
Соболева Ирина Георгиевна – к.х.н., доцент кафедры химии Липецкого государственного технического университета.

Ермолаева Татьяна Николаевна – д.х.н., профессор кафедры химии Липецкого государственного технического университета, тел. 8(4247)328155

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

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

УДК 543.653.3.

Пьезорезонансная проточная ячейка детектирования в сенсорометрическом анализе жирных кислот

Нифталиев С.И., Мельникова Е.И., Селиванова А.А.

Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж

Поступила в редакцию 22.04.2010 г.

Аннотация

Сконструирована пьезорезонансная проточная ячейка, примененная для сенсорометрического анализа жирных кислот. Оптимизированы условия сорбции аналитов на тонких пленках модификаторов, обоснован выбор модификаторов, определены эффективность и чувствительность сорбции.

Ключевые слова: жирные кислоты, пьезокварцевое микровзвешивание, кварцевый генератор, проточная ячейка детектирования

The piezoelectric flowing cell of detecting applied for the sensorometric analysis of fat acids was created. Fat acids sorption conditions on thin films of modifiers are optimised, the choice of modifiers is reasoned, efficiency and sensitivity of sorption are defined.

Keywords: the fat acids, the piezoelectric microweighing, the quartz generator, the flowing cell of detecting

Введение

Исследования в области контроля качества и безопасности масложировых продуктов проводятся с использованием методов газовой и газожидкостной, тонкослойной хроматографии, биохимического и дифференциально-термического анализов, УФ- и ИК-спектрофотометрии [1]. Однако среди существующих методов нет универсального, у каждого имеются несовершенства: методы трудоемки, требуют сложного и дорогостоящего оборудования, высокой квалификации работников, дополнительной подготовки образца к исследованию. Химические сенсоры, в частности, пьезокварцевые, являются одними их перспективных средств экспрессного контроля, могут применяться для решения сложных аналитической задач в жидких средах [2]. Хорошие метрологические характеристики датчиков на основе пьезоэлектрических кварцевых резонаторов обусловлены большой механической и термической прочностью, малым внутренним трением, стабильностью электрофизических параметров пластин α -кварца.

Молочный жир и некоторые масла повышенной пищевой ценности часто фальсифицируют добавками дешевых жиров. Из-за сложности разделения жиров на индивидуальные триглицериды, их химические особенности принято

характеризовать жирнокислотным составом. В молочном жире особо выделяется группа кислот: масляная, капроновая, миристиновая, пальмитиновая, олеиновая и стеариновая. Из более чем тридцати кислот, обнаруживаемых в молочном жире, указанные шесть составляют основную массу глицеридов. На их долю приходится до 75 % общего содержания кислот, диапазон колебаний варьируется в пределах 11 – 19 % [3].

Цель настоящего исследования – оптимизация условий сорбции жирных кислот на тонких пленках модификаторов; обоснование выбора модификаторов; определение эффективности и чувствительности сорбции жирных кислот на тонких пленках модификаторов.

Эксперимент

Объекты анализа – масляная, капроновая, миристиновая, пальмитиновая, олеиновая, стеариновая кислоты, содержание и процентное соотношение которых является критерием качества и натуральности масложировых продуктов. Идентификация и определение жирных кислот – актуальная аналитическая задача. При комнатной температуре (20 ± 2 °С) агрегатное состояние масляной, капроновой и олеиновой кислот – жидкость; миристиновая, пальмитиновая, стеариновая кислоты – кристаллические вещества.

Анализ жирных кислот проводили с применением пьезорезонансной ячейки детектирования, работающей в динамическом режиме [4]. Ячейка (рис. 1) представляет собой фторопластовый разъемный корпус, состоящий из двух соединенных между собой винтами 3 разборных частей: нижней 1 и верхней 2, между которыми расположен пьезокварцевый резонатор 10, размещенный в цапговом разьеме 9, и электрическую часть 4, состоящую из генератора и частотомера, заключенную в металлизированный корпус. Каждая из частей корпуса выполнена таким образом, что при их совмещении образуется полость для размещения двух прямоугольных пластин 8 с круглым отверстием в центре и двух подпружиненных (пружины 5) соосных поршней 6 и 7 в виде двухступенчатых цилиндров с несквозным отверстием. Точки соединения поршней и резонатора отшлифованы для сохранения герметичности рабочей камеры. Объем рабочей камеры составляет около 200 мкл.

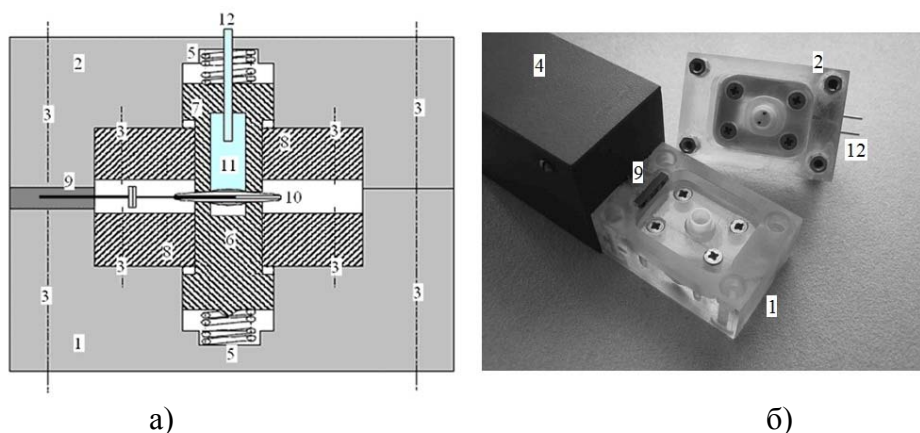


Рис. 1. Продольный разрез ячейки детектирования (а), вид в разобранном состоянии (б): 1, 2 – нижняя и верхняя части корпуса; 3 – винты; 4 – электрическая часть; 5 – пружины; 6, 7 – поршни; 8 – пластины; 9 – цапговый разъем; 10 – пьезокварцевый резонатор; 11 – рабочая камера; 12 – патрубки для ввода и вывода элюента

Среди факторов, изменяющих свойства пьезоэлектрических резонаторов в жидких средах, одним из основных является влияние смачивания на кварцевый осциллятор. Данный фактор повлиял на конструктивные изменения, главным образом, в схеме генератора колебаний резонатора. Кроме того, в плотных и вязких средах переносится больше энергии от кварцевой пластины в жидкость, чем в газах, что требует усиления мощности для возбудителя колебаний пьезоэлектрического резонатора [5]. Кварцевый автогенератор колебаний [6] включает операционный усилитель 1, к отрицательному входу которого подключен пьезокварцевый резонатор 2 (рис. 2).

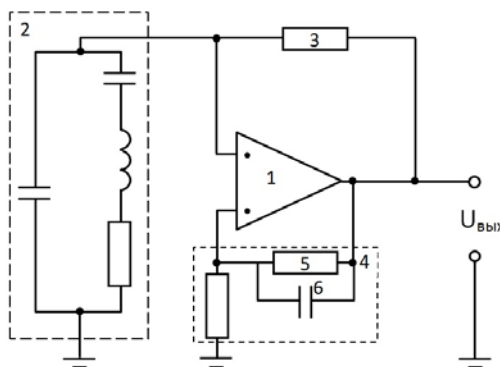


Рис. 2. Электрическая схема автогенератора колебаний на операционном усилителе

Для регулирования глубины отрицательной обратной связи служит резистор 3. Положительная обратная связь, необходимая для поддержания режима незатухающих колебаний, обеспечивается делителем напряжения 4. Параллельно соединенные резистор 5 и конденсатор 6 включены между выходом и прямым входом операционного усилителя. Это позволяет скорректировать амплитудно-частотную и фазочастотную характеристики генератора и обеспечить выполнение необходимых условий возникновения незатухающих колебаний в широком диапазоне изменения динамического сопротивления резонатора при отсутствии индуктивных элементов схемы и возможности ее изготовления в виде интегрированного решения. Автогенератор обеспечивает устойчивую работу кварцевого генератора в широком диапазоне изменения динамического сопротивления при отсутствии индуктивных и минимуме используемых элементов для обеспечения возможности изготовления устройства в интегральном исполнении.

Пьезокварцевый сенсор АТ-среза с Al-электродами и собственной частотой колебания 8 – 10 МГц установили в проточной ячейке детектирования таким образом, чтобы он контактировал только одной стороной с анализируемым раствором, такая конструкция исключает возможность электролиза. Предварительно на электроде сенсора после тщательной очистки и обезжиривания формировали силиконовую подложку на основе тетраэтоксисилана, после чего высушивали при $t = 70\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 4 – 6 часов. Тетраэтоксисилан применяется в химической промышленности в качестве добавки для усиления адгезии, силиконовые подложки позволяют увеличить механическую стабильность системы (модификаторы пригодны для проведения большого числа экспериментов на одной пленке). В качестве модификаторов электродов пьезокварцевых резонаторов применяли соединения различной полярности: апиэзон L (ApL), полиэтилен гликоль сукцинат (ПЭГС), полиэтиленгликоль-2000 (ПЭГ), динонилфталат (ДНФ), поливинил-ацетат (ПВА), кремнийорганическая смазка ПЭС-В (КОС). Указанные сорбенты

используются в аналитической химии для разделения метиловых эфиров жирных кислот, эфирных масел. Растворители сорбентов соответствовали следующим требованиям: химическая инертность к сорбционным фазам, отсутствие прочных сольватов, высокая растворяющая способность в отношении сорбента. Тонкую пленку модификаторов на поверхности электродов сенсоров формировали методом статического испарения капли, раствор модификаторов наносили микрошприцем с последующим удалением растворителя в сушильном шкафу при $t = 40 - 45$ °С в течение 30 – 40 минут.

Моносенсорная экспериментальная установка для анализа в жидких средах в динамическом режиме с инжекционным вводом пробы включает следующие основные блоки (рис. 3): моносенсорную ячейку детектирования (4) с генератором колебаний в защитном кожухе и частотомером, соединенную системой трубопроводов (2) со шприцевым насосом для элюента (1), для инжектирования пробы предназначена полиуретановая мембрана (3). Ячейка соединяется с компьютером (5), имеющим специальное программное обеспечение, с помощью стандартного разъема и не требует собственного источника питания.

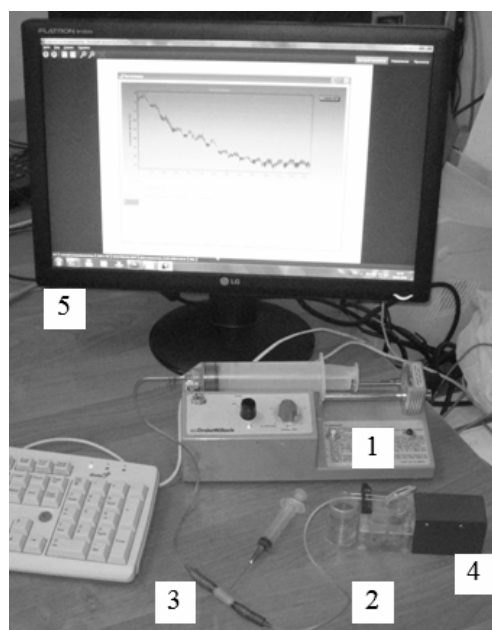


Рис. 3. Моносенсорная экспериментальная установка: 1 – шприцевой насос для элюента; 2 – система трубопроводов; 3 – мембрана для инжектирования пробы; 4 – моносенсорная ячейка детектирования с генератором колебаний в защитном кожухе и частотомером; 5 – компьютер со специальным программным обеспечением

Шприцевой насос объемом 60 мл поддерживает скорость движения жидкости от 0,5 до 2,0 мл/мин. Оптимальным является расход элюента 1,5 мл/мин, при котором сорбция протекает в полном объеме; время проведения анализа – 20 мин. Для миристиновой, пальмитиновой, стеариновой кислот в качестве элюента применяли этанол, для масляной, капроновой и олеиновой – 20 %-ный водный раствор этанола. Перед началом измерений стабилизировали сигнал сенсора, затем в поток инжектировали с помощью шприца определенный объем пробы, что вызывало снижение частоты колебания сенсора вследствие сорбции на поверхности электрода. Сорбцию оценивали по величине аналитического сигнала ΔF , Гц (максимальное изменение частоты колебаний сенсора во время сорбции), который фиксировали в виде выходной кривой сорбции $\Delta F = f(\tau)$. Считывание сигналов осуществляли с

интервалом в 1 с до установления равновесия, затем проводили регенерацию покрытия. Для промывания примесей органических и неорганических веществ разных классов применяли промывку системы трубопроводов и ячейки сначала элюентом, затем дистиллированной водой.

Обсуждение результатов

В ходе исследования при идентичных условиях в динамическом режиме был проведен анализ жирных кислот методом пьезокварцевого микровзвешивания с применением моносенсорной проточной ячейки. В жидких растворах увеличение массы и плотности материала на электродах, которое непосредственно вызывает уменьшение частоты колебаний пьезоэлектрического резонатора, трактуется, главным образом, не только как результат сорбционных процессов, но может быть вызвано изменением морфологии поверхности адсорбцией растворителя, растворением покрытия, неравномерным нанесением пленочного покрытия на поверхности электродов [7].

При математической обработке результатов применяли теоретическую модель Зауэрбрея, рассматривающую покрытие электродов модификатором как приращение массы пьезоэлектрического резонатора [8]. Эффективность сорбции оценивали по величине аналитического сигнала ΔF , Гц (максимальное изменение частоты колебаний сенсора при сорбции), для оценки селективности пленки рассчитывали мольную чувствительность (S , Гц·м³/моль) [9].

Оптимальные массы модификаторов, обеспечивающие значимый аналитический сигнал и минимальную погрешность измерений, для каждой системы сорбат – сорбент устанавливали экспериментально, при динамической сорбции они составляет 15 – 25 мкг.

В качестве модификаторов электродов пьезокварцевых резонаторов нами применены сорбенты различной природы и полярности, содержащие разнохарактерные функциональные группы. Сорбция жирных кислот на пленках сорбентов протекает за счет образования различных типов связей. Для обеспечения быстрого действия, обратимости процессов сорбции – десорбции и воспроизводимости аналитического сигнала пьезосенсора в системе сорбат – сорбент должны реализовываться только низкоэнергетические межмолекулярные взаимодействия [7]. Кроме диполь-дипольного и других электростатических ориентационных ассоциаций сюда относятся также специфические направленные межмолекулярные, такие как водородная связь и другие связи донорно-акцепторного типа. Теплота образования Н-связи намного выше по сравнению с ван-дер-ваальсовыми силами, доминирующий вклад в общую энергию сорбции карбоновых кислот на пленках полярных и среднеполярных модификаторов вносят взаимодействия с образованием Н-связи. Межмолекулярные воздействия с неполярными сорбентами относятся к неспецифическим, при этом в основном действуют силы дисперсионного и отчасти индукционного притяжения. При сорбции полярных соединений на неполярном сорбенте постоянный дипольный момент молекулы сорбата поляризует атомы сорбента – индуцирует в них электрические моменты, возникает индукционное притяжение, которое добавляется к дисперсионному. Индукционный вклад в общую энергию сорбции, как правило, незначителен.

Были изучены параметры сорбции 6 жирных кислот на тонких пленках 6 сорбентов, нанесенных на электроды резонаторов, изучено 36 систем жирная

кислота – модификатор. В табл. 1 приведены ΔF и S тонких пленок электродов резонаторов при их экспонировании растворами исследуемых веществ.

Изученные модификаторы электродов пьезокварцевых резонаторов характеризуются перекрестной чувствительностью к растворам анализируемых веществ. В ряду единичных резонаторов, модифицированных тонкими пленками сорбентов, при экспонировании раствором масляной и капроновой кислоты максимальной эффективностью сорбции характеризуются ПВА, Ар-L, ДНФ; для миристиновой, пальмитиновой и стеариновой кислоты – Ар-L, ПЭГС и ПЭГ; для олеиновой кислоты – ПЭГС, ПЭГ, ДНФ и КОС.

Сорбция жирных кислот на пленках сложных эфиров ПЭГ, ПЭГС обусловлена присутствием карбонильных и эфирных атомов кислорода в молекуле сорбента. При сорбции карбоновых кислот возможно образование двойной водородной связи с эфирными и концевыми ОН-группами полиэтиленгликоля и с СООН-группой кислот, поскольку и сорбент, и сорбат содержат подвижный атом водорода и электроотрицательный атом кислорода.

Таблица 1. Эффективность сорбции (1) и мольная чувствительность (2) тонких пленок электродов резонаторов при их экспонировании растворами жирных кислот (единицы измерения 1 – ΔF , Гц; 2 – $S \cdot 10^{-6}$, Гц·м³/моль)

	Ар-L		ПЭГС		ПЭГ		ДНФ		ПВА		КОС	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Масляная кислота	126±9	0,39	84±4	0,26	77±5	0,76	119±9	1,12	189±16	1,09	55±5	0,29
Капроновая кислота	158±11	0,51	91±8	0,39	84±6	0,82	107±10	0,91	121±11	0,94	73±6	0,35
Миристиновая кислота	212±10	0,63	160±9	0,81	139±11	0,97	82±6	0,89	95±9	0,76	105±8	0,82
Пальмитиновая кислота	279±16	0,87	156±12	0,67	151±13	1,05	77±4	0,69	92±10	0,70	122±11	1,18
Олеиновая кислота	75±5	0,12	192±17	0,98	179±15	1,25	156±5	1,34	57±5	0,46	139±4	1,42
Стеариновая кислота	313±26	1,46	171±14	0,84	163±9	1,14	68±5	0,64	79±6	0,52	111±12	0,93

Полученные результаты иллюстрируют гистограммы мольной чувствительности тонких пленок модификаторов к индивидуальным ароматобразующим соединениям (рис. 1).

Наиболее значительные различия чувствительности пленок модифицированных пьезокварцевых резонаторов при их экспонировании в растворах аналитов установлены для АрL, ПВА (рис. 4).

При экспонировании резонаторов в растворах жирных кислот мольная чувствительность возрастает с увеличением числа СН₂-групп для всех опытов, кроме систем с ДНФ и ПВА, пленки этих модификаторов характеризуются высоким родством к масляной кислоте.

Мольная чувствительность ПЭГ и КОС минимальна к масляной кислоте, ПВА и АрL – к олеиновой кислоте. Для систем кислота – модификатор,

характеризующимся наибольшим сорбционным сродством, значение S максимально (табл. 1).

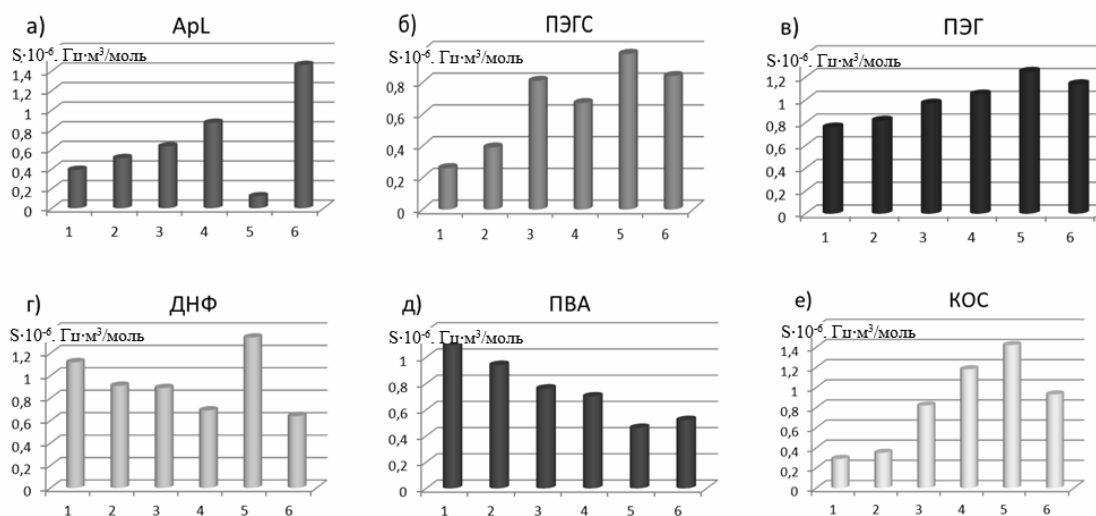


Рис. 4. Гистограммы мольной чувствительности ArL (а), ПЭГС (б), ПЭГ (в), ДНФ (г), ПВА (д), КОС (е) к растворам масляной [1], капроновой [2], миристиновой [3], пальмитиновой [4], олеиновой [5], стеариновой [6] кислот ($S \cdot 10^{-6}$, Гц·м³/моль)

Заключение

Проведен сенсорометрический анализ жирных кислот с применением сконструированной проточной ячейки детектирования для практического использования пьезоэлектрических резонаторов в анализе жидких сред. Обоснован выбор модификаторов, образующих тонкую пленку на электродах сенсоров, оптимизированы условия сорбции жирных кислот, определены ее эффективность и чувствительность. Результаты проведенных исследований могут быть использованы для разработки метода оценки качества и натуральности сливочного масла.

Список литературы

1. Рудаков О.Б., Пономарев А.Н., Полянский К.К., Любарь А.В. Жиры. Химический состав и экспертиза качества. М.: ДеЛи принт, 2005. 312 с.
2. Коренман Я.И., Мельникова Е.И., Нифталиев С.И., Боева С.Е., Селиванова А.А., Рудниченко Е.С., Богданова Е.В. Матрица пьезосенсоров для прогнозирования хранимоспособности пищевых продуктов // Журн. прикл. химии. 2009. Т. 82, № 8. С. 1282 – 1285.
3. Корнена Е.П., Калманович С.А., Мартовщук Е.В., Терещук Л.В., Мартовщук В.И., Позняковский В.М. Экспертиза масел, жиров и продуктов их переработки. Качество и безопасность. Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2007. 272 с.
4. Патент РФ № 2367938 Коренман Я.И., Нифталиев С.И., Мельникова Е.И., Каданцев А.В., Рудниченко Е.С., Селиванова А.А., Лобанова Е.М., Фисенко М.О. Проточная ячейка детектирования, заявл. 21.05.2008, опубл. 20.09.2009.
5. Коренман Я.И., Киселев А.А., Каданцев А.В. Влияние кварцевого генератора на точностные характеристики масс-чувствительных датчиков // Датчики и системы. 2005. № 1. С. 40 – 42.

6. Патент РФ № 2260900 Милонов М.В., Кузнецов Л.А., Ермолаева Т.Н. Кварцевый генератор, заявл. 21.05.2005, опубл. 20.09.2005.

7. Киселев А.В., Пошкус Д.П., Яшин Я.И. Молекулярные основы адсорбционной хроматографии. М.: Химия, 1986. 272 с.

8. Кучменко Т.А. Применение метода пьезокварцевого микровзвешивания в аналитической химии. Воронеж: Воронеж. гос. технол. акад., 2001. 280 с.

9. Коренман Я.И., Мельникова Е.И., Нифталиев С.И., Боева С.Е. Определение органических ароматобразующих веществ с применением мультисенсорной системы // Журн. аналит. химии. 2007. Т. 62, № 6. С. 655 – 659.

Нифталиев Сабухи Ильич – д.х.н., зав. кафедрой общей и неорганической химии, Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж

Niftaliev Sabukhi I. – Doctor of Chemistry head of chair of the general and inorganic, Voronezh State Technological Academy, Voronezh

Мельникова Елена Ивановна – д.т.н., профессор кафедры технологии молока и молочных продуктов, Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж, Тел. (4732) 53-13-09

Melnikova Elena I. – Doctor of Technical Science, professor of chair of technology of milk and diary products, Voronezh State Technological Academy, Voronezh

Селиванова Анна Александровна аспирант кафедры общей и неорганической химии, Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж

Selivanova Anna A. – post-graduate student of chair of the general and inorganic chemistry, Voronezh State Technological Academy, Voronezh, e-mail: sannal30485@rambler.ru

УДК 543.38:543.9

Определение аминогликозидных антибиотиков в пищевых продуктах с помощью пьезокварцевых иммуносенсоров

Воронежцева О.В., Ермолаева Т.Н.

Липецкий государственный технический университет, Липецк

Поступила в редакцию 8.09.2010 г.

Аннотация

Разработаны методики определения аминогликозидных антибиотиков в продуктах животного происхождения с помощью пьезокварцевых иммуносенсоров. Изучены условия иммобилизации конъюгатов антибиотиков с белковыми молекулами на подложках, полученных методом самоорганизующихся тиольных (стрептомицин) монослоев. Оценка качества покрытий проводили методами атомной силовой микроскопии и пьезокварцевым микровзвешиванием. Сенсоры апробированы при определении стрептомицина и гентамицина в курином мясе.

Ключевые слова: пьезокварцевый иммуносенсор, самоорганизующиеся монослои, алкилтиолы, антибиотики, антитела, атомная силовая микроскопия

The methodic for aminoglycoside antibiotics determination in food by piezoquarts immunosensors is developed. Studied immobilization conditions of hapten-protein conjugates molecules on wafers, obtained by self-assembled monolayers on the the basis of thiol (streptomycin) substrates. Assessment of the coatings quality was performed by microbalance and atomic force microscopy methods. Method was tested on streptomycin and gentamycin identification in chicken.

Keywords: piezoquarts immunosensor, self-assembled monolayer, alkiltioly, antibiotics; antibodies, atomic force microscopy