость между понижением интенсивности оптического сигнала мембран и концентрацией МС-LR в диапазоне концентраций от 10^{-11} до 10^{-8} моль/л, **Рис.VIII.7**.

Такой оптический отклик мембран объясняли обратным потоком ионов Mg^{2+} из фазы мембраны (первоначально насыщенной Mg^{2+} , см. Рис.VIII.6А) и последующим образованием комплексов МС-LR- Mg^{2+} на границе раздела фаз раствор/мембрана, **Рис.VIII.6Б,В**. При анализе CSPT-LED нижний предел обнаружения МС-LR составил 0.05 мкг/л, что в 20 раз ниже ПДК в 1 мкг/л (в соответствии с нормами ВОЗ и СанПиН 2.1.4.1074-01 в питьевой воде).

Были также проведены исследования по оптимизации разработанного метода. В частности, было исследовано влияние pH среды в различных буферных растворах (MES 5,5; HEPES 7.2 и TRIS 8.6) и концентрации $MgCl_2$ (в диапазоне от 10^{-6} до $3/2 \cdot 10^{-2}$ моль/л) на отклик оптода к MC-LR. Оптимальные условия эксплуатации были установлены для 0.01 моль/л раствора $MgCl_2$ на фоне 0.001 моль/л TRIS с pH 8.6. Метод был апробирован для мониторинга выделения микроцистина в различными штаммами сине-зеленых водорослей *Microcystis aeruginosa* и качественной оценки токсичности природных вод.

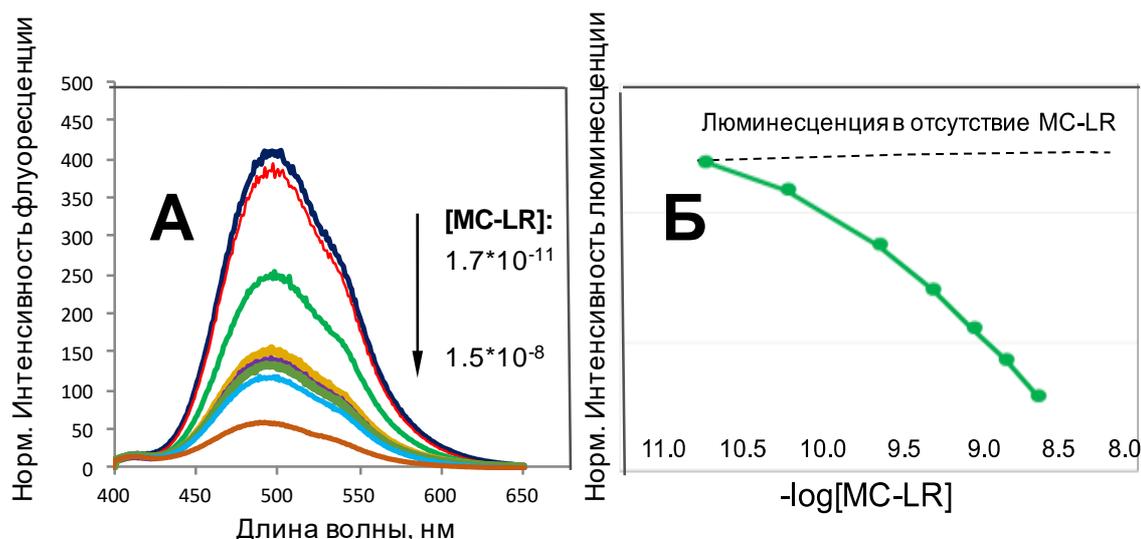


Рис.VIII.7 Оптический отклик Mg^{2+} -селективного оптода на увеличение концентрации MC-LR в фоне 0.01 моль/л TRIS pH 8.6 и 0.01 моль/л $MgCl_2$ (A) – изменение флуоресценции, $\lambda_{ex}=365nm$; (Б) изменение люминесценции методом CSPT-LED, $\lambda_{ex}=380nm$.

VIII.3.2.2 Качественная оценка токсичности природных вод

Качественную дискриминацию токсичных и нетоксичных штаммов *M. Aeruginosa* проводили с применением разработанной оптической сенсорной матрицы сформированной из мембран М618 и М622, допированных DCHQ-Ph и содержащих 5 и 10 вес. % ТпСДФБК соответственно, см. **Табл. VII.3**. Ввиду разного содержания катионообменника в этих мембранах, предполагали, что интенсивность потока первичных ионов Mg^{2+} в фазу мембраны будет отличаться, тем самым влияя на динамику формирования комплексов $Mg^{2+}/MC-LR^{2-}$ и общую чувствительность массива к изменению концентрации микроцистина в анализируемой среде. Тестировали фильтраты ВВМ в которых культивировали два токсичных штамма *M. Aeruginosa*, SAG 46.80 и SAG 17.85. Была установлена эффективность разработанного оптического массива в сочетании с CSPT-LED методом регистрации оптического отклика при идентификации этих штаммов, а также образцов, загрязненных токсичными продуктами их жизнедеятельности, **Рис.VIII.8**.

VIII.3.2.3 Применение разработанного косвенного метода для определения микроцистина в природных водах

Далее применяли метод регрессии ПЛС1 для корреляции данных, полученных с помощью массива оптических сенсоров на основе DCHQ-Ph и концентрациями MC-LR в фильтрах токсичного штамма *M.Aeruginosa* SAG 17.85, определенных референтным методом ЖХ. Ввиду небольшого набора данных для валидации регрессионной модели применяли процедуру ППП. Коэффициент корреляции для валидации полученной ПЛС1 модели составил $R^2=0.958$, СКОП=0,219 мкг/л, что в 5 раз ниже, чем концентрация MC в питьевой воде, установленное ВОЗ и СанПиН 2.1.4.1074-01, Рис.VIII.9.

В применении к анализу природных вод разработанный косвенный метод определения микроцистина в совокупности с мультисенсорным подходом позволил существенно снизить среднюю относительную ошибку определения содержания MC-LR по сравнению с одиночным селективным оптодом, **Табл. VIII.5**. Были исследованы три образца природной воды из окрестностей г.Рима, Италия (одна проба была из озера Альбано; остальные две пробы были взяты из общественных фонтанов в Риме до и после видимого зарастания водорослями). Для анализа пробы воды разводили в два раза 0.01 моль/л раствором TRIS, pH 8.6, добавляли количество $MgCl_2$ необходимое для получения конечной концентрации ионов $[Mg^{2+}]=0.01$ моль/л и затем вводили рассчитанное количество фильтра токсичного штамма SAG 17.75, в котором содержание MC было предварительно оценено с помощью референтного метода ЖХ.

Табл. VIII.5 Результаты определения концентрации микроцистина в природных водах посредством косвенного метода с применением одиночного оптода и мультисенсорной оптической системы на основе DCHQ-Ph, n=3.

Образец	Концентрация MC, найдено после добавки в 1мкг/л			
	одиночный оптод		массив сенсоров	
	Найдено	R,%	Найдено	R,%
озеро Альбано	1.89±0.23	89	1.21±0.41	21
Городской фонтан=1	1.10±0.17	10	0.89±0.15	11
Городской фонтан=2 после видимого зарастания водорослями	1.37±0.031	37	1.12±0.11	12

R - средняя относительная ошибка определения.

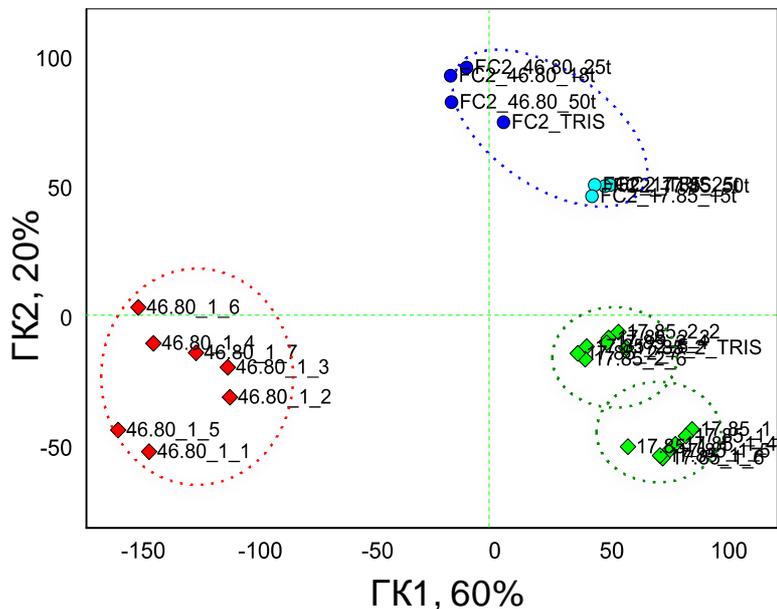


Рис.VIII.8 График счетов МГК для токсичных штаммов *M. Aerugenosa* и образцов воды (FC) загрязнённых этими штаммами.

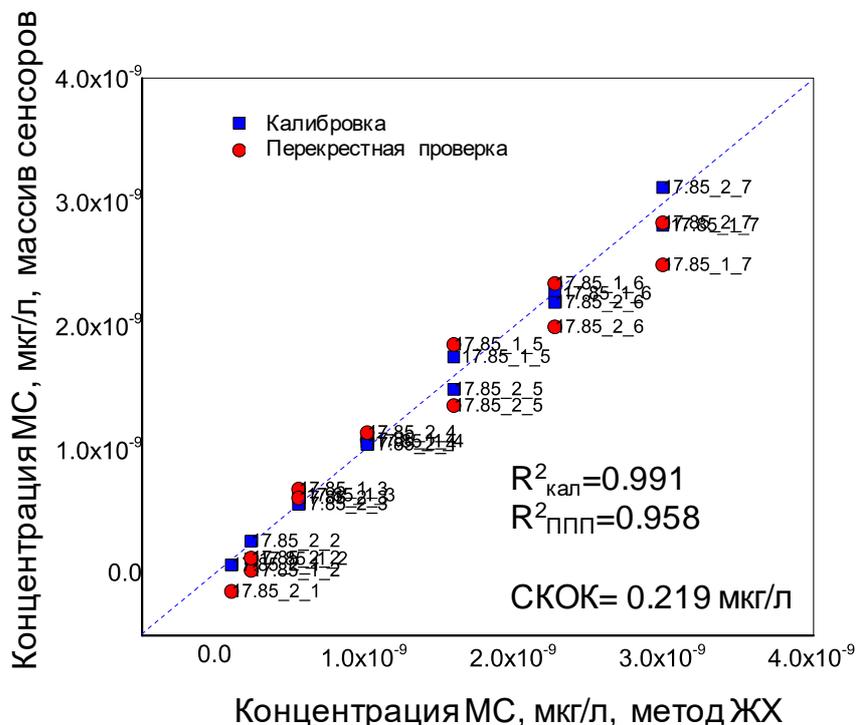


Рис.VIII.9 График «введено-найдено» ПЛС1-модели для определения концентрации МС-LR в водопроводной воде посредством массива оптических сенсоров на основе DCHQ-Ph.

Как видно из **Табл. VIII.5.**, относительная средняя ошибка определения МС с применением одиночного оптода была значительно выше, чем аналогичный показатель для массива оптических сенсоров (45.3% против 14.6%), подтверждая таким образом эффективность мультисенсорного подхода для количественного определения микроцистинов.

VIII.3.3 Применение мультисенсорного анализа к количественному определению цистеина на металлопорфирин-декорированных наноструктурах оксида цинка

В Главе V настоящей работы описаны свойства металлопорфирин-декорированных наноструктур оксида цинка и показана возможность их применения для фотоэлектрохимического обнаружения серосодержащих биомолекул, L-цистеина в частности. В этом разделе приводится обоснование полезности хемотрической обработки вольтамперометрических откликов вышеупомянутых нанокompозитных материалов в целях дальнейшего усовершенствования их эффективности в сенсорном анализе.

VIII.3.3.1 Мультивариантное разложение ДИВ-отклика ZnO/МП материалов

Отклик композитных материалов ZnO/МП, полученный методом дифференциально-импульсной вольтамперометрии (ДИВ) в темноте или при УФ-облучении (365 нм) представлял собой набор значений токов (или фототоков), протекающих через поверхность материала в процессе сканирования потенциала в диапазоне от 0 до +1.1В. В разделе V.5 чувствительность сенсоров по отношению к различным биомолекулам сравнивали посредством сравнения интенсивностей полезного тока при 0.2В. Этих данных было достаточно для селективного определения L-цистеина в бинарных растворах с десятикратным избытком таких мешающих веществ, как пролин, аланин, глицин, лизин, аргинин, глюкоза, оксалат натрия, аскорбиновая и мочева кислота. Однако, как обсуждалось в разделе V.5, на ДИВ-вольтамперограммах ZnO/МП структур в присутствии L-цистеина наблюдали многочисленные пики, соответствующие комплексным процессам окисления (например, пик на +1.0 В был зарегистрирован для немодифицированного оксида цинка, в то время как для наноструктур ZnO/CuTPPS и ZnO/Mn(Cl)TPPS были получены дополнительные процессы окисления на +0.3 В и +0.7 В). Эти данные могут быть весьма полезными для получения дополнительной информации об анализируемом образце.

Основываясь на этих соображениях, полученные вольт-амперные кривые обрабатывали как многовариантный сигнал, представляя каждую вольтамперограмму как вектор цифровых данных. Каждый такой вектор состоял из 220 элементов, соответствующих силе тока, измеренной при потенциалах, изменяющихся с интервалом в 5 мВ.

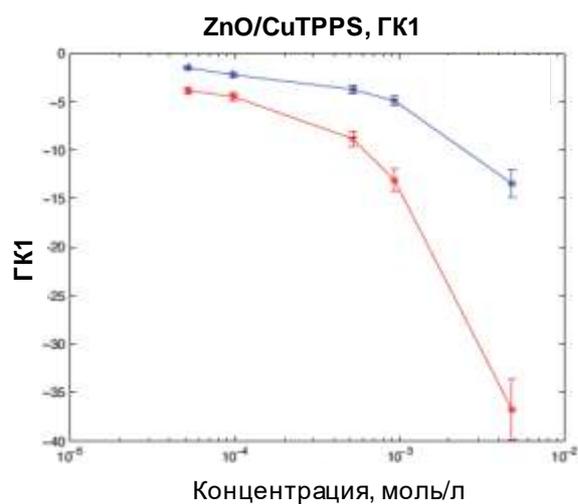
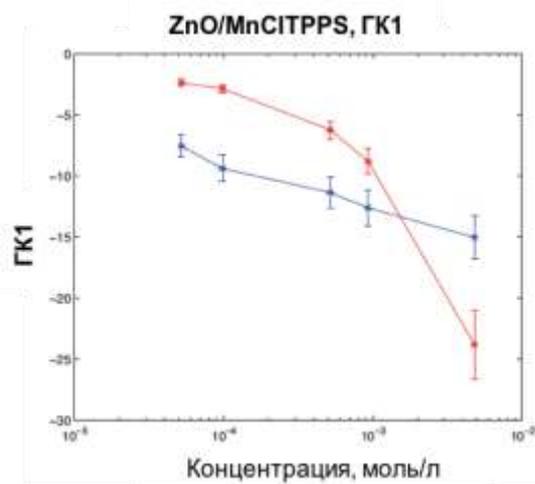
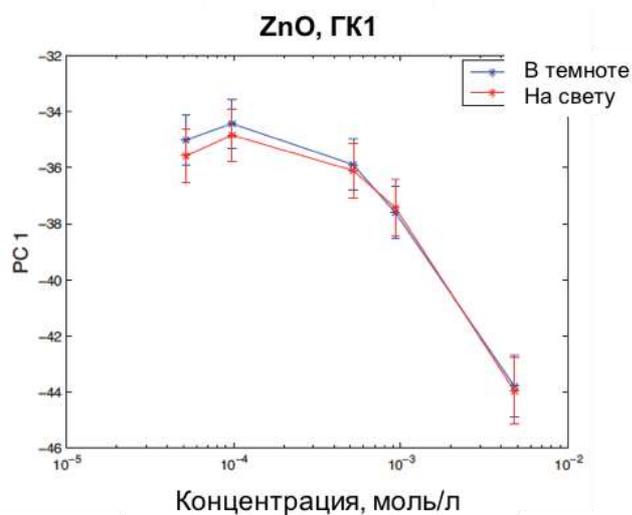


Рис.VIII.10 Изменение первой главной компоненты, ГК1, полученное из ДИВ-вольтаммограмм для немодифицированного ZnO, и нанокompозитных структур ZnO/CuTPPs и ZnO/Mn(Cl)TPPS в темноте и при облучении полихромным излучением при изменении концентрации цистеина, мол/л, [145].

С учетом шести различных концентраций L-цистеина, финальная матрица данных для каждого сенсора состояла из $6 * 220 = 1320$ элементов. Анализ матриц производили методом главных компонент (МГК); для анализа использовали ненормализованные данные. На Рис.VIII.10 показана первая главная компонента (ГК1) в сравнении с концентрацией L-цистеина. Расчет значений ГК производили из средних величин трехкратных измерений с каждым композитным материалом. Оценка дисперсии результатов МГК представлена на Рис.VIII.10 в виде величин ошибки.

VIII.3.3.2 Фоточувствительность ZnO/МП материалов

Чувствительность сенсоров в темноте (синяя линия) и на свету (красная линия) оценивали путем сравнения абсолютных величин ГК1 при разных концентрациях L-цистеина. Как видно из Рис.VIII.10, для немодифицированного оксида цинка не было получено существенной разницы отклика при облучении. Для ZnO/Mn(Cl)TPPS более чувствительный отклик был в условиях темноты, и значение ГК1 при облучении превышает ГК1 в темноте лишь при высоких концентрациях L-цистеина. Напротив, ZnO/CuTPPS является более чувствительным при облучении во всем диапазоне концентраций L-цистеина. Для обоих композитных материалов первые главные компоненты описывают свыше 95% общей дисперсии данных; при этом ГК1 для облученных материалов выше (98%), чем при измерениях в темноте (95%).

VIII.3.3.3 Селективность ZnO/МП материалов по отношению к цистеину

Хемометрический подход применяли также для оценки селективности металлопорфирин-декорированных наноструктур оксида цинка. Для этого проводили мультивариантное разложение вольт-амперных кривых, полученных в растворах, содержащих $5 * 10^{-4}$ моль/л L-цистеина и десятикратные избытки мешающих веществ. Матрица данных для МГК была сформирована посредством калибровочных данных в L-цистеине и результатов измерения в бинарных растворах. Данные, полученные в условиях условия темноты и при облучении обрабатывали по-отдельности. Первые главные компоненты для каждого набора данных откладывали на графике против изменения концентрации L-цистеина; ГК1, соответствующие бинарным растворам, содержащим интерференты представлены на графике в виде точек против концентрацией L-цистеина в 0.5 ммоль/л, Рис.VIII.11. Погрешность рассчитывали для 4 повторных измерений.

Как видно из Рис.VIII.11, было зарегистрировано существенное влияние мешающих веществ на отклик обоих композитных материалов, ZnO/Mn(Cl)TPPS и ZnO/CuTPPS в темноте, в то время как при облучении влияние интерферентов сильно ограничено. Во всех случаях наибольшее влияние на селективный отклик ZnO/МП к цистеину оказывал L-аргинин, причем в условиях облучения его влияние было очень значительным для и ZnO/CuTPPS. Этот результат можно

объяснить молекулярным строением L-аргинина, который, за счет присутствия большого количества аминогрупп, способен к специфической координации на МП центрах нанокomпозитных материалов, увеличивая тем самым их электронную плотность. Это способствует облегчению переноса электронов в зону проводимости оксида цинка при фотооблучении, увеличивая тем самым суммарный ток в системе.

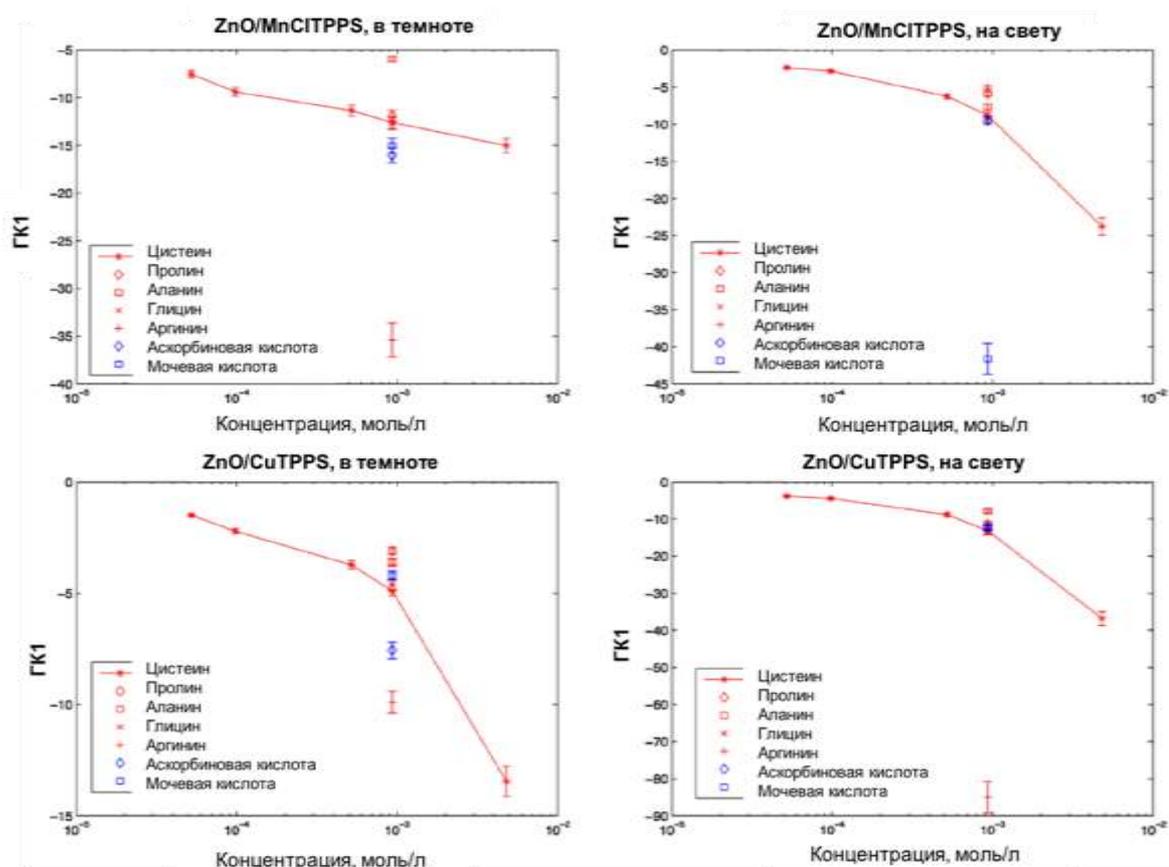


Рис.VIII.11 МГК оценка влияния мешающих веществ на селективный отклик ZnO/Mn(CI)TPPS и ZnO/CuTPPS нанокomпозитных материалов к L-цистеину в условиях темноты и облучения светом, [145].

В настоящем разделе была предпринята попытка хеометрического “сжатия” данных фотоэлектрохимического определения цистеина на металлопорфирин-декорированных наноструктурах оксида цинка. Было показано, что первая главная компонента, ГК1, извлеченная посредством метода МГК из объемного массива данных ДИВ-вольтамперограмм ZnO/МП является эффективным параметром, способным надежно описывать фоточувствительность и селективность таких материалов.

VIII.4 Мульти-трансдукционные чувствительные системы

Использование мульти-трансдуктивного способа передачи сигнала в комбинированных сенсорных системах, а также в применении к одному и тому же чувствительному материалу, может существенно улучшить аналитические характеристики и расширить спектр прикладных задач, решаемых с их помощью [366]. Мульти-трансдуктивный подход может быть рассмотрен как разновидность мультисенсорного анализа, поскольку даже в применении его к отдельному датчику происходит увеличение размерности выходных данных последнего. Полученная таким образом матрица данных может быть обработана хемометрическими методами анализа. На **Рис.VIII.12** схематически представлен принцип работы опто-электрохимической мульти-трансдуктивной аналитической системы с чувствительными мембранами на основе порфиринов (на основе ПВХ или полученных методом электрохимической полимеризации). Очевидно, что увеличение числа сенсоров (или чувствительных материалов), а также количества одновременно применяемых методов трансдукции призвано повысить эффективность такой системы.

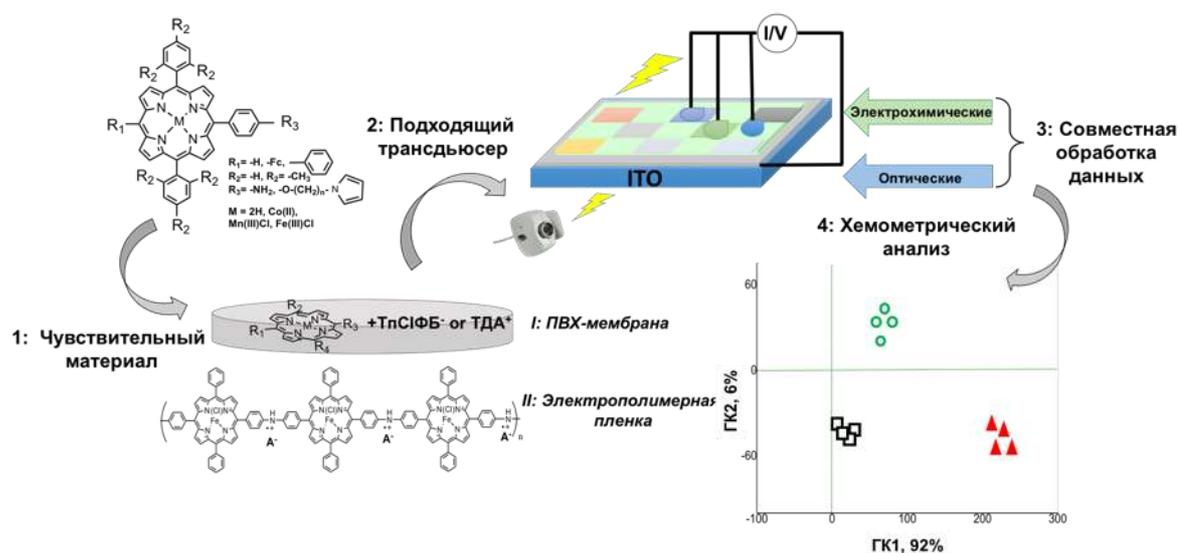


Рис.VIII.12 Схематическое представление мульти-трансдуктивной аналитической системы. Печатается из работы [366].

В литературе описано всего несколько примеров комбинированных сенсорных платформ. Так, в работе [367] Хейнеман и коллеги описали спектроэлектрохимические сенсоры с повышенной селективностью, объединяющие методы электрохимии, спектроскопии и селективного разделения в едином устройстве. Такая система состояла из полупроницаемой полимерной пленки, нанесенной на электропроводящую и прозрачную подложку, которая одновременно использовалась в качестве оптического волновода и рабочего электрода для

вольтамперометрических измерений. Благодаря использованию инновационной катионообменной полимерной чувствительной пленки на основе сульфированного полистирола, те же авторы сообщали о возможности определения различных комплексов переходных металлов из их бинарных смесей [368]. Блэр и др. разработали потенциометрические и волоконно-оптические сенсоры на основе полимерных пленок, полученных электроосаждением 5,10,15,20-тетраakis(4-гидроксифенил)порфирина кобальта(II), нанесенных на различные трансдьюсеры (дисковые электроды из стеклоуглерода (GC) и предметные стекла с ITO подложкой) [269]. Оба типа сенсоров демонстрировали повышенный отклик в отношении pH, но при этом возможность объединения различных принципов трансдукции к одной и той же чувствительной пленке с целью повышения чувствительности сенсора не обсуждалось. Ванг и Свенсен разработали светоизлучающий органический полевой транзистор (LEOFET), работающий в режиме двойной трансдукции, для анализа газов [369]. Группой американских ученых был запатентован в 2007 году механизм мульти-трансдукции на основе микрожидкостных датчиков [370]. Такие устройства используют два механизма трансдукции, электрохимический и оптический для одной и той же молекулы, с целью идентификации присутствия определенного аналита, либо определения его концентрации (или обоих параметров). Используемые чувствительные молекулы состояли из рецепторного фрагмента, или ионофора (применяли краун-эфиры или азокраункалехарены) и светочувствительной единицы, или хромофора (применяли антрацен, ксантеновые красители и т.д.). Процесс связывания аналита регистрировали путем двух различных трансдуктивных механизмов, что приводило к двум сигналам (флуоресцентному и электрохимическому), каждый из которых обеспечивал независимое измерение концентрации анализируемого вещества. Авторы предполагают, что сравнение этих двух измерений концентрации позволяло оценить надежность измерений, а также проводить внутреннюю градуировку сенсоров или идентифицировать необходимость их замены. Тем не менее, возможность совместной обработки данных, полученных путем двух различных механизмов трансдукции, с целью улучшить конечный результат анализа, не рассматривалась.

VIII.4.1 Важность предобработки данных полученных от мульти-трансдуктивных сенсорных систем

При обработке данных, полученных от мульти-трансдуктивных сенсорных систем особенно актуальной становится необходимость их предобработки с целью учета различий в размерностях и дисперсии величин, полученных посредством различных принципов трансдукции. В ходе работы были исследованы опто-электрохимические чувствительные платформы на основе одного и того же чувствительного слоя. В таких системах оценка CSPT-

оптического отклика одного или нескольких сенсорных материалов производится одновременно с потенциометрическим или вольтамперометрическим сигналом.

Электрохимические отклики сенсоров представляли собой потенциалы, измеренные в милливольтгах (мВ), или токи в миллиамперах (мА) полученные соответственно в процессе потенциометрических или вольтамперометрических измерений. Величины потенциалов и токов могут принимать положительные или отрицательные значения и колебаться от десятков до сотен единиц в зависимости от состава анализируемого образца. Результат измерения CSPT представляет собой относительное изменение люминесцентности чувствительного слоя, зафиксированное при воздействии на него анализируемого вещества и облучении моно- или полихромным светом состоящим из последовательного варьирования 50 цветов (полученных путем смешивания трех основных цветовых компонентов: красного, зеленого и синего, RGB). Люминесцентность чувствительного материала рассчитывается как усредненное значение интенсивности свечения всех пикселей, находящихся внутри выбранной чувствительной зоны за вычетом интенсивности свечения фона (рассчитывается для области на поверхности трансдьюсера, свободной от чувствительной пленки). В целом, интенсивность люминесценции, измеренная методом CSPT изменялась в диапазоне от 0 до 250 единиц, но также могла принимать и отрицательные значения, в случае когда чувствительная пленка становится "более прозрачной", вследствие формирования внутри ее структуры крупных агрегатов лиганд/аналит, и, следовательно, становится более светопропускаемой (см. например случай оптического отклика пленок на основе TPFc₄, описанный в разделе VI.2.3.2).

Для придания одинакового статистического веса набору таких разнородных исходных данных использовали их нормировку и центрирование. Наиболее распространенным методом нормировки, используемом при хемометрической обработки данных является нормировка каждой переменной на стандартное отклонение, рассчитанное по всем измеренным образцам для данного чувствительного материала. Такая нормировка призвана нейтрализовать влияние скрытых факторов. В процессе центрирования происходит выравнивание разброса значений. После такой предварительной обработки набор данных подлежал последующему хемометрическому анализу с применением разведочного метода МГК, метода классификации SIMCA и методов регрессии (ПЛС в частности).

VIII.4.1.1 Анализ пищевых растительных масел с применением проточной опто-потенциометрической аналитической системы на основе порфиринов

Как уже отмечалось выше, мультитрансдукционный подход имеет большой потенциал благодаря возможности создать экономически эффективные,

портативные и носимые устройства, работающие в режиме реального времени в сочетании с привычными устройствами. Эти свойства особенно важны при обычном применении, например, для непрерывного мониторинга окружающей среды или контроля качества пищевых продуктов.

В качестве примера применения мульти-трансдуктивного подхода интересным представляется рассмотреть анализ пищевых растительных масел (в частности подсолнечного, кукурузного и оливкового) с применением мультисенсорной системы на основе ранее изученных полимерных ПВХ-мембран на основе различных порфириновых (Co(II)TATPP и PtOEP) и корроловых (TPCorrH₃, TPCorrMnCl, TPCorrFeCl, Tt-butPCorrCu) ионофоров. Данные мембраны были нанесены на предметное стекло с ITO подложкой, которое было помещено в проточную ячейку, через которую пропускали экстракты масел в этаноле на фоне 0.01 моль/л KCl и одновременно фиксировали их потенциметрический и CSPT-оптический отклик. Было установлено, что применение оптического и потенциметрического методов по отдельности не позволило различить масла в зависимости от их растительного источника, в то время как совместная обработка опто-потенциметрического отклика массива сенсоров дала возможность наблюдать различия между оливковым и другими растительными маслами. Кроме того, применение мульти-трансдуктивного подхода позволило осуществить контроль за содержанием полиненасыщенных линоленовой (в диапазоне концентраций 5-25 ммоль/л) и линолевой кислот, L-глутаминовой (1.3-1.6 ммоль/л) и L-аскорбиновой (10-50 ммоль/л) кислот в исследуемых маслах, **Рис.VIII.13**.

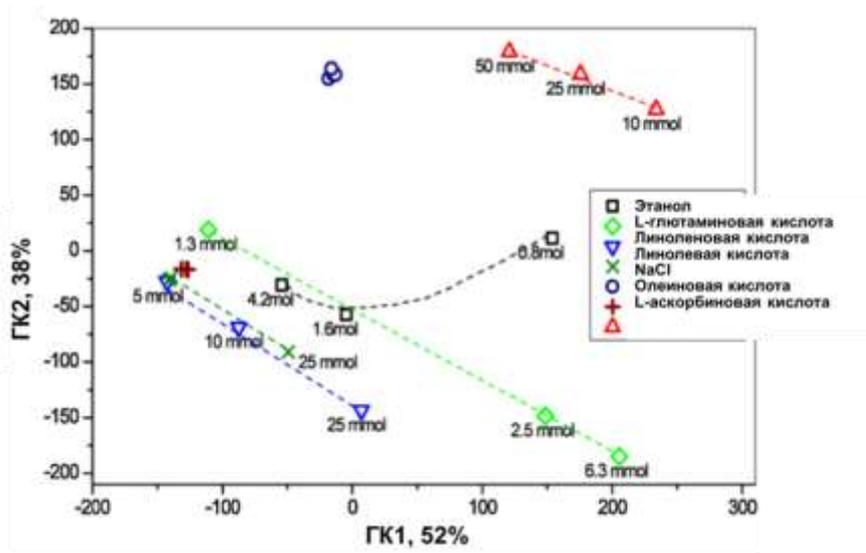


Рис.VIII.13 График счетов МГК для идентификации компонентов растительных масел по результатам CSPT-потенциметрических измерений мультисенсорной системы на основе металлопорфиринов и корролов, [37].

Однако, серьезным недостатком разработанной CSPT-потенциометрической системы была низкая адгезия ПВХ-мембран к поверхности ИТО подложки, вызванная непрерывным воздействием этанол-разведенных масляных экстрактов в режиме проточных измерений. Такая низкая адгезия требовала частой замены мембран и, как следствие, необходимости в частых повторных калибровках сенсорного массива. Как упоминалось ранее, проблему низкой адгезии сенсорных пленок решали путем формирования на поверхности применения устойчивых и химически привязанных на поверхности ИТО подложки порфирин-замещенных полипиррольных электрополимеризованных пленок, которые подробно исследованы и описаны в разделе IV.3. Эти пленки были затем использованы для CSPT-вольтамперометрического анализа токсичных пищевых красителей группы Судан.

VIII.4.1.2 Аналитическое определение красителей группы Судан

Диаза-конъюгированные судановые красители были выбраны в качестве примера ред-окс-активных аналитов в связи с наличием в их структуре двойной N-N связи, а также благодаря возможности их восстановления или окисления на соответствующем рабочем электроде, [371, 372], **Рис.VIII.14**. Эти соединения запрещены в качестве красящих добавок к пищевым продуктам из-за возможных канцерогенных эффектов, однако ввиду частого незаконного использования (например, для усиления цвета специй, кетчупов, и даже яичных желтков), их определение является актуальной задачей.

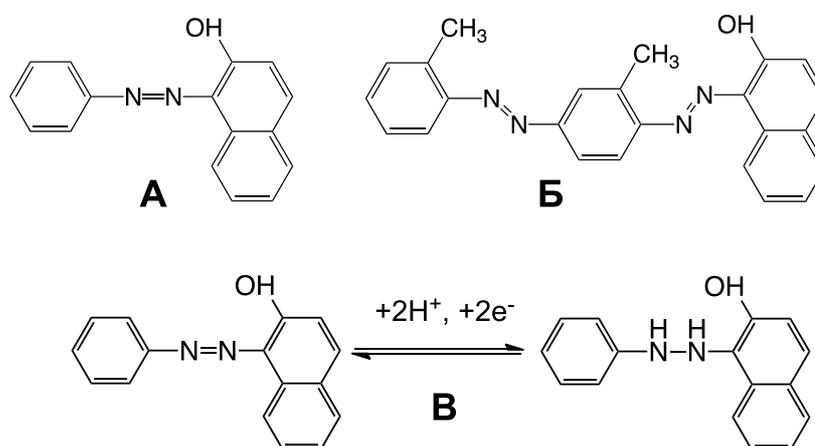


Рис.VIII.14 Химические структуры (A) Судана I, (Б) Судана IV. (B) Процесс электрохимического окисления Судана I.

Ранее проводились интенсивные исследования возможности определения судановых красителей электрохимическими методами, однако в связи с их похожим электрохимическим поведением, различать между собой эти схожие по структуре и свойствам соединения не представлялось возможным [373]. Для решения этой задачи в данной работе использовали описанные выше

чувствительные пленки на основе моно-пирролзамещенных порфиринов Co(II) и Mn(III)Cl, в частности **Моно10**, **МоноMn10**, **МоноCo10** и **МоноCo5**.

Различия в ДИВ-амперометрических и CSPT-оптических откликах порфирин-замещенных электрополимеризованных пленок в индивидуальных водных растворах красителей Судан I и Судан IV показаны на **Рис.VIII.15**. В отличие от мембраны **Моно10**, которая не показала полезного электрохимического сигнала в растворах обоих красителей, информативные пики, соответствующие процессу восстановления Судана I были получены для **МоноCo10** и **МоноCo5** при потенциале -0.7 В. В растворе Судана IV были зарегистрированы два пика на -0.5 и -0.7В, соответствующие последовательным процессам восстановления двух двойных N-N связей. Для пленок **МоноMn10** в Судане I и Судане IV было зафиксировано полное глушение электрохимического отклика, вероятно, из-за аксиальной координации хлорид-аниона на Mn(III).

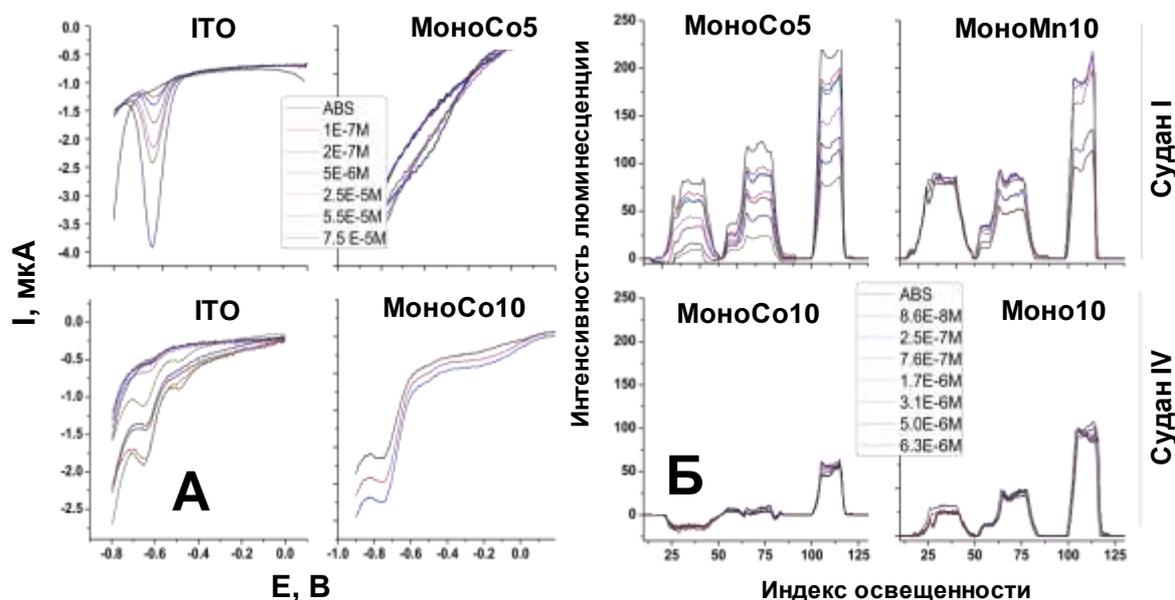


Рис.VIII.15 (а) ДИВ-амперометрический и (б) CSPT-оптический отклик порфирин-замещенных электрополимеризованных пленок в растворах красителей Судан I и Судан IV.

CSPT-оптический отклик был наиболее выражен для **МоноCo5** и **МоноMn10** порфириновых электрополимеризованных пленок в растворах Судана I, с поглощением преимущественно в зеленых и синих регионах полихроматической развертки сигнала. Совместная обработка опто-амперометрического отклика массива сенсоров позволила различать смеси диазо-конъюгированных красителей, а также наблюдать изменение концентрации отдельных красителей, **Рис.VIII.16**.

Разработанную опто-амперометрическую мультисенсорную систему тестировали для детектирования диаза-ароматических Судановых красителей в красителях в пищевых продуктах, в частности в трех коммерческих сортах соуса кетчуп: Kraft, Calve, Tabasco. Экстракты кетчупов в этиловом спирте анализировали в прозрачной измерительной ячейке в 3 мл фонового раствора ABS, содержащего этанол в количестве 20% по объему. В раствор добавляли последовательно 50 и 100 мкл экстракта кетчупа, а затем 50 мкл $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л стандартного раствора Судана I и 100 мкл $2.6 \cdot 10^{-5}$ моль/л стандартного раствора Судана IV.

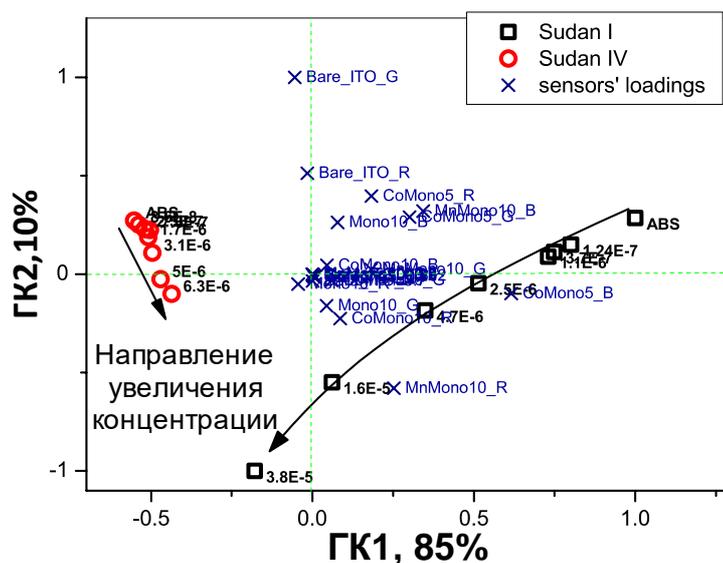


Рис.VIII.16 МГК определение Судановых красителей по результатам CSPT-амперометрических измерений мультисенсорной системы на основе порфирина-замещенных полимерных мембран, полученных методом электрополимеризации. См. Приложение 1 для исходных данных.

На **Рис.VIII.17** в качестве примера приведены ДИБ и CSPT-отклики порфирина-замещенной полимерной пленки **МоноСо10** в экстрактах кетчупа до и после добавок красителей Судан I и Судан IV. Возможно отметить, что ДИБ-отклик пленки в фоновом растворе ABS и во всех кетчупах был идентичным и сигналов, соответствующие процессу восстановления Судановых красителей обнаружено не было, таким образом подтверждая отсутствие этих вредных добавок в анализируемых образцах. CSPT-отклик **МоноСо10** в экстракте кетчупа Calve походил на отклик в ABS, однако в синем регионах полихроматической развертки освещения получили увеличение интенсивности люминесценции пленки, соответствующее изменению цвета анализируемого образца (экстракт был окрашен в розовый цвет). Такое изменение цвета в случае данного конкретного определения не связано с присутствием Судановых красителей (как было

подтверждено из данных ДИВ анализа), однако может нести существенный дополнительный вклад при мультикомпонентном анализе окрашенных образцов.

ДИВ и CSPT-отклики порфирин-замещенных полимерных пленок **Моно10**, **МоноMn10**, **МоноCo10** и **МоноCo5** обрабатывали затем совместно с целью классификации исследованных образцов кетчупа. Для дискриминации использовали метод формального независимого моделирования классовых аналогий, SIMCA. Были построены модели для двух красителей, Судана I и Судана IV, а неизвестными образцами служили «чистые» экстракты кетчупов и экстракты кетчупов с доавками Судановых красителей в количестве $7 \cdot 10^{-7}$ моль/л для каждого из них. На Рис.VIII.18 приведен результат SIMCA дискриминации в форме графика Кумана, на котором показаны расстояния от неизвестных образцов до двух классов.

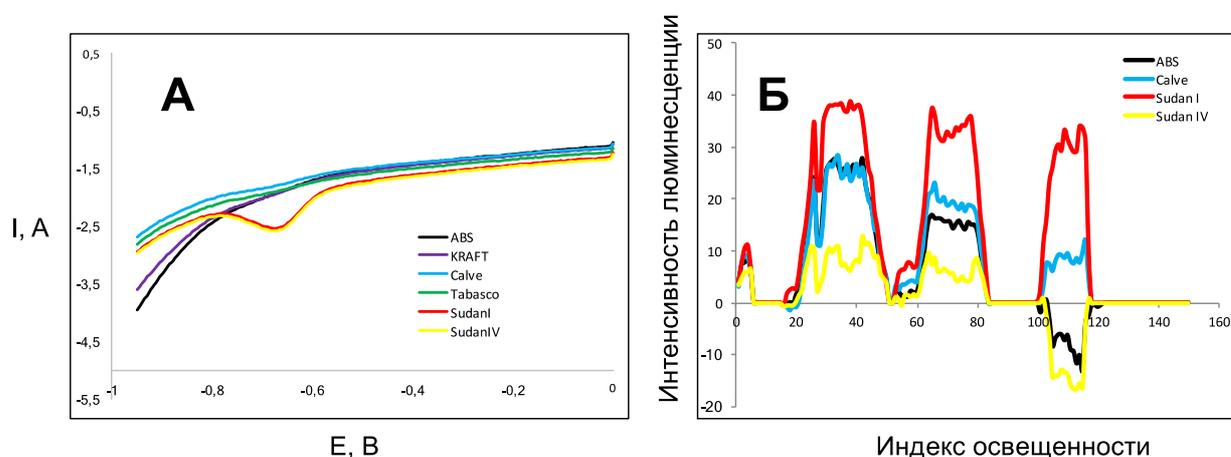


Рис.VIII.17 (А) ДИВ-амперометрический и (Б) CSPT-оптический отклик порфирин-замещенной полимерной пленки МоноCo10 в экстрактах кетчупа и после добавок красителей Судан I и Судан IV.

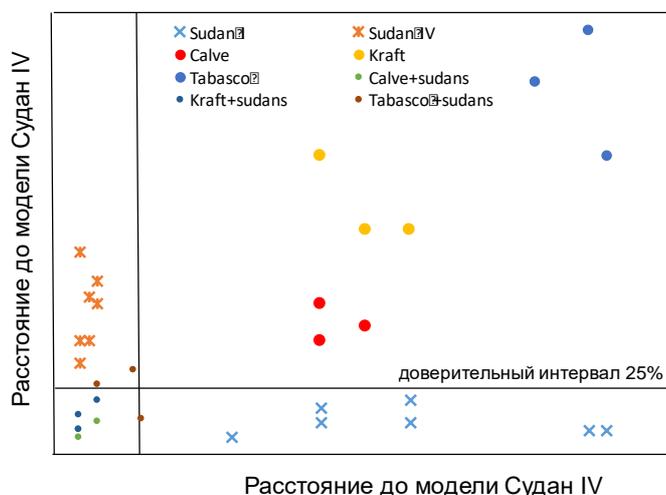


Рис.VIII.18 График Кумана для классификации образцов кетчупов.

Вертикальная и горизонтальная линии определяют доверительный интервал в 25%, при попадании внутрь которого неизвестные образцы могут быть отнесены к одному из классов. Как видно, все образцы кетчупа были классифицированы как не принадлежащие ни к одному из классов, свидетельствуя об отсутствии в них вредных Судановых добавок. Образцы кетчупов специально загрязненные Судановыми красителями были классифицированы как принадлежащие к обоим классам, подтверждая таким образом, перспективность порфирин-замещенных полипиррольных мембран для разработки опто-электрохимических мультисенсорных систем для определения пищевых красителей.

VIII.4.1.3 Мониторинг загрязнения природных вод переходными и тяжелыми металлами

В Главе VI рассматривается применение тетраферроценил-порфирина $TPFc_4$ в качестве лиганда для оптического и потенциометрического определения ионов переходных металлов. Будучи простым примером донорно-акцепторной светочувствительной системы, $TPFc_4$ показал особую эффективность при использовании оптической CSPT-трансдукции сигнала. Заметного улучшения эффективности сенсоров на основе $TrFc_4$ для анализа водных растворов солей переходных металлов удалось достичь при совместной обработке данных потенциометрического и CSPT-оптического откликов, **Рис.VIII.19**.

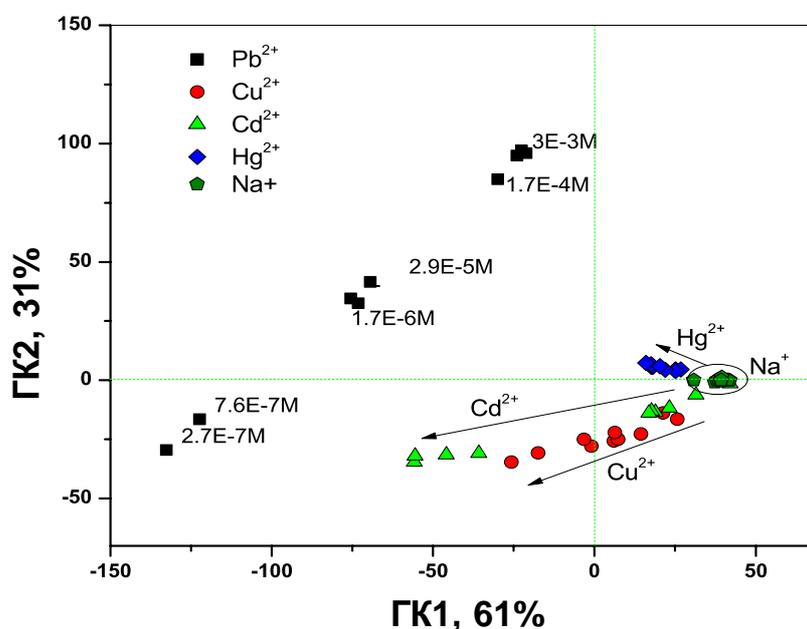


Рис.VIII.19 График счетов МГК для определения ионов переходных металлов по результатам CSPT-потенциометрических измерений с сенсорами на основе $TPFc_4$ -допированных полимерных мембран.

В частности, с применением хемометрического разведочного метода главных компонент (МГК) была показана возможность различать все исследованные индивидуальные растворы целевых катионов, а также наблюдать изменение их концентрации в серии градуировочных растворов. Для получения корреляции между CSPT-потенциометрической откликом сенсоров на основе ТРФС₄ и референтными данными о концентрации ионов свинца в калибровочных растворах применяли метод ПЛС-регрессии (метод проекций на латентные структуры). Линейная зависимость между откликом сенсоров и определяемой концентрацией ионов свинца с коэффициентом корреляции $R^2 = 0.983$ была получена в диапазоне концентраций от 2.7×10^{-7} до 3.0×10^{-3} моль/л. Среднеквадратичное отклонение прогнозирования, SKOP, составило 3.9 мкмоль/л, а нижний предел обнаружения свинца был 0.17 мкмоль/л, что находится на уровне ПДК Pb²⁺-ионов в природных водах.

Другим примером аналитической системы для мониторинга загрязнения природных вод переходными и тяжелыми металлами является мультитрансдукционный массив на основе сенсоров с полимерными ПВХ мембранами, одновременно содержащими два мембраноактивных компонента: мезотетраферроценпорфирин, ТРФС₄, и 5-(7-метокси-кумарин-4-метил)2,8-дитиа-5-аза-2,6-пиридинофан, **L3**. Эти соединения показали себя как эффективные хромофоры для селективного флуориметрического обнаружения ионов переходных металлов, Pb(II) и Hg(II), соответственно. Было обнаружено, что флуоресценция лиганда **L3** увеличивается по мере роста концентрации ртути, в то время как при увеличении концентрации Pb(II) происходило гашение флуоресценции ТРФС₄, см. Главу VI и раздел VII.1. Для получения сенсоров с высокой перекрестной чувствительностью к обоим металлам в состав полимерных мембран сенсоров вводили одновременно оба флуорофора, ТРФС₄ и **L3** в разных соотношениях.

Массив состоял из пяти полимерных ПВХ-мембран, нанесенных на специально выделенные участки предметного стекла с ИТО подложкой. Мембраны М1 и М5 содержали только один флуорофор ТРФС₄ (1% по весу по отношению к массе мембраны) и **L3** (3% по весу по отношению к массе мембраны), соответственно; в то время как мембраны М2, М3 и М4 были приготовлены путем смешивания мембранных коктейлей М1 и М5 в различных соотношениях: 2:1, 1:1, 1:2 по объему [366], **Рис.VIII.20**. В мембраны М1 и М5 были также включены липофильные анионные сайты TrClPB- в количестве 5% по весу. Для приготовленного таким образом массива осуществляли одновременную регистрацию потенциометрического и CSPT-оптического отклика. Все измерения выполняли в прозрачной кювете, в которую также помещали насыщенный каломельный электрод сравнения для осуществления потенциометрических измерений.

Как показано на **Рис.VIII.21А**, применение метода МГК к потенциометрическим данным, полученным от мультисенсорной системы,

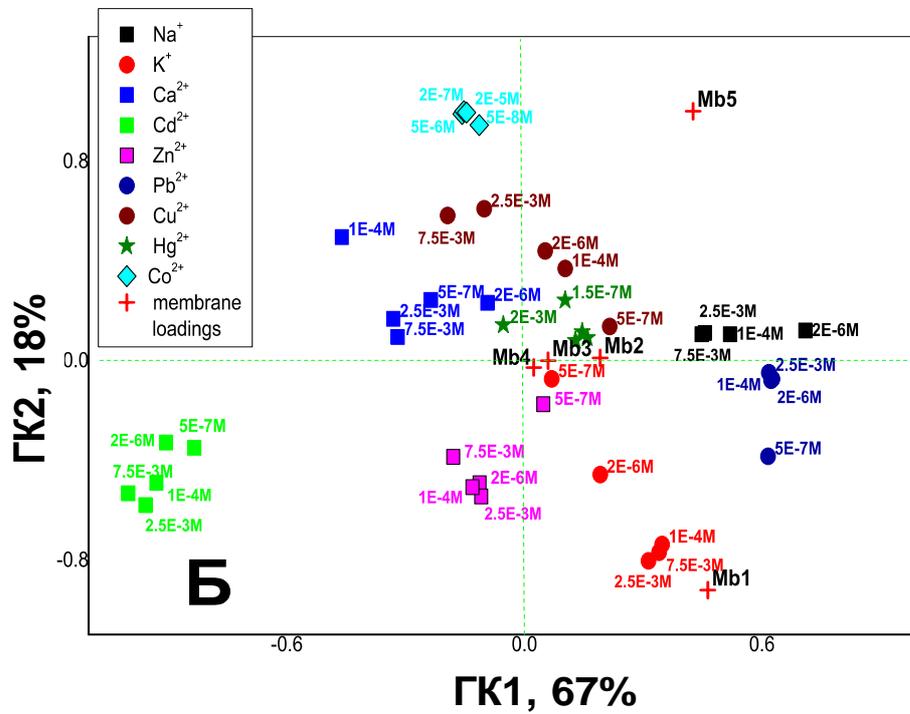
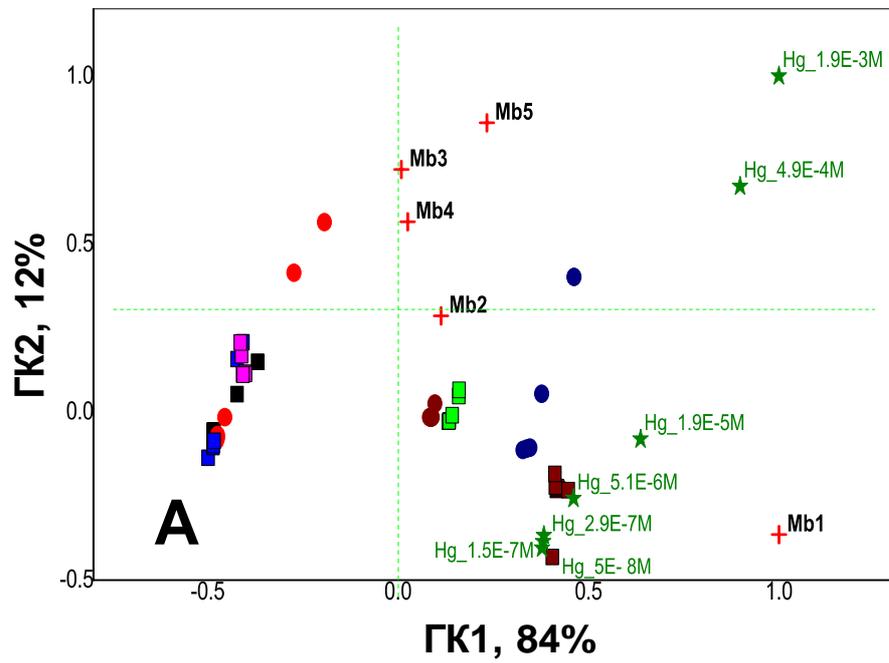
позволило выявить различия между образцами воды, загрязненными хлоридами щелочных и щелочно-земельных металлов, и водой, загрязненной солями переходных металлов. Применение метода CSPT позволило четко идентифицировать все катионы, а также наблюдать изменение их концентраций, **Рис.VIII.21Б**. Совместная обработка потенциометрического и оптического сигналов мембран М1-М5 позволила различить все исследованные ионы металлов во всех концентрациях, **Рис.VIII.21В**.



Рис.VIII.20. Схематическое представление аналитической системы для мониторинга загрязнения природных вод на основе флуорофоров TPFc₄ и L3.

При этом самые высокие нагрузки и, следовательно, самое большое влияние на результат идентификации МГК оказывали мембраны М1 и М5 на основе отдельных хромофоров. Однако, МГК обработка данных, полученных только с применением этих двух мембран, функционирующих в комбинированном CSPT-потенциометрическом режиме, не позволило успешно идентифицировать изученные образцы вод, загрязненных ионами различных металлов (данные не указаны), что свидетельствует о целесообразности применения для мультитрансдукционного мультисенсорного анализа перекрестно-чувствительных мембран М2-М4 на основе двух ионофоров TPFc₄ и L3 с противоположной люминесцентной активностью.

Для получения корреляции между CSPT-потенциометрической откликом разработанной аналитической системы и референтными данными о концентрациях ионов металлов в калибровочных растворах применяли регрессионный метод ПЛС2. Результаты валидации ПЛС2 методом полной перекрестной проверки, ППП, приведены в **Табл. VIII.6**. Линейная зависимость между откликом сенсоров и определяемой концентрацией ионов свинца с коэффициентом корреляции $R^2 = 0.983$ была получена в диапазоне концентраций от 2.7×10^{-7} до 3.0×10^{-3} моль/л. Среднеквадратичное отклонение прогнозирования, СКОП, составило 3.9 мкмоль/л, а нижний предел обнаружения свинца был 0.17 мкмоль/л, что находится на уровне ПДК Pb²⁺-ионов в природных водах.



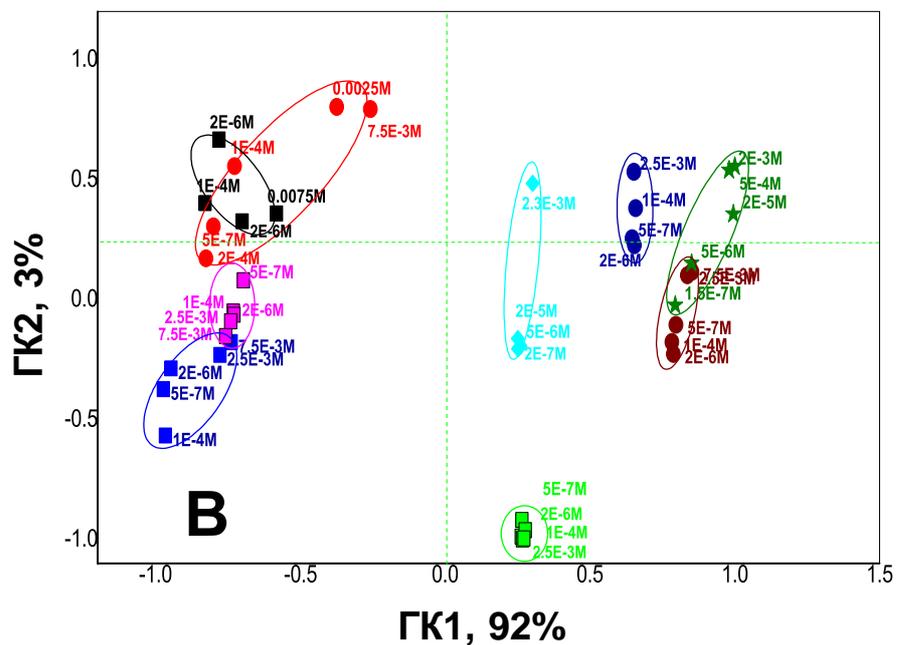


Рис.VIII.21 График счетов МГК для мониторинга загрязнения воды ионами металлов по результатам (А) потенциметрических измерений с сенсорами на основе TRFс_4 и L3 ; (Б) CSPT-измерений; (В) совместных CSPT-потенциметрических измерений. Печатается из работы [366].

Табл. VIII.6 Параметры регрессионной модели ПЛС2 для прогнозирования концентраций различных ионов металлов в воде.

Аналит	R^2	СКОП, ммоль/л
Na^+	0.877	1.08
K^+	0.797	1.30
Ca^{2+}	0.831	1.19
Cd^{2+}	0.625	1.70
Zn^{2+}	0.587	1.90
Pb^{2+}	0.906	0.33
Cu^{2+}	0.980	0.41
Hg^{2+}	0.715	0.40
Co^{2+}	0.996	0.05

Возможно отметить, что приемлемые регрессионные модели были получены практически для всех металлов, коэффициенты корреляции варьировались в диапазоне от 0.587 до 0.996. Среднеквадратичное отклонение прогнозирования, СКОП, было в диапазоне от десятков до десятых долей миллимолярных концентраций, ммоль/л, что находится на уровне ПДК большинства исследованных ионов в природных водах.

На заключительном этапе исследований применяли разработанную опто-потенциометрическую аналитическую систему для анализа проб природной воды из окрестностей г.Рима. Исследовали пробы трех образцов питьевой воды (отобранных в зонах Тор Вергата, Чампино и Помеция), а также три образца поверхностных вод (отобранных в озере Альбано, реках Тибр и Лири). Измерения проводились дважды в трехкратной повторности (n=6). Графики счетов МГК для исследованных образцов вод и в процессе их загрязнения тяжелыми и переходными металлами приведены на **Рис.VIII.22**. Дисперсия данных по первым двум основным компонентам составляет 91% от общей дисперсии. На **Рис.VIII.22А** возможно наблюдать два отчетливых кластера, соответствующих типам исследованных вод: поверхностным и питьевым. Кроме с применением метода МГК к оптическим CSPT-данным полученным от мультисенсорной системы позволило осуществить мониторинг загрязнения вод при растущих концентрациях ионов переходных металлов **Рис.VIII.22Б**.

В настоящей Главе проиллюстрированы некоторые примеры применения мультисенсорной и мультитрансдукционной аналитических систем. Была показана целесообразность применения гетероциклических органических соединений, порфиринов и гетерокраунэфиров, для разработки перекрестно-чувствительных химических сенсоров с различными способами создания и передачи аналитического сигнала. На конкретных примерах были показаны очевидные преимущества мультитрансдукционного для повышения эффективности анализа. Кроме того, учитывая возможности интеграции разработанных сенсорных материалов на трансдьюсерах нового поколения на основе прозрачных, проводящих и гибких материалов (например бумажных, графеновых и пр.), их миниатюризации, а также благодаря невысокой себестоимости использованных органических чувствительных материалов и применению бытовых электронных устройств для регистрации полезного сигнала сенсоров, эта технология имеет большой потенциал для разработки экономичных, портативных детекторов, работающих в режиме реального времени.

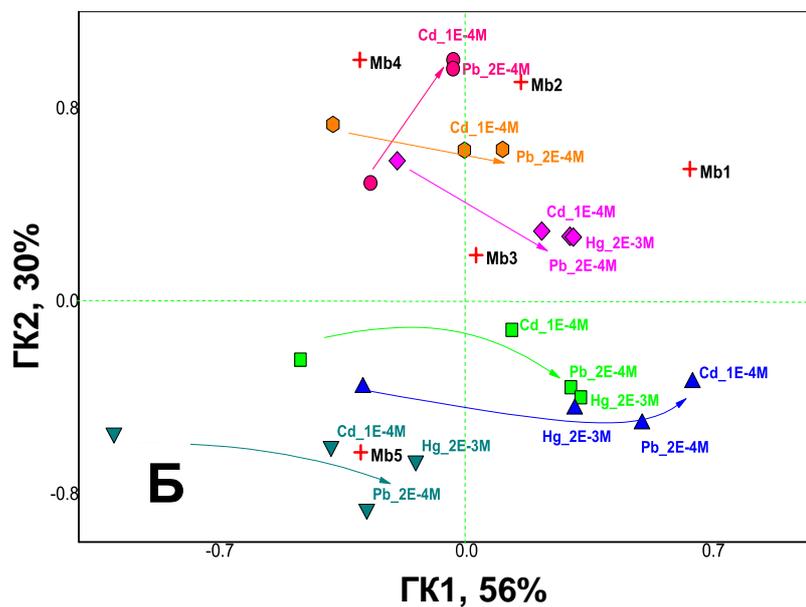
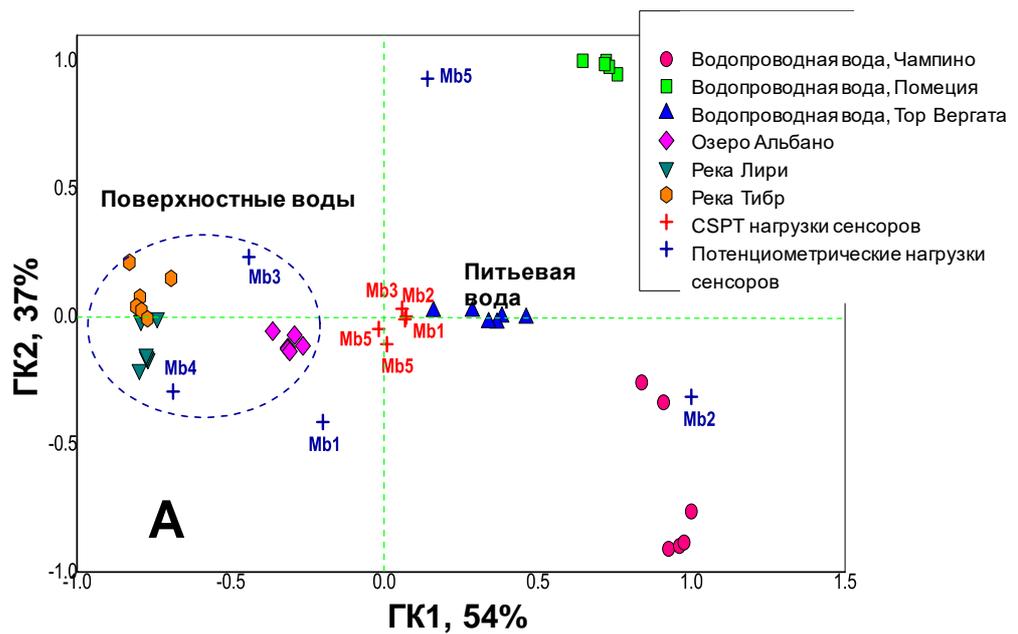


Рис.VIII.22 Результаты анализа природных вод с помощью CSPT-потенциометрической системы: (А) график счетов МГК для питьевых и поверхностных вод; (Б) мониторинг загрязнения вод некоторыми ионами переходных металлов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе предложен и развит подход к созданию химических сенсоров для определения конкретных аналитов, заключающийся в подборе определенных классов мембраноактивных веществ – порфиринов и гетерокраун-эфиров, конкретной сенсорной матрицы и определенного способа трансдукции. В качестве критериев выбора мембраноактивных соединений выступают: присутствие гетероатомов серы и/или азота и размер внутренней молекулярной полости макроцикла; наличие и природа центрального металла; наличие, количество и природа боковых заместителей (ароматических или алифатических) в молекулярной структуре макроцикла.

Исследованы структура и электродные свойства сенсоров на основе порфиринов в различных типах мембранных матриц: в пластифицированных поливинилхлоридных мембранах, в синтезированных электрохимическим методом пленках полипиррола и полианилина, в композитных материалах на основе нано-структур оксида цинка.

Разработаны высокоспецифичные потенциометрические сенсоры на основе порфиринов платины, меди и кобальта, корролатов меди и железа, позволяющие проводить селективное определение неорганических анионов (иодида, хлорида, бикарбоната и дигидрофосфата соответственно) в сложных жидких средах. Показано, что коэффициенты селективности полученных сенсоров в присутствии высоколипофильных мешающих анионов в полтора-три порядка превышают селективность существующих ионоселективных электродов, в частности ИСЭ на основе ЧАС. Разработанные сенсоры проверены на реальных объектах, в частности для селективного определения гидрофильных анионов в биологических жидкостях.

Экспериментально доказано, что предложенный подход к выбору мембраноактивных соединений позволяет направленно изменять свойства, структуру, оптическую и электрохимическую активность и селективность сенсорных материалов на их основе. Показана возможность увеличения надежности и срока службы мембран, полученных методом электрополимеризации, и их перспективность в мультисенсорном и мульти-трансдуктивном анализе, в частности для определения электрохимически-активных токсичных пищевых красителей. Изучены и оптимизированы условия фотоэлектрохимического определения цистеина в смесях аминокислот с применением сенсоров на основе нано-структур оксида цинка, декорированных порфиринами меди в диапазоне концентраций от 5.2 μM до 4.8 mM с пределом обнаружения 1.2 μM .

Разработаны ртуть- и магний-селективные флуоресцентные оптоды на основе кумарин-замещенного пиридинофана и фенилоксихинолин-замещенного диаза-18-краун-6-эфира с пределами обнаружения 0.091 μM и 0.5 μM соответственно. Разработанные оптоды в совокупности с использованием

бытовых электрических устройств (точечного светодиодного источника излучения, компьютера и веб-камеры) позволяют проводить экспресс-определение содержания ионов ртути и магния в природных водах и на уровнях ПДК, предписанных СанПиН.

Показана возможность применения сенсоров на основе мезо-тетраферроценил-порфирина, кумарин-замещенного пиридинофана и порфирин-замещенных полипирролов в варианте мультитрансдуктивного подхода к выполнению мультисенсорного анализа для распознавания и количественного определения основных компонентов растительных масел; понижения пределов обнаружения катионов меди, свинца и ртути в природных водах; повышения чувствительности определения диаза-конъюгированных красителей в пищевых продуктах.

Разработаны методики косвенного определения микроцистина с помощью массива перекрестно-чувствительных сенсоров на основе металлопорфиринов и с использованием Mg-селективного оптода на основе фенилоксихинолин-замещенного диаза-18-краун-6-эфира. Методики апробированы при мониторинге выделения микроцистина штаммами сине-зеленых водорослей *Microcystis aeruginosa* и при качественной оценке токсичности природных вод. Показано, что мультисенсорная система обеспечивает определение содержания микроцистина в питьевой воде с пределом обнаружения 0.05 $\mu\text{г/л}$, что в 20 раз ниже ПДК, предписанных СанПиН.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Y.S. Choi, L. Lvova, J.H. Shin, S. H. Oh, C.S. Lee, B.H. Kim, G.S. Cha, H. Nam, Determination of oceanic carbon dioxide using a carbonate-selective electrode// *Anal. Chem.* 2002. V.74. P. 2435-2440.
2. L. Lvova, S.S. Kim, A. Legin, Y. Vlasov, J.S. Yang, G.S. Cha, H. Nam, All-solid-state electronic tongue and its application for beverage analysis//*Anal. Chim. Acta.* 2002. V. 468.P.303-314.
3. A. Legin, A. Rudnitskaya, L. Lvova, Yu. Vlasov, C. Di Natale, A. D'Amico, Evaluation of Italian wine by the electronic tongue: recognition, quantitative analysis and correlation with human sensory perception// *Anal. Chim. Act.* 2003. V. 484. P.33-44.
4. L. Lvova, A. Legin, Yu. Vlasov, H. Nam, G.S. Cha, Multicomponent analysis of Korean green tea by means of disposable all-solid-state potentiometric electronic tongue microsystem// *Sens. Act B.* 2003. V. 95. P.391-399.
5. L. Lvova, R. Paolesse, C. Di Natale, A. D'Amico, Detection of alcohols in beverages: an application of porphyrin-based Electronic tongue// *Sens. Act B.* 2006. V. 118. P.439-447.
6. L. Lvova, E. Martinelli, E. Mazzone, A. Pede, R. Paolesse, C. Di Natale, A. D'Amico, Electronic Tongue based on an Array of Metallic Potentiometric Sensors// *Talanta.* 2006. V.70. P. 833-839.
7. G. Verrelli, L. Lvova, R. Paolesse, C. Di Natale, A. D'Amico, Metalloporphyrin-based Electronic Tongue: an application for the analysis of Italian white wines//*Sensors.* 2007.V. 7. P.2750-2762.
8. M.N. Ahmad, M.M.S. Yap, C.C. Cheen, A.K.M. Shafiqul Islam, Z. Ismail, M. Shurif, A.Y. Md. Shakaff, L. Lvova, Disposable array sensor strip for quantification of sinensetin in *Orthosiphon stamineus* benth samples// *Microchim. Acta.* 2008.V.163.P. 113-119.
9. R. Paolesse, L. Lvova, S. Nardis, C. Di Natale, A. D'Amico, Chemical Images by Porphyrin arrays of sensors//*Microchim. Acta.* 2008.V.163. P.103-112.
10. L. Lvova, F. Dini, E. Martinelli, A. Bergamini, R. Paolesse, C. Dinatale, A. D'Amico, Clinical analysis of human urine by means of Electronic Tongue// *Talanta.* 2009. V.77.P.1097-1104.
11. L. Tortora, M. Stefanelli, M. Mastroianni, L. Lvova, C. Di Natale, A. D'Amico, D. Filippini, I. Lundström, R. Paolesse, The hyphenated CSPT-potentiometric analytical system: An application for vegetable oil quality control//*Sens. Act B.*2009.V.142.P.457-463.
12. L. Lvova, C. Di Natale, A. D'Amico, R. Paolesse, Corrole-based ion-selective electrodes// *J. Porphyrins Phthalocyanines.* 2009.V.13. P. 1168-1178.

13. L. Lvova, G. Verrelli, M. Stefanelli, S. Nardis, C. Di Natale, A. D. Amico, S. Makarychev-Mikhailov, R. Paolesse, Platinum porphyrins as ionophores in polymeric membrane electrodes//*Analyst*. 2011. V.136.P.4966 – 4976.
14. L. Lvova, M. Mastroianni, G. Pomarico, M. Santonico, G. Pennazza, C. Di Natale, R. Paolesse, A. D'Amico, Carbon Nanotubes Modified with Porphyrin Units for Chemical Sensing of Gaseous Phase// *Sens. Act. B*. 2012.V.170. P.163-171.
15. L. Lvova, M. Mastroianni, C. Di Natale, I. Lundström, R. Paolesse, Towards hyphenated sensors development: design and application of porphyrin electropolymer materials// *Electroanalysis*. 2012.V. 24. P. 776-789.
16. L. Lvova, S. Denis, A. Barra, P. Mielle, C. Salles, C. Vergoignan, C. Di Natale, R. Paolesse, P. Temple-Boyer, G. Feron, Salt release monitoring with specific sensors in “in vitro” oral and digestive environments from soft cheeses//*Talanta*. 2012. V.97.P.171-180.
17. L. Lvova, C. Di Natale, R. Paolesse, Porphyrin-based chemical sensors and multisensor arrays operating in the liquid phase//*Sens. Act. B*. 2013. V.179.P. 21-31.
18. L. Lvova, P. Galloni, B. Floris, I. Lundström, R. Paolesse, C. Di Natale, A ferrocene-porphyrin ligand for multi-transduction chemical sensor development//*Sensors*.2013.V. 13. P. 5841-5856.
19. F. Mandoj, S. Nardis, R. Pudi, L. Lvova, F. R. Fronczek, K. M. Smith, L. Prodi, D. Genovese, R. Paolesse, β -Pyrazino-fused tetrarylporphyrins// *Dyes and Pigments*.2013.V.99P.136-143.
20. C. Bazzicalupi, C. Caltagirone, Z. Cao, Q. Chen, C. Di Natale, A. Garau, V. Lippolis, L. Lvova, H. Liu, I. Lundström, M. C. Mostallino, M. Nieddu, R. Paolesse, L. Prodi, M. Sgarzi, N. Zaccheroni, Multimodal use of new coumarin-based fluorescent chemosensors: towards highly selective optical sensors for Hg²⁺ probing//*Chem. Eur. J*. 2013.V.19.P.14639 – 14653.
21. L. Lvova, C. Guanais Branchini, K. Petropoulos, L. Micheli, G. Volpe, E. Viaggiu, R. Congestri, L. Guzzella, F. Pozzoni, C. Di Natale, R. Paolesse, E-tongue for ecological monitoring purposes: the case of microcystins detection//*Procedia Engineering*.2014. V.87.P. 1358 – 1361.
22. L. Lvova, R. Pudi, P. Galloni, V. Lippolis, C. Di Natale, I. Lundstrom, R. Paolesse, Multi-transduction sensing films for Electronic Tongue applications// *Sens. Act B*. 2015. V. 207B. P.1076-1086.
23. Y. Sivalingam, R. Pudi, G. Pomarico, L. Lvova, G. Pomarico, F. Basoli, A. Catini, A. Legin, R. Paolesse, C. Di Natale, The light modulation of the interaction of l-cysteine with porphyrins coated ZnO nanorods// *Sens. Act B*. 2015. V.209. P. 613-621.
24. L. Lvova, C. Guanais Gonçalves, K. Petropoulos, L. Micheli, G. Volpe, D. Kirsanov, A. Legin, E. Viaggiu, R. Congestri, L. Guzzella, F. Pozzoni, G. Palleschi, C. Di Natale, R. Paolesse, Electronic tongue for microcystins screening in waters// *Biosens. Bioelectronics*. 2016. V. 80. P.154–160.

25. V. Panchuk, L. Lvova, D.Kirsanov, C. Guanais Goncalves, C. Di Natale, R. Paolesse, Extending electronic tongue calibration lifetime through mathematical drift correction: case study of microcystin toxicity analysis in waters//Sens. Act B. 2016. V. 237. P. 962-968.

Монографии:

1. L. Lvova, R. Paolesse, C. Di Natale, E. Martinelli, E. Mazzone, A. Orsini, A. D'Amico, Chemical images of liquids, in: Byrnes, Jim (Ed.), Imaging for Detection and Identification, NATO Science for Peace and Security Series, vol. VIII, Springer, 2007, P.63-95.
2. L. Lvova, A. D'Amico, A. Pede, C. Di Natale, R. Paolesse, Metallic sensors in multisensory analysis, in Multisensor Systems for Chemical Analysis - Materials and Sensors, Pan Stanford Publishing, L. Lvova, D. Kirsanov, A. Legin, C. Di Natale (Eds.) 2014, PP. 69-138
3. Z. Cao, L. Lvova, R. Paolesse, C. Di Natale, I. Lundström, A. D'Amico, Porphyrin Electropolymers as Opto-electrochemical Probe for the Detection of Red-ox Analytes Sensors, Lecture Notes in Electrical Engineering. 2014. V.162.P. 49-55.
4. C. Guanais Branchini, L. Lvova, C. Di Natale, R. Paolesse, Wine and combined electronic nose and tongue, in "Electronic Nose and Tongue in Food Science", M.L. Rodriguez-Mendez Ed., Academic Press, 2016, P. 291-300.
5. L. Lvova, Electronic tongue principles and applications in the food industry, in "Electronic Nose and Tongue in Food Science", M.L. Rodriguez-Mendez Ed., Academic Press, 2016, P. 149-160.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Табл. 1. Значения коэффициентов селективности для электродов на основе Pt-порфирина-ионофоров (1% по весу) и ТДМАСI в различных количествах (обозначено как мол% по отношению к содержанию ионофоров), оцененные методом БИП. Для вычисления значений $\log K_{i/j}^{\text{пот}}$ был использован теоретический наклон -59,2 мВ/pI.

Мб: Состав	$\log K_{i/j}^{\text{пот}}, X=$									
	Br ⁻	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	CO ₃ ²⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	ClO ₄ ⁻	Sal ⁻	SCN ⁻	F ⁻
1: ТДМАСI, 10%	0.26	0.47	0.2	-2.64	-0.85	-2.70	2.08	0.75	1.74	-1.51
3: Pt(II)ТРРСI ₂ +ТДМАСI 10%	-2.66	-1.09	-2.43	-3.21	-3.37	-3.00	-0.06	-	-0.28	-
4: Pt(II)ТРРСI ₂ +ТДМАСI 20%	-2.52	-1.01	-2.40	-3.00	-3.15	-2.80	0.13	-	-0.19	-
5: Pt(II)ТРРСI ₂ +ТДМАСI 40%	-1.04	-0.55	-1.23	-3.40	-2.44	-3.66	0.49	-0.08	0.24	-2.88
8: Pt(II)ТРР+ТДМАСI 10%	-2.63	-2.06	-2.55	-2.96	-2.96	-3.10	0.82	-1.11	0.35	-2.61
9: Pt(II)ТРР+ ТДМАСI 40%	-1.49	-1.02	-1.96	-1.91	-2.47	-2.92	1.26	-0.32	-0.05	-3.03
12: Pt(II)ОЕР +ТДМАСI 10%	-0.83	0.19	0.29	-2.60	-1.83	-2.90	1.32	1.31	1.96	-2.07
15: Pt(II)ОЕР +ТДМАСI 40%	-2.23	-1.75	-2.25	-3.80	-2.79	-3.91	-1.27		-1.2	-3.20

Табл. 2. Исходные данные от мультисенсорной системы (величины потенциалов сенсоров в мВ), использованные для прогнозирования концентрации микроцистина (МС-LR) методом ПЛС1 регрессии в водопроводной воде, загрязненной фильтрами токсичного штамма *M. Aeruginosa*, в которых содержание токсина определяли методом ЖХ и энзимным колориметрическим анализом. Кодировка образцов: день_месяц_токсичный образец(ТОХ)_добавка в мкл/50мл

образец	A1	A2	A3	C1	C2	GC-Cu	GC-Pb	GC-Ag	[МС-LR], мкг/л	
									Энзимный метод,	ЖХ метод
24_03_TOX_0	177.3	176.3	188.7	65.9	47.1	53	-201.6	286.8	m	m
24_03_TOX_20	176.3	176.3	188.2	66.4	46.1	52	-201.6	286.8	1.00E-02	m
24_03_TOX_30	175.8	174.8	187.7	66.9	51.5	51	-205	286.3	2.50E-02	m
24_03_TOX_50	174.3	174.8	187.2	67.9	51.5	50	-207.5	285.3	4.99E-02	m
24_03_TOX_100	172.3	173.3	186.2	68.4	47.1	49	-212	283.3	9.96E-02	m
24_03_TOX_500	165.9	173.3	184.8	70.8	54.5	47.1	-221.4	278.8	0.3452	m
24_03_TOX_1.5	154	172.4	181.3	75.3	62.9	44.6	-236.7	267.9	1.0536	m

27_03_TOX_0	175.3	158	179.8	m	44.6	37.1	-208.5	m	m	m
27_03_TOX_20	174.8	157	179.8	m	45.6	36.7	-210	m	1.04E-02	4.50E-03
27_03_TOX_30	173.8	156.5	179.3	m	45.1	36.2	-212	m	2.60E-02	1.12E-02
27_03_TOX_50	172.8	156.5	179.3	m	44.1	35.7	-212.5	m	5.19E-02	2.25E-02
27_03_TOX_100	170.9	156.5	178.8	m	45.1	35.7	-211	m	0.1036	4.48E-02
27_03_TOX_500	166.9	156	177.8	m	46.1	35.2	-216.4	m	0.359	0.1553
27_03_TOX_1.5	160	155.5	176.8	m	46.1	34.7	-220.4	m	1.0958	0.4741
31_03_TOX_0	123.3	149.1	189.2	m	25.8	42.1	-264	175.3	m	m
31_03_TOX_20	122.8	148.6	188.7	m	26.3	41.1	-264.5	172.9	8.40E-03	2.20E-03
31_03_TOX_30	122.8	148.1	188.2	m	28.2	40.1	-266	171.4	2.10E-02	5.50E-03
31_03_TOX_50	122.3	147.6	187.7	m	27.8	39.1	-266.9	169.4	4.19E-02	1.10E-02
31_03_TOX_100	121.3	147.1	187.2	m	28.7	38.6	-267.9	167.4	8.37E-02	2.20E-02
31_03_TOX_500	120.8	146.6	185.7	m	29.2	37.1	-268.9	166.4	0.2899	7.62E-02
31_03_TOX_1.5	119.8	146.6	183.3	m	30.7	35.7	-269.9	163.9	0.8851	0.2326
03_04_TOX_0	122.8	157	184.8	25.3	48.1	34.2	-278.3	246.2	m	m
03_04_TOX_20	121.8	157	183.8	24.3	50	33.2	-278.3	246.6	1.28E-02	1.80E-03
03_04_TOX_30	121.3	156	182.8	22.8	52	32.7	-278.8	247.1	3.20E-02	4.50E-03
03_04_TOX_50	120.3	155.5	181.3	24.8	53.5	32.2	-279.3	248.6	6.39E-02	9.00E-03
03_04_TOX_100	118.9	154.5	180.3	21.8	55.5	31.2	-280.3	249.6	0.1275	1.79E-02
03_04_TOX_500	117.4	154	179.8	24.3	59	30.2	-281.3	249.6	0.4418	6.21E-02
03_04_TOX_1.5	110.9	154	178.3	29.2	67.9	30.2	-283.3	248.1	1.3487	0.1897
07_04_TOX_0	131.2	167.4	191.7	47.1	36.7	30.2	-270.4	244.7	m	m
07_04_TOX_20	130.7	166.4	191.2	45.1	37.2	28.7	-270.9	245.2	8.00E-03	m
07_04_TOX_30	129.7	165.9	191.2	48.5	36.7	28.7	-272.4	243.7	2.00E-02	m
07_04_TOX_50	129.3	164.9	190.2	44.6	37.7	27.7	-273.9	242.2	3.99E-02	m
07_04_TOX_100	128.3	163.9	189.7	47.5	39.1	26.7	-275.4	242.2	7.97E-02	m
07_04_TOX_500	126.8	163.4	187.7	45.1	45.1	24.3	-277.8	241.2	0.2761	m
07_04_TOX_1.5	124.3	163.4	183.3	55	55	19.8	-280.3	240.7	0.8429	m
10_04_TOX_0	105	158.5	173.4	58	64.9	34.2	-276.8	287.8	m	m
10_04_TOX_20	104	159.5	172.9	58	65.4	33.7	-278.3	287.3	8.00E-03	1.80E-03
10_04_TOX_30	104	157.5	172.4	58	66.4	32.2	-278.8	286.8	2.00E-02	4.50E-03
10_04_TOX_50	104	157	171.9	58	65.9	31.2	-280.3	285.3	3.99E-02	9.00E-03
10_04_TOX_100	102.5	157.5	171.4	58.4	65.9	29.7	-282.3	284.3	7.97E-02	1.79E-02
10_04_TOX_500	102.5	155.5	170.9	58.4	67.9	27.7	-284.8	284.3	0.2761	6.21E-02

10_04_TOX_1.5	101.5	159	169.9	58.9	69.4	24.8	-287.3	283.3	0.8429	0.1897
14_04_TOX_0	96.1	127.8	163	65.4	68.4	25.3	-302.6	m	m	m
14_04_TOX_20	96.1	128.8	162	65.4	67.9	23.3	-303.1	m	9.60E-03	4.20E-03
14_04_TOX_30	95.6	128.3	162.5	64.9	67.9	21.3	-303.1	m	2.40E-02	1.05E-02
14_04_TOX_50	95.6	127.3	162.5	65.4	68.4	21.3	-304.1	m	4.79E-02	2.09E-02
14_04_TOX_100	95.6	127.8	162	65.4	67.9	21.8	-304.6	m	9.56E-02	4.17E-02
14_04_TOX_500	91.1	127.3	161.5	65.9	67.9	18.3	-305.6	m	0.3314	0.1446
14_04_TOX_1.5	90.1	126.8	160.5	66.4	68.4	17.8	-307.6	m	1.0115	0.4413
17_04_TOX_0	93.1	153	167.9	69.8	78.3	26.7	-258	101	m	m
17_04_TOX_20	93.1	152.5	167.9	69.8	78.8	25.8	-259	100.5	1.00E-02	1.80E-03
17_04_TOX_30	93.1	151.5	167.4	69.8	80.3	25.3	-260.5	100	2.50E-02	4.50E-03
17_04_TOX_50	92.6	152	167.4	69.8	79.3	24.3	-262.5	99.5	4.99E-02	9.00E-03
17_04_TOX_100	92.6	150.6	166.9	69.8	79.8	23.3	-265	98.1	9.96E-02	1.79E-02
17_04_TOX_500	91.6	151.1	166.4	70.3	79.3	20.8	-268.4	97.6	0.3452	6.21E-02
17_04_TOX_1.5	86.2	152	164.4	70.8	81.2	17.3	-271.9	93.6	1.0536	0.1897
22_04_TOX_0	100.5	125.8	166.9	66.4	78.3	23.3	-283.8	74.8	m	m
22_04_TOX_20	100.5	126.3	166.4	66.9	78.3	23.3	-284.3	75.8	8.80E-03	6.10E-03
22_04_TOX_30	100.5	125.8	166.4	66.4	79.3	22.3	-284.8	77.3	2.20E-02	1.52E-02
22_04_TOX_50	100.5	124.8	166.4	66.9	77.8	22.3	-285.8	77.3	4.39E-02	3.04E-02
22_04_TOX_100	100	124.8	166.4	66.9	77.3	20.3	-286.8	77.8	8.76E-02	6.07E-02
22_04_TOX_500	99.5	125.3	165.9	67.4	76.8	18.8	-287.7	75.3	0.3037	0.2104
22_04_TOX_1.5	99	124.8	165.9	67.4	81.2	15.4	-290.2	70.3	0.9272	0.6423
24_04_TOX_0	91.6	135.2	162.5	66.9	70.8	32.2	-274.9	136.7	m	m
24_04_TOX_20	92.1	133.7	163	66.4	74.3	31.7	-275.4	139.2	m	m
24_04_TOX_30	91.6	133.7	162.5	66.4	74.3	30.2	-275.9	139.7	m	m
24_04_TOX_50	91.1	134.2	162	66.9	73.3	29.7	-276.8	139.7	m	m
24_04_TOX_100	91.1	133.7	162.5	66.9	73.3	29.2	-278.8	140.2	m	m
24_04_TOX_500	90.6	132.7	162	67.4	73.3	26.3	-279.8	139.2	m	m
24_04_TOX_1.5	89.6	131.7	162	67.9	74.3	17.8	-281.8	132.7	m	m
28_04_TOX_0	102.5	149.1	174.4	68.8	56.5	27.7	-296.2	m	m	m
28_04_TOX_20	102.5	148.1	174.4	69.3	57	26.7	-296.7	m	6.80E-03	m
28_04_TOX_30	101.5	148.1	173.9	69.3	58	27.2	-297.7	m	1.70E-02	m
28_04_TOX_50	101.5	147.6	171.9	69.3	59.5	26.7	-298.1	m	3.39E-02	m
28_04_TOX_100	101	146.6	171.9	69.3	60.9	25.8	-298.6	m	6.77E-02	m

28_04_TOX_500	97.6	147.1	172.4	69.8	62.9	24.8	-299.1	m	0.2347	m
28_04_TOX_1.5	92.6	147.1	170.9	70.3	67.4	19.8	-299.6	m	0.7165	m
30_04_TOX_0	107.5	157.5	176.8	71.3	53	32.2	-300.6	44.1	m	m
30_04_TOX_20	107.5	157	176.8	70.8	53	31.7	-300.6	42.6	m	m
30_04_TOX_30	107.5	154.5	176.8	70.8	53.5	31.2	-302.1	40.1	m	m
30_04_TOX_50	107	154	176.3	70.8	53	31.7	-301.6	37.1	m	m
30_04_TOX_100	106	155	176.8	70.8	52.5	30.2	-302.6	36.6	m	m
30_04_TOX_500	103	152.5	175.3	70.8	53.5	29.7	-305.1	33.7	m	m
30_04_TOX_1.5	94.1	153.5	172.4	71.8	55	28.7	-309	31.2	m	m
05_05_TOX_0	100	139.7	178.3	47.5	41.6	23.3	-299.6	74.3	m	m
05_05_TOX_20	99	138.7	178.3	48	43.1	22.3	-300.1	73.3	1.12E-02	4.00E-03
05_05_TOX_30	98.5	139.2	177.8	47.5	42.6	22.8	-300.6	75.8	2.80E-02	1.01E-02
05_05_TOX_50	98.1	138.7	177.8	48	43.1	21.3	-301.6	84.2	5.59E-02	2.01E-02
05_05_TOX_100	97.6	137.2	177.3	47.5	44.1	20.3	-302.1	82.2	0.1116	4.02E-02
05_05_TOX_500	95.1	137.2	175.8	49.5	47.6	10.4	-304.1	74.8	0.3866	0.1393
05_05_TOX_1.5	89.6	135.7	174.4	50.5	55.5	5.4	-306.1	65.9	1.1801	0.4252
08_05_TOX_0	102.5	150.6	174.9	57.5	61.4	25.3	-291.7	215.4	m	m
08_05_TOX_20	102	150.1	174.9	57.5	61.9	24.3	-292.2	214.5	m	m
08_05_TOX_30	102	149.6	174.9	57	62.4	23.3	-292.7	213.5	m	m
08_05_TOX_50	101.5	149.1	174.4	57	63.9	21.3	-293.7	212	m	m
08_05_TOX_100	100.5	148.6	173.9	57.5	63.9	20.3	-294.7	211.5	m	m
08_05_TOX_500	98.5	147.6	171.9	58.4	65.4	17.8	-296.7	211	m	m
08_05_TOX_1.5	94.1	147.1	171.4	58	68.9	13.4	-297.7	210	m	m
12_05_TOX_0	100	139.7	178.3	47.5	41.6	23.3	-299.6	74.3	m	m
12_05_TOX_20	99	138.7	178.3	48	43.1	22.3	-300.1	73.3	9.60E-03	5.60E-03
12_05_TOX_30	98.5	139.2	177.8	47.5	42.6	22.8	-300.6	75.8	2.40E-02	1.41E-02
12_05_TOX_50	98.1	138.7	177.8	48	43.1	21.3	-301.6	84.2	4.79E-02	2.81E-02
12_05_TOX_100	97.6	137.2	177.3	47.5	44.1	20.3	-302.1	82.2	9.56E-02	5.62E-02
12_05_TOX_500	95.1	137.2	175.8	49.5	47.6	10.4	-304.1	74.8	0.3314	0.1947
12_05_TOX_1.5	89.6	135.7	174.4	50.5	55.5	5.4	-306.1	65.9	1.0115	0.5943
16_05_TOX_0	101.5	145.6	182.3	116.4	45.6	48	-285.8	103	m	m
16_05_TOX_20	102	145.6	182.3	115.9	47.1	47.5	-286.3	102	m	m
16_05_TOX_30	101.5	144.6	182.3	115.4	46.6	47.1	-286.8	101.5	m	m
16_05_TOX_50	101	145.1	182.3	114.9	45.1	46.6	-287.3	100.5	m	m

16_05_TOX_100	101	144.1	182.3	114.4	45.1	46.1	-287.7	99.1	m	m
16_05_TOX_500	98.5	142.6	181.3	113.9	48.6	45.6	-288.7	94.1	m	m
16_05_TOX_1.5	98.1	144.1	180.8	112.9	54	44.6	-289.7	90.1	m	m
19_05_TOX_0	108	146.1	187.2	64.4	71.8	54	-290.7	73.8	m	m
19_05_TOX_20	107.5	145.6	187.2	64.4	71.3	54.5	-291.2	72.8	1.72E-02	1.11E-02
19_05_TOX_30	107.5	145.1	187.2	64.4	71.3	54.5	-291.7	71.8	4.30E-02	2.78E-02
19_05_TOX_50	107	144.6	186.7	64.9	71.8	54.5	-292.2	70.3	8.58E-02	5.55E-02
19_05_TOX_100	106	144.6	187.2	64.9	72.8	54	-292.7	68.3	0.1713	0.1108
19_05_TOX_500	101	142.6	181.3	66.9	82.7	48.5	-296.7	58.4	0.5937	0.3838
19_05_TOX_1.5	100.5	141.1	180.8	67.4	88.2	44.6	-298.1	50.5	1.8123	1.1716
22_05_TOX_0	103.5	141.1	186.7	m	44.6	31.7	-313.5	m	m	m
22_05_TOX_20	103	142.6	186.2	m	42.6	32.2	-314.5	m	2.76E-02	1.20E-02
22_05_TOX_30	102.5	142.1	186.2	m	42.6	32.2	-315	m	6.89E-02	2.99E-02
22_05_TOX_50	102	140.7	185.7	m	44.6	31.2	-315.5	m	0.1377	5.97E-02
22_05_TOX_100	101.5	140.2	185.7	m	43.6	31.2	-316.5	m	0.2749	0.1192
22_05_TOX_500	97.6	139.7	184.3	m	48.6	29.7	-318	m	0.9527	0.4132
22_05_TOX_1.5	92.1	138.7	182.8	m	56.5	27.2	-320.4	m	2.908	1.2614
26_05_TOX_0	107	139.2	185.7	67.4	55	51.5	-259	70.8	m	m
26_05_TOX_20	107	138.7	185.7	66.9	55.5	51	-260	71.3	2.96E-02	1.57E-02
26_05_TOX_30	106.5	137.7	185.7	66.9	56.5	50.5	-260.5	72.3	7.39E-02	3.93E-02
26_05_TOX_50	106	137.7	185.3	66.9	57.5	51	-261.5	71.8	0.1477	7.85E-02
26_05_TOX_100	105	136.2	185.3	66.9	59	49.5	-263	72.3	0.2948	0.1566
26_05_TOX_500	102.5	136.2	183.8	69.3	65.9	48.5	-266.4	69.3	1.0217	0.5427
26_05_TOX_1.5	91.6	135.2	179.8	70.8	79.8	46.1	-270.4	58.4	3.118799 9	1.6567
29_05_TOX_0	109.4	149.1	190.7	66.4	40.6	33.7	-273.4	97.1	m	m
29_05_TOX_20	109.4	148.6	190.7	66.9	40.1	32.7	-274.4	96.1	5.92E-02	2.13E-02
29_05_TOX_30	109.9	147.6	190.7	66.4	38.2	31.7	-275.4	95.1	0.1479	5.31E-02
29_05_TOX_50	108.9	147.1	190.7	66.4	37.7	31.7	-276.8	93.6	0.2954	0.1061
29_05_TOX_100	108.5	147.1	189.7	66.9	39.1	31.7	-277.8	92.1	0.5896	0.2118
29_05_TOX_500	104.5	146.6	187.7	67.4	40.1	31.2	-279.8	90.1	2.0434	0.7341
29_05_TOX_1.5	101.5	146.1	185.3	68.4	49	30.7	-283.8	89.1	6.237500 2	2.2409
03_06_TOX_0	114.9	140.7	197.6	72.8	34.7	25.3	-301.1	110.4	m	m
03_06_TOX_20	113.9	140.2	196.6	71.8	34.7	23.3	-301.6	110.9	8.04E-02	2.44E-02

03_06_TOX_30	113.9	139.7	196.1	72.3	38.2	21.8	-301.1	107.5	0.2008	6.11E-02
03_06_TOX_50	112.4	139.2	196.1	73.3	40.6	20.3	-300.6	107.5	0.4012	0.122
03_06_TOX_100	111.9	141.1	197.1	75.8	41.6	21.8	-301.1	107.5	0.8008	0.2435
03_06_TOX_500	108.9	138.2	195.2	76.3	46.6	18.8	-303.1	106.5	2.7751	0.8439
03_06_TOX_1.5	105	136.2	190.7	77.3	55.5	11.9	-304.6	103.5	8.471301	2.575901
05_06_TOX_0	86.7	131.7	189.7	64.9	39.6	17.8	-281.8	73.8	m	m
05_06_TOX_20	86.2	131.2	189.2	64.9	40.1	17.8	-282.3	73.8	5.60E-02	3.23E-02
05_06_TOX_30	86.7	131.2	189.2	64.9	41.6	17.3	-283.3	73.8	0.1399	8.06E-02
05_06_TOX_50	86.2	130.2	189.2	64.9	41.1	16.8	-283.8	72.8	0.2794	0.1611
05_06_TOX_100	85.7	129.8	188.2	65.4	41.6	15.8	-284.8	71.3	0.5578	0.3216
05_06_TOX_500	83.2	130.2	186.7	65.9	47.1	13.4	-287.3	64.9	1.9329	1.1143
05_06_TOX_1.5	78.7	127.3	182.3	67.9	55	7.9	-290.7	56.5	5.900402	3.401599
09_06_TOX_0	95.6	131.7	177.8	60.9	58.5	15.4	-308.5	122.3	m	m
09_06_TOX_20	95.6	131.2	177.8	64.4	59	14.4	-309	122.3	8.80E-02	7.82E-02
09_06_TOX_30	95.1	132.2	177.8	61.9	58.5	14.4	-309.5	121.3	0.2198	0.1953
09_06_TOX_50	95.1	130.7	177.8	65.4	58	13.9	-310.5	121.3	0.4391	0.3902
09_06_TOX_100	94.6	131.2	177.8	65.4	58	12.9	-311.5	121.3	0.8765	0.7789
09_06_TOX_500	92.6	130.2	177.3	63.4	58	10.4	-314	120.3	3.037499	2.699199
09_06_TOX_1.5	90.6	128.8	177.3	63.4	58.5	3.5	-318	117.9	9.272003	8.2395
12_06_TOX_0	98.5	145.6	181.8	-14.9	47.6	33.7	-305.6	136.7	m	m
12_06_TOX_20	98.5	144.1	181.8	-14.9	47.6	33.7	-306.6	135.2	8.40E-02	8.23E-02
12_06_TOX_30	97.6	143.6	181.3	-14.9	47.1	32.7	-306.6	134.2	0.2098	0.2057
12_06_TOX_50	97.1	143.1	181.3	-15.8	44.6	32.7	-307.1	132.7	0.4192	0.411
12_06_TOX_100	96.6	143.1	181.3	-15.8	46.1	32.2	-308.1	131.7	0.8367	0.8203
12_06_TOX_500	94.6	142.1	180.3	-14.4	47.1	31.7	-308.5	130.7	2.8994	2.842799
12_06_TOX_1.5	91.1	135.2	175.8	-14.4	55	22.3	-312	124.8	8.850602	8.677802
16_06_TOX_0	110.4	149.1	191.2	67.4	67.4	38.1	-254.1	220.4	m	m
16_06_TOX_20	111.9	148.6	191.2	62.4	66.9	40.1	-256	219.9	0.1499	0.1172
16_06_TOX_30	108.9	147.6	191.7	68.4	65.4	38.1	-259.5	217.4	0.3746	0.2928
16_06_TOX_50	108.9	146.1	190.7	65.4	65.9	37.6	-261.5	215.9	0.7485	0.585
16_06_TOX_100	110.4	147.1	190.7	68.8	65.4	37.6	-263.5	214.5	1.494	1.16770
16_06_TOX_500	106.5	145.1	189.7	69.3	68.4	34.7	-268.4	213	5.177499	4.0467
16_06_TOX_1.5	101.5	143.1	188.2	70.3	71.3	30.7	-273.4	209.5	15.80459	12.35289
19_06_TOX_0	106	130.7	185.7	m	m	26.7	-263	79.2	m	m

19_06_TOX_20	106	130.2	185.3	m	m	25.8	-266	79.2	0.1379	0.1066
19_06_TOX_30	106	130.2	185.3	m	m	24.8	-267.4	78.7	0.3447	0.2664
19_06_TOX_50	105.5	129.8	184.3	m	m	25.3	-267.4	78.2	0.6886	0.5323
19_06_TOX_100	105.5	129.8	184.3	m	m	23.8	-267.9	77.3	1.3745	1.0625
19_06_TOX_500	105.5	129.3	183.8	m	m	22.8	-271.9	75.3	4.763299	3.6822
19_06_TOX_1.5	105.5	128.3	183.3	m	m	21.3	-274.9	71.3	14.54020	11.2402
23_06_TOX_0	177.3	176.3	188.7	65.9	47.1	53	-201.6	286.8	m	m
23_06_TOX_20	176.3	176.3	188.2	66.4	46.1	52	-201.6	286.8	0.1299	0.1054
23_06_TOX_30	175.8	174.8	187.7	66.9	51.5	51	-205	286.3	0.3247	0.2632
23_06_TOX_50	174.3	174.8	187.2	67.9	51.5	50	-207.5	285.3	0.6487	0.5259
23_06_TOX_100	172.3	173.3	186.2	68.4	47.1	49	-212	283.3	1.2948	1.0498
23_06_TOX_500	165.9	173.3	184.8	70.8	54.5	47.1	-221.4	278.8	4.487198	3.638099
23_06_TOX_1.5	154	172.4	181.3	75.3	62.9	44.6	-236.7	267.9	13.6973	11.10540

Табл. 3. Исходные данные от мультисенсорной системы (до нормализации), величины ДИБ и CSPT откликов порфирина-декорированных полипиррольных чувствительных материалов, использованные для прогнозирования концентраций жирорастворимых красителей группы Судан методом ПЛС1 регрессии. Кодировка сигналов CSPT пленка_основной цветовой канал (красный, зеленый или синий- R, G, B); кодировка сигналов ДИБ пленка_потенциал,В

Сенсор	ABS	Судан I, моль/л						
		1.25 *10 ⁻⁷	3.72 *10 ⁻⁷	1.10*10 ⁻⁶	2.49*10 ⁻⁶	4.65*10 ⁻⁶	1.59*10 ⁻⁵	3.84*10 ⁻⁵
МоноСо5_R	80.1	67.5	61	59.6	42.1	32.6	14.6	7.9
МоноСо5_G	120	95	90	87	68	64	44.5	23
МоноСо5_B	211	179.7	173.3	172.5	140	117	101	76.7
МоноСо5_0.2B	0	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
МоноСо5_0.5 B	0	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
МоноСо5_0.7 B	0	1.1	1.1	1.1	1.2	1.1	1.2	1.2
МоноСо10_R	14	5.7	5	3.3	3	2.3	2.7	14
МоноСо10_G	13	19	22.3	24	28	33	7	14

МоноСо10_B	48	58.5	63.8	68.2	80.3	94.1	51.2	48
МоноСо10_0.2 В	0	0	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
МоноСо10_0.5 В	0	0	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
МоноСо10_0.62 В	0	0	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
МоноМп10_R	86.5	86.5	84.8	82.9	84.9	84.4	89	80.5
МоноМп10_G	88	88	87	86	85	82	66	49
МоноМп10_B	188	188	187	186	179	162	115	94
МоноМп10_0.2 В	m	m	m	m	m	m	m	m
МоноМп10_0.5 В	m	m	m	m	m	m	m	m
МоноМп10_0.7 В	m	m	m	m	m	m	m	m
Моно10_R	-10.8	-5	-4.3	-4.3	-4.2	-3.4	-0.1	7.9
Моно10_G	10	19	18	21	20	19	21	20.5
Моно10_B	60	66	67	62.5	62.5	54.8	47.9	29.7
Моно10_0.2 В	m	m	m	m	m	m	m	m
Моно10_0.5 В	m	m	m	m	m	m	m	m
Моно10_0.7 В	m	m	m	m	m	m	m	m
ITO_R	220	212.8	212.5	211.5	210	205	197	177
ITO_G	186	178	175	174	168	160.5	146.7	111.1
ITO_B	181	170	166	160	151	132	96	34
ITO_0.2 В	m	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
ITO_0.5 В	m	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9

Продолжение Табл. 3:

Сенсор	ABS	Судан IV, моль/л						
		$8.60 \cdot 10^{-8}$	$2.50 \cdot 10^{-7}$	$7.60 \cdot 10^{-7}$	$1.70 \cdot 10^{-6}$	$3.10 \cdot 10^{-6}$	$5.00 \cdot 10^{-6}$	$6.30 \cdot 10^{-6}$
МоноСо5_R	20	21	24	23	19	18	14	16
МоноСо5_G	26	25.4	25.9	26.6	23.8	19.4	15.1	16.5

МоноСо5_В	20.9	21.2	24.5	28.3	30.3	35.6	37.7	42.3
МоноСо5_0.2В	0	0	-0.2	-0.2	-0.2	-0.2	-0.2	-0.2
МоноСо5_0.5 В	0	0	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3
МоноСо5_0.7 В	0	0	-0.4	-0.4	-0.4	-0.4	-0.4	-0.4
МоноСо10_R	-12.8	-12.5	-13.4	-15.3	-15.5	-17.1	-15.5	-14.4
МоноСо10_G	11	9.8	9	9	5.2	4	4.4	3.7
МоноСо10_В	61	58	58	56	52.8	51.7	47	45
МоноСо10_0.2 В	m	m	m	m	m	0.3	0.4	0.8
МоноСо10_0.5 В	m	m	m	m	m	0.3	0.4	1
МоноСо10_0.62 В	m	m	m	m	m	0.4	0.4	1.1
МоноМп10_R	22.7	24	25.2	23.8	24.7	24.4	28.9	25.9
МоноМп10_G	44.5	45.3	46	45	42.8	42.5	45.4	40.1
МоноМп10_В	97	101	100	102	104.3	104.9	111	119
МоноМп10_0.2 В	m	m	m	m	m	m	m	m
МоноМп10_0.5 В	m	m	m	m	m	m	m	m
МоноМп10_0.7 В	m	m	m	m	m	m	m	m
Моно10_R	6.1	4	5.3	2.7	3.5	5.3	7.8	-1.7
Моно10_G	8.4	7.3	6.7	6.9	5.3	5.4	5.7	4.6
Моно10_В	55.9	53	51.4	47.8	43.1	39	38.5	28
Моно10_0.2 В	m	m	m	m	m	m	m	m
Моно10_0.5 В	m	m	m	m	m	m	m	m
Моно10_0.7 В	m	m	m	m	m	m	m	m
ITO_R	223	221.7	221.1	221	220	218.9	213.1	205.4
ITO_G	203	200.6	198	197	196	188	177	168
ITO_В	234	231	228	226	25	217	208	197
ITO_0.2 В	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4
ITO_0.5 В	0.3	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1](a) M. Cremer // Z. Biol. 1906. V.47. P. 562; (б) F. Haber, Z. Klemensiewicz, // Z. Phys.Chem. 1909.V.67. P. 385; (в) Б. П. Никольский, К. С. Евстропьев, // ЖФХ.1930 V. 1. P. 729–747; (г) М. М. Шульц, // Учёные записки ЛГУ, Серия химических наук 1953. V. 169. P. 80-156; (д) Дж. Эйзенман, Катионселективные стеклянные электроды и методы их применения. — Материалы Первого международного биофизического конгресса (Стокгольм, июль-август 1961 г.), «Наука», Москва, 1964.
- [2] О.М. Петрухин, О.О. Максименко, // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). 2008. V.LII. P.3-6.
- [3] H. N. Norton, Sensor and Analyzer Handbook, Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ, 1982
- [4] Instrument Society of America. 1975. Electrical Transducer Nomenclature and Terminology ANSI Standard MC6.1. Research Triangle Park, North Carolina: Instrument Society of America.
- [5] Expanding the Vision of Sensor Materials, National Materials Advisory Board, National Academy Press, Washington, D.C. 1995.
- [6] D. Patranabis, Sensors and transducers, PHI Learning Pvt. Ltd., 2004, 344 p.
- [7] J. Janata, A. Bezegh, // Anal. Chem. 1988. V. 60. P.62R-74R.
- [8] G. Harsányi, "Polymer films in sensor application", Technomic publishing, Basel, 1995, 435p.
- [9] A. Hulanichi, S. Geab, F. Ingman // Pure. Appl. Chem. 1991. V.63. P. 1247.
- [10] Ю.Г. Власов // Журн. аналит. химии. 1992. Т. 47. P. 114-121.
- [11] G. G Cammann, E. A. Guilbault, H. Hal, R. Kellner, O.S. Wolfbeis, The Cambridge Definition of Chemical Sensors, Cambridge Workshop on Chemical Sensors and Biosensors; Cambridge University Press: New York, 1996.
- [12] Основы аналитической химии: В 2 кн./ Под ред. акад. Ю.А. Золотова. М.: Высшая шк., 1999. 494 с.
- [13] C. McDonagh, C. S. Burke, B. D. MacCraith // Chem. Rev. 2008. V.108. P.400.
- [14] K.S. Lion // IEEE Transactions on Industrial Electronics. 1969. V.16. P.2.
- [15] W. Göpel, J. Hesse, J.N. Zemel / Sensors: A Comprehensive Survey, 1989.Vol. 4. New York: VCH.
- [16] В.М. Шарапов, Е.С. Полищук, Н.Д. Кошевойц, Г.Г. Ишанин, И.Г. Минаев, А.С. Совлуков / Датчики: Справочное пособие, Москва: Техносфера, 2012. 624 с.
- [17] Г.К. Будников // Соросовский образовательный журнал. 1998. V.3. P. 73-76.
- [18] E. Bakker, P. Bühlmann, E. Pretsch // Chem. Rev. 1997. V.97. P. 3083.
- [19] P. Bühlmann, E. Pretsch, E. Bakker // Chem. Rev. 1998. V.98. P. 1593.
- [20] O.S. Wolfbeis // Anal. Chem. 2006. V. 78. P. 3859.
- [21] B.A. McKinley // Chem. Rev. 2008. V. 108. P. 826.
- [22] S. M. Borisov, O. S. Wolfbeis // Chem. Rev. 2008. V.108. P. 423.
- [23] J. Homola // Chem. Rev. 2008. V.108. P. 462.

-
- [24] A. Dybko, W. Wroblewski// Pol. J. Env. Stud. 2002. V. 11. P.5.
- [25] D. Filippini, I. Lundström// Appl. Phys. Lett. 2002. V. 81. P. 3891.
- [26] R. Jackson, L. MacDonald, K. Freeman/ Computer Generated Color, Wiley, 1994.
- [27] D. Filippini, I. Lundström//Anal. Chim. Acta. 2006. V.557. P. 393.
- [28] D. Filippini, C. Di Natale, R. Paolesse, A. D'Amico, I. Lundström// Sens. Act. B. 2007. V.121. P. 93.
- [29] D. Filippini, S.P.S. Svensson, I. Lundström// Chem. Comm.2003. V. 2. P. 240.
- [30] D. Filippini, G. Comina, I. Lundström// Sens. Act. B. 2005. V. 107. P. 580.
- [31] D. Filippini, I. Lundström// Analyst. 2006. V. 131. P. 111.
- [32] C. Di Natale, D. Filippini G. Pennazza, M. Santonico, R. Paolesse, A. Bellincontro, F. Mencarelli, A. D'Amico, I. Lundstrom//Sens. Act. B. 2006. V. 119. P.70.
- [33] D. Filippini, A. Alimelli, C. Di Natale, R. Paolesse, A. D'Amico, I. Lundström// Angew. Chem. Int. Ed. 2006. V. 45. P. 3800.
- [34] D. Filippini, P. Asberg, P. Nilsson, O. Inganäs, I. Lundstrom// Sens. Act. B. 2006. V. 113. P. 410.
- [35] A. Alimelli, D. Filippini, R. Paolesse, S. Moretti, G. Ciolfi, A. D'Amico, I. Lundström, C. Di Natale// Anal. Chim. Acta. 2007. V. 597. P. 103.
- [36] A. Alimelli, G. Pennazza, M.Santonico, R. Paolesse, D. Filippini, A. D'Amico, I. Lundström, C. Di Natale//Anal. Chim. Acta. 2007. V. 582. P.320.
- [37] L. Tortora, M. Stefanelli, M. Mastroianni, L. Lvova, C. Di Natale, A. D'Amico, D. Filippini, I. Lundström, R. Paolesse// Sens. Act. B. 2009. V. 142. P. 457.
- [38] A.J. Badr, L.R. Fulkner/ Electrochemical Methods : Fundamentals and Applications, 2nd Ed. Wiley. 2000. 856 p.
- [39] D. Harvey/ Modern analytical chemistry, 1st ed.The McGraw-Hill press. 2000. 468 p.
- [40] J. Wang/ Analytical electrochemistry. 3rd Ed. John Wiley & Sons Inc. Hoboken. New Jersey. 2006. 250 p.
- [41] Y. Shao, J. Wang, H. Wu, J. Liu, I. A. Aksay, Y. Lin// Electroanalysis. 2010. V.22. P.1027.
- [42] C.B. Jacobs, M.J Pearis, B.J. Venton// Anal. Chim. Acta. 2010. V. 662. V. 105.
- [43] C. Hu, S. Hu// Journal of Sensors. 2009, doi:10.1155/2009/187615. 40 p.
- [44] M. Pedrero, S. Campuzano, J. M. Pingarrón// Electroanalysis. 2012. V.24. P. 470-4872.
- [45] R. P. Buch, E. Lindner// Pure. App. Chem. 1994. V. 66. P. 2527.
- [46] J. Bobacka, A. Ivaska, A. Lewenstam// Chem. Rev. 2008. V. 108. P. 329.
- [47] Морф В./Принципы работы ионоселективных электродов и мембранный транспорт. Москва. Мир. 1985. 280с.
- [48] J. Koryta/ Ion, Electrodes and Membranes. Wiley & Sons. New York. 2nd ed.1992.
- [49] U. E. Spichiger-Keller//Anal. Chim. Acta. 1999. V. 400. P.65.
- [50] E. Bakker// Anal. Chem. 2004. V. 76. P. 3285.
- [51] I.D. Kruse-Jarres// Med. Prog.Techn. V. 13. P. 107.
- [52] D.R. Theavenot, K. Toth, R.A. Durst, G.S. Wilson// Pure Appl. Chem. 1991. V. 71. P. 2333.

-
- [53] D. James, S. M. Scott, Z. Ali, W. T. O'Hare// *Microchim. Acta.* 2005. V. 149. P. 1.
- [54] G. Sauerbrey// *Z. Phys.* 1959. V. 155. P. 206.
- [55] L. Madsen, B.N. Zaba, M. Vandersluijs, A. E. Underhill, K. Carneiro// *J. Mater. Chem.* 1991. V. 1. P. 503.
- [56] Z. P. Deng, D. C. Stone, M. Thompson// *Analyst.* 1997. V. 122. P. 1129.
- [57] G. Appel, R. Mikalo, K. Henkel, A. Oprea, A. Yfantis, I. Paloumpa, D. Schmeiüer// *Solid-State Electronics.* 2000. V. 44. P. 855.
- [58] F.L. Dickert, O. Hayden// *Trends. Anal. Chem.* 1999. V. 18. P. 192.
- [59] C. Dias, D.K. Das-Gupta, Y. Hinton, R.J. Shuford// *Sens. Act. A.* 1993. V. 37-8. P. 343.
- [60] K. Ema, M. Yokoyama, T. Nakamoto, T. Moriizumi// *Sens. Act.* 1989. V. 18. P. 291.
- [61] T. Nakamoto, K. Fukunishi, T. Moriizumi// *Sens. Act. B.* 1990. V. 1. P. 473.
- [62] C. Di Natale, J.A.J. Brunink, F. Bungaro, F. Davide, A. D'Amico, R. Paolesse, T. Boschi, M. Faccio, G. Ferri// *Meas. Sci. Technol.* 1996. V. 7. P. 1103.
- [63] R. Zhou, M. Haug, K.E. Geckeler, W. Göpel// *Sens. Act. B.* 1993. V. 16. P. 312.
- [64] Z. Zhao-Xia, Z. Chang-Zhi// *Chin. J. Anal. Chem.* 2013. V. 41. P. 436-444.
- [65] F. Fathi, C. Kong, Y. Wang, Y. Xie, Y.T. Long, H.B. Kraatz// *Analyst.* 2013. V.138. P. 3380-3387.
- [66] N. Haddour, J. Chauvin, C. Gondran, S. Cosnier// *JACS.* 2006. V. 128. P. 9693-9698.
- [67] Y. An, L. Tang, X. Jiang, H. Chen, M. Yang, L. Jin, S. Zhang, C. Wang, W. Zhang// *Chem. Europ. J.* 2010. V.16. P. 14439-14446.
- [68] Y. Hu, Z. Xue, H. He, R. Ai, X. Liu, X. Lu// *Biosensors. Bioelectron.* 2013. V. 47. P. 45-49.
- [69] W. Tu, Y. Dong, J. Lei, H. Ju// *Anal. Chem.* 2010. V. 82. P. 8711-8716.
- [70] W. Tu, J. Lei, P. Wang, H. Ju// *Chem. Europ. J.* 2011. V. 17. P. 9440-9444.
- [71] B. Sun, K. Zhang, L. Chen, L. Guo, S. Ai// *Biosensors. Bioelectron.* 2013. V. 44. P. 48-51.
- [72] R.W. Cattrall/ *Chemical Sensors.* Oxford University Press. 1997.
- [73] K. J. Albert, N. S. Lewis, C. L. Schauer, G.A. Sotzing, S. E. Stitzel, T. P. Vaid, D. R. Walt// *Chem. Rev.* 2000. V. 100. P. 2595.
- [74] L. Lvova, R. Paolesse, C. Di Natale, E. Martinelli, E. Mazzone, A. Orsini, A. D'Amico/ in: Byrnes, Jim (Ed.), *Imaging for Detection and Identification.* NATO Science for Peace and Security Series. V. VIII, Springer. 2007. P.63-95.
- [75] J. J. Lavigne, E. V. Anslyn// *Angew. Chem. Int. Ed.* 2001. V. 40. P. 3118.
- [76] R.W. Moncrieff // *J. Appl. Physiol.* 1961. V.16. P.742-747.
- [77] K. Persaud, G.H. Dodd // *Nature.* 1982. V.299. P.352-355.
- [78] "Handbook of Machine Olfaction: Electronic Nose Technology" /T. C. Pearce, S. S. Schiffman, H. T. Nagle, J. W. Gardner Eds. Wiley. 2002.
- [79] F. Röck, N. Barsan, U. Weimar// *Chem. Rev.* 2008. V. 108. P. 705.
- [80] M. Peris, L. Escuder-Gilabert// *Anal. Chim. Acta.* 2009. V. 638. P. 1.
- [81] A. D'Amico, C. Di Natale, R. Paolesse// *Sens. Act. B.* 2000. V. 68. P. 324.
- [82] Y. Vlasov, A. Legin, A. Rudnitskaya, C. Di Natale, A. D'Amico// *Pure Appl. Chem.* 2005. V. 77. P. 1965-1983.

-
- [83] M. Otto, J.D.R. Thomas// *Anal. Chem.* 1985. V. 57. P. 2647.
- [84] A. Legin, A. Rudnitskaya, Yu. Vlasov/ in: S. Alegret (Ed.), *Integrated Analytical Systems, Comprehensive Analytical Chemistry, V. XXXIX*, Elsevier. 2003. P. 437.
- [85] K. Hayashi, M. Yamanaka, K. Toko, K. Yamafuji// *Sens. Act. B.* 1990. V. 2. P. 205.
- [86] K. Toko// *Sens. Act. B.* 2000. V. 64. P. 205.
- [87] T. Toko, T. Murata, T. Matsuno, Y. Kikkawa, K. Yamafuji // *Sensors and Materials.* 1992. V.4. P.145-151.
- [88] Y. Kikkawa, T. Toko, K. Yamafuji // *Sensors and Materials.* 1993. V. 5. P. 83-90.
- [89] T. Fukunaga, K. Toko, S. Mori, Y. Nakabayashi, M. Kanda // *Sensors and Materials.* 1996. V.8. P. 47-56.
- [90] S. Iiyama, Y. Suzuki, S. Ezaki, Y. Arikawa, K. Toko// *Mater. Sci. and Engineering.* 1996. V.4. P.45-49.
- [91] T. Katsube, H. Uchida, H. Hatakeyama, H. Maekawa // in *Proc. of Intern. Meeting on Chemical Sensors IV. Gaithersburg. USA. July 22-25. 1996.* P.203.
- [92] S. Iiyama, M. Yahiro, K. Toko // *Sensors and Materials.* 1995. V.7. P. 191-201.
- [93] K. Hayashi, K. Toko, M. Yamanaka, H. Yoshihara, K. Yamafuji, H. Ikezaki, R. Toykubo, K. Satj // *Sens. Act. B.* 1995. V.23. P. 55-61.
- [94] (a) K. Toyota, H. Cui, K. Abe, M. Habara, K. Toko, H. Ikezaki// *Sens. Mater.*2011. V. 23. P. 465–474; (б) K. Toyota, H. Cui, K. Abe, M. Habara, K. Toko, H. Ikezaki// *Sens. Mater.* 2011. V. 23. P. 475–482.
- [95] M. Yasuura, Y. Tahara, H. Ikezaki, K. Toko// *Sensors.* 2014. V. 14. P. 7359-7373.
- [96] T. Matsuno, Y. Imada, K. Toko, K. Yamafuji // *Sensors and Materials.* 1995. V.7. P. 281-288.
- [97] Ю.Г.Власов, А.В. Легин, А.М. Рудницкая // *Журнал аналитической химии.* 1997. Т.52. С. 837-843.
- [98] A.V. Legin, E.A. Bychkov, B.L. Selesnev, Yu.G. Vlasov // *Sens. Act. B.* 1995. V. 27. P. 377-379.
- [99] Yu.G. Vlasov, A.V. Legin, A.M. Rudnitskaya // *Sens. Act. B.* 1997. V. 44. P. 532-537.
- [100] A. Legin, A. Rudnitskaya, Yu. Vlasov, C. Di Natale, E. Mazzone, A. D'Amico// *Sens. Act. B.* 2000. V. 65. P. 232.
- [101] A. Legin, A. Rudnitskaya, A. Smirnova, L. Lvova, Yu. Vlasov// *J. Appl. Chem. (Russ.).*1999. V. 72. P. 114.
- [102] A. Legin, S. Makarychev-Mikhailov, O. Goryacheva, D. Kirsanov, Yu. Vlasov// *Anal. Chim. Acta.* 2002. V. 457. P. 297.
- [103] A. V. Legin, D.O. Kirsanov, V.A. Babain, L.N. Gall, N.R. Gall/ *Radioactive Waste: Sources, Types and Management.* Nova Science Publishers. 2012. P. 77-96.
- [104] Y.G. Vlasov, Y.E. Ermolenko, A.V. Legin, A.M. Rudnitskaya, V.V. Kolodnikov// *J. Anal. Chemistry.* 2010. V. 65. P. 890-898.
- [105] A. Rudnitskaya A. Legin// *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology.* 2008. V. 35. P. 443-451.
- [106] F. Winquist, P. Wide, I. Lundström// *Anal. Chim. Acta.* 1997. V. 357. P. 21-31.
- [107] F. Winquist, J. Olsson, M. Eriksson, // *Anal. Chim. Acta.* 2011. V. 683. P. 192–197

-
- [108] P. Ivarsson, S. Holmin, N.E. Höjer, C. Krantz-Rülcker, F. Winquist// *Sens. Act. B.* 2001. V. 76 P. 449-454.
- [109] F. Winquist, C. Krantz-Rülcker, P. Wide, I. Lundström // *Meas. Sci. Technol.* 1998. V. P. 1937-1946.
- [110] F. Winquist, R. Bjorklund, C. Krantz-Rülcker, I. Lundström, K. Ostergren, T. Skoglund // *Sens. Act. B.* 2005. V. 111. P. 299-304.
- [111] A. Gutes, F. Cespedes, M. del Valle, D. Louthander, C. Krantz-Rülcker, F. Winquist// *Sens. Act. B.* 2006. V. 115. P. 395-395.
- [112] P. Ivarsson, M. Johansson, N.E. Höjer, C. Krantz-Rülcker, F. Winquist, I. Lundström// *Sens. Act. B.* 2005. V. 108. P. 851-857.
- [113] C. Krantz-Rülcker, M. Stenberg, F. Winquist, I. Lundström // *Anal. Chim. Acta.* 2001. V. 426. P. 217-226.
- [114] F. Winquist, C. Krantz-Rülcker, T. Olsson, A. Jonsson// *Precis. Agric.* 2009. V. 10. P. 231-246.
- [115] L. Lvova, E. Martinelli, E. Mazzone, A. Pede, R. Paolesse, C. Di Natale, A. D'Amico// *Talanta.* 2006. V. 70. P. 833.
- [116] R. Martinez-Máñez, J. Soto, E. Garcia-Breijo, L. Gil, J. Ibáñez, E. Llobet// *Sens. Act. B.* 2005. V. 104. P. 302.
- [117] T. Yoshinobu, H. Iwasaki, Y. Ui, K. Furuichi, Yu. Ermolenko, Yu. Mourzina, T. Wagner, N. Naöther, M.J. Schönig// *Methods.* 2005. V. 37. P. 94.
- [118] A. Riul Jr., R. R. Malmegrim, F. J. Fonseca, L.H.C. Mattoso// *Artificial Organs.* 2003. V.27 P.469.
- [119] P. Ciosek, T. Sobanski, E. Augustyniak, W. Wroblewski// *Meas. Sci. Technol.* 2006. V.17. P.6.
- [120] L. Lvova, S. Denis, A. Barra, P. Mielle, C. Salles, C. Vergoignan, C. Di Natale, R. Paolesse, P. Temple-Boyer, G. Feron// *Talanta.* V. 97. P. 171-180.
- [121] A. Zakaria, A.Y. Md Shakaff, M. J. Masnan, M. N. Ahmad, A. H. Adom, M. N. Jaafar, S. A. Ghani, A. H. Abdullah, A. H. Abdul Aziz, L. M. Kamarudin, N. Subari, N.A. Fikri// *Sensors.* 2011. V. 11. 7799-7822.
- [122] A. Kutyla-Olesiuk, P.Ciosek, E.Romanowska, W. Wroblewski // *Talanta.* 2013. V. 103 P. 179-185.
- [123] A. Kutyła-Olesiuk, M. Nowacka, M. Wesoły, P. Ciosek// *Sens. Act. B.* 2013. V. 187. P. 234-240.
- [124] F. Winquist, S. Holmin, C. Krantz-Rülcker, P. Wide, I. Lundström// *Anal. Chim. Acta.* 2000. V. 406. P. 147.
- [125] C. Söderström, A. Rudnitskaya, A. Legin, C. Krantz-Rülcker// *J. Biotechnol.* 2005. V. 119. P. 300.
- [126] A. Arrieta, M.L. Rodriguez-Mendez, J.A.de Saja// *Sens. Act. B.* 2003. V. 95. P. 357.
- [127] F. Winquist, I. Lundström, P. Wide// *Sens. Act. B.* 1999. V. 58. P. 512.
- [128] C. Di Natale, R. Paolesse, A. Macagnano, A. Mantini, A. D'Amico, A. Legin, L. Lvova, A. Rudnitskaya, Yu. Vlasov// *Sens. Act. B.* 2000.V. 64. P. 15.

-
- [129] C. Di Natale, R. Paollesse, A. Macagnano, A. Mantini, A. D'Amico, M. Ubigli, A. Legin, L. Lvova, A. Rudnitaskaya, Yu. Vlasov// *Sens. Act. B.* 2000. V. 69. P. 342.
- [130] S. Buratti, S. Benedetti, M. Scampicchio, E.C. Pangerod // *Anal. Chim. Acta.* 2004. V. 525. P.133.
- [131] D.L. Massart (Ed.)/*Chemometrics: a textbook.* Elsevier. Amsterdam. 1988
- [132] S. Vaihinger, W. Gopel/ in W. Gopel, T.A. Jones, M. Kleitz, I. Lundstrom, T. Seiyama (eds.). *Sensors: A Comprehensive Study. V.2/3. Chemical Sensors.* Weinheim. VHC. 1990. P.191-237.
- [133] М.А. Шараф, Д.Л. Иллман, Б.Р. Ковальски /*Хемометрика.* Ленинград. Химия. 1989. 270с.
- [134] D.L. Massart, B.G. Vandegiste, S.N. Deming, Y. Michotte, L. Kaufmann/ in D.L. Massart (Ed.) *Chemometrics: a textbook,* Elsevier. Amsterdam. 1988.
- [135] O. Ye. Rodionova, A. L. Pomerantsev// *Russian Chemical Reviews.* 2006. V. 75. P. 271 – 287.
- [136] K. Esbensen/ *Multivariate data analysis in practice.* 5th Edn. Camo Press AS. Trondheim. 2004. 590p.
- [137] P. Geladi, B. Kowalski// *Anal. Chim. Acta.* 1986. V. 35. P. 1.
- [138] F. Lindgren, P. Geladi, S. Wold // *J. of Chemometrics.* 1993. V.7. P.45-49.
- [139] H.Wold/ In P.R. Krishnaiah (Ed.). *Multivariate Analysis.* New York. Academic Press. 1966. PP.391-420.
- [140] J. Zupan, J. Gasteiger/ *Neural Network for Chemists, An Introduction.* VCH. Weinheim, 1993.
- [141] L. Lvova, R. Paollesse, C. Di Natale, A. D'Amico// *Sens. Act. B.* 2006. V. 118. P. 439-447.
- [142] K.M. Smith/ in K.M. Smith (Ed.) *Porphyryns and Metallo-porphyrins.* Elsevier. Amsterdam. 1975.
- [143] R. Luguay, L. Jaquinod, E.R. Fronczek, M.G.H. Vicente, K.M. Smith// *Tetrahedron.* 2004.V. 60. P. 2757.
- [144] L. Lvova, M. Mastroianni, C. Di Natale, I. Lundström, R. Paollesse// *Electroanalysis.* 2012. V. 24. P. 776-789.
- [145] Y. Sivalingam, R. Pudi, L. Lvova, G. Pomarico, F. Basoli, A. Catini, A. Legin, R. Paollesse, C. Di Natale// *Sens. Act. B.* 2015. V. 209. P. 613-621.
- [146] R. D Purves/ *Microelectrode methods for intracellular recordings and ionophoresis,* Biological Tecnique Series, V.6. Academic press. London. 1981.
- [147] A. Cricenti, R. Generosi// *Rev. Sci. Instrum.* 1995. V. 66. P. 2843.
- [148] K. Boussu, B. Van der Bruggen, A. Volodin, J. Snauwaert, C. Van Haesendonck, C. Vandecasteele// *J. Coll. Interf. Sci.* 2005. V. 286. P. 632.
- [149] H.W Bischoff, H.C. Bold// *Univ. Texas Publ.* 1963. V. 6318 P. 1-95.
- [150] J. J. P. Stewart// *J. Comput. Chem.*1989. V. 10. P. 209.
- [151] J. J. P. Stewart// *J. Comput. Chem.* 1989. V. 10 P. 221.
- [152] J. J. P. Stewart// *J. Mol. Model.* 2004. V. 10. P. 6.
- [153] A. A. Granovsky, <http://classic.chem.msu.su/gran/gamess/index.html>

-
- [154] M. W. Schmidt, K. K. Baldrige, J. A. Boatz, S. T. Elbert, M. S. Gordon, J. J. Jensen, S. Koseki, N. Matsunaga, K. A. Nguyen, S. Su, T. L. Windus, M. Dupuis, J. A. Montgomery// *J. Comput. Chem.* 1993. V. 14. P. 1347.
- [155] D. Dolphin (Ed.)/*The Porphyrins: Structure and synthesis*. Academic Press. New York. 1978. 437p.
- [156] K.M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard (Eds.)/ *The Porphyrin Handbook*. V. 4. Academic Press. San Diego. 2000.
- [157] Аскарлов К.А., Березин Б.Д., Евстигнеева Р.П. и др //Порфирины: структура, свойства, синтез. Москва. Наука. 1985. 333с.
- [158] L.P. Vernon, G.R. Seely (Eds.)/ *The chlorophylls*. Academic Press. New York. 1966. 679p.
- [159] A.R. Battersby// *Science*. 1994. V. 264. P. 1551.
- [160] J. Martin, E. Quirke, G. J. Shaw, P. D. Soper, J. R. Maxwell// *Tetrahedron*. 1980. V. 36. P. 3261.
- [161] V. Kral, J. Kralova, R. Kaplanek, T. Briza, P. Martasek// *Physiol. Res*. 2006. V.55 (Suppl. 2). P. S3-S26.
- [162] J.L. Soret // *Compt. Rend.* 1883. V. 97. P.1267.
- [163] J.E. Falk/ *Porphyrins and Metalloporphyrins*. Elsevier. New York, 1975.
- [164] Дж. Коллмен, Л. Хигедас, Дж. Нортон, Р. Финке/ *Металлоорганическая химия переходных металлов*. Т.1. Москва. Мир. 1989. 504с.
- [165] J.W. Buchler/ In K.M. Smith (Ed.). *Porphyrins and Metalloporphyrins*. Elsevier. Amsterdam. 1975. PP. 157-231.
- [166] M. Biesaga, K. Pyrzynska, M. Trojanowicz// *Talanta*. 2000. V. 51. P.209.
- [167] R. Paolesse, F. Mandoj, A. Marini, C. Di Natale/*Porphyrin Based Chemical Sensors in Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*. V. 9. America Scientific Publishers. Stevenson Ranch. 2004. PP. 21-42.
- [168] R. Paolesse, D. Monti, S. Nardis, C. Di Natale, /in M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard (Eds.). *The Porphyrin Handbook*. World Scientific Publishing. 2011. V. 12. P. 121-226.
- [169] R. Paolesse, L. Lvova, S. Nardis, C. Di Natale, A. D'Amico, F. Lo Castro// *Microchim. Acta*. 2008. V. 163. P. 103.
- [170] V.K. Gupta, A.K. Jain, Z. Ishtaiwi, H. Lang, G. Maheshwari// *Talanta*. 2007. V. 73. P. 803.
- [171] V.K. Gupta, A.K. Jain, G. Maheshwari, H. Lang, Z. Ishtaiwi// *Sens. Act. B*. 2006. V. 117. P. 99.
- [172] Ł. Górski, E. Malinowska, P. Parzuchowski, W. Zhang, M. E. Meyerhoff// *Electroanalysis*. 2003. V. 15. P. 1229.
- [173] M. Huser, W. E. Morf, K. Fluri, K. Seiler, P. Schulthess, W. Simon// *Helv. Chem. Acta*. 1990. V. 73. P. 1481.
- [174] N. A. Chaniotakis, A. M. Chasser, M. E. Meyerhoff, J. T. Groves// *Anal. Chem*. 1988. V. 60. P. 185.

-
- [175] H. Yim , C. E. Kibbey, S. Ma, D.M. Kliza , D. Lu , S. B. Park, C. Espadas-Torre, M. E. Meyerhoff// *Biosens. Bioelectron.* 1993. V.8. P. 1.
- [176] S. Ciani , G. Eisenman, G.A. Szabo// *J. Membrane Biol.* 1969. V. 1. P. 1.
- [177] M.J. Cha, J.H. Shin, B.K. Oh, C.Y. Kim, G.S. Cha, D.S. Shin, B. Kim// *Anal. Chim. Acta.* 1993. V. 315. P. 311.
- [178] U. Schaller, E. Bakker, E. Pretsch// *Anal. Chem.* 1995. V. 67. P. 3123.
- [179] E. Malinowska, Ł. Górski, M. E. Meyerhoff// *Anal. Chim. Acta.* 2002. V. 468. P. 133.
- [180] Ł. Górski, M. E. Meyerhoff, E. Malinowska//*Talanta.* 2004. V. 63. P. 101.
- [181] S.B. Park, W.Matuszewski, M.E. Meyerhoff, Y.H. Liu, K.M. Kadish// *Electroanalysis.* 1991. V. 3. P. 909.
- [182] E. D. Steinle, S. Amemiya, P. Bühlmann, M. E. Meyerhoff// *Anal. Chem.*, 2000. V. 72. P. 5766.
- [183] J. T. Mitchell-Koch, M. Pietrzak, E. Malinowska , M.E. Meyerhoff//*Electroanalysis.* 2006. V. 18. P. 551.
- [184] L. Wang, M. E. Meyerhoff//*Anal. Chim. Acta.* 2008. V. 611. P. 97–102.
- [185] J. Yoon, J.H. Shin, I. R. Paeng, H. Nam, G. S. Cha, K.J. Paeng// *Anal. Chim. Acta.* 1998. V. 367. P. 175.
- [186] E. Malinowska, J. Niedziółka, M. E. Meyerhoff// *Anal. Chim. Acta.* 2001.V. 432. P. 67.
- [187] Ł. Górski , E. Malinowska// *Anal. Chim. Acta.*, 2005. V. 540. P. 159.
- [188] S. Daunert, S. Wallace, A. Florido, L. G. Bachas// *Anal. Chem.* 1991. V. 63. P. 1676-1679.
- [189] D.B. Papkovsky, T.C. O’Riordan// *J. Fluoresc.* 2005. V. 15. P. 569.
- [190] A.S. Holmes-Smith , X. Zheng , M. Uttamlal// *Meas. Sci. Technol.* 2006. V. 173. P. 328.
- [191] R.N. Gillanders, M.C. Tedford, P.J. Crilly, R.T. Bailey// *Anal. Chim. Acta.* 2004. V. 502. P. 1.
- [192] Y. Amao//*Microchim. Acta.* 2003. V. 143. P. 1.
- [193] D. B. Papkovsky, J. Olah , I. V. Troyanovsky, N. A. Sadovsky, V.D. Romyantseva, A. F. Mironov, A. I. Yaropolov, A. P. Savitsky//*Biosens. Bioelectron.* 1992. V. 7. P. 199.
- [194] S.E. Livingstone/ in J.C. Bailar, H.J. Emeleus, R. Nyholm, A.F. Trotman-Dickenson (Eds.). *Comprehensive Inorganic Chemistry.* Pergamon Press. 1973. P. 1274-1330.
- [195] L.M. Mink, M.L. Neitzel, L.M. Bellomy, R.E. Favlo, P.K. Bogges, B.T. Trainum, P. Yeaman//*Polyhedron.* 1997. V.16. P. 2809.
- [196] L.M. Mink, J.W. Voce, J.E. Ingersoll, V.T. Nguyen, R.K. Boggess, H.Washburn, D.I. Grove// *Polyhedron.* 2000. V. 19. P. 1057.
- [197] L. Lvova, G. Verrelli, M. Stefanelli, S. Nardis, C. Di Natale, A. D. Amico, S. Makarychev-Mikhailov, R. Paolesse// *Analyst.* 2011. V. 136. P. 4966 – 4976.
- [198] M. Jaworska//*Chem.Phys.* 2007. V. 332. P. 203.
- [199] E. Otazo-Sánchez, L. Pérez-Marín, O. Estévez-Hernández, S. Rojas-Limaand, J. Alonso-Chamarro// *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 2001. V. 2. P. 2211.
- [200] E. Malinowska, M.E. Meyerhoff// *Anal. Chim. Acta.* 1995. V. 300. P. 33.

-
- [201] Y. Qin, E. Bakker// *Anal. Chem.* 2001. V. 73. P. 4262.
- [202] C. Avgousti, N. Georgolios, G. Kyriacou, G. Ritzoulis// *Electrochim. Acta.* 1999. V. 44. P. 3295.
- [203] T. Straub, A.M.P. Koskinen// *Inorg. Chem. Commun.* 2002. V.5. P. 1052.
- [204] V.K. Gupta, S. Agarwal//*Talanta.* 2005. V. 65. P. 730.
- [205] S. Daunert, S. Wallace, A. Florido, L. G. Bachas//*Anal. Chem.* 1991. V. 63. P. 1676.
- [206] A. Soleymanpour, E. Hamidi Asl, S.M. Nabavizadeh// *Sens. Act. B.* 2007. V.120. P. 447.
- [207] W. Zhang, A. Mnatsakanov, R. Hower, H. Cantor, Y. Wang// *Front. Bioscience.* 2005. V. 10. P. 88.
- [208] S. Shahrokhian, A. Taghani, F. Moattar// *Electroanalysis.* 2002. V. 14. P. 1621.
- [209] K.C. Oh, K.A. Kim, I.R. Paeng, D. Baek, K.J. Paeng// *J. Electroanal. Chem.* 1999. V. 468. P. 98.
- [210] K. Farhadi, R. Maleki, R.H. Yamchi, H. Sharghi, M. Shamsipur// *Anal. Sci.* 2004. V. 20. P. 805.
- [211] W.J. Xu, Y.Q. Chai, R. Yuan, L. Xu, S.L. Liu// *Anal. Sci.* 2006. V. 22. P. 1345.
- [212] A. K. Singh, S. Mehtab// *Talanta.* 2008. V. 74. P. 806.
- [213] J. Lizondo-Sabater, R. Martinez-Máñez, F. Sancenón, M.J. Seguí, J. Soto// *Anal. Chim. Acta.* 2002. V. 459. P. 229.
- [214] F.Z.E Aamrani, A. Sastre, M. Aguilar, L. Beyer, A. Florido//*Anal. Chim. Acta.* 1996. V. 329. P. 247.
- [215] Y. Tsujimura, M. Yamane, S. Wakida// *Anal. Sci.* 2001. V. 17. P. 1175.
- [216] D. Kliza, M. Meyerhoff// *Electroanalysis.* 1992. V. 4. P. 841.
- [217] T. Poursaberi, M. Hosseini, M. Taghizadeh, H. Pirelahi, M. Shamsipur, M. Reza Ganjali//*Microchem. J.* 2002. V. 72. P. 77.
- [218] A.C. Hazel// *Acta Cryst. C.* 1984. V. 40. P. 751.
- [219] R.L. Milgrom, R. N. Sheppard, A. M. Z. Slawin, D.J. Williams// *Polyhedron.* 1988. V. 7. P. 57.
- [220] J.C. Seo, Y. B. Chung, D. Kim// *Appl. Spectroscopy.* 1987. V. 41. P. 1199.
- [221] Y. Mi, S. Mathison, R. Goines, A. Logue, E. Bakker// *Anal. Chim. Acta.* 1999. V. 397. P. 103.
- [222] D. Amman, E. Pretsch, W. Simon// *Anal. Chim. Acta.* 1985. V. 171. P. 119.
- [223] A. Mahammed, J.J. Weaver, H.B. Gray, M. Abdelas, Z. Gross// *Tetrahedron Lett.* 2003. V. 44. P. 2077.
- [224] Z. Gross// *Biol. Inorg. Chem.* 2001. V. 6. P. 733.
- [225] S. Daunert L. G. Bachas//*Anal. Chem.* 1989. V. 61. P. 499.
- [226] S.A. O'Raily, S. Daunert, L.G. Bachas// *Anal. Chem.* 1991. V.63. P. 1278.
- [227] C. Palet, M. Muniz, S. Daunert, L.G. Bachas// *Anal. Chem.* 1993. V. 65. P.1533.
- [228] X.B. Zhang, Z.X. Han, Z.H. Fang, G.L. Shen, R.Q. Yu// *Anal. Chim. Acta.* 2006. V. 562. P. 210.
- [229] C.L. He, F.L. Ren, X.B. Zhang, Z.X. Han//*Talanta.* 2006. V. 70. P. 364.
- [230] J. Radecki, I. Stenka, E. Dolusic, W. Dzyba//*Electrochim. Acta.* 2006. V. 51. P. 2282.

-
- [231] L. Lvova, C. Di Natale, A. D'Amico, R. Paolesse// *J. Porph. Phthalocyan.* 2009. V. 13. P. 1168–1178.
- [232] P. Buhlmann, S. Yajima, K. Tohda, K. Umezawa, S. Nishizawa, Y. Umezawa// *Electroanalysis.* 1995. V. 7. P. 811.
- [233] P.A. Gale// *Coord. Chem. Rev.* 2003. V. 240. P. 191.
- [234] Y. Kondo, T. Bühner, K. Seiler, E. Frömter, W. Simon// *Pflügers Arch.* 1989. V. 414. P. 663.
- [235] W. Zhang, E. Rozniecka, E. Malinowska, P. Parzuchowski, M.E. Meyerhoff// *Anal. Chem.* 2002. V. 74. P. 4548.
- [236] N.A. Chaniotakis, K. Jurkschat, A. Ruehleemann. // *Anal. Chim. Acta.* 1993. V. 282. P. 345.
- [237] C.M. Carey, W.B. Riggan// *Anal. Chem.* 1994. V. 66. P. 3587.
- [238] T. Le Goff, J. Braven, D. Scholefield// *Anal. Chim. Acta.* 2004. V. 510. P. 175.
- [239] F. Kivlehan, W.J. Mace, H.A. Moynihan, D.W.A. Arrigan// *Anal. Chim. Acta.* 2007. V. 585. P. 154.
- [240] M.R. Ganjali, F. Mizani, M.S. Niasari// *Anal. Chim. Acta.* 2003. V. 481. P. 85.
- [241] K. Wygladacz, Y. Qin, W. Wroblewski, E. Bakker// *Anal. Chim. Acta.* 2008. V. 614. P. 77.
- [242] M. Fibbioli, M. Berger, F.P. Schmidtchen, E. Pretsch// *Anal. Chem.* 2000. V. 72. P. 156.
- [243] J. Liu, Y. Masuda, E. Sekido, S. Wakida, K. Hiroyoshi// *Anal. Chim. Acta.* 1989. V. 224. P.145.
- [244] M.E. Meyerhoff, E. Pretsch, D.H. Welti, W. Simon// *Anal. Chem.* 1987. V. 59. P.144.
- [245] S.S. Levitchev, A.L. Smirnova, V.L. Khitrova, L.B. Lvova, A.V. Bratov, Yu.G. Vlasov// *Sens. Act. B.* 1997. V. 44. P. 397.
- [246] H.J. Lee, I.J. Yoon, C.L. Yoo, H.J. Puyn, G.S. Cha, H. Nam// *Anal. Chem.* 2000. V. 72. P. 4694.
- [247] T. Sokalski, D. Paradowski, J. Ostaszewska, M. Maj-Zurawska, J. Mieczkowski, A. Lewenstam, A. Hulanicki// *Analyst.* 1996. V. 121. P. 133.
- [248] M. Maj-Zurawska, T. Sokalski, J. Ostaszewska, D. Paradowski, J. Mieczkowski, Z. Charnocki, A. Lewenstam, A. Hulanicki// *Talanta.* 1997. V. 44. P. 1641.
- [249] S. Makarychev-Mikhailov, O. Goryacheva, J. Mortensen, A. Legin, S. Levitchev, Yu. Vlasov// *Electroanalysis.* 2003. V. 15. P. 1291.
- [250] S. Makarychev-Mikhailov, A. Legin, J. Mortensen, S. Levitchev, Yu. Vlasov// *Analyst.* 2004. V. 129. P.213.
- [251] Y. K. Hong, W. J. Yoon, H. J. Oh, Y. M. Jun, H. Pyun, G. S. Cha, H. Nam// *Electroanalysis.* 1997. V. 9. P. 865.
- [252] K.S. Lee, G.H. Shin, S.H. Han, G.S. Cha, D.S. Shin, H.D. Kim// *Anal. Chem.* 1993.V. 65. P. 3151.
- [253] C.J. Fowler, T.J. Haverlock, B.A. Moyer, J.A. Shriver, D.E. Gross, M. Marquez, J.L. Sessler, M.A. Hossain, K. Bowman-James// *J. Am. Chem. Soc.* 2008. V. 130. P. 14386.

-
- [254] E. Bakker/ in Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition). 2005. P. 509-515.
- [255] O. Dinten, U.E. Spichiger, N. Chaniotakis, P. Gehrig, B. Rusterholz, W.E. Morf, W. Simon// Anal. Chem. 1991. V. 63. P. 596.
- [256] R. W. Murray (Ed.)/ Molecular Design of Electrodes Surfaces. Wiley-Interscience. New York. 1992. 472p.
- [257] W. Schuhmann//Mikrochim. Acta. 1995. V. 121. P. 1.
- [258] Y. Qin, E. Bakker// Anal. Chem. 2004. V. 76. P. 4379.
- [259] L. Wang, M. E. Meyerhoff// Anal. Chim. Acta. 2008. V. 61. P. 197.
- [260] B. A. White, R.W. Murray//J Electroanal. Chem. 1985.V. 189. P. 345.
- [261] J. Havon, A. Raveh, A. J. Bettelheim// Electroanal. Chem. 1993. V. 359. P. 209.
- [262] P.A. Liddell, M. Gervaldo, J. W. Bridgewater, A. E. Keirstead, S. Lin, T. A. Moore, A. L. Moore, D. Gust// Chem. Mater. 2008.V. 20. P.135.
- [263] S. Cosnier, C. Gondran, R. Wessel, F.P. Montforts, M. Wedel// J. Electroanal. Chem. 2000. V.488. P. 83.
- [264] N. Diab, W. Schuhmann// Electrochim. Acta. 2001. V. 47. P. 265.
- [265] F. Bedioui, J. Devynck, C. Bied-Charreton// Acc. Chem. Res. 1995. V. 28. P. 30.
- [266] C. Amengaud, P. Moisy, F. Bedioui, J. Devynck// J. Electroanal. Chem. 1990. V. 277. P. 197.
- [267] S. Cosnier, A. Walter, F. Montforts// JPP. 1998. V. 2. P. 39.
- [268] L. Lvova, R. Paolesse, C. Di Natale, A. D'Amico, A. Bergamini// Int.J. Electrochem. 2011. doi:10.4061/2011/930203
- [269] T.L. Blair, J.R. Allen, S. Daunert, L.G. Bachas// Anal. Chem. 1993. V. 65. P. 2155.
- [270] R. Volf, T. Shishkanova, P. Matejka, M. Hamplova, V. Kral// Anal. Chim. Acta. 1999. V. 381. P. 197.
- [271] A. Watanabe, K. Mori, Y. Iwasaki, Y. Nakamura, S. Niizuma, S. // Macromolecules. 1987. V. 20. P. 1973.
- [272] B. Adhikari, S. Majumdar// Prog. Polym. Sci. 2004. V. 29. P. 699.
- [273] M. Kaempgen, S. Roth// J. Electroanal. Chem. 2006. V. 586. P. 72.
- [274] E. M. Genies, G. Bidan, A. F. Diaz// J. Electroanal. Chem. 1983. V. 149. P. 101.
- [275] K. J. Kim, H. S. Song, J. D. Kim// Bull. Korean Chem. Soc. 1988. V. 9. P. 248.
- [276] S. Asavapiriyant, G. K. Chandler, G. A. Gunawardena, D. Pletcher// J. Electroanal. Chem. 1984. V. 177. P. 229.
- [277] Y. J. Qiu, J. R. Reynolds// J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem. 1992. V. 30. P. 1315.
- [278] K. Tanaka, T. Shichiri, M. Toriumi, T. Yamabe// Synth. Met. 1989. V. 30. P. 271.
- [279] S. V. Lowen, J. D. Van Dyke// J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem. 1990. V. 28. P. 248.
- [280] S. Sadki, P. Schottland, N. Brodie, G. Sabouraud// Chem. Soc. Rev. 2000. V. 29. P. 283.
- [281] A. Deronzier, R. Devaux, D. Limosin// I. Electroanal. Chem. 1992. V. 324. P. 325.
- [282] A. Michalska, E.A.H. Hall// Electroanalysis. 1999. V. 11. P. 756.
- [283] S. K. Arya, S. Saha, J. E. Ramirez-Vick, V. Gupta, S. Bhansali, S. P. Singh//Anal. Chim.

Acta. 2012. V. 737. P. 1– 21.

[284] J. Yang, B. Wang, Y. Liu, K. Wang, W. Xing, C. Liu// J. Power Sources. 2014. V. 248. P.660-667.

[285] Q. Zhao, M. Yu, T. Xie, L. Peng, P. Wang, D. Wang, // Nanotechnology. 2008. V. 19. P. 245706.

[286] M. G. H. Vicente// Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents. 2001. V. 1. P. 175-194.

[287] Y. Liu, Y. Zhang, S. Wang, C. Pope, C. Wei//Appl. Phys. Lett. 2008. V. 92. P. 143901-143903.

[288] K. Nonomura, T. Loewenstein, E. Michaelis, D. Wohrle, T. Yoshida, H. Minoura, D. Schlettwein// Phys. Chem. Chem. Phys. 2006. V. 8. P. 3867-3875.

[289] D. L. Nelson, M. M. Cox/ Lehninger Principles of Biochemistry. 5th ed. 2008. W.H. Freeman. New York. 1152p.

[290] J. M. Berg, J. L. Tymoczko , L. Stryer/Biochemistry. 7th ed. 2012. W.H. Freeman. New York.

[291] E. Kinnaert, P. Duez, R. Morandini, J. Dubois, P. Van Houtte and G. Ghanem// Pigm. Cell Res. 2004. V.17. P. 275.

[292] V. Gazit, R. Ben-Abraham, R. Coleman, A. Weizman, Y. Karz// Amino Acids. 2004. V. 26. P. 163-168.

[293] C.A. Burtis, E.R. Ashwood/Tietz Fundamental of Clinical Chemistry. 4th ed. 1996. W.S. Saunders company. A Division of Horcount Brace & Company. Philadelphia. 242p.

[294] M. Baron, J. Sochor// Int. J. Electrochem. Sci. 2013. V. 8. P. 11072 – 11086.

[295] Z. Liu, H.Zhang, S. Hou, H. Ma//Microchim. Acta. 2012. V. 177. P.427-433.

[296] Y.H. Bai, J.J. Xu, H.Y. Chen// Biosens. Bioelectr. 2009. V.24. P. 2985-2990.

[297] S. Ge, M. Yan, J. Lu, M. Zhang, F. Yu, J.Yu, X. Song, S. Yu// Biosens. Bioelectr. 2012. V. 31. P. 49–54.

[298] F. Bedioui, S. Griveau, T. Nyokong, A. John Appleby, C.A. Caro, M. Gulppi, G. Ochoa, J.H. Zagal// Phys. Chem. Chem. Phys. 2007. V. 9. P. 3383-3396.

[299] A. J. Said, G. Poize, C. Martini, D. Ferry, W. Marine, S. Giorgio, F. Fages, J. Hocq, J. Bouclé, J. Nelson, J. R. Durrant and J. Ackermann// J. Phys. Chem. C. 2010. V. 114. P. 11273–11278.

[300] S. Kakhki, E. Shams// J. Electroanal. Chem. 2013. V. 704. P. 249–254.

[301] S. Wu, X. Lan, F. Huang, Z. Luo, H. Ju, C. Meng, C. Duan// Biosens. Bioelectron. 2012. V. 32. P. 293–296.

[302] H. Mansour, M.E. El-Khouly, S.Y. Shaban, O. Ito, N. Jux// JPP. 2007. V. 11. P. 719.

[303] K. Uosaki, T. Kondo, X.Q. Zhang, M. Yanagida// J. Am. Chem. Soc. 1997. V. 119. P. 8367.

[304] H. Imatori, K. Tamaki, D.M. Guldi, C. Luo, M. Fujusuka, O. Ito, Y. Sakata, S. Fukuzumi // J. Am. Chem. Soc. 2001. V. 123. P. 2607-2617.

[305] K. Uosaki, T. Kondo, X.Q. Zhang, M. Yanagida // J. Am. Chem. Soc. 1997. V. 119. P. 8367-8368.

[306] V. N. Nemykin, G.T. Rohde, C.D. Barrett, R.G. Hadt, C. Bizzarri, P. Galloni, B. Floris, I. Nowik, R. H. Herber, A. G. Marrani, R. Zappalà, N.M. Loim, // J. Am. Chem. Soc. 2009. V.

131. P. 14969–14978.

- [307] L. Lvova, P. Galloni, B. Floris, I. Lundström, R. Paolesse, C. Di Natale // *Sensors*. 2013. V. 13. P. 5841-5856
- [308] M. Kolossa-Gehring, K. Becker, A. Conrad, C. Schröter-Kermani, C. Schulz, M. Seiwert // *Int. J. Hyg. Environ. Health*. 2012. V. 215. P. 120-126.
- [309] J. Spijker, G. Mol, L. Posthuma // *Environ Geochem Health*. 2011. V. 33. P. 409-426.
- [310] J. Grigg, // *Arch. Dis. Child*. 2004. V. 89. P.244-250.
- [311] Standard methods for the examination of water and wastewater, XX Ed. 1998. Washington. APHA. 3-12/3-31.
- [312] P. Namour, M. Lepot, N. Jaffrezic-Renault // *Sensors*. 2010. V. 10. P. 7947-7978.
- [313] (a) N.M.H. Rizk, S.S. Abbas, S.M. Hamza, Y.M. Abd EL-Karem // *Sensors*. 2009. V. 9. P. 1860-1875; (б) V.K. Gupta, A.K. Jain, P. Kumar // *Sens. Act. B*. 2006. V. 120. P. 259-265.
- [314] (a) R.K. Mahajan, P. Sood, // *Int. J. Electrochem. Sci*. 2007. V. 2. V. 832–847; (б) A.K. Singh, S. Mehtab, A.K. Jain // *Anal. Chim. Acta*. 2006. V. 575. P. 25-31.
- [315] V. N. Nemykin, P. Galloni, B. Floris, C. D. Barrett, R.G. Hadt, R.I. Subbotin, A.G. Marrani, R. Zaroni, N.M. Loim // *Dalton Trans*. 2008. P. 4233–4246
- [316] U. Schaller, E. Bakker, E. Pretsch // *Anal. Chem*. 1995.V. 67. P. 3123-3132.
- [317] <http://www.water.ru/bz/param/neorg.shtml#c1>
- [318] M.Kubo, Y. Mori, M. Otani, Y.; Ishibashi, M. Yasuda, K. Hosomizu, H. Miyasaka, H. Imahori, S. Nakashima // *J. Phys. Chem. A*. 2007. V. 111. P. 5136–5143.
- [319] V.S. Shetti, M. Ravikanth // *EurJOC*. 2010. V. 3. P. 494-508.
- [320] E.S. Schmidt, T.S. Calderwood, T.C. Bruice // *Inorg. Chem*. 1986. V. 25 P. 3718–3720.
- [321] a) L. Basade-Desmonts, D.N. Reinhoudt, M. Crego-Calama // *Chem. Soc. Rev*. 2007. V. 36. P. 993-1017; б) C. Lodeiro, F. Pina // *Coord. Chem. Rev*. 2009. V. 253. P.1353; в) M. Formica, V. Fusi, L. Giorgi, M. Micheloni // *Coord. Chem. Rev*. 2012. V. 256. P. 170-192.
- [322] a) G. De Santis, L. Fabbrizzi, M. Licchelli, C. Mangano, D. Sacchi, N. Sardone // *Inorg. Chim. Acta*. 1997. V. 257. P. 69; б) S. Yoon, E.W. Miller, Q. He, P.H. Do, C.J. Chang // *Angew. Chem. Int. Ed*. 2007. V. 46. P. 6658.
- [323] a) M. Mameli, M.C. Aragoni, M. Arca, C. Caltagirone, F. Demartin, G. Farruggia, G. De Filippo, F.A. Devillanova, A. Garau, F. Isaia, V. Lippolis, S. Murgia, L. Prodi, A. Pintus, N. Zaccheroni // *Chem. ECJ*. 2010. V.16. P. 919-930; б) M. Mameli, V. Lippolis, C. Caltagirone, J.L. Capelo, O.N. Faza, C. Lodeiro // *Inorg. Chem*. 2010. V. 49. P. 8276-8286.
- [324] C. Bazzicalupi, C. Caltagirone, Z. Cao, Q. Chen, C. Di Natale, A. Garau, V. Lippolis, L. Lvova, H. Liu, I. Lundström, M. C. Mostallino, M. Nieddu, R. Paolesse, L. Prodi, M. Sgarzi, N. Zaccheroni // *Chem. Eur. J*. 2013. V. 19. P. 14639 – 14653.
- [325] P. Vernet/Heavy Metals in the Environment. Elsevier. New York. 1991.
- [326] A. Siegel, H. Siegel, R.K.O Siegel/ Metal Ions in Life Sciences. Neurodegenerative Diseases and Metal Ions. 2006. V.1. John Wiley & Sons. Chichester.
- [327] G.F. Nordberg, B.A. Fowler, M. Nordberg, L. Friberg/Handbook on the Toxicology

-
- of Metals, 3rd ed. 2007. Elsevier. New York.
- [328] W.F. Fitzgerald, C.H. Lamorg, C.R. Hammerschmidt// *Chem. Rev.* 2007. V. 107. P. 641-662.
- [329] L. Charlet, Y. Chapron, P. Faller, R. Kirsch, A.T. Stone, P.C. Bayeye//*Coord. Chem Rev.* 2012. V. 256. P. 2147.
- [330]a) C. Burrini, A. Cagnini// *Talanta.* 1997. V. 44. P. 1219; б) A. Safawi, L. Eddon, M. Foulkes, P. Stockwell, W. Corns// *Analyst.* 1999. V. 124. P. 185; в) Y. Yamini, N. Alizadeh, M. Shamsipur// *Anal. Chim. Acta.* 1997. V. 355. P. 69; r) Z. Liu, Z. Zhu, H. Zheng, S. Hu// *Anal. Chem.* 2012. V. 84. P. 10170-10174.
- [331]a) M.J. Powell, E.S.K. Quan, D.W. Boomer, D.R. Wiederin// *Anal. Chem.* 1992. V. 64. P. 2233; б) I. Gelaude, R. Dams, F. Vanhaecke, L. Moens// *Anal. Chem.* 2002. V. 74. P. 3833; в) Y. Gao, Z. Shi, Z. Long, P. Wu, C. Zheng, X. Hou//*Microchemical J.* 2012. V. 103. P. 1.
- [332] K. Kaur, R. Saini, A. Kumar, V. Luxami, N. Kaur, P. Singh, S. Kumar// *Coord. Chem. Rev.* 2012. V. 256. P. 1992-2028.
- [333] H.N. Kim, W.X. Ren, J.S. Kim, J. Yoon// *Chem. Soc. Rev.* 2012. V. 41. P. 3210-3244.
- [334] J. Dessingou, K. Tabbasum, A. Mitra, V. K. Hinge, C.P. Rao// *J. Org. Chem.* 2012, V. 77. P. 1406-1413.
- [335] E.S. Childress, C.A. Roberts, D.Y. Sherwood, C.L.M. LeGuyard, E.S. Harbron// *Anal Chem.* 2012. V. 84. P. 1235-1239.
- [336] M. Shamsipur, M. Hosseini, K. Alizadeh, N. Alizadeh, A. Yari, C. Caltagirone, V. Lippolis// *Anal. Chim. Acta.* 2005. V. 533. P. 17.
- [337] D.B. Papkovsky, G.J. Mohr, O.S. Wolfbeis// *Anal. Chim. Acta.* 1997. V. 337. P. 201.
- [338] *Inorganic Mercury/ in Distribution and Sales Service, International Programme on Chemical Safety, V. 118.* 1991. WHO. Geneva. Switzerland.
- [339] a) L. Prodi, F. Bolletta, M. Montalti, N. Zaccheroni, P. B. Savage, J. S. Bradshaw, R. M. Izatt // *Tetrahedron Lett.* 1998. V. 39. P. 5451-5454; б) G. Farruggia, S. Iotti, L. Prodi, M. Montalti, N. Zaccheroni, P. B. Savage, V. Trapani, P. Sale, F. I. Wolf// *J. AM. CHEM. SOC.* 2006. V. 128. P. 344-350; в) G. Farruggia, S. Iotti, L. Prodi, N. Zaccheroni, M. Montalti, P.B. Savage, G. Andreani, V. Trapani, F. I. Wolf, // *J. Fluoresc.* 2009. V. 19. P. 11; r) C. Marraccini, G. Farruggia, M. Lombardo, L. Prodi, M. Sgarzi, V. Trapani, C. Trombini, F.I. Wolf, N. Zaccheroni, S. Iotti// *Chem. Sci.* 2012. V. 3. P. 727-734.
- [340] N. J. Birch (Ed.)/ *Magnesium and the cell.* Academic Press. London. 1993.
- [341] V.K. Gupta, M. Mergu, L. K. Kumawat, A. K. Singh// *Sens. Act. B.* 2015. V. 207. P.216-223.
- [342].H Kao, T.T. Chen, Y.R. Cai, C.H. Hu, Y.W. Liu, Y. Jhong Y, A.T. Wu // *J. Luminesc.* 2016. V. 169. P. 156-60.
- [343] L.H. Wang/ in *Applied Mechanics and Materials.* 2014. P. 106-109.
- [344]V . Balasubramanian, R. Srinivasan, R. Miskimins, AG. Sykes // *Tetrahedron.* 2016. V.72(1). P.205-209.
- [345] Y. Dong, X. Mao, X. Jiang, J. Hou, Y. Cheng, C. Zhu // *Chem. Comm.* 2011. V. 47(33). P. 9450-9452.

-
- [346] D.B. Papkovsky, G.J. Mohr, O.S. Wolfbeis// *Anal. Chim. Acta*. 1997. V. 337. P. 201.
- [347] C. Svrcek, D.W. Smith// *Env. Eng. Science*. 2004. V. 3. P. 155-185.
- [348] S. Merel, D. Walker, R. Chicana, S. Snyder, E. Baurès, O. Thomas//*Environment Intern*. 2013. V. 59. P. 303–327.
- [349] A. Taton, S. Grubisic, P. Balthasart, D.A. Hodgson, J. Laybourn-Parry, A. Wilmotte// *FEMS Microbiol. Ecol*. 2006. V. 57. P. 272-289.
- [350] M.E. van Apeldoorn, H.P. van Egmond, G.J.A. Speijers, G.J.I. Bakker// *Mol. Nutr. Food Res*. 2007. V.51. P. 7 – 60.
- [351] W.W. Carmichael, S. Azevedo, J.S. An, R. J.R. Molica E.M. Jochimsen, S. Lau, K.L. Rinehart, G.R. Shaw, G.K. Eaglesham// *Environmental Health Perspectives*. 2001. V. 109. P. 663-668.
- [352] C. Rivasseau, S. Martins, M.C. Hennion// *J. Chromatogr. A*. 1998. V. 799. P. 155-169.
- [353] L. Pearson, T. Mihali, M. Moffitt, R. Kellmann, B. Neilan// *Mar. Drugs*. 2010. V. 8. P. 1650-1680.
- [354] J.K. Fawell, H.A. Hart, W. Parr// *Water Supply*. 1003. V. 11. P. 109-121.
- [355] I. Falconer, J. Bartram, I. Chorus, T.K. Goodman, H. Utkilen, M. Burch, G.A. Codd/ In I. Chorus, J. Bartram, (Eds). *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management*. 1999. WHO & E&FN Spon, London, P. 155–178.
- [356] J.A. Zweigenbaum, J.D. Henion, K.A. Beattie, G.A. Codd, G.K. Poon// *J. Pharm. Biomed. Anal*. 2000. V.23. P. 723-733.
- [357] J. Meriluoto, L. Lawton, K.I. Harada/ in O. Holst (Ed.) *Bacterial Toxin Methods & Protocols*. The Humana Press. Totowa. 2000. P. 65 -87.
- [358] A. Zeck, M.G. Weller, D. Bursillb, R. Niessner// *Analyst* . 2001. V. 126. P. 2002-2007.
- [359] C. Han, A. Doepke, W. Cho, V. Likodimos, A. A. de la Cruz, T. Back, W.R. Heineman, H. B.Halsall, V. N. Shanov, M. J. Schulz, P. Falaras, D.D. Dionysiou//*Adv. Func. Mat*. 2013. V. 23. P. 1807-1816.
- [360] F. Zhang, S.H. Yang, T.Y. Kang, G. S. Cha, H. Nam, M. E. Meyerhoff// *Biosens. Bioelectron*. 2007. V. 22. P. 1419-1425.
- [361] R.B. Queiròs, J.P. Noronha, P.V.S. Marques, J. S. Fernandes, M.G.F Sales// *Analyst*. 2012. V. 137. P. 2437-2444.
- [362] K. Chen, M. Liu, G. Zhao, H. Shi, L. Fan, S. Zhao// *Environ. Sci. Technol*. 2012. V. 46. P. 11955–11961.
- [363] H. He, L. Zhou, Y. Wang, C. Li, J. Yai, W. Zhang, Q. Zhang, M. Li, H. Li, W.-F. Dong// *Talanta*. 2015. V.131. P. 8-13.
- [364] L. Lvova, C. Guanais Gonçalves, K. Petropoulos, L. Micheli, G. Volpe, D. Kirsanov, A. Legin, E. Viaggiu, R. Congestri, L. Guzzella, F. Pozzoni, G. Palleschi, C. Di Natale, R. Paolesse// *Biosens. Bioelectron*. 2016. V. 80. P. 154–160.
- [365] V. Panchuk, L. Lvova, D.Kirsanov, C. Guanais Goncalves, C. Di Natale, R. Paolesse, A. Legin // *Sens. Act B*. 2016. V. 237. P. 962-968.
- [366] L. Lvova, R. Pudi, P. Galloni, V. Lippolis, C. Di Natale, I. Lundstrom, R.Paolesse// *Sens. Act B*. 2015. V. 207B. P. 1076-1086.

-
- [367] S. E. Ross, Y. Shi, C. J. Seliskar, W. R. Heineman// *Electrochim. Acta*. 2003. V. 48. P. 3313.
- [368] N. Pantelic, S. E. Andria, W.R. Heineman, C.J. Seliskar// *Anal. Chem.* 2009. V.81. P. 6756.
- [369] L. Wang, J. S. Swensen// *Sens. Act. B*. 2012. V.174. P. 366– 372.
- [370] US patent US20070042450 A1, <http://appft.uspto.gov>
- [371] S. Chen, D. Du, J. Huang, A. Zhang, H. Tu, A. Zhang// *Talanta*. 2011. V. 84. P. 451.
- [372] O. Chailapakul, W. Wonsawat, W. Siangproh, K. Grudpan, Y. Zhao, Z. Zhu// *Food Chem.* 2008. V. 109. P. 876.
- [373] Y. Wu// *Food Chem.* 2010. V. 121. P. 580-584.