

АНАЛИЗ ПРОФИЛЯ АНАЛИТИЧЕСКОГО СИГНАЛА ОПТОХЕМОТРОННОГО СЕНСОРА В РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ ЕГО РАБОТЫ

Н.В. Масолова, Е.Н. Музыка, Н.Н.Рожницкий

Харьковский национальный университет радиоэлектроники

Сенсоры являются устройствами, которые включают в себя селективность и специфичность биологически активных компонентов, оригинальные сигналы от которых преобразуются при помощи преобразователя. Сигнал с сенсора пропорционален концентрации исследуемого аналита. Эти устройства классифицируются в соответствии с физической природой преобразователя. Сенсоры, работающие на явлении электрохемилюминесценции (ЭХЛ), вырабатывают оптический сигнал (электрогенерированную люминесценцию), интенсивность которого пропорциональна концентрации искомого аналита, но учитывая особенности ЭХЛ-метода, производить контроль процесса измерения можно также путем регистрации тока, протекающего через рабочий электрод оптохемотронного (ОХ) сенсора. Учитывая многосторонние возможности микро- и нанотехнологий, а также перспективность их использования при проведении ЭХЛ-анализа, удалось разработать ОХ-сенсор с модифицированным электродом, у которого на поверхности закреплен слой вещества-электрохемиллюминофора. Среди методов иммобилизации веществ наиболее привлекательным является метод Лангмюр-Блоджетт (ЛБ) [1]. При этом ОХ-сенсор остается надежным, относительно дешевым (при массовом производстве), высоко чувствительным, а закрепление вещества реагента на поверхности электрода дает возмож-

ность повышения интенсивности ЭХЛ-сигнала (за счет локализации места реакции у поверхности детектирующего устройства), удешевления процесса анализа (за счет отсутствия перерасхода реагента, т.к. процесс иммобилизации позволяет контролировать нанесение вещества по мономолекулярным слоям), миниатюризации габаритов ОХ-сенсора. ОХ-сенсор может применяться в аналитических целях в биологии, медицине, фармакологии, экологии и др.

ЭХЛ-ячейка может быть выполнена как проточная ячейка, т.е. с возможностью работы сенсора в проточно-инжекционном режиме, а также ячейка в составе микропланшета, что предусматривает режим дозатора.

Широкое распространение проточно-инжекционного анализа (ПИА) [2, 3] обусловлено: простотой, низкой стоимостью и воспроизводимостью. Обобщенно данный метод может быть представлен как на рис. 1. Здесь в ламинарный поток носителя периодически вводят разные микрообъемы образца. После ввода (секция инъекции) каждая микропроба, образующая жидкий сегмент в потоке носителя, движется вдоль трубопровода по направлению к детектору. В некоторой точке трубопровода поток носителя сливается с потоком раствора реагента и смешивается с ним в реакционной спирали (секция смешивания), где компоненты образца вступают в химические реакции с реагентом. Объе-

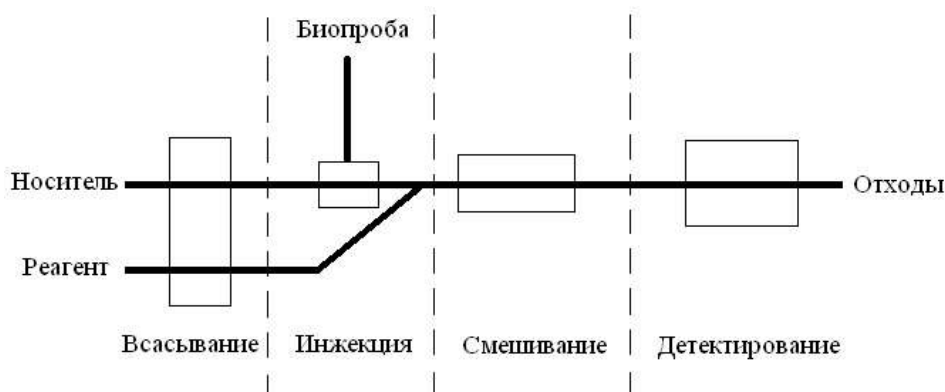


Рисунок 1
Обобщенная схема системы ПИА

диненный поток проходит через ячейку детектора, где определяется продукт реакции образца и реагента (секция детектирования). При прохождении зоны образца через детектор, непрерывно регистрируется некоторый физический параметр (например, ток, протекающий через рабочий электрод, светоиспускание – в случае ЭХЛ-метода). Изменение этого параметра регистрируется детектором в виде конечного аналитического сигнала.

На рис. 1 процесс отбора пробы, доставка ее в лабораторию, смешивание с реагентом, проведение измерений, регистрация аналитического сигнала заменен с помощью одной системы – ПИА, которая наиболее часто используется на практике, хотя конфигурации их могут быть различны.

В целом ПИА базируется на следующих основополагающих принципах: введение микропробы в ламинарный поток носителя; стабильное движение зоны образца в системе, сопровождающееся различными физико-химическими процессами (смешивание, химическое взаимодействие и т.д.); строгий контроль дисперсии (размывания) образца в процессе транспорта его через систему; постоянство пребывания образца в системе; непрерывное измерение некоторой физической величины и детектирование некоторого аналитического сигнала (в неравновесных условиях).

Что касается работы ЭХЛ-ячейки в режиме дозатора через измерительную ячейку ввод исследуемой пробы происходит не в непрерывном потоке, а с помощью дозатора, при этом проба находится в ячейке продолжительное время.

В настоящее время существует множество работ, посвященных вопросам моделирования и исследования процессов, протекающих в ячейке сенсора и его выходных характеристик.

Цель исследования создание модели, позволяющей проводить эффективное компьютерное моделирование процессов, протекающих в ОХ-сенсоре при различных режимах работы ЭХЛ-ячейки. Разработанная модель описывает процесс переноса энергии (ПЭ) [4] в молекулярной пленке ЛБ, нанесенной на рабочий электрод ОХ-сенсора, а так же процесс массопереноса в объеме сенсора, наполняемого раствором исследуемого вещества. Модель позволяет рассмотреть и сравнить процессы анализа, проводимого в двух режимах: проточном и в режиме дозатора.

Т.к. на рабочий электрод нанесена пленка ЛБ из молекул электрохемиллюминофора, то продукты ЭХЛ-реакции будут образовываться непосредственно в пленке, при направленном движении ион-радикалов (ИР) аналита, занимающих объем ЭХЛ-ячейки, к рабочему электроду.

Внутри сенсора распределение аналитов подчиняется уравнению диффузионной кинетики:

$$\frac{\partial c_g(x,t)}{\partial t} - D_g \cdot \frac{\partial^2 c_g(x,t)}{\partial x^2} = \frac{1}{\tau_+} \cdot \tilde{n}_+, \quad (1)$$

$$\frac{\partial c_+(x,t)}{\partial t} - D_+ \cdot \frac{\partial^2 c_+(x,t)}{\partial x^2} = -\frac{1}{\tau_+} \cdot \tilde{n}_+, \quad (2)$$

где c_g – концентрация молекул аналита в основном состоянии в объеме ЭХЛ-ячейки;

D_g – коэффициент диффузии молекул аналита в основном состоянии;

c_+ – концентрация ИР аналита;

D_+ – коэффициент диффузии ИР аналита.

Начальные и граничные условия для данной системы уравнений записываются следующим образом:

$$c_g(x,0) = c_a, \quad (3)$$

$$c_+(x,0) = 0, \quad (4)$$

$$D_g \cdot \frac{\partial c_g(0,t)}{\partial x} = k_{sf} \cdot (1 - e^{-t/\tau}) \cdot c_g(0,t), \quad (5)$$

$$c_+(0,t) = c_a - c_g(0,t), \quad (6)$$

$$c_g(L,t) = c_a - c_+(L,t), \quad (7)$$

$$k_{film} \cdot S_i(t) \cdot c_+(L,t) + D_+ \cdot \frac{\partial c_+(L,t)}{\partial x} = 0, \quad (8)$$

где c_a – полная концентрация молекул аналита в объеме ячейки;

k_{sf} – скорость образования ИР на электроде;

τ – постоянная времени ячейки;

L – расстояние между поверхностью анода и пленкой ЛБ на катоде;

k_{film} – скорость рекомбинации ИР на модифицированном пленкой ЛБ электроде;

$S_i(t)$ – поверхностная плотность ИР на внешнем слое ЛБ пленки.

$$\begin{cases} \frac{dS_i(t)}{dt} = k_j S(t) - S_i(t) \left(\frac{1}{\tau_{si}} + k_{film} c_+(L,t) \right), \\ S(t) = S_0 - S_i(t), \end{cases} \quad (9)$$

$$S_+(0) = 0, \quad (10)$$

где S_i , S , S_0 – поверхностная плотность ИР, электро-нейтральных молекул и полная плотность молекул на внешнем слое ЛБ-пленки;

k_j – константа скорости переноса электрона на внешний слой ЛБ-пленки;

τ_{si} – время жизни ИР в ЛБ-пленке.

Межмолекулярный безызлучательный перенос энергии по слоям электрохемилуминофора,

находящегося на поверхности электрода, можно описывать как (11, 12):

$$\begin{cases} \frac{dN_1}{dt} = fl(t) - \frac{N_1(t)}{\tau_S} + \frac{k_0}{r^6} \sum_{j=2}^n \left(\frac{N_j(t) - N_1(t)}{(j-1)^6} \right), \\ \frac{dN_i}{dt} \Big|_{i=2 \div n} = -\frac{N_i(t)}{\tau_S} + \frac{k_0}{r^6} \sum_{\substack{j=1, \\ j \neq i}}^n \left(\frac{N_j(t) - N_i(t)}{(j-i)^6} \right), \end{cases} \quad (11)$$

$$N_i(0) = 0 \Big|_{i=1 \div n}, \quad (12)$$

где n - число слоев в ЛБ-пленке;

$N_i(t)$ - населенность возбужденных состояний в i -м слое;

k_0 - константа скорости переноса энергии между слоями ЛБ-пленки, нормированная на единицу расстояния;

τ_S - время жизни синглетных состояний молекул электрохемилуминофора;

r - линейный размер молекулы электрохемилуминофора, т.е. толщина одного слоя в ЛБ-пленке;

$fl(t)$ - скорость образования синглет-возбужденных состояний люминофора на границе раствор-пленка ЛБ (13):

$$fl(t) = k_{film} \cdot c_+(L, t) \cdot S_i(t). \quad (13)$$

ПЭ между возбужденным состоянием донора и основным состоянием акцептора можно представить как безызлучательный межмолекулярный индуктивно-резонансный синглет-синглетный перенос энергии возбуждения в силу диполь-дипольного взаимодействия молекул донора и акцептора. В нашей модели не учитываются такие пути ПЭ, как внутренняя конверсия, флуоресценция, межмолекулярный переход, поскольку считается, что на расстоянии равном критическому (от центра молекулы донора до центра молекулы акцептора) вероятность безызлучательного ПЭ равна 50%, т.е. является преобладающей.

Работа ОХ-сенсора начинается с момента появления в ЭХЛ-ячейки раствора аналита при приложенном к электродам потенциале. Этот момент можно считать начальным моментом моделирования, с которого появляется и начинает расти информационный сигнал (интенсивность ЭХЛ, ток через рабочий электрод). В конечном итоге при постоянной концентрации аналита в растворе сигнал достигнет предельного своего значения (насыщения), что будет наблю-

даться в режиме дозатора. В условии проточного анализа растворенный в исследуемой пробе аналит находится в объеме ЭХЛ-ячейки в течение ограниченного времени и вскоре будет вымыт из ячейки раствором буфера. Профиль отклика ОХ-сенсора на аналит в данном случае будет иметь как передний фронт, так и задний, с характерным пиком, соответствующем концентрации аналита. На рис.2 приведены результаты моделирования.

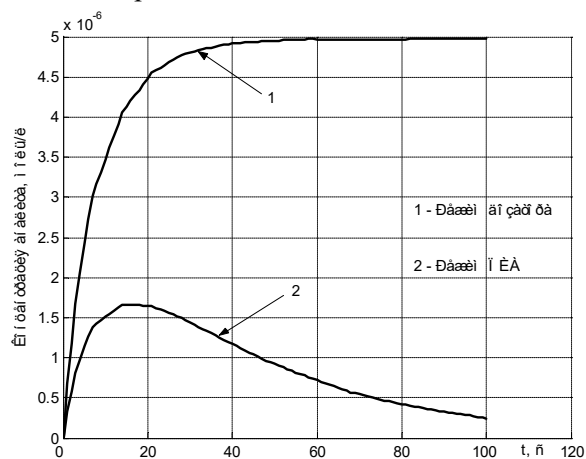


Рисунок 2
Моделирование работы ОХ-сенсора в различных режимах

Как видно из рис.2, характер регистрируемого аналитического сигнала в различных режимах имеет свои особенности. Так, в режиме ПИА, аналитический сигнал измеряется в неравновесных условиях, когда ни физические процессы разбавления пробы носителем, ни химические реакции не завершаются. Восходящий участок пика аналитического сигнала (кроме начальной фазы запаздывания) является экспоненциальным. Степень достижения стационарного состояния не зависит от концентрации. Отсюда следует, что нет необходимости проводить аналитическую реакцию до полного ее заверше-

ния. Вид нисходящего участка пика ПИА зависит от скорости вымывания пробы из проточной ЭХЛ-ячейки и инерционности ячейки. В режиме дозатора профиль восходящего участка аналитического сигнала также имеет экспоненциальный характер, но в данном случае отсутствует нисходящий участок пика, т.е. имеет место насыщение, из чего следует, что режим дозатора не предусматривает неравновесных условий измерения.

Из вышесказанного следует, что у каждого из режимов есть свои преимущества и недостатки. Режим ПИА уместен при исследовании большого числа типовых образцов, в виду своей высокой типовой производительности, что позволяет удешевить и автоматизировать анализ. Однако на аналитический сигнал ПИА действует кинетика двух процессов: физической дисперсии зоны образца в потоке зоны носителя (реагента) и электрохимического процесса образования детектируемых частиц, что вызывает необходимость строгого контроля времени пребы-

вания пробы в системе и степени ее разбавления в потоке. В случае режима дозатора данная необходимость отпадает, т.к. на аналитический сигнал влияет только электрохимический процесс образования детектируемых частиц, что несколько улучшает точность анализа. Использование сенсоров в планшете также открывает возможность проведения массового анализа. Однако недостатком данного режима анализа является одноразовое их использование и низкий экономический эффект при единичном анализе, ввиду неэффективного использования (простаивания) сенсоров, что приводит к изменению их свойств со временем (до полной непригодности), ухудшая точность анализа. Высокий экономический эффект наступает только при массовом производстве сенсоров.

Поэтому для конструирования сенсоров важно знать кинетику процессов, протекающих в ЭХЛ-ячейке, а математические модели, в свою очередь, позволяют объяснить подобную регуляцию процессов.

Литература

1. Одержання і дослідження молекулярної структури плівок Ленгмюра-Блоджетт на основі поліімідів/ В.П. Кухар, М.І. Міщенко та ін. // Доповіді АН України, 1991, № 3, 114.
2. Kunihiro Hayakawa, Yasuhiro Yoneda, Yasuaki Okamoto, Takahiro Kumamaru, Masahiko Ikeda Rapid determination of

oil in water using flow injection analysis and IR detection // Analytical Sciences. 1999. Vol. 15. P. 803-805.

3. Robert J. Forster, Conor F. Hogan Electrochemiluminescent metallopolymer coatings: combined light and current detection in flow injection analysis // Anal. Chem. 2000. Vol. 72. №72. P. 5576-5582.

4. T. Forster, Fluoreszenz Organischer Verbindungen.- Gottingen: Van den Hoeck und Ruprecht. 1951.

