



УДК 543.544

Сорбционные покрытия пьезокварцевых сенсоров на основе полимеров с молекулярными отпечатками для определения динонилфталата и кофеина

Бондаревский А.С., Соболева И.Г., Ермолаева Т.Н.

Липецкий государственный технический университет, Липецк

Поступила в редакцию 18.03.2010 г.

Аннотация

Предложено использование полимеров с молекулярными отпечатками (ПМО), полученных нековалентным импринтингом, в качестве рецепторных покрытий пьезокварцевых массочувствительных сенсоров для определения динонилфталата и кофеина. Изучена сорбция соединений на ПМО в воздушной и водной средах, влияние соотношения функциональный мономер : темплат в предполимеризационной смеси на чувствительность и предел обнаружения сенсоров, выбраны оптимальные условия синтеза.

Ключевые слова: молекулярный импринтинг, полимеры с молекулярными отпечатками, пьезокварцевые сенсоры, динонилфталат, кофеин

Using of molecular imprinted polymers (MIP), synthesized by non-covalent imprinting, as receptor coverings of piezoelectric mass-sensitive sensors for determination of dinonylphthalate and caffeine is offered. Sorption of compounds on MIPs in gas and water media, influence of monomer : template ratio on sensitivity and detection limit of sensors were investigated. Optimal conditions of synthesis were chosen.

Key words: molecular imprinting, molecular imprinted polymers, quartz crystal microbalance, dinonylphthalate, caffeine

Введение

Биомиметическими называют сенсоры, рецепторные покрытия которых содержат синтетические материалы, способные, подобно биологическим реагентам (антителам, ферментам и т.д.), осуществлять селективное связывание молекул analyта благодаря наличию в их структуре сайтов молекулярного распознавания, так называемых «молекулярных отпечатков». В отличие от биореагентов, полимеры с молекулярными отпечатками относительно недороги, стабильны в агрессивных средах и при длительном хранении, а также могут быть использованы для анализа высокотоксичных соединений [1 – 4].

Образование сайтов молекулярного распознавания происходит в результате импринтинга, в ходе которого сайт формируется вокруг молекулы целевого соединения. После её удаления из полимерной матрицы в образовавшихся нанопорах возможно повторное связывание молекул заданного типа. Специфичность

сорбции обусловлена геометрическим соответствием полученного молекулярного отпечатка и комплементарным расположением функциональных групп в его структуре. Использование полимеров с молекулярными отпечатками в комбинации с массочувствительными пьезокварцевыми резонаторами позволяет осуществлять прямое детектирование широкого спектра соединений путём непосредственного определения массы аналита, сорбированного на поверхности сенсора.

Цель работы – изучение условий получения полимеров с молекулярными отпечатками динонилфталата и кофеина. Выбор динонилфталата (рис. 1а) в качестве аналита обусловлен тем, что он относится к классу эндокринных деструкторов – соединений, способных накапливаться в организме и оказывать негативное воздействие на эндокринную систему человека. ПДК динонилфталата в воздухе рабочей зоны составляет 1мг/м^3 . Кофеин (рис. 1б) – ксантиновый алкалоид, содержание которого является одним из показателей качества пищевых продуктов, в частности, растворимого кофе.

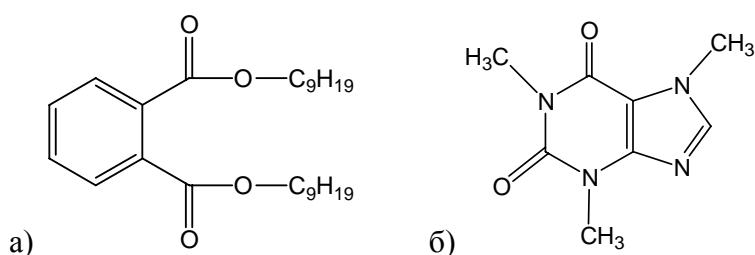


Рис. 1. Структурные формулы аналитов: а) динонилфталата; б) кофеина

Кроме того, возможно формирование комплементарных сайтов связывания вокруг молекул данных соединений благодаря их ароматической структуре и наличию функциональных групп.

Эксперимент

В работе использованы функциональные мономеры акриламид («Sigma») и метакриловая кислота («Вектон», ч.д.а.), сшивающий реагент этиленгликольдиметакрилат («Sigma»), инициатор полимеризации азобисизобутиронитрил («Acros Organics»), поливинилхлорид (х.ч.), динонилфталат (ч.д.а.), кофеин (х.ч.), растворители этанол 96%-ный, вода бидистиллированная, ацетонитрил («Ranгeас»), хлороформ (ч.д.а), тетрагидрофуран (ч.д.а.).

Полимеризация проводилась в ультразвуковой ванне ПСБ-2835-03 (ЗАО «ПСБ – Галс»). Для измельчения полимера использовалась агатовая ступка, для отбора частиц нужного размера применялось сито с размером ячейки 40 микрон («Вибротехника»). Извлечение темплата из полимерной матрицы проводилось на электромеханическом вибросмесителе («Kavalier», Чехословакия), содержание темплата в растворителе определяли с помощью спектрофотометра СФ-46 («Ломо»).

В качестве физических преобразователей сенсоров использовались пьезокварцевые резонаторы АТ-среза с диаметром кристалла 12,5 мм, с серебряными электродами диаметром 5 мм, нанесёнными магнетонным напылением на обе стороны кварцевого кристалла, с собственной частотой колебаний 9 МГц. Для

регистрации аналитического сигнала использовалась схема, включающая генератор колебаний Б5-30 и частотомер-хронометр Ф5041.

Синтез полимеров проводили по методике, описанной в работах [2, 5]: при получении полимеров с молекулярными отпечатками динонилфталата мономер и темплат растворяли в этиловом спирте, при синтезе ПМО кофеина в смеси этанол-вода (4:1 об.). Полученный раствор в течение двух часов выдерживали при температуре 4°C для образования предполимеразационного комплекса, после чего раствор продували аргоном для удаления кислорода, препятствующего полимеризации, добавляли сшивающий реагент и инициатор и проводили полимеризацию при температуре 70°C в ультразвуковой ванне в течение 10 часов. По аналогичной схеме, за исключением добавления темплата, синтезировали полимеры сравнения (ПС).

Согласно литературным данным, ПМО измельчают до частиц размером порядка десятков микрометров [1 – 5], поэтому полученные полимеры измельчали и отбирали частицы не крупнее 40 мкм. Темплат удаляли, промывая полимер в ацетонитриле (в случае ПМО на кофеин) или хлороформе (ПМО на динонилфталат). Промывание повторяли, пока темплат не переставал спектрофотометрически обнаруживаться в растворителе.

Рецепторное покрытие сенсора создавали, нанося на поверхность электродов резонаторов суспензию полимера и поливинилхлорида в тетрагидрофуране. Аналитический сигнал индикаторного сенсора регистрировали по дифференциальной схеме относительно сенсора с рецепторным покрытием, содержащим полимер сравнения, что позволяет исключить вклад в аналитический сигнал неспецифической сорбции на поверхности сенсора:

$$\Delta F_{\text{ан}} = \Delta F_{\text{ПМО}} - \Delta F_{\text{ПС}},$$

где $\Delta F_{\text{ан}}$ – аналитический сигнал, $\Delta F_{\text{ПМО}}$ – изменение частоты колебаний сенсора, рецепторное покрытие которого содержит импринтированный полимер, $\Delta F_{\text{ПС}}$ – изменение частоты колебаний сенсора с покрытием на основе полимера сравнения.

Сенсор на динонилфталат выдерживали над поверхностью вещества в течение 15 минут. Концентрацию динонилфталата варьировали, изменяя температуру в пределах от 50 °C до 100 °C с интервалом 10 °C, и рассчитывали как:

$$L_t = 16 \cdot p_t \cdot M / (273 + t),$$

где L_t – летучесть вещества при температуре t , г/м³; M – молярная масса вещества, г/моль; p_t – давление насыщенного пара при температуре t , мм. рт. ст.:

$$\lg p_t = 2,763 - 0,019 \cdot t_{\text{кип}} + 0,024 \cdot t,$$

где $t_{\text{кип}}$ – температура кипения вещества, °C [6].

Калибровку сенсора для определения кофеина проводили на модельных растворах кофеина методом «dip & dry»: сенсор экспонировался в исследуемом растворе в течение 10 минут, высушивался в токе горячего воздуха, после чего регистрировалась его резонансная частота.

Результаты и обсуждение

Синтез полимеров. Для каждого аналита было синтезировано шесть полимеров с молекулярными отпечатками, отличающихся природой функционального мономера (акриламид или метакриловая кислота) и молярным соотношением мономер : темплат, и два полимера сравнения (таблица 1).

Качество покрытий на основе полученных полимеров было исследовано после нанесения их на поверхность пьезокварцевого сенсора, для каждого типа

сенсора построен градуировочный график. Оценивались такие характеристики сенсора, как чувствительность (определялась как тангенс угла наклона градуировочного графика), предел обнаружения аналита (рассчитывался по 3 σ -критерию) и селективность к целевому соединению относительно его структурного аналога (отношение чувствительности к аналиту к чувствительности к аналогу).

Таблица 1. Молярные соотношения функциональный мономер : темплат

№ полимера	Функциональный мономер	Темплат	Соотношение мономер : темплат
1	2	3	4
ПМО 1.1.1	акриламид	динонилфталат	1 : 1
ПМО 1.1.2	акриламид	динонилфталат	2 : 1
ПМО 1.1.3	акриламид	динонилфталат	3 : 1
ПС 1.1	акриламид	-	-
ПМО 1.2.1	метакриловая кислота	динонилфталат	1 : 1
ПМО 1.2.2	метакриловая кислота	динонилфталат	2 : 1
ПМО 1.2.3	метакриловая кислота	динонилфталат	3 : 1
ПС 1.2	метакриловая кислота	-	-
ПМО 2.1.1	акриламид	кофеин	1 : 1
ПМО 2.1.2	акриламид	кофеин	2 : 1
ПМО 2.1.3	акриламид	кофеин	3 : 1
ПС 2.1	акриламид	-	-
ПМО 2.2.1	метакриловая кислота	кофеин	1 : 1
ПМО 2.2.2	метакриловая кислота	кофеин	2 : 1
ПМО 2.2.3	метакриловая кислота	кофеин	3 : 1
ПС 2.2	метакриловая кислота	-	-

Состав рецепторного покрытия. Рецепторное покрытие помимо чувствительного компонента – импринтированного полимера – содержит поливинилхлорид. Очевидно, что повышение содержания импринтированного полимера в составе рецепторного покрытия приведёт к увеличению чувствительности сенсора, но, в то же время, может вызвать нестабильность покрытия из-за сокращения относительного содержания поливинилхлорида, обеспечивающего закрепление ПМО. Установлено, что при общепринятом соотношении ПМО : ПВХ, равном 6 : 1 [7 – 10], количество циклов измерения, включающих экспонирование сенсора в исследуемом растворе, измерение аналитического сигнала и регенерацию покрытия, достигает пяти, поэтому все данные, приведённые ниже, получены на сенсорах с рецепторными покрытиями такого состава. При соотношении 10 : 1 покрытие выдерживает один измерительный цикл и разрушается на стадии регенерации, при соотношении 15 : 1 покрытие оказывается полностью неработоспособным.

Сенсоры для определения динонилфталата. Установлено, что в диапазоне концентраций от 0,01 до 0,08 мкМ наблюдается линейная зависимость аналитического сигнала. При концентрациях более 0,08 мкМ наблюдается срыв колебаний сенсора, т.к. происходит сорбция избыточных количеств аналита.

Обнаружено, что наиболее высокой чувствительностью (рис. 2а) и низким пределом обнаружения (рис. 2б) характеризуются сенсоры, рецепторные покрытия которых содержат ПМО 1.1.2 и ПМО 1.2.2, т.е. полимеры, при синтезе которых функциональный мономер был взят в двукратном избытке относительно динонилфталата, причём для метакриловых и акриламидных ПМО эти показатели

практически одинаковы. Кроме того, предел обнаружения таких сенсоров меньше предельно допустимой концентрации динонилфталата, которая для воздуха рабочей зоны составляет 1 мг/м^3 (около $0,002 \text{ мкМ}$).

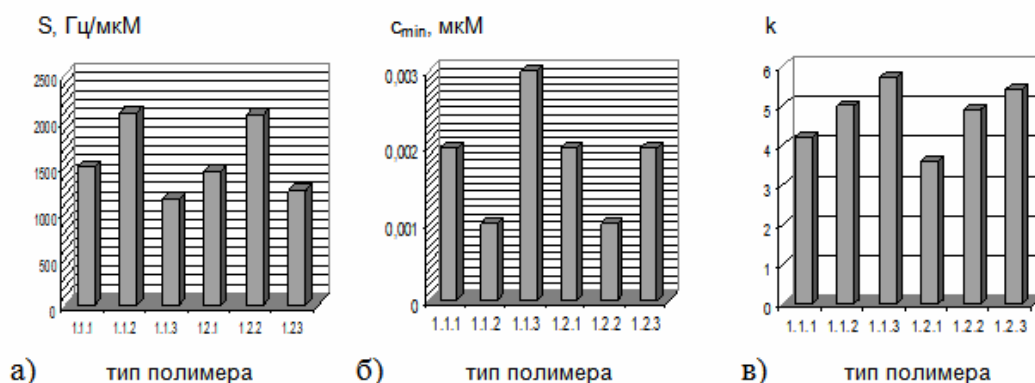


Рис. 2. Влияние состава ПМО на чувствительность (а), предел обнаружения (б) и селективность (в) сенсоров для определения динонилфталата

Была исследована селективность сенсоров к целевому соединению относительно гомологичного эфира фталевой кислоты – дибутилфталата (рис. 2в). Установлено, что селективность не превышает 5,5 (сенсор на основе ПМО 1.1.3), т.е. отклики на дибутилфталат довольно значительны. Таким образом, полученные сенсоры могут использоваться для определения группы соединений – диалкиловых эфиров фталевой кислоты.

Для регенерации сенсора были использованы вода, ацетон, этиловый спирт. Установлено, что вода лишь в незначительной степени удаляет сорбированный анализ с поверхности сенсора, резонансная частота сенсора после регенерации меньше исходной. Ацетон разрушает рецепторное покрытие, частота сенсора больше исходной. Тогда как этанол удаляет динонилфталат полностью при незначительном снижении массы рецепторного слоя, резонансная частота сенсора при этом наиболее близко возвращается к исходному значению.

Сенсоры для определения кофеина. Линейная зависимость сигнала сенсора от концентрации кофеина наблюдалась в диапазоне $0,01 - 1 \text{ мг/мл}$. Для сенсоров на кофеин были также определены чувствительность, предел обнаружения и селективность (рис. 3).

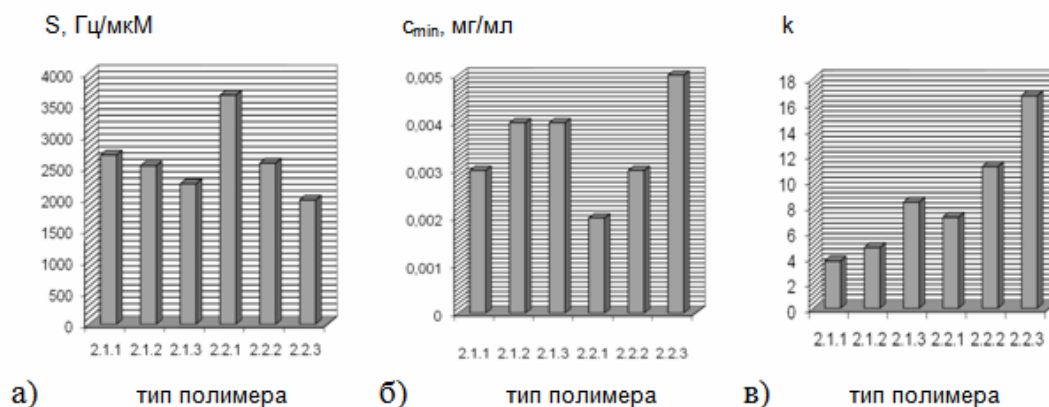


Рис. 3. Влияние состава ПМО на чувствительность (а), предел обнаружения (б) и селективность (в) сенсоров для определения кофеина

Установлено, что наибольшей чувствительностью характеризуются сенсоры, рецепторное покрытие которых содержит полимеры, при синтезе которых использовалось соотношение мономер : темплат, равное 1 : 1 (рис. 3а). Вместе с тем, эти сенсоры характеризуются наиболее низкими пределами обнаружения (рис. 3б). Однако наибольшей селективностью к кофеину характеризуются сенсоры с рецепторным покрытием на основе ПМО 2.1.3 и ПМО 2.2.3 с соотношением мономер : темплат, равным 3 : 1 (рис. 3в).

В качестве структурного аналога кофеина был выбран теofilлин – ксантиновый алкалоид, нередко присутствующий вместе с кофеином в составе различных продуктов и лекарственных препаратов (рис.4).

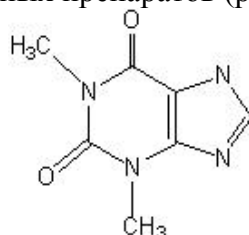


Рис. 4. Структурная формула теofilлина

Так как сенсоры предполагалось использовать для определения содержания кофеина в растворимом кофе, сложной по составу системе, для анализа был выбран сенсор с рецепторным покрытием на основе ПМО 2.2.3, продемонстрировавший наиболее высокую селективность. Сенсор апробирован при определении в растворимом кофе кофеина, содержание которого согласно ГОСТ Р 51881 не должно быть ниже 2,3 % в сухой массе и не более 0,3 % для декофеинизированного кофе (табл. 4).

Таблица 4. Результаты определения кофеина в растворимом кофе (n = 3, P = 0,95)

Сорт кофе	Содержание кофеина в сухой массе, %
«Максвелл» (без кофеина)	0,30 ± 0,01
«Чёрная карта»	0,58 ± 0,02
«Максвелл»	2,71 ± 0,10
«Нескафе Голд»	3,25 ± 0,20
«Пеле»	2,23 ± 0,10

Регенерация сенсора проводилась в воде при температуре 40 °С, данный способ позволяет практически полностью удалить темплат без разрушения рецепторного покрытия.

Заключение

Рецепторные покрытия на основе ПМО с применением пьезокварцевых резонаторов в качестве трансдюсеров позволяют определить динонилфталат в газовой фазе на уровне 0,001 мкмоль/л и кофеин в растворах на уровне 0,002 мг/мл. Установлены оптимальные соотношения функциональный мономер : темплат, использование которых при синтезе импринтированных полимеров позволяет получить сенсоры с лучшими метрологическими характеристиками. Сенсоры с покрытием на основе ПМО на динонилфталат могут использоваться для группового определения эфиров фталевой кислоты, сенсоры на кофеин проявляют довольно

высокую селективность к целевому соединению и могут применяться для определения кофеина в пробах сложного состава.

Список литературы

1. Subrahmanyam S. Design of molecularly imprinted polymers for sensors and solid phase extraction // Phd Thesis. Cranfield University, 2002. 126 p.
2. Дмитриенко С.Г., Ирха В.В., Кузнецова А.Ю., Золотов Ю.А. Использование полимеров с молекулярными отпечатками в процессах разделения и концентрирования органических соединений // Ж. аналит. химии, Т. 59, № 9, 2004, С. 902 – 912
3. Лисичкин Г.В., Крутяков В.А. Материалы с молекулярными отпечатками: синтез, свойства, применение // Успехи химии, Т. 75, № 10, 2006, С. 998 – 1017
4. Бондаревский А.С., Ермолаева Т.Н. Биомимические сенсоры с рецепторными покрытиями на основе полимеров с молекулярными отпечатками // Сорбционные и хроматографические процессы. 2007. Т.7. Вып.1, С.171 – 179
5. Ирха В.В. Синтез и исследование сорбционных свойств полимеров с молекулярными отпечатками органических соединений [Текст] / В.В. Ирха // Дисс. ... канд. хим. наук. – Москва, 2006 – 168 с.
6. Муравьева С.И., Буковский М.И., Прохорова Е.К. Руководство по контролю вредных веществ в воздухе рабочей зоны: Справ. изд. // М.: Химия, 1991. 368 с.
7. Ebarvia B.S., Binag C.A., Sevilla III F. Biomimetic piezoelectric quartz sensor for caffeine based on a molecularly imprinted polymer // Anal. Bioanal. Chem., 2004, 378, P. 1331 – 1337
8. Fu Y., Finklea H.O. Quartz Crystal Microbalance Sensor for Organic Vapor Detection Based on Molecularly Imprinted Polymers // Anal. Chem., 2003, 75, P. 5387 – 5393
9. Tan Y., Peng H., Liang C., Yao S. A new assay system for phenacetin using biomimic bulk acoustic wave sensor with a molecularly imprinted polymer coating // Sensors and Actuators B, 2001, 73, P. 179 – 184
10. Liang C., Peng H., Ban X., Nie L., Yao S. Study of a molecular imprinting polymer coated BAW bio-mimic sensor and its application to the determination of caffeine in human serum and urine // Analyst, 1999, 124, P. 1781 – 1785

Бондаревский Артём Сергеевич – сотрудник кафедры химии Липецкого государственного технического университета, Липецк

Соболева Ирина Георгиевна – к.х.н., доцент Липецкого государственного университета, Липецк

Ермолаева Татьяна Николаевна – д.х.н., профессор Липецкого государственного технического университета, Липецк, тел. 8(0742)328155

Bondarevsky Artem S. – employee of Lipetsk State Technical University, Lipetsk

Soboleva Irina G. – candidate of science, associate professor of chemistry, Lipetsk State Technical University, Lipetsk

Ermolaeva Tatyana N. – doctor of science, professor of chemistry, Lipetsk State Technical University, Lipetsk, e-mail: ermolaeva@stu.lipetsk.ru