

Міністерство освіти і науки України  
Державний вищий навчальний заклад  
«Ужгородський національний університет»

**М.В. Фершал**

## **АНАЛІТИЧНІ СЕНСОРНІ СИСТЕМИ**

Навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів,  
які навчаються за напрямком підготовки «ХІМІЯ»

Ужгород 2022

УДК 543:544.6:535.317.2(075.8)

Ф43

**Фершал М.В. Аналітичні сенсорні системи: навчальний посібник**

/ Укладач: М.В. Фершал. – Ужгород: Вид-во УжНУ «Говерла», 2022. – 220 с.

Розглянуто принципи роботи сенсорів та їх використання у аналізі, конструювання сенсорних систем, принципи їх роботи та отримання аналітичного сигналу. Приведено основні уявлення про електрохімічні, оптичні, гравіметричні та біосенсори і їх використання в аналізі.

Призначено для студентів та аспірантів які навчаються за напрямом підготовки «Хімія».

90 Іл. 16 Табл.

#### **Рецензенти:**

**Воронич Ольга Гаврилівна**, кандидат хімічних наук, доцент, доцент кафедри аналітичної хімії ДВНЗ «Ужгородський національний університет»;

**Барчій Ігор Євгенович**, доктор хімічних наук, професор, завідувач кафедри неорганічної хімії ДВНЗ «Ужгородський національний університет»;

**Кормош Жолт Олександрович**, кандидат хімічних наук, професор, завідувач кафедри аналітичної хімії та екотехнологій Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки.

*Рекомендовано до друку Вченою радою*

*ДВНЗ «Ужгородський національний університет»*

*(протокол №12 від 21 грудня 2021 р.)*

ISBN 978-617-7825-68-4

© ДВНЗ «УжНУ», 2022

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП</b>	5
<b>1. ТЕРМІНОЛОГІЯ ТА МЕТРОЛОГІЯ СЕНСОРНИХ СИСТЕМ</b>	8
1.1. Визначення сенсорів. Класифікація.	9
1.1.1. Хімічні сенсори.	10
1.1.2. Біосенсори.	15
1.2. Сенсори як аналітичні пристрої. Експлуатаційні та метрологічні параметри сенсорних систем.	22
1.2.1. Відгук сенсорів поняття про криву відгуку.	26
1.2.2. Селективність - важлива характеристика сенсорів.	31
<b>2. МЕТОДИ ВИГОТОВЛЕННЯ СЕНСОРІВ</b>	48
2.1. Створення селективних шарів.	50
2.2. Методи модифікації матриці та матеріалу підкладок трансдюсера.	54
2.3 Методи отримання молекулярних шарів.	65
<b>3. ЕЛЕКТРОХІМІЧНІ СЕНСОРИ</b>	86
3.1. Загальна характеристика сучасних електрохімічних сенсорів.	86
3.2. Потенціометричні сенсори.	89
3.2.1. Електроди порівняння в потенціометрії.	90
3.3.2. Будова потенціометричних сенсорів.	92
3.2.3. Метрологічні характеристики потенціометричних сенсорів. Селективність.	95
3.2.4. Скляний електрод, твердотільні та пластифіковані мембранні сенсори. Активні речовини та рецептори.	99
3.3. Іонселективні польові транзистори.	121

3.4. Амперометричні сенсори. Будова та принцип роботи.	131
3.4.1. Механізми виникнення аналітичного сигналу в ензимних сенсорах.	140
3.5. Кондуктометричні сенсори.	151
<b>4. ОПТИЧНІ СЕНСОРИ</b>	161
4.1. Поняття оптичних сенсорів та їх класифікація.	161
4.2. Будова та принцип роботи оптичного волокна.	165
4.3. Поняття згасаючого електромагнітного поля. Активні та пасивні сенсорні платформи.	168
4.4. Реагент-вмісні та безреагентні оптичні трансдюсери.	171
<b>5. ГРАВИМЕТРИЧНІ СЕНСОРИ</b>	188
5.1. П'єзокварцові резонатори.	188
5.2. Кантелівери у сенсорах.	198
Словник термінів	208
Додатки	212
Предметний покажчик	215



## ВСТУП

Одним із важливіших завдань аналітичної хімії, як науки, протягом всієї історії її розвитку було і залишається встановлення зв'язку між складом об'єкта та його властивостями, та використання цього зв'язку з метою розробки способів визначення концентрації чи відповідних придатних для цього пристроїв. До таких пристроїв відносяться датчики та сенсори, які дають пряму інформацію про хімічний склад середовища минаючи стадії відбору та підготовки проби. Сенсори здатні працювати автономно, без втручання оператора та можуть бути під'єднанні до систем зберігання та накопичення інформації. Хімічні сенсори та сенсорні аналізатори на їх основі широко використовують в різних сферах промисловості, енергетиці, робототехніці, транспортній галузі, медицині та екології. В медицині сенсорні нейронні сітки використовують для визначення складу крові та діагностики стану організму у домашніх умовах, моніторингу поведінки лікарських засобів та їх метаболітів. Практична цінність сенсорів залежить від їх основних метрологічних характеристик: чутливості, меж виявлення та визначення, динамічного діапазону, габаритів, селективності і таке інше.

Дослідження та розвиток хімічних сенсорів є динамічним напрямком сучасної аналітичної хімії як науки. Безумовно, що спеціаліст хімік, повинен орієнтуватися у безупинно зростаючому колі сенсорних технологій та систем. Розробка нових сенсорів пов'язана із синтетичною роботою та інженерією. Для синтезу активних речовин сенсорів використовують органічні та неорганічні прекурсори, матеріали біологічного походження (білки нуклеїнові кислоти мікроорганізми та живі клітини). Технологія виробництва сенсорів, що є інженерною стороною їх виготовлення, також є важливим аспектом від якого залежить конкурентоспроможність продукції на ринку сенсорних технологій. Тому у даному навчальному посібнику приділено увагу основним матеріалам які використовуються у виробництві сенсорів та найбільш поширеним способам виготовлення останніх.

Тому, курс «Аналітичні сенсорні системи» передбачає поглиблене вивчення теорії сенсорних систем, методології їх виготовлення та використання в практиці. Курс «Аналітичні сенсорні системи» розроблено з метою засвоєння базових навичок та розуміння принципів роботи сенсорів. Дана дисципліна направлена на ознайомлення із сучасними методами та техніками виготовлення сенсорів. Розглядаються питання конструювання сенсорних систем, принцип їх роботи та отримання аналітичного сигналу. Приводяться основні уявлення про електрохімічні, оптичні, гравіметричні та біосенсори, їх використання для аналізу складних об'єктів, у моніторингу довкілля та медицині. Обговорюються питання використання наноматеріалів у сенсорах. Обсяг навчального посібника охоплює близько 80 % годин передбачених на засвоєння курсу згідно робочої програми навчальної дисципліни. Для успішного засвоєння матеріалу необхідним є знання курсів неорганічної, аналітичної, органічної фізичної та колоїдної хімії, хімії ВМС та спецкурсів аналітична хімія довкілля, органічні реагенти в аналітичній хімії, методи розділення та концентрування.

Таким чином основним завданням засвоєння дисципліни є ознайомлення студентів з одним з напрямків аналітичної хімії а саме хімічними сенсорами.

У результаті вивчення навчальної дисципліни студент повинен :

- Мати уявлення про принцип будови хімічних та біологічних аналітичних сенсорів та областях їх практичного застосування;

- Знати основні нові типи сенсорів (оптичні, електрохімічні, гравіметричні та ін) та методи аналізу, що лежать в основі їх функціонування;

- Вміти пояснити як працюють хімічні сенсори, знати їх недоліки та переваги, орієнтуватись на ринку сенсорних пристроїв;

- Розуміти та вміти визначати основні метрологічні характеристики сенсорів (чутливість, межі лінійності, селективність, межі виявлення та визначення);

- Вміти виготовляти ПВХ пластифіковані мембранні сенсори;

- Вміти провести аналіз складних динамічних об'єктів з використанням аналітичних сенсорних систем.

Даний навчальний посібник може бути корисним для науковців інших галузей які потребують отримання загальних понять у сфері хімічних сенсорів та їх технології. Завдяки міждисциплінарності, посібник потенційно цікавий для спеціалістів з біоінженерії, хімії, біохімії та мікробіології, а також студентів та аспірантів суміжних спеціальностей.

## 1. ТЕРМІНОЛОГІЯ ТА МЕТРОЛОГІЯ СЕНСОРНИХ СИСТЕМ

Постійно зростаюча необхідність надійного моніторингу об'єктів довкілля у реальному часі зумовлена все більшим забрудненням навколишнього середовища, спонукає науковців різних галузей, а особливо науковців у сфері аналітичної хімії вдосконалювати методи та методики аналізу. Основні акценти ставлять на зниження меж визначення аналітів, покращення селективності, точності та правильності методик аналізу. Сучасні прилади в аналітичній хімії настільки складні та досконалі, що дозволяють проводити визначення на рівні пікограмових концентрацій. Проте, необхідність контролю об'єктів різного походження не завжди вимагає надто високої чутливості методу, а потребує проведення аналізу супутніх мікро- та макро-компонентів. Як наслідок необхідності контролю всього, що нас оточує стали колосальні матеріальні та фінансові витрати направлені на розробку сенсорів широкого спектру використання. Тепер доступними є портативні лабораторії безінвазивної дії для контролю стану здоров'я організму з програмним забезпеченням у мобільному телефоні. Розроблено сенсорні мережі, здатні діагностувати відхилення від норми за аналізом складу повітря, що видихає пацієнт. Моніторинг довкілля проводять з використанням сенсорних систем визначення важких металів, та навіть окремих бактеріальних організмів. Важко уявити межі розвитку сенсорних технологій майбутнього при такому стрімкому зростанні хімії, фізики, електроніки і інформаційних технологій, адже розробка сенсорів є результатом їх сумісних зусиль, що вказує на міждисциплінарність даної сфери науки.

## 1.1 Визначення сенсорів. Класифікація.

*Хімічний сенсор* це пристрій який вибірково реагує на конкретний хімічний об'єкт шляхом хімічної реакції і його можна використати для якісного чи кількісного визначення аналіту. Таке визначення сенсора є досить загальним і не охоплює специфічних біохімічних реакцій.

У кожному хімічному сенсорі розрізняють дві частини, а саме рецептор, або чутливий елемент та трансдюсер, функцією якого є перетворення сигналу. Сигнал отримують як результат проходження хімічної реакції у вигляді певної форми енергії. Схематично сенсор може бути представленим як цілісна система, що містить елементи розділення чи сепарації цільового аналіту від матриці зразка, рецепторну частину, трансдюсер та блок обробки та інтерпретації сигналу (див. рис. 1.1). Таким чином можна провести аналогію між сенсором та методикою аналізу, яка містить в собі деякі з стадій аналізу починаючи від пробопідготовки до обробки сигналу.

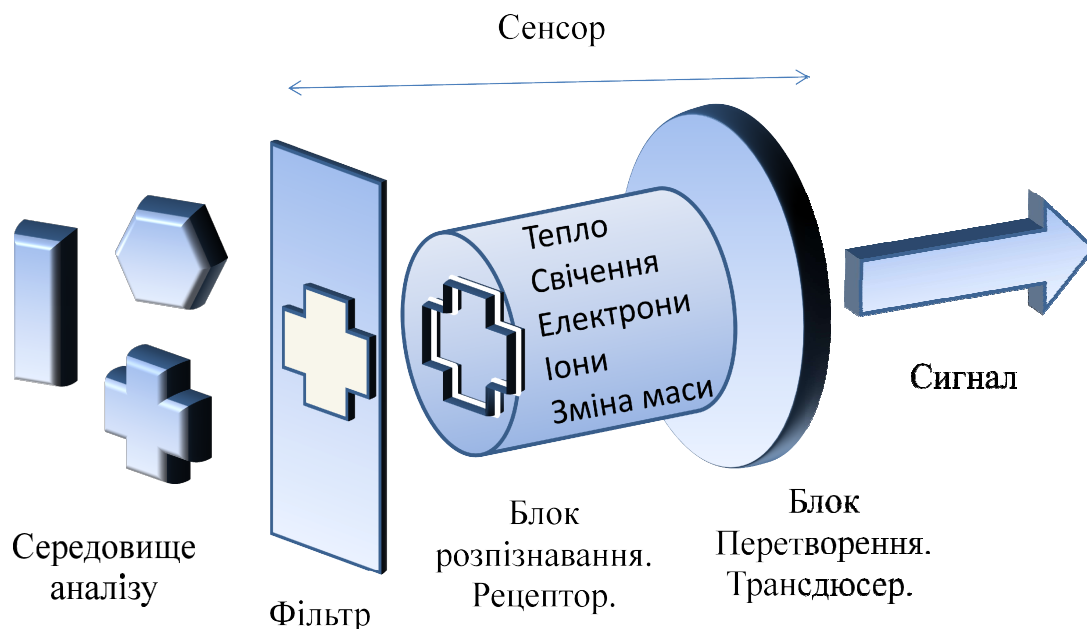


Рис. 1.1. Схематичне представлення сенсора як цілісного пристрою, що включає в себе деякі з стадій процесу аналізу.

### ***Існує декілька логічних дефініцій хімічного сенсора:***

Сенсор - це пристрій, який вибірково реагує на конкретний хімічний об'єкт за рахунок проходження хімічної реакції і який можна використати для якісного та кількісного визначення аналіту.

Сенсор - це пристрій, що перетворює хімічну інформацію (концентрація аналіту, парціальний тиск чи активність) у аналітичну (аналітичний сигнал, найчастіше електричний).

Аналітами можуть бути атоми, молекули, іони чи біологічні сполуки у середовищі рідин, газів, чи твердому тілі. У визначеннях поняття сенсора обов'язково додають, що сенсор має бути оборотнім. Але нажаль деякі біосенсори не відповідають такій вимозі.

Інші більш загальні визначення сенсорів наступні:

***Сенсор*** - це перша частина вимірювального пристрою.

***Сенсор*** - первинна частина трансдюсера яка конвертує вимірювальний параметр напряму та чутливо реагує на нього.

***Сенсор*** - це пристрій який конвертує фізичний чи хімічний параметр в електричний сигнал.

Під визначення сенсора підпадають класичні детектори, наприклад полум'яно іонізаційні детектори у хроматографічних пристроях які детектують індивідуальні компоненти після їх розділення на колонці. Зустрічається також термін аналізатор (*analyzer*), який використовують для сенсорів детектування специфічної хімічної сполуки (наприклад аналізатор кисню).

### **1.1.1. Хімічні сенсори.**

На відміну від фізичних сенсорів (сенсори механічних, термічних, магнітних чи оптичних параметрів) класифікацію хімічних сенсорів провести складніше, оскільки кількість вимірювальних параметрів (аналітів) досить велика. Тому фізичні сенсори класифікують згідно вимірюваного параметра,

а хімічні за принципом перетворення сигналу. Як фізичні сенсори можна розглядати наші пальці, вушні раковини, очі оскільки вони реагують на фізичні параметри. На відміну від нашого носа чи язика які дають відгук на хімічні сполуки в певній концентрації.

Будь який сенсор, як це показано на рис. 1.1. обов'язково повинен складатися із двох частин: чутливого елемента (рецептор) та перетворювача (трансдюсер). До складу багатьох сенсорів включають так званий сепаратор (розділювальний елемент), як наприклад напівпроникна мембрана. В молекулярно-розмірних сенсорах (сенсорах середовища) роль трансдюсера та рецептора виконує одна молекула, але і тут існуватиме угруповання атомів, які відповідають за розпізнавання аналіту (рецептор), та перетворення сигналу (трансдюсер).

Як вже згадувалось, у *чутливому елементі сенсора (рецепторі)* проходить процес перетворення хімічної інформації у певну форму *енергії* яка може бути виміряна перетворювачем (трансдюсером). Чутливий елемент є практично основним елементом сенсора, що визначає можливість вибірково реагувати на один чи декілька аналітів.

*Трансдюсер* – пристрій який здатен перетворювати певний тип енергії, що несе в собі хімічну інформацію, у придатний аналітичний сигнал. Трансдюсер не має такої характеристики як *селективність*.

Рецептори класифікують за принципом їх функціонування:

*Фізичні рецептори* – в принцип їх роботи не входить жодна хімічна реакція. Типовими представниками є рецептори поглинання світла, визначення рефракції, провідності, температури та зміни маси.

*Хімічні* – в даному типі рецепторів проходить хімічна реакція за участю аналіту, що викликає приріст в аналітичному сигналі.

*Біохімічні* – джерелом виникнення аналітичного сигналу є біохімічний процес, що протікає у об'ємі рецептора. Типовими прикладами є імуносенсори.

Розвиток обладнання, мікроелектроніки та комп'ютерної техніки зробили можливим розробку сенсорів на основі відомих на цей час хімічних, фізичних та біологічних явищ. Для класифікації сенсорів найзручніше користуватись механізмом роботи трансдюсера (див. схему 1.1), що й було використано у найбільш повній класифікації та визначенні сенсорів яку дає рекомендація IUPAC за 1991 рік.

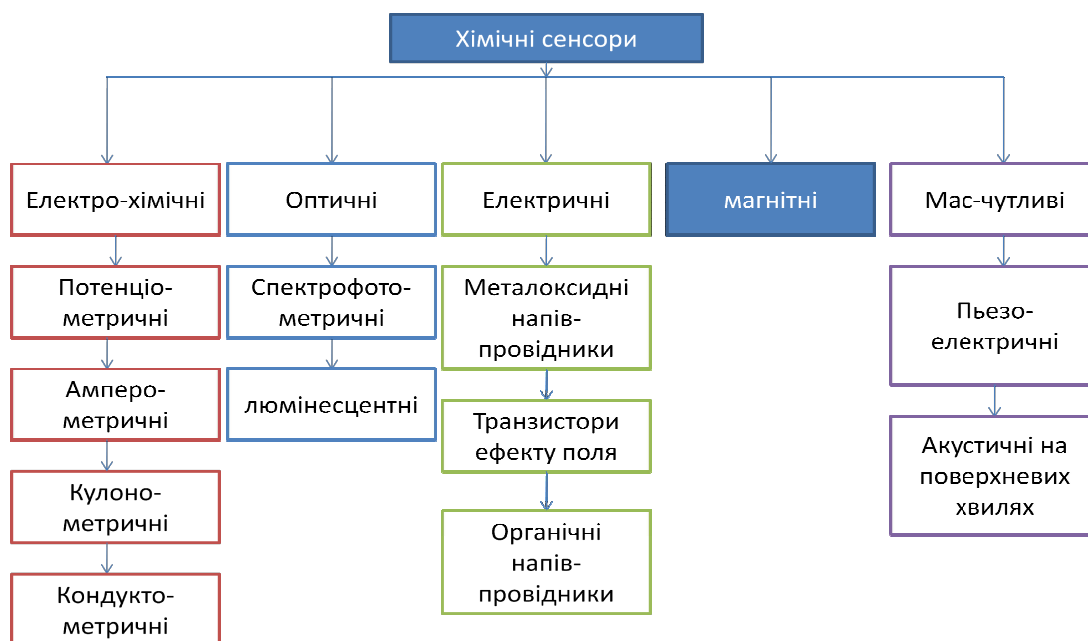


Схема 1.1. Класифікація хімічних сенсорів за типом трансдюсера.

Основними положеннями в цьому документі є наступні:

**Хімічний сенсор** - це пристрій який трансформує хімічну інформацію (як концентрацію певного специфічного компонента так і загальну концентрацію компонентів системи) у аналітично придатний сигнал. Згадана вище *хімічна інформація*, може виникати як від хімічної реакції аналіту так і певного фізичного параметру системи.

В цей же час даний документ дає визначення **фізичного сенсора** і визначає його як пристрій, що надає інформацію про *фізичний параметр* системи (тиск, температура, швидкість потоку, в'язкість, вологість і. т. д).

Згідно рекомендацій слід розрізняти наступні види сенсорів:

1. **Оптичні сенсорі** - пристрої які трансформують зміни оптичних властивостей чи явищ, які є результатом взаємодії аналіту з рецептором. Цей



тип розширюють на підтипи згідно оптичних властивостей використаних в сенсорі:

а) **Абсорбція** виміряна у прозорому середовищі спричинена власним поглинанням аналіту або реакцією з відповідним індикатором.

б) **Відбиття** виміряне у непрозорому середовищі з використанням іммобілізованого індикатора.

в) **Люмінесценція** виміряна як інтенсивність світла, що випромінюється хімічною реакцією в рецепторі.

г) **Флуоресценція** виміряна як інтенсивність свічення спричинена опроміненням, а також її селективне гашення може бути використано у сенсорах даного типу.

д) **Коефіцієнт рефракції** виміряний як причина змін у складі розчину.

е) **Оптомальний ефект** як тепло викликане поглинанням світла.

є) **Розсіювання світла** викликане як результат взаємодії світла з частинками різного розміру присутніх у зразку.

Використання описаних вище оптичних явищ для розробки сенсорних систем спричинене стрімким розвитком оптоволоконних технологій. Такі пристрої мають назву **оптодів** і служать в основному для технічного забезпечення функціонування сенсора.

2. **Електрохімічні сенсори** це пристрої, що трансформують ефект від електрохімічної взаємодії в системі аналіт-електрод у придатний сигнал. Згадані ефекти можуть бути стимульованими ззовні або ж є результатом спонтанної взаємодії в умовах відсутності зовнішньо прикладених струмів. Ця група включає сенсори з зовнішнім джерелом струму та без нього. Виділяють наступні підгрупи електрохімічних сенсорів:

а) **Вольтамперометричні сенсори** - включають у себе амперометричні пристрої в яких напруга вимірюється у умовах постійного та змінного струму. До підгрупи входять хімічно-інертні електроди, хімічно-активні електроди та модифіковані електроди. Сенсори даного типу можуть бути

оснащені джерелом живлення та виготовлені без такого джерела (гальванічні сенсори).

б) **Потенціометричні сенсори** в яких потенціал індикаторного електроду (ICE, Red-Ox, метал/металоксидний) вимірюють відносно електроду порівняння. Електрорушійна сила (ЕРС) такого гальванічного елемента пропорційна логарифму концентрації аналіту.

в) **Хімічно сенсibiliзовані транзистори ефекту поля** (польові транзистори). В даному типі сенсорів ефект взаємодії аналіту з активним шаром нанесеним на *ворота* транзистора трансформується у зміну напруги на його *стоку-витоку*. Взаємодії між аналітом та чутливим шаром аналогічні тим, що виникають у потенціометричних іон-селективних сенсорах.

г) **Потенціометричні твердо-електролітні газові сенсори** - працюють у середовищі високих температур тому винесені у окрему групу.

3. **Електричні** пристрої в яких не протікають електрохімічні процеси але сигнал виникає за рахунок зміни електричних властивостей викликаних хімічною реакцією з аналітом.

а) **Метал-оксидні напівпровідникові сенсори** використовують як детектори газової фази які базуються на оборотних Red-Ox процесах газу аналіту.

б) **Органічні напівпровідникові сенсори** – базуються на утворенні комплексів з переносом заряду, що змінює густину носіїв заряду.

в) **Сенсори електролітичної провідності.**

г) **Датчики діелектричної проникності.**

4. **Мас чутливі пристрої** – трансформують зміну маси на спеціально модифікованій поверхні у зміну властивості матеріалу підкладки. Зміна маси відбувається за рахунок накопичування аналіту.

а) **П'єзоелектричні** – сенсори які використовують як правило у газовій фазі. Базуються на вимірюванні змін частоти коливання пластинки кварцового осцилятора викликаної абсорбцією аналіту на осцилятор.

б) *Сенсори поверхневої акустичної хвилі* (surface acoustic wave) базуються на фіксації зміни швидкості поширення генерованої акустичної хвилі спричиненої накопиченням певної маси аналіту.

5. *Магнітні сенсори* на основі явищ зміни парамагнітних властивостей газу, що аналізують. Представлені в основному аналізаторами кисню.

6. *Термометричні сенсори* базуються на використанні теплових ефектів специфічної хімічної реакції чи абсорбції за участю аналіту. В даному типі сенсорів ефект нагрівання вимірюють різними способами. Наприклад у каталітичних сенсорах тепло прискорених реакцій, або реакцій каналізованих ензимом вимірюють *термістером*.

Дана класифікація не є остаточною, альтернативно сенсори також класифікують і за їх цільовим використанням, тобто з метою визначення чи виявлення певних сполук чи індивідуальних речовин як то рН, чи рМ, O<sub>2</sub>, чи інших газів, або за способом використання, наприклад *in vivo*.

### 1.1.2. Біосенсори.

Як можна побачити, класифікацію біосенсорів в даному документі не наведено. Це пов'язано з тим, що у розглянутому документі IUPAC біосенсори не були винесені у окремий клас. Проте у 1999 році вийшов документ, який регламентує дефініції та класифікації електрохімічних біосенсорів. Поява такого документу спричинена швидким розвитком даного напрямку сенсорних технологій та відсутністю спільної думки у термінології. Основною відмінністю біосенсорів від хімічних сенсорів є те, що у процес розпізнавання аналіту залучено біохімічний механізм. Система біологічного розпізнавання трансформує інформацію з біологічної частини рецептора у хімічний чи фізичний параметр. Основною метою використання біологічних сполук у сенсорах залишається підвищення селективності. Трансдюсер у біологічних сенсорах забезпечує перетворення сигналу у двох напрямках і його часто називають детектором, сенсором чи електродом. Класифікацію

біосенсорів проводять за типом елементу розпізнавання (рецептором), та типом електрохімічного трансдюсера, що представлено у таблиці 1.1. Типи електрохімічних трансдюсерів які часто використовують для різних вимірювань представлено у таблиці 1.1.

**Таблиця 1.1.** Типи електрохімічних трансдюсерів для біологічних сенсорів.

Тип вимірювання	Трансдюсер	Аналіт трансдюсера
Потенціометричний	Іон селективні електроди, скляний електрод, газовий електрод, металевий електрод	$K^+$ , $Cl^-$ , $Ca^{2+}$ , $F^-$ , $H^+$ , $Na^+$ .... $CO_2$ , $NH_3$ , Red-Ox
Амперометричні	Металевий або вуглецевий електроди Хімічно-модифіковані електроди	$O_2$ , сахариди, спирти, феноли, олігонуклеотиди
Кондуктометричні, імпеданс-метричні	Металеві електроди	Сечовина, заряджені частинки, олігонуклеотиди
Ефект поля	Іон селективні польові транзистори, ензимні польові транзистори	$H^+$ , $K^+$

**Таблиця 1.2** Типи рецепторів в біосенсорах та способи електрохімічного перетворення сигналу.

Аналіт	Рецептор хімічна система розпізнавання	Метод вимірювання Тип трансдюсера
Іони	Оксиди металів змішаної валентності, іон-провідні неорганічні кристали, синтетичні чи <i>біологічні іонофори</i> , іонообмінні стекла, <i>ензими</i> .	Потенціометричні, вольтамперометричні
Розчинені гази, пари	Двошарова ліпідна чи гідрофобна мембрана, електрод з інертного металу, ензими, антитіла. Рецептори	Амперометричні, імпедансні, п'єзоелектричні, оптичні.
Субстрати	Ензими, клітини, мембранні рецептори, рослинні та тваринні органи	Амперометричні чи потенціометричні з металевим чи графітовим електродом, кондуктометричні, п'єзоелектричні, оптичні, калориметричні
Антитіло/антиген	Антиген/антитіло, олігонуклеотиди, аптамери. Мічені ензими, флуоресцентні чи люмінесцентні мітки	Амперометричні, потенціометричні чи імпеданс, п'єзоелектричні, оптичні, плазмонний резонанс.
Протеїни, субстрати з низькою молекулярною масою, іони	Специфічні ліганди, протеїнові рецептори, мічені ензими	Те саме

Окрім перерахованих вище аналітів біосенсиори використовують для ідентифікації та визначення мікроорганізмів з використанням як рецепторів бактерій, олігонуклеотидів на п'єзоелектричних електрохімічних чи оптичних трансдюсерах.

Оскільки найбільш поширеними трансдюсерами у біологічних сенсорах є електрохімічні, зупинимось на них більш детально. Термін *електрохімічний біосенсор* вказує на те, що у сенсорі використовується саме електрохімічний трансдюсер. Такий сенсор можна розглядати як хімічно-модифікований електрод оскільки відповідний матеріал електроду (скляна мембрана, напівпровідник, іонний чи електронний провідник) вкритий біохімічною плівкою. Таким чином, *біосенсор це складний пристрій оснащений трансдюсером інтегрованим у рецептор, тобто безпосередньо зв'язаний з біологічним елементом розпізнавання здатним до отримання кількісної чи напів-кількісної аналітичної інформації*. Біологічний сенсор може бути використаний для аналізу як біологічних так і небіологічних середовищ. Слід мати на увазі, що можливість використання будь якого сенсора у біологічних середовищах не є ознакою віднесення даного пристрою до біосенсорів.

Різноманітність систем молекулярного розпізнавання та типів електрохімічних трансдюсерів в біосенсорах дуже широка, але основні принципи їх функціонування є спільними для окремих типів та визначаються термодинамічними особливостями. Ці принципи наступні:

- у амперометричних сенсорах, включаючи біокаталітичні амперометричні сенсори, в процесі вимірювання проходить зменшення концентрації аналіту у області контакту чутливого елемента із середовищем аналізу. Тому, даний тип сенсорів працює у нерівноважних умовах, а його динамічні характеристики відгуку (час відгуку) залежать від швидкості масо-переносу чи швидкості витрати (споживання, перетворення) аналіту, що є визначальними факторами для розуміння операційних характеристик даного типу сенсорів;

- у потенціометричних а також сенсорах на основі утворення біокомплексів відгук формується у близьких до рівноважних умовах і не лімітується масо-переносом. Проте величина константи рівноваги та кінетика у експериментальних умовах визначатиме його відгук та необхідність внесення додаткових реагентів.

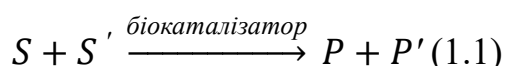
Класифікацію біосенсорів проводять згідно біологічної специфічності механізму реакції, виду трансдюсера та в деяких випадках за комбінацією цих двох ознак.

Найпоширенішим типом рецепторів у біосенсорах є елементи розпізнавання біологічної природи. Розрізняють біокаталітичний рецептор та біокомплексний чи біоафінний елемент розпізнавання.

В основі роботи біокаталітичного рецептора біосенсора покладено реакцію яка проходить в присутності каталізатора - біологічної макромолекули, синтезованої чи попередньо ізольованої із біологічного середовища. Витрата аналіту (аналіт у таких випадках прийнято називати субстратом) відбувається за рахунок протікання реакції з біокаталізатором іммобілізованим на чутливому елементі сенсора. Відгук сенсора фіксують відповідним детектором. Серед біокаталізаторів використовують наступні:

- Ензими (моно- чи мульти-ензими)- найбільш вивчені та розповсюджені системи розпізнавання.
- Цілі клітини (мікроорганізми такі як бактерії, гриби, клітини еукаріоти та дріжджі) або органели клітин (мітохондрії, стінки клітини).
- Органи (зрізи органів рослин чи тварин).

Біокаталітичні сенсори є найбільш вивченими і найчастіше використовуються в біологічних сенсорах. Один чи декілька аналітів які прийнято називати субстратами  $S$  та  $S'$  реагують у присутності ензимів, клітин чи органів з утворенням одного чи декількох продуктів  $P$  та  $P'$  за наступною схемою:



Для моніторингу процесу витрати субстрату  $S$ , який є аналітом використовують наступні чотири підходи:

- детектування витрати ко-субстрату  $S'$  таких як кисень концентрація якого зменшується під впливом оксидази, бактерій чи реагуючих шарів дріжджів, що веде до зменшення сигналу детектора;

- розщеплення чи перетворення продукту реакції  $P$  за участю оксиредуктаз, гідролаз, ліаз з виділенням  $H_2O_2$ ,  $H^+$ ,  $CO_2$ ,  $NH_3$  та відповідним приростом сигналу;

- детектування стану Red-Ox активного центру, кофактора, простетичної групи у присутності субстрату з використанням іммобілізованого медіатора, що швидко реагує з біокаталізатором та легко детектується трансдюсером (похідні ферроцену, органічні солі, хінони, комплекси Ru та Os);

- прямий перенос електронів між активним центром ензиму та електрохімічним трансдюсером.

Третій підхід направлений на нівелювання відгуку сенсора до ко-субстрату  $S'$  та зменшення впливу присутніх інтерферентів. У першому випадку позитивного результату досягають якщо швидкість реакції медіатора з біокаталізатором набагато вища ніж швидкість взаємодії ко-субстрату (так звана кінетична селективність).

У біокомплексних чи біоафінних елементах розпізнавання відбувається взаємодією аналіту з макромолекулою чи упорядкованими молекулярними рядами отриманими із природного біологічного середовища, або ж синтезованими штучно. У таких сенсорах відсутня витрата аналіту у приелектродному шарі і тому вони працюють у близьких до рівноважних умовах. Найбільш поширеним типом біохімічної взаємодії, які на принципі утворення біокомплексів є взаємодія антитіла (Ab) з антигеном (Ag) - імунохімічної реакції. У сенсорах для визначення антигену використовують відповідні антитіла попередньо ізольовані та очищені. Часто, для підвищення селективності імуносенсорів до Ab (Ag) пришивають певні ферментні мітки.



*Питання для самоконтролю:*

- Сформулюйте поняття сенсора, які його основні особливості?
- В чому полягає різниця між трансдюсером та чутливим елементом сенсора?
- Яким документом регулюється номенклатура хімічних сенсорів?
- Що таке датчик? Яка його відмінність від хімічного сенсора?
- Що відбувається у чутливому елементі сенсорів?
- Які типи енергії можуть служити аналітичним сигналом у сенсорах?
- За яким принципом класифікують сенсорні системи?
- Що таке біосенсори?
- Які сполуки використовують у чутливих елементах біосенсорів у якості рецепторів?
- Як реалізується отримання аналітичної інформації у біосенсорах різного типу?
- З чого складається сенсор у загальному випадку?
- Перерахуйте основні методи трансдукції сигналу у сучасних сенсорних системах.

*Використана та рекомендована література:*

1. Hulanicki, Adam, Stanislav Glab, and F. O. L. K. E. Ingman. "Chemical sensors: definitions and classification." *Pure and applied chemistry* 63.9 (1991): 1247-1250.
2. Thevenot, D. R., Toth, K., Durst, R. A., & Wilson, G. S. (1999). Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Pure and applied chemistry*, 71(12), 2333-2348.
3. Thévenot, D. R., Toth, K., Durst, R. A., & Wilson, G. S. (2001). Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Biosensors and bioelectronics*, 16(1-2), 121-131.
4. Banica, Florinel-Gabriel. *Chemical sensors and biosensors: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons, 2012.

5. Janata, Jiri. *Principles of chemical sensors*. Springer Science & Business Media, 2010.
6. Cattrall, Robert W. *Chemical sensors*. No. 04; TP159. C46, C3.. 1997.
7. Vlasov, Y., Legin, A., Rudnitskaya, A., Di Natale, C., & D'amico, A. (2005). Nonspecific sensor arrays ("electronic tongue") for chemical analysis of liquids (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 77(11), 1965-1983.

## **1.2. Сенсори як аналітичні пристрої.**

### **Експлуатаційні та метрологічні параметри сенсорних систем.**

Основною метою у розробці та виробництві сенсорів є економічний ефект від виробництва конкурентного продукту. Тому сенсор повинен бути простим у виробництві, робастним та легким у використанні. Польові дослідження потребують портативних пристроїв, в той же час біомедичне застосування сенсорів висуває вимогу до їх біосумісності для проведення аналізу *in vivo*. Мініатюризація теж є важливим параметром для зменшення кількості проби необхідної для аналізу та поєднання рядів сенсорів у сітку на кшталт електронного носу чи електронного язика. Для отримання сенсора з хорошими характеристиками, як правило, необхідним є використання вартісного обладнання та реактивів високої якості, що веде до збільшення собівартості продукту. В той же час, сенсори з довгим часом життя потребують періодичної перевірки їх характеристик та операцій кондиціонування після кожного використання, що не дуже зручно у польових умовах. Тому часто перевагу надають дешевим, але надійним сенсорам одноразового використання. Таким чином до експлуатаційних характеристик сенсорів висувається ряд вимог які визначаються середовищем та метою їх використання.

Сенсорну систему можна розглядати як пристрій, що перетворює хімічну інформацію у аналітичну (концентрація, активність, парціальний

тиск) без проведення пробопідготовки безпосередньо у об'єкті аналізу, аналіз з допомогою сенсора. Тому сенсор можна порівняти із класичними методиками аналітичної хімії, які є багатостадійними процесами пробо відбору, транспортування та консервації проби, її скорочення, мінералізаці-гомогенізації, розділення - концентрування, отримання аналітичного сигналу, обробки сигналу, статистичної обробки даних (відбраковка результатів). Оскільки деякі стадії аналізу відпадають існують загальні експлуатаційні параметри сенсорів представлених у таблиці 1.3.

**Таблиця 1.3.** Основні характеристики сенсорів

**Експлуатаційні характеристики**

<b>Характеристика</b>	<b>Кількісний параметр</b>
Вимірювальний параметр Measuring parameter	Концентрація, активність, рН, рМе, парціальний тиск, активність ферменту.
Середовище Measuring medium	Повітря, водні /неводні розчини, розплави, гази
Принцип вимірювання (трансдюсер) Measuring principle	Електрохімічний, оптичний, амперометричний, термічний і.т.д.
Діапазон вимірювань Measuring range	ppm, pC, мг/л, мкг/мл,
Точність вимірювання Measuring accuracy	±ppm, ±%
Відтворюваність Reproducibility	±ppm, ±%
Роздільна здатність Resolution	±ppm
Час прогріву сенсора Warm up time	с
Час відгуку Response time	с
Час розпаду Decay time,	с
Максимальна частота вимірювань Maximum measurement frequency	Гц

Лінійність сигналу на виході	%
Linearity of output signal	
Селективність та перехресна чутливість до інших сполук що мають вплив на аналітичний сигнал	Коефіцієнт селективності, чи кількість інтерферента ppm, що веде до 1% зміни вимірювального параметра.
selectivity and cross-sensitivity	
Можливість стерилізації	Специфічний параметр для біосумісних сенсорів

---

#### **Умови застосування сенсора**

Відносна вологість	%
Температура	°C
Межі концентрацій аналіту	Ppm
Межі концентрацій інтерференту	Ppm
Об'єм потоку рідини чи газу необхідного для аналізу.	мкл,мл, л,
Мутність та колір розчину	Специфічно для біохімічних сенсорів

#### **Технічні характеристики:**

---

Стабільність джерела живлення	±%
Точність підтримки швидкості потоку	±%
Температура потоку	°C

---

#### **Показники стабільності роботи сенсора:**

---

Дрейф нульової лінії	%/годину
Дрейф чутливості	%/годину
Час життя	годин, днів, тижнів, років.
Забруднення (contamination)	годин
Регенерація після забруднення (отруєння)	годин
Частота перевірки характеристик	годин

---

#### **Характеристики калібрування (процес встановлення залежності аналітичного сигналу від концентрації аналіту)**

---

Тип калібрування	За кількістю точок стандарту
Дрейф калі бровки	%/годин
Інтервал між калібровкаю	годин
Необхідне для калібровки обладнання	стандартні розчини

---

#### **Наявність доповнень:**

---

Дисплей  
Сигнал помилки  
Сигнал тривоги  
Можливість вимірювання декількох  
аналітів  
Необхідне обладнання для сенсорної  
системи  
Аксесуари для вимірювання, калібрування  
Потужність пристрою  
Витратні матеріали

---

#### **Характеристики сигналу на виході**

---

Типи сигналу:  
Змінний/ постійний струм, частота, сила  
струму, ЕРС,  
Максимальне значення сигналу  
Вихід для багатокomпонентного  
вимірювання  
Чутливість  
Лінійність

---

#### **Техніко-економічні характеристики**

---

Розміри сенсора	мм
Розміри сенсорної системи	мм
Вага	г
Тип захисту	2
Реєстрація	
Ціна	
Час доставки	
Сервісне обслуговування	

---

В загальному, слід констатувати, що найкращим сенсором вважається той, який виконує свої функції та вирішує поставлені завдання з економічними витратами допустимими в тому чи іншому випадку. Під витратами слід розуміти вартість сенсора, витрачений час, робасність його

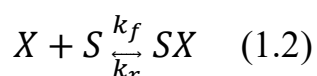
функціонування, та простоту у використанні. Ці параметри визначаються певними характеристиками сенсора, такими як стійкість (надійність) та реверсивність (оборотність).

***Ruggedness - жорсткість, стійкість (більш строго reliability надійність)*** – характеристика, що вказує на властивість сенсора не втрачати своїх метрологічних та експлуатаційних характеристик навіть після використання у важких умовах (наприклад агресивних середовищах, високих температурах чи тиску, ударах, вібраціях, чи дією інших механічних стресів), його селективність. Часто саме ця характеристика визначає комерційний успіх сенсора на ринку.

Реверсивність (оборотність) ***reversibility*** – здатність сенсора давати відгук як на збільшення так і на зменшення концентрації аналіту. Сенсори можуть бути термодинамічно оборотними як наприклад іон-селективні електроди чи потенціометричні сенсори, так і необоротними як ензимні електроди, хоча вони здатні реагувати на стрибкоподібні зміни концентрації субстрату.

### 1.2.1. Відгук сенсорів, поняття про криву відгуку.

Взаємодію хімічної сполуки (аналіту) X з сенсором S можна описати наступним рівнянням:



Швидкості прямої та зворотної реакції описуються відповідними константами ( $k_f$  -forward та  $k_r$  –reverse) і разом із процесами масо-переносу та механізмом перетворення сигналу впливають на загальний відгук сенсора. Згідно визначення константи рівноваги хімічної реакції при однакових значеннях  $K$  ми можемо мати справу як з швидкими так із повільними реакціями і як наслідок із швидким та повільним встановленням рівноваги реакції 1.2.

Використавши активності константу рівноваги можна представити як :

$$K_X = \frac{a_{SX}}{a_S a_X} = \frac{k_f}{k_r} \quad (1.3)$$

Де  $a_{SX}$  активність сполук зв'язаних в умовний комплекс з сайтом зв'язування (місцем зв'язування),  $a_S$  та  $a_X$  активності місць зв'язування у рецепторі сенсора та аналіту в зразку відповідно.

Вільна енергія взаємодії  $\Delta G$  процесу 1.2 відповідно рівна

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln \frac{a_{SX}}{a_S a_X} \quad (1.4)$$

При зміні активності аналіту у зразку відбуватиметься взаємодія із сайтами сенсора якщо зміна стандартної вільної енергії  $\Delta G^0$  має негативний знак. З іншого боку якщо константа зв'язування має велике значення ( $>10^4$ ) реакція буде необоротною, а пристрій працюватиме у не рівноважних умовах.

В основі процесу вимірювання сенсора лежить генерація деякого фізичного параметру який виникає в результаті хімічної взаємодії. Даний процес називають відгуком сенсора який описують кривою відгуку (див. рис. 1.2). Припустимо, що тільки зайняті місця зв'язування  $a_0$  у чутливому елементі сенсора приймають участь в утворенні відгуку.

Загальна активність всіх місць зв'язування :

$$a_{S \text{ заг.}} = a_{SX} + a_{Si} + a_S \quad (1.5)$$

Активність незайнятих місць  $a_S$ , а активність зайнятих місць аналітом та інтерферентами які приймають участь в формуванні сигналу

$$a_0 = a_{SX} + \sum_i a_{Si} \quad (1.6)$$

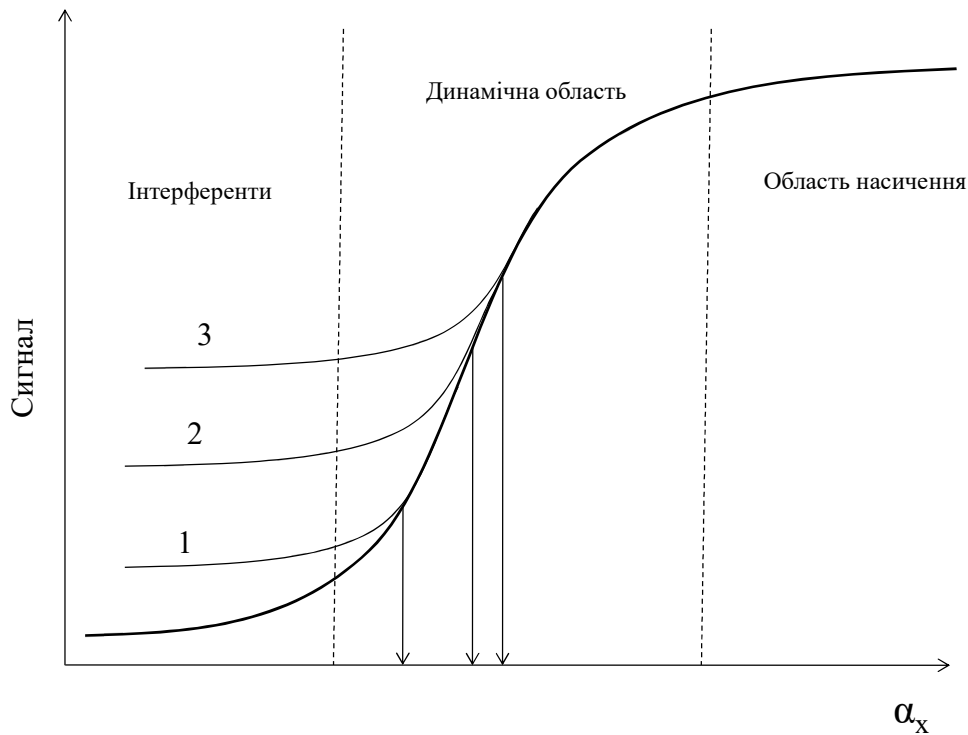


Рис. 1.2. Загальний вигляд кривої відгуку хімічного сенсора.

Для окремого інтерферента можна записати константу зв'язування аналогічно як і для аналіту:

$$K_i = \frac{a_{Si}}{a_S a_i} \quad (1.7)$$

Об'єднавши рівняння (1.4-1.7) активність зайнятих місць можна виразити як:

$$a_0 = a_S \text{ заг.} \frac{K_X a_X + \sum_i K_i a_i}{K_X a_X + \sum_i K_i a_i + 1} \quad (1.8)$$

Розділивши та помноживши праву частину (1.8) на константу зв'язування аналіту  $K_X$  отримаємо:

$$a_0 = a_S \text{ заг.} \frac{a_X + \sum_i K'_i a_i}{a_X + \sum_i K'_i a_i + 1/K_X} \quad (1.9)$$

У останньому рівнянні  $K'_i = K_i/K_X$  коефіцієнт селективності. Він використовується до конкретного інтерферента, а його значення впливає на вигляд загальної кривої відгуку сенсора. З рівняння (1.9) можна виділити три області що описують відгук:

1. За умови високої активності аналіту або присутності достатнього рівня інтерферентів, тобто

$$a_X \gg \sum_i K'_i a_i + 1/K_X \text{ чи } \sum_i K'_i a_i \gg a_X + 1/K_X$$



всі сайти на поверхні чутливого елемента будуть зайняті, що відповідатиме області насичення на кривій відгуку (див. рис. 1.2).

2. Нижче області насичення лежить динамічна область відгуку для якої виконується умова:

$$\sum_i K'_i a_i \ll a_X \ll 1/K_X.$$

Частина сайтів зв'язана з аналітом X, але їх активність лінійно залежить від активності аналіту у пробі:

$$a_0 = a_{S \text{ заг.}} K_X a_X \quad (1.10)$$

3. У області відгуку до інтерферентів активність аналіту занадто низька щоб впливати на відгук, або значення константи зв'язування аналіту не високе  $a_X \ll \sum_i K'_i a_i + 1/K_X$ , а місця зв'язування зайняті інтерферентами. За таких умов відгук відсутній. Рівняння 1.9 можна спростити до

$$a_0 = a_{S \text{ заг.}} \frac{\sum_i K'_i a_i}{\sum_i K'_i a_i + 1/K_X} \quad (1.11)$$

Перетин динамічної області сенсора (1.10) з областю відгуку до інтерферентів (1.11) є межею виявлення сенсора (*DL- detection limit*) що можна виразити як:

$$K_X(a_X)_{DL} = \frac{\sum_i K'_i a_i}{\sum_i K'_i a_i + 1/K_X} \quad (1.12)$$

або

$$(a_X)_{DL} = \frac{\sum_i K'_i a_i}{\sum_i K_i a_i + 1} \quad (1.13)$$

Для низьких концентрацій слабо зв'язаного інтерферента  $K_i a_i \ll 1$  коефіцієнт селективності можна виразити як відношення констант

$$K'_i = K_i / K_X = \frac{(a_X)_{DL}}{a_i} \quad (1.14)$$

Дане рівняння використовують для розрахунку коефіцієнтів селективності.

Динамічну область відгуку сенсора представляють як різницю активності аналіту в області насичення та межею виявлення. З рівняння

(1.10) та умови насичення сенсора при активності  $a_0 = a_{S \text{ заг.}}$  можна записати значення активності аналіту на межі насичення (*saturation limit*). Тобто гранична активність при якій всі місця зв'язування будуть зайняті аналітом, визначатиметься константою зв'язування:

$$(a_X)_{s.l.} = \frac{1}{K_X} \quad (1.15),$$

тоді динамічну область (*dynamic range*) відгуку можна представити як:

$$D.R. = \frac{1}{K_X} - K'_i a_i \quad (1.16)$$

За умови зростання добутку  $K'_i a_i$  динамічна область стає вужчою до тих пір поки відгук до аналіту не зникне остаточно (область інтерферентів на кривій відгуку).

За умови  $\frac{1}{K_X} \ll K'_i a_i$  сенсор досягає ліміту насичення, але місця зв'язування зайняті не аналітом, а інтерферентом. Таким чином, розробку сенсорів проводять в напрямку пошуку оптимального співвідношення констант зв'язування аналіту та інтерференту. Причому, намагаються зменшити значення константи зв'язування інтерферента  $K'_i$ , для отримання кращого значення межі виявлення. Значення константи зв'язування аналіту  $K_X$  збільшувати не варто, оскільки це призводитиме до звуження області динамічного відгуку сенсора. Іншими словами, інтерференти та відповідні їм коефіцієнти селективності обмежують відгук у області низьких концентрацій аналіту, в той же час концентрація місць зв'язування впливає на межі лінійності в області високих концентрацій. Проте, теоретично розраховані значення області відгуку сенсорів значно відрізняються та менші ніж отримані на практиці, що пояснюють наступним. По перше, кількість місць зв'язування у об'ємі чутливого елемента набагато вища ніж на його поверхні і по друге, у чутливому елементі наявні різні місця зв'язування із множиною констант зв'язування, тому відгук буде сформований адитивними взаємодіями різних сайтів з молекулами аналіту. Прикладом є відгук скляного рН електроду, сигнал якого формується у гідратованому шарі на

поверхні скляної бульбашки. Межі динамічного відгуку сенсора складають 14 порядків активності протона у розчині, а причиною є присутність величезної кількості дефектів кристалічної ґратки та високим вмістом допуючих речовин. Кожен з цих дефектів є місцем зв'язування протона і володіє власним динамічним діапазоном який перекривається із діапазонами інших місць зв'язування, що веде до значного розширення області відгуку. Додатковою можливою причиною розширення області відгуку є зміна механізму сорбції аналіту (для газових сенсорів), наприклад перехід від класичного виду ізотерми сорбції Ленгмюра при низьких концентраціях аналіту у пробі до ізотерми полімолекулярної адсорбції (ізотерма Брунауера-Еммета-Теллера) після підвищення концентрації. Також певну роль відіграє розташування місць зв'язування. Якщо відгук сенсора формується за рахунок взаємодій, які відбуваються у об'ємі чутливого елемента, то не останню роль у визначенні динамічного діапазону відіграє розподіл між фазами, та процеси масопереносу.

### **1.2.2. Селективність - важлива характеристика сенсорів.**

Селективність вважають наріжним каменем аналітичної хімії оскільки дана характеристика аналітичної методики визначає межі її використання на практиці. Не оминуло це твердження і сенсори під селективністю яких слід розуміти здатність сенсора давати відгук на одну сполуку в присутності інших. Селективність проілюстрована на кривій відгуку у вигляді загинів динамічної області відгуку за присутності інтерферентів (див. рис. 1.2). Чим вища селективність сенсора, тим ширшою буде область відгуку у присутності надлишків супутніх сполук. Для покращення селективності використовують нанесення *селективних шарів*. Селективний шар сенсора повинен забезпечувати якнайширший інтервал визначуваних вмістів, і як найменшу межу виявлення. У ідеальному випадку, селективний шар ізолює чутливий елемент від інтерферентів і є проникним для аналіту, проте

досягнути такого результату на практиці вкрай важко, оскільки природа впливу супутніх речовин на сигнал часто не з'ясована.

Розрізняють два типи селективності – рівноважну та кінетичну. Обидва типи базуються на специфічній взаємодії аналіту із рецептором селективного шару. Додатковим типом селективності є селективність на фізичних явищах взаємодії молекул із електростатичним чи електромагнітним полем.

### ***Рівноважна селективність.***

Розглянемо типи хімічних взаємодій які залучені у утворенні зв'язків місць зв'язування з аналітом. Дані взаємодії представлені у таблиці у порядку спадання їх міцності. Рушійною силою взаємодії хімічних сполук з сенсором є зміна вільної енергії  $\Delta G$  яка визначається також і зміною у впорядкованості системи, тобто зміною ентропії  $\Delta S$ .

За сталої температури :

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (1.17)$$

чим вищою є зміна ентропії, тим більш негативною буде зміна вільної енергії і тим більш стабільною буде система.

Таблиця 1.4. Значення енергій утворення деяких типів хімічних зв'язків.

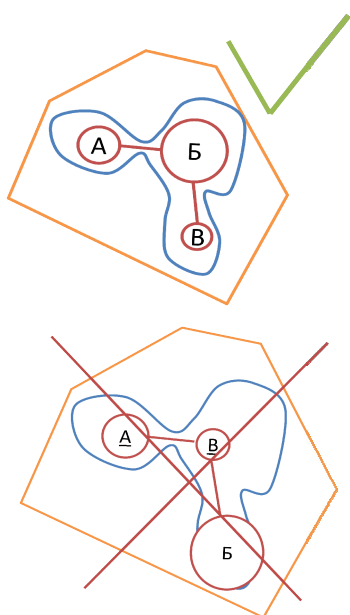
Тип взаємодії	Відстань взаємодії (нм)	Інтервал значень $\Delta H$ кДж/моль
Ковалентний зв'язок	0,08-0,2	50-200
Водневий зв'язок	0,1-0,3	20-150
Донорно – акцепторний зв'язок	0,1-0,3	50-150
Іон-іонний	$E = \frac{z_1 z_2}{Dr}$	90
Іон-дипольний	$E = \frac{z_1 \mu_2 \cos\theta}{Dr^2}$	2
Диполь-дипольний	$E = \frac{z_1 z_2}{Dr^3}$	2

Як можна побачити з таблиці 1.4, діелектрична стала  $D$  відіграє важливу роль у послабленні електростатичних взаємодій. Відстань між частинками  $r$  також сильно впливає на енергію їх взаємодії. У випадку донорно-акцепторного зв'язку, водневого зв'язку чи гідрофобних взаємодій довжина зв'язків має фіксовану величину в межах десятих нанометра. Слабкі електростатичні взаємодії відіграють основну роль у формуванні селективності типу “*lock-and-key*” (ключ-замок), так званого принципу розпізнавання форми.

### ***Селективність зумовлена геометрією молекул.***

Стереоспецифічність – є основним інструментом в процесах розпізнавання, відтворення, та обробки інформації у живих організмах оскільки існують мільйони хімічних сполук розпізнавання яких є життєво необхідним. Розглянемо місце зв'язування молекули А-Б-В на поверхні чутливого елемента сенсора яка представлена на рисунку 1.3. З точки зору зміни ентропії системи, молекули представлені в таблиці не зв'язані з поверхнею сенсора, мають більшу ступінь невпорядкованості, оскільки володіють вищим числом ступенів свободи. Тому умовою можливості використання даного сайту у сенсорі є зменшення ентальпії за рахунок утворення асоціативних зв'язків на такому енергетичному рівні який перевершить вклад ентропії  $T\Delta S$ . У природі ця стратегія має місце за рахунок використання водневих чи іонних зв'язків, а також комплексів з переносом заряду, у рецепторах гормонів чи антитіл, утворення яких супроводжується екзотермічними процесами. Здатність до таких взаємодій є надзвичайно розповсюдженою властивістю багатьох хімічних сполук, що не може бути використано для покращення селективності. Саме тому ключову роль починає грати геометрія молекул, тобто стереоселективність. Розглянемо потенційний аналіт у вигляді сфери  $\textcircled{A}$ . Вона має тільки один параметр який відповідає за геометричну конфігурацію – власний розмір. Тобто

Місце зв'язування





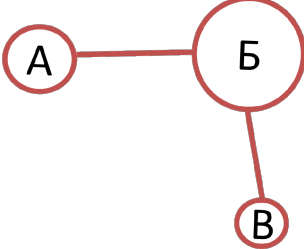

Складність молекули	Число ступенів свободи
	1
	3
	12

Рис. 1.3. Принцип

стереоселективності ключ-замок

сумісність сфери із сайтом зв'язування визначатиметься тільки її розміром, тому число ступенів свободи для такого аналіту буде рівне 1. Якщо ж молекула складається із 2 атомів , то місце зв'язування сенсора повинне відповідати розміру сфери А та сфери Б, а також відстані між ними. Таким чином число ступенів свободи зростає до 3. У випадку молекули із 3 атомів, число ступенів свободи зростає до 12: три для розміру сфер, два до відстаней між сферами, один для кута між зв'язками та два для порядку сполучення атомів А-Б-В або А-В-Б. Таким чином тільки одна конфігурація у взаємному розташуванні складових молекули буде відповідати сайту зв'язування. Під розміром сфери можна розуміти здатність атома чи частини молекули вступати в реакцію, тобто молекула повинна збігатись з сайтом зв'язування не тільки за формою, але і бути хімічно комплементарними. Наприклад гідрофобна частина молекули аналіту відповідає гідрофобній

частині рецептора, інакше частини молекули будуть відштовхуватися від місць зв'язування, що є додатковим фактором підвищення селективності.

Як ми пам'ятаємо згідно рівняння 1.17 збільшення ентропії сприяє утворенню зв'язку:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (1.17)$$

На рисунку 1.4 представлено умовну картину утворення зв'язків між аналітом та сайтом зв'язування сенсора S. Судячи із зображеного процесу а. який стосується взаємодії у вакуумі утворення зв'язків із S веде до упорядкування системи, оскільки з 2 частинок утворюється одна, що згідно рівняння 1.17 не сприяє його проходженню. Проте у біологічних середовищах, та у розчинах загалом, молекули розчинника відіграють не останню роль. Так, рис 1.4 (а) та (б) ілюструють взаємодію молекул розчинника із аналітом X та сенсором S. У процесі утворення зв'язків між ними частина молекул розчинника звільняється, що веде до збільшення ентропії, тому процес протікатиме самовільно.

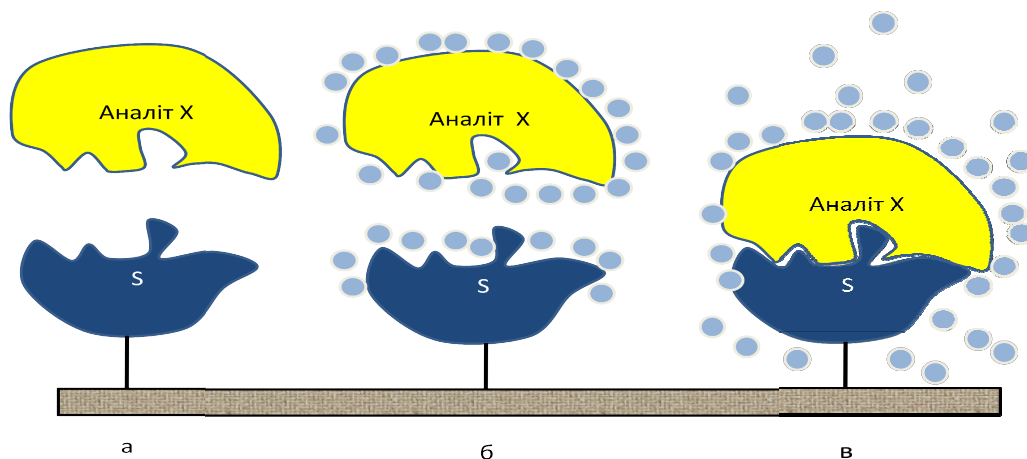


Рис. 1.4. Ілюстрація процесу збільшення ентропії системи за рахунок утворення зв'язку молекули аналіту з сайтом зв'язування на поверхні сенсора у вакуумі (а) та з врахуванням присутності розчинника (б.,в).

### ***Біоселективність.***

Специфічність місць зв'язування біологічного походження привела до виникнення окремого класу сенсорів – біосенсорів. Завдяки своїй

неординарній селективності біоліганди залишаються у колі інтересу багатьох науковців та біоінженерів. Нажаль, висока селективність має свою ціну, а саме високі значення енергій утворення зв'язків, що часто перевищують 100 кДж/моль. Це приводить до необхідності виконання додаткових операцій направлених на руйнування утвореного комплексу, що в свою чергу виносить такі системи за межі визначення поняття «сенсора», за рахунок їх необоротності. Біоліганди, що використовують у виробництві сенсорів таблиці 1.5. Розглянемо деякі з них більш детально.

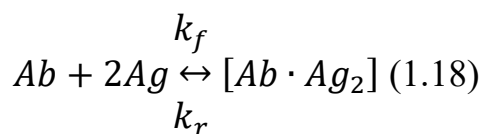
Таблиця 1.5. Біоліганди в біосенсорах.

Біоліганд	Використання
Антитіло/антиген	Імуноаналіз
Олігонуклеотиди	ДКК(РНК) біоаналіз
Аптамери	Біоаналіз
Ензими	Ензимні сенсори
Рецептори	Біоаналіз
Клітини та органи	Біоаналіз

**Імунохімічна селективність.** Селективність антитіл визначається стереоспецифічністю місць зв'язування з антигенною детермінантою (антиген, гаптен, епітоп). Антитіла відносяться до групи білків з молекулярною масою 100-900 кД, під загальною назвою імуноглобуліни. Антитіла добувають із плазми піддослідних тварин, шляхом введення в їх організм необхідного антигену. Після відгуку імунної системи тварини на антиген шляхом синтезу відповідних антитіл, останні виділяють з плазми та очищують до необхідного рівня. Валентність антитіла визначається числом антигенів, здатних до зв'язування з ним і найчастіше вона рівна 2. Пряма функція антигенів полягає у знешкодженні чужорідних протеїнів, нуклеїнових кислот чи вірусів, тому їх вважають високо селективними комплексуючими агентами, що відіграють ключову роль у захисній функції організму.



Рівновагу взаємодії антитіла (Ab–antibody) з антигеном (Ag- antigen) (не плутати з аргентумом!!!) зазвичай описують рівнянням:



Значення константи стійкості комплексу  $K$  залежить від молекулярної маси антигена. При  $M_r < 2500$  Д значення  $K < 10^4$  л·моль<sup>-1</sup> – слабке зв'язування, за молекулярної маси  $M_r > 6 \cdot 10^6$  Д зв'язування буде дуже міцним, а значення константи високим  $K > 10^9$  л·моль<sup>-1</sup>.

У фізіологічних умовах константа зв'язування  $[Ab \cdot Ag_2]$  лежить у межах  $10^5$ - $10^9$  л·моль<sup>-1</sup>, а швидкість прямої реакції зазвичай дуже висока, в той же час, швидкість дисоціації комплексу може бути різною (від  $10^{-4}$  с<sup>-1</sup> до  $10^3$  с<sup>-1</sup>) та визначається афінністю гаптена чи антигена до антитіла. Такий механізм забезпечує необхідне швидке зв'язування «потенційно чужих сполук» у комплекс, а вже саме розпізнавання «шкідливості» останніх відбувається з меншою швидкістю. Природа хімічних зв'язків, що виникають при взаємодії Ab-Ag має змішаний характер. Основний вклад вносять кулонівські взаємодії та сили Ван дер Ваальса. Важливу роль також відіграють молекули розчинника. Наявність води є передумовою утворення гідрофобних зв'язків, в свою чергу, вилучення молекул води із області утворення гідрофобного зв'язку призводить до зменшення локальної діелектричної проникності та як наслідок призводить до підвищення сили кулонівських взаємодій та взаємодій Ван дер Ваальса (див. таблицю 1.4).

При використанні імунохімічної реакції у сенсорі мають на увазі наступні параметри:

- при природній іонній силі рівновага 1.18 малочутлива до зміни рН у межах 6,5-8,5.
- Зниження рН нижче 2 та підвищення іонної сили вище 1 М призводить до дисоціації комплексу  $Ab \cdot Ag_2$ .
- Органічні розчинники впливають на міцність гідрофобних зв'язків.

- Присутність води як розчинника є обов'язковою умовою.

Проходження імунохімічної реакції з утворенням стійкого комплексу за участі вторинних зв'язків, що може призвести навіть до полімеризації первинного комплексу, призводить до необоротності процесу 1.18. В таких випадках деколи вдається досягнути дисоціації даного комплексу, але як правило за агресивних умов, що веде до процесу денатурації білка. Для цих цілей використовують речовини, що здатні руйнувати гідрофобний зв'язок :

- хаотропні агенти (KSCN, тетраоктиламонію хлорид, гуанідін гідрохлорид)
- іонні та неіонні ПАВ (додецилсульфат натрію, поліетиленгліколь)
- розчинники (етанол, ДМСО).

Також сполуки здатні руйнувати водневі зв'язки:

- 6-8 М розчин сечовини,
- пониження рН нижче 2.

Таким чином, незважаючи на високу селективність імунохімічної взаємодії, її використання у сенсорах досить проблематичне. Окрім хімічних властивостей самих молекул важливим обмеженням також є їх розмір. Молекули імуноглобуліну IgG великі за розміром, тому займають велику площу на поверхні сенсора і в той же час містять тільки одне місце зв'язування, що веде до низького значення густини сайтів зв'язування і як наслідок - вузької робочої області сенсора. З цих причин імунохімічну селективність частіше використовують у одноразових тест системах, а не в термодинамічно-оборотних сенсорах.

Метод отримання антитіл порівняно недорогий та універсальний, антитіла для будь-якого антигена. незалежно від складності структури чи хімічної природи, отримують за однією процедурою. Єдиним обмеженням є молекулярна маса антигена яка повинна перевищувати 2000 Д (Дальтон) оскільки антигени з меншою молекулярною масою (гаптени) не викликають імунну реакцію організму. Для отримання антитіл до гаптенів їх пришивають до високомолекулярного полімерного ланцюга (наприклад

поліетиленгліколь), чи білкових молекул (альбумін сироватки бика), що збільшує їх молекулярну масу і сприяє імунному відгуку організму.

### ***Селективність нуклеотидів.***

Селективність взаємодії молекул ДНК та РНК є мабуть найвищою з усіх біохімічних взаємодій. Унікальність цих взаємодій полягає в тому, що всі вони відбуваються за рахунок стереоспецифічного зв'язування між відповідними парами Аденін-Тимін ( $\Delta H = 20,1$  кДж/моль) та Цитозин-Гуанін ( $\Delta H = 57,5$  кДж/моль) через водневі зв'язки. Ентальпія є адитивною величиною, тому отримані зв'язки дуже міцні і знову виникає проблема необоротності процесу навіть для димеру. Енергія зв'язків настільки висока, що оборотність реакції відбувається при температурах близьких до точки топлення отриманих сполук.

Олігонуклеотиди використовують як рецептори при визначенні комплементарних макромолекулярних сполук з використанням процесу *гібридизації*. Ідеальний збіг послідовності нуклеотидів молекули аналіту з нуклеотидами рецепторної молекули призводить до утворення міцного комплексу у формі подвійної спіралі (дуплекс). Найменша несумісність молекул значно впливає на стійкість комплексу та форму отриманої спіралі. Добре підібрана сенсорна молекула довжиною у 25 нуклеотидів здатна специфічно розпізнавати полінуклеотид значно більший за розміром. Процес гібридизації фіксують за допомогою зміни фізичних параметрів, як наприклад зміна маси, чи оптичних властивостей поверхні, що використовують для трансдукції сигналу. Для непрямого перетворення сигналу використовують молекули з флуоресцентними мітками чи електрохімічно активними замісниками.

Окрім комплементарних макросполук, з полінуклеотидами вступають у взаємодію і малі за розміром молекули, які утворюють стійкі аддукти з утворенням нековалентних зв'язків. Цей процес порушує основну функцію молекул ДНК - як носія генетичної інформації, тому його використовують при лікуванні карцею та вірусних інфекціях. Дану властивість використано

для розпізнавання ненуклеотидних сполук у хімічних сенсорах. Утворення сполук аналітів з молекулами ДНК - *інтеркаляція* – відбувається за участю молекул певного розміру та хімічної структури яка дозволяє проникати у середину спіралі ДНК молекули. Оптимальними умовами для інтеркаляції є планарна будова з поліциклічними фрагментами, які несуть позитивний заряд, наприклад молекула катіону профлавіну (див. рис. 1.5). В результаті інтеркаляції спіраль ДНК розтягується та деформується. Інтеркаляцію використовують при розробці сенсорів для визначення мутагенів та лікарських препаратів.

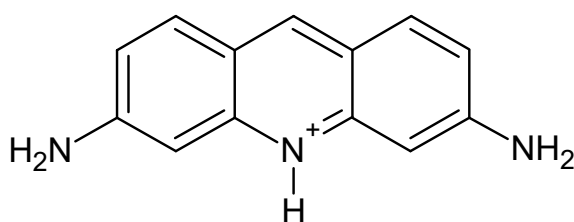


Рис. 1.5. Катіон профлавіну

### ***Аптамери.***

Аптамери – синтетичні нуклеїнові кислоти, що володіють селективною спорідненістю (афінністю) до окремих малих молекул. Назва даного класу сполук походить від латинського *aptus* – «відповідний» та грецького *meros* – «частина». Дані сполуки активно досліджувались у напрямку їх лікувальних властивостей, а виняткова специфічність до зв'язування певних молекул знаходить використання у сенсорних системах. Дизайн аптамерів проводять з допомогою автоматичної комбінаторної процедури *систематичної еволюції лігандів експоненціальним збагаченням* (SELEX). Процес починають з синтезу бібліотеки олігонуклеотидів, що складаються із випадково впорядкованих частин певної довжини. Далі кожну послідовність нуклеотидів тестують на утворення комплексу із цільовою молекулою. Послідовності, що утворюють комплекси відокремлюють для подальшої стадії відбору з використанням більш строгого критерію, аж до отримання найбільш ефективного олігонуклеотиду.

У афінних сенсорах аптамери функціонують подібно до антитіл, проте у порівнянні з останніми володіють рядом переваг. Так, їх отримують синтетично, що значно зменшує їх вартість, володіють кращою стабільністю та можуть бути модифікованими та іммобілізованими на підкладку трансдюсера. Після процесу розпізнавання аптамери легко регенеруються без втрати чутливості та селективності.

### **Молекулярний друк у полімері.**

Ідея молекулярного штампування (вдруковування, *inprinting*) не нова, та була відома з 50-х років минулого століття і стосувалася виготовлення селективних сорбентів для хроматографічного розділення хіральних ізомерів. Процес вдруковування полягає у отриманні на поверхні полімеру «відбитка» молекули цільового аналіту. Після вилучення молекули із полімеру, залишається стереоспецифічне місце. Розрізняють ковалентне та не ковалентне молекулярне вдруковування. У першому випадку молекулу темплата (цільового аналіту) модифікують мономером з утворенням ковалентного зв'язку і далі співполімеризують із чистим мономером. З використанням реагентів ковалентний зв'язок руйнують, а залишки темплата екстрагують пороутворюючим розчинником. У другому – полімеризацію проводять у присутності темплата, який координує навколо себе молекули мономера без утворення ковалентного зв'язку (див. рис. 1.6).

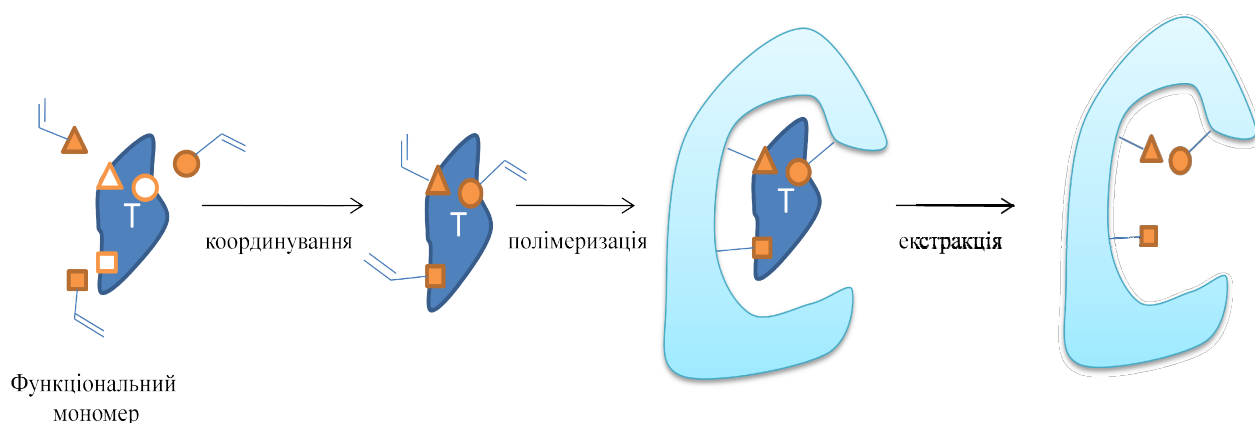


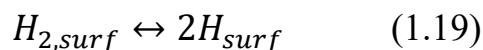
Рис. 1.6. Принцип молекулярного вдруковування.

Шляхом підбору мономерів отримують місця зв'язування із гідрофобними, гідрофільними групами чи групами здатними до утворення водневих зв'язків.

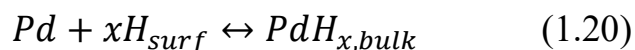
Техніку молекулярного вдруковування використовують до широкого спектру молекул аналітів серед яких є як малі за розміром молекули (пестициди, фармпрепарати, амінокислоти та пептиди, цукри) так і макромолекули білків. Дані мембрани можуть бути отримані безпосередньо на поверхні трансдюсера, що зручно з точки зору їх виробництва.

### ***Селективність розчинності у неорганічних матеріалах.***

Відомо, що деякі гази здатні розчинятися у твердих матеріалах, що визначається відповідними коефіцієнтами розподілу. Прикладом є розчинність молекулярного водню у металічному Палладії за механізмом переносу заряду. На поверхні металу молекулярний водень дисоціює з утворенням атомарного водню:



Далі атомарний гідроген дифундує у об'єм металу з утворенням гідридів Палладію:



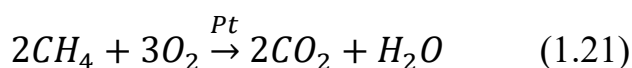
Реакція 1.20 є оборотною, але у присутності кисню на поверхні відбувається горіння водню із утворенням води, що призводить до зсування рівноваги. Даний підхід використовують для виготовлення сенсорів водню.

У високотемпературних іонних провідниках селективність до газів визначаються фазовими переходами (рівновагами). Розчинність газів у таких матеріалах визначається розмірами молекул газу та параметрами ґратки. Прикладом є розчинність кисню у діоксиді цирконію.  $ZrO_2$  допований Ітрієм проявляє проникність до аніонів  $O^-$ , що використовують у газових сенсорах. Подібні матеріали є цікавими для сенсорних технологій за рахунок селективності визначеної розчинністю з одної сторони, та з другої сторони, невпинним їх дослідженням як матеріалу у виробництві паливних елементів (для електричних двигунів на водні). Високі температури функціонування

таких сенсорі дозволяють отримати швидкий відгук до аналіту та усунути негативний вплив вологи.

### ***Кінетична селективність.***

Даний тип селективності може бути застосований для сенсорів які працюють у безперервному режимі встановленої рівноваги. Кінетичну селективність використовують переважно для амперометричних рідше для потенціометричних сенсорів. Основною умовою використання кінетичної селективності є різниця у швидкостях протікання хімічної реакції покладеної у принцип роботи сенсора за участю аналіту та інтерферентів. Такий ефект може бути викликаний використанням каталізатора, який селективно пришвидшує одну із паралельних хімічних реакцій. Прикладом може служити використання платини для пришвидшення реакції горіння метану:



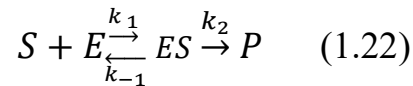
Процес окислення вищих вуглеводнів пришвидшується платиною у меншій мірі, за рахунок чого, тепловий ефект який спостерігають зумовлений згорянням метану, а вклад інших компонентів газової суміші незначний, що покладено в основу функціонування термічного сенсору метану – пеллістора.

Серед ***біокаталізаторів*** найбільш поширеним є глюкооксидаза - ензим який високоселективно пришвидшує реакцію окислення D-глюкози до глюконової кислоти. В зв'язку із особливостями протікання реакцій у присутності ензимів, їх кінетику слід розглянути детальніше.

***Ензими*** – це природні сполуки основною функцією яких є контроль швидкості біохімічних реакцій у живих організмах. Вони є білковими молекулами – каталізаторами та володіють двома основними характеристиками: 1- висока селективність до певного субстрату, 2- висока ефективність прискорення певних реакцій.

Таким чином, використання ензимів у сенсорах поєднує в собі процеси розпізнавання аналіту та підсилення сигналу. Протікання пришвидшених ензимами реакцій описує загальний механізм Мехаеліса-Ментен, який

передбачає взаємодію ензима (E) з субстратом (S) з утворенням продукту (P) через інтермедіат (ES):



Швидкість реакції (1.22) можна виражають як зміну концентрації продукту P в часі:

$$v = \frac{dC_P}{dt} = k_2 C_{ES} \quad (1.23)$$

За умови високої концентрації субстрату, швидкість реакції досягає свого максимуму оскільки всі молекули ензиму зв'язані у комплекс, тому:

$$v_{max} = k_2 C_{E_{зар}} \quad (1.24)$$

Тобто, максимальна швидкість реакції за умови надлишку субстрату пропорційна *концентрації ензиму*. До моменту встановлення рівноваги реакції 1.22 ензим у системі присутній у вільній формі та у формі комплексу:

$$C_{E_{зар}} = C_E + C_{ES} \quad (1.25)$$

У стані рівноваги концентрація комплексу ES залишається сталою.

$$\frac{dC_P}{dt} = k_1 C_S C_E - (k_{-1} + k_2) C_{ES} = 0 \quad (1.26)$$

Константа Міхаеліса-Ментен виражається як :

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = \frac{C_S C_E}{C_{SE}} \quad (1.27)$$

Заміна для  $C_E$  із рівняння 1.25 веде до запису константи Мехаеліса-Ментен:

$$K_m = \frac{C_S(C_{E_{зар}} - C_{SE})}{C_{SE}} \quad (1.28)$$

Або через швидкості реакції

$$K_m = \frac{C_S(v_{max} - v)}{v} \quad (1.29)$$

Перегрупування останнього виразу дозволяє отримати рівняння Мехаеліса-Ментен:

$$v = \frac{v_{max} C_S}{C_S + K_m} \quad (1.30)$$

Значення константи Мехаеліса-Ментен відповідає концентрації субстрату при якій швидкість реакції буде рівна половині її максимального



значення. Вона є важливим параметром, що описує реакційну здатність ензиму та є мірою його активності. Окрім опису кінетичних процесів, дана константа описує стійкість утвореного комплексу ензиму з субстратом. Чим менше числове значення константи тим міцнішим є утворений зв'язок.

Виняткова селективність реакцій за участю ензимів спричинена не тільки кінетичним фактором, але і винятковою стерео-специфічністю. У структурі білкових молекул ензиму є місця зв'язування в області яких відбувається пониження енергії активації реакції за рахунок відповідного просторового орієнтування реагуючих сполук. Слід зауважити, що ензими, як і інші протеїни, вступають у протолітичні взаємодії. Їх реакційна здатність залежить від рН середовища. Тому у рівняння Мехеліса-Ментен вводять функцію залежності  $K_m$  від рН. Окрім концентрації протонів, інші сполуки теж впливають на перебіг реакції, через процес інгібування (сповільнення швидкості реакції). Інгібування може бути специфічним, неспецифічним, оборотним та необоротним. Даний ефект використовують у розробці сенсорів, наприклад сенсорів бойових отруюючих речовин нервово-паралітичного характеру, принцип дії яких заснований на інгібуванні процесів гідролізу ацетилхоліну, що регулюється ацетилхолінестеразою.

#### ***Питання для самоконтролю:***

- Перерахуйте основні метрологічні та експлуатаційні характеристики сенсорів.
- Який зміст покладено у таку характеристику сенсора як Жорсткість, стійкість?
- Чому обов'язковою умовою для віднесення пристрою до сенсорів є реверсивність (оборотність)?
- Що таке відгук? Яку інформацію несе в собі відгук?
- Що може бути використано як джерело інформації при отриманні відгуку?
- Що таке аналітична інформація? Що таке хімічна інформація?

- Зобразіть загальну криву відгуку сенсора, та поясніть причини виникнення певних ділянок на ній.
- Що таке динамічна область сенсора?
- Що таке область насичення сенсора на кривій відгуку? Від чого вона залежить?
- Які параметри впливають на ширину динамічної області сенсора?
- Що таке коефіцієнт селективності? Як його визначають на практиці?
- Селективність - основна характеристика методик та сенсорів зокрема. Чому це твердження вірне?
- Які функції селективного шару сенсора?
- Яка різниця між кінетичним та рівноважним типом селективності?
- Який принцип стерео селективності?
- Яка роль молекул розчинника у протіканні самовільних процесів?
- Які типи біоселективності вам відомі?
- Які основні переваги та недоліки використання біоселективності в сенсорах?
- Які взаємодії є першопричиною протікання реакцій з біомолекулами?
- Яким чином регенерують поверхню сенсора на основі антитіл?
- Чим зумовлена специфічність нуклеотидів як рецепторних молекул?
- Що може служити сигналом у ДНК сенсорах?
- Які переваги використання аптамерів замість антитіл у сенсорах?
- Поясніть принцип молекулярного віддруковування.
- Яке інформаційне навантаження несе константа Міхаеліса-Ментен?
- Які переваги використання ензимів у сенсорах? Чим забезпечується селективність цих реагентів?

**Список використаної та рекомендованої літератури:**

1. Janata, J. (2010). *Principles of chemical sensors*. Springer Science & Business Media.
2. Banica, F. G. (2012). *Chemical sensors and biosensors: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.
3. Liu, J., Cao, Z., & Lu, Y. (2009). Functional nucleic acid sensors. *Chemical reviews*, 109(5), 1948-1998.
4. Wang, Joseph. "Survey and summary: from DNA biosensors to gene chips." *Nucleic acids research* 28.16 (2000): 3011-3016.
5. Caruana, D. J. (2004). Hybridization at oligonucleotide sensitive. *Biosensors*, (268), 19.
6. Song, S., Wang, L., Li, J., Fan, C., & Zhao, J. (2008). Aptamer-based biosensors. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 27(2), 108-117.
7. Haupt, K., Linares, A. V., Bompert, M., & Bui, B. T. S. (2011). Molecularly imprinted polymers. *Molecular imprinting*, 1-28.

## 2. МЕТОДИ ВИГОТОВЛЕННЯ СЕНСОРІВ

Вибір селективного шару та метод його виготовлення в основному залежить від типу використаного трансдюсера, а також сфери майбутнього використання сенсора. За винятком ензимних сенсорів, селективний шар є тонким і його товщина складає декілька мікрметрів. Для виготовлення чутливих шарів з використанням розчинів найчастіше використовують спінування (spin-coating). Процес полягає у нанесенні розчину на підкладку яка обертається з певною швидкістю. Крапля розчину під дією відцентрових сил розтікається по поверхні і утворює однорідної товщини шар. Даний підхід зручний з точки зору відтворюваності отриманого шару. При отриманні шарів із розчину беруть до уваги швидкість випаровування розчинника, оскільки вона впливає на пористість та густину отриманої плівки. Поширеними також є чисто фізичні методи отримання шарів такі як напилення, випаровування під електронним пучком, плазмове напилення. Для виготовлення сенсорних матриць використовують фотополімеризацію та лазерне напилення. Перед проведенням процесу нанесення чутливого шару поверхню слід підготувати відповідним чином, щоб отримане покриття було міцним. На першому етапі як правило проводять хімічну підготовку з метою видалення залишків «бруду». Для очистки часто користуються кисневою плазмою, «царською водкою», сумішшю  $\text{H}_2\text{O}_2$ - $\text{H}_2\text{SO}_4$  («розчин піранья»).

На другому етапі підвищують адгезію очищеного покриття. Наприклад, для оксидних поверхонь використовують силанізацію, яка відбувається за рахунок проходження реакції конденсації з участю гідроксильних груп поверхні та відповідного силану.

Отже, виготовлення сенсора це процес інтегрування трансдюсера з чутливим елементом, що містить рецепторні групи і полягає у іммобілізації рецептора на поверхню трансдюсера.

У результаті цієї операції сенсор повинен мати наступні характеристики:

- Чутливий шар рецептора має бути легко доступним для молекул аналіту.
- Сенсор та матеріали використані в ньому повинні відповідати вимогам екологічної безпеки та біосумісності.
- Процес виготовлення сенсора повинен бути простим та доступним для масового виробництва.
- Характеристики сенсора мають бути постійними протягом деякого часу в умовах його використання та зберігання.

Найбільш розвиненими способами інтегрування селективного шару на поверхню трансдюсера є (див. рис. 2.1. а.-д):

- Утворення моношарів шляхом фізичної адсорбції на поверхні (а).
- Утворення шарів за рахунок ковалентного зв'язування (б).
- Зшивання білкових молекул (в).
- Захват полімерною сіткою (г).
- Інкапсуляція у бульбашки (везикули) (д).

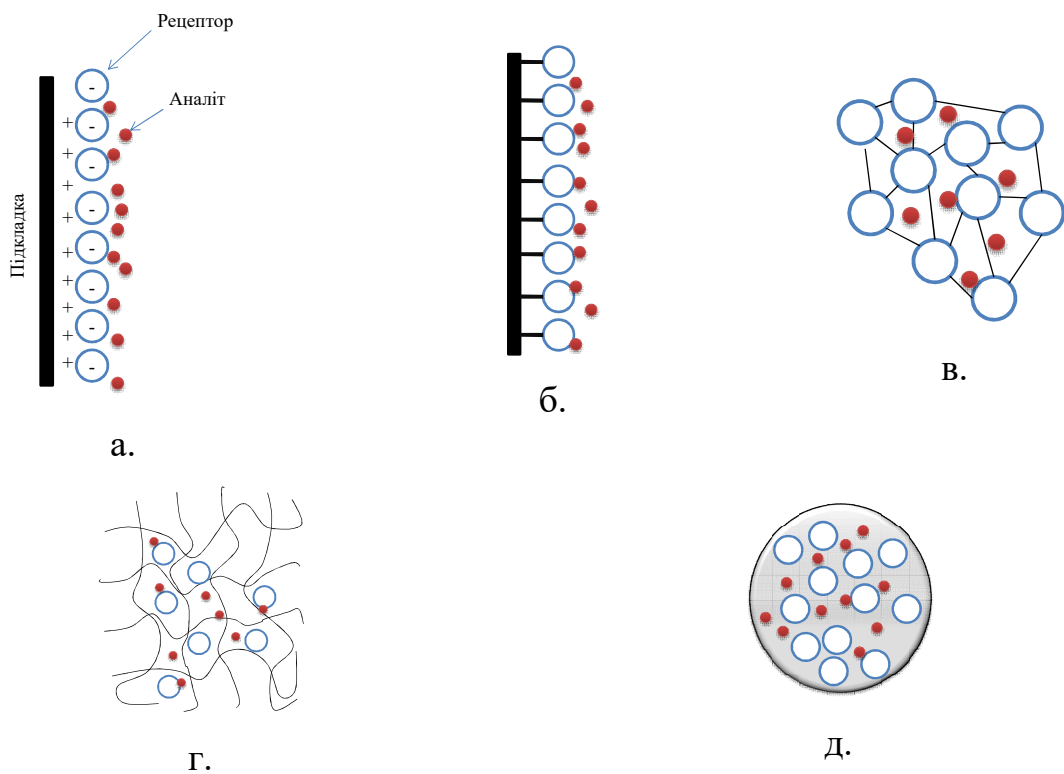


Рис. 2.1. Способи модифікації поверхні трансдюсера та зв'язування молекул рецептора

## 2.1 Створення селективних шарів.

Розглянемо методи отримання селективних шарів з використанням біомолекул в якості рецепторів. Описані нижче підходи також придатні і для модифікації поверхні молекулами нуклеїнових кислот та інших рецепторів, у склад яких входять відповідні реакційні групи.

*Нековалентне зв'язування на тверді поверхні.* Імобілізація біомолекул шляхом адсорбції відбувається за рахунок гідروفобних взаємодій, виникнення водневих зв'язків та електростатичних взаємодій. Реалізується нековалентне зв'язування довготривалим контактом підкладки із розчином адсорбата. Як правило, адсорбція протеїнів описується ізотермою Ленгмюра у моль/м<sup>2</sup>:

$$\Gamma = \Gamma_{max} \frac{K_C}{1+K_C} \quad (2.1)$$

де  $\Gamma_{max}$  - максимально можлива концентрація адсорбованої речовини,  $K$ -константа рівноваги процесу адсорбції.

Адсорбцію переважно використовують для попередніх досліджень та для виготовлення одноразових сенсорів, що контактують із пробою впродовж короткого періоду часу. Найбільш поширеними матеріалами на які наносять біомолекули методами адсорбції є кремній, ацетат целюлози, активоване вугілля та синтетичні полімери ПВХ чи полістирен. Також як матеріали підкладки використовують іонообмінні смоли та іонообмінники - пористі композити із пришитими зарядженими замісниками здатними утримувати білкові молекули протилежного заряду. Недоліком такого підходу є негативний вплив іонної сили розчину на силу електростатичних взаємодій за рахунок екранування заряджених груп.

*Ковалентне зв'язування.* Шляхом ковалентного зв'язування отримують стійкий та стабільний чутливий шар, що є основною перевагою даного підходу, єдиним обмеженням можна вважати високу вартість використаних реактивів та довготривалість процесу. У біосенсорах найчастіше

використовують процес біоконюгації молекул M1 та M2, де M1 це макромолекула білка, а M2 це мала за розміром молекула (наприклад люмінесцентна мітка) чи реакційна група на поверхні підкладки трансдюсера або наночастинки. Найбільш поширеними групами у біоконюгації є гідроксильна, амінна, карбоксильна та сульфгідрильна. Утворений ковалентний зв'язок не повинен бути близько розташованим до рецепторної частини біомолекули, щоб не впливати на її активність. Якщо кон'югацію не вдається провести напряду то використовують двостадійний процес з використанням спеціальних реагентів *зшивачів (crosslinkers)*.

*Зшивачі нульової довжини.* Молекули «зшивають» з утворенням ковалентного зв'язку довжиною у 2 атоми проведенням реакції конденсації. Наприклад кон'югацію карбоксильної та амінної груп проводять з використанням зшивачів із класу карбодимідів (RN=C=NR). Типовими представниками є EDC та DCC (1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодимід гідрохлорид та дициклогексилкарбодимід). На рис. 2.2 приведено схему реакції зшивання молекул M1 та M2 з використанням даних реагентів. На першій стадії карбодимід реагує із карбоксильною групою M1 з утворенням інтермедіату, який далі вступає в реакцію з аміном M2 з утворенням амідного зв'язку.

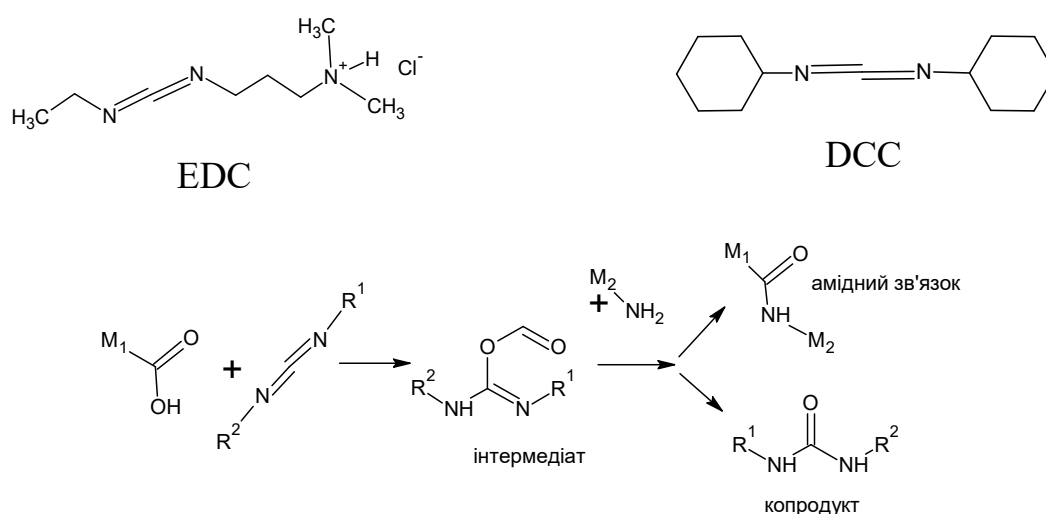


Рис. 2.2. Зшивачі нульової довжини та схема утворення зв'язку з використанням карбодимідів.

*Біфункціональні зшивачі (Bifunctional crosslinkers)*. Це молекули які містять дві реакційні групи розділені вуглецевим скелетом певної довжини. Наявність деякої відстані між реакційними групами дуже важлива у випадку модифікації твердої поверхні трансдюсера. Пришита таким чином молекула володіє певною просторовою рухливістю, що пришвидшує реакцію розпізнавання аналіту а також запобігає небажаним взаємодіям трансдюсера з супутніми компонентами проби. Виділяють *гомобіфункціональні* крослінкери які містять однакові функціональні групи на кінцях молекули, та відповідно *гетеробіфункціональні* крослінкери. Такі які містять різні функціональні групи в одній молекулі.

Глютаральдегід (див. рис. 2.3) широко використовують для пришивання білкових молекул, особливо ензимів, за рахунок реакції з аміногрупами амінокислот, наприклад лізину.

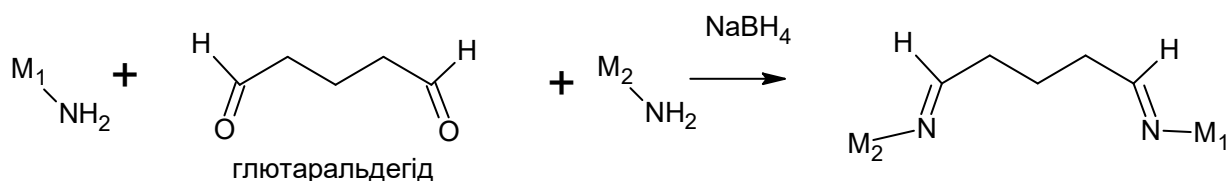


Рис. 2.3. Схема зшивання макромолекул з використанням глютаральдегіду.

Глютаральдегід використовують також для пришивання макромолекул до поверхні трансдюсера на якій присутні аміногрупи.

Гомобіфункціональні гідразини, наприклад дигідразид адипінової кислоти (ADH), використовують для пришивання молекул до складу яких входять карбонільні чи карбоксильні групи. Такі реагенти легко вступають у взаємодію з альдегідами з утворенням гідразонів (див. рис. 2.4).

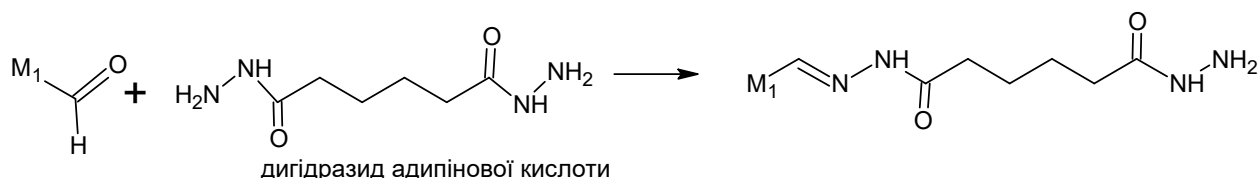


Рис. 2.4. Схема утворення гідразону з дигідразидом адипінової кислоти (ADH).



Дану реакцію використовують для пришивання аміногрупи до полісахаридів, наприклад декстрину, після його окислення для отримання альдегідних груп.

Гомобіфункціональний карбонілдімідазол CDI використовують як зшивач нульової довжини при сполученні гідроксильних та карбоксильних похідних макромолекул з амінами (див. рис. 2.5).

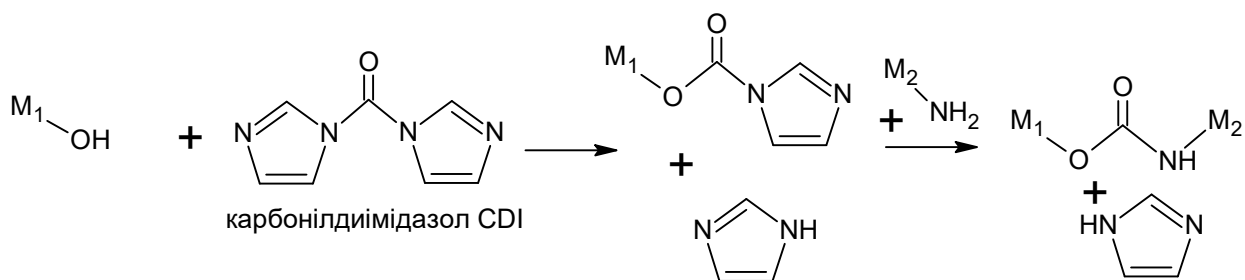


Рис. 2.5. Схема зшивання гідроксильної похідної макромолекули з використанням карбонілдімідазолу.

Представником гетеробіфункціональних крослінкерів є сукцинімідил-4-(N-малеїдометил-циклогексан-карбоксилат) (SMCC). Молекула SMCC містить дві функціональні групи, а саме N – гідрокисукцинімідну та малеїмідну (див. рис. 2.6). Перша реагує з первинним аміном з утворенням активного інтермедіату який далі вступає в реакцію із тиолом через малеїмідний фрагмент. Оскільки антитіла містять велику кількість тиольних груп, цей метод часто використовують для пришивання антитіл з ензимними мітками.

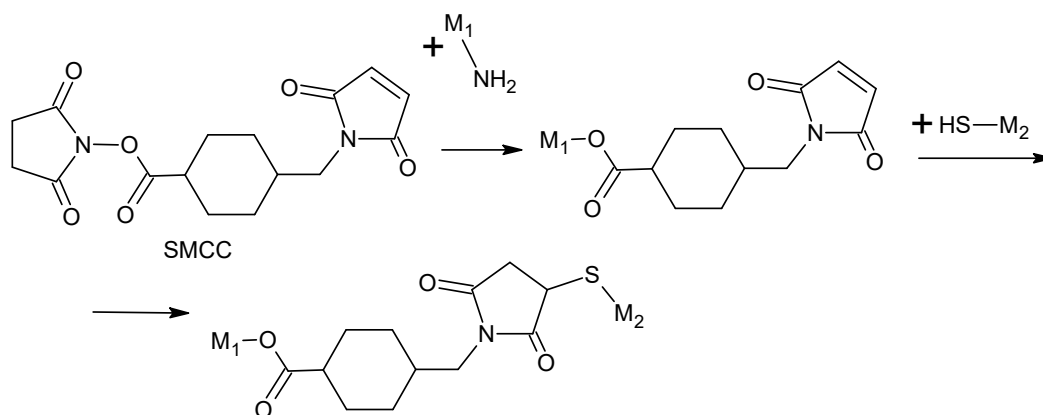


Рис. 2.6. Схема зшивання аміно- та тіопохідних макромолекул з допомогою гетеробіфункціонального крослінкера SMCC.

Імобілізація хімічних та біохімічних сполук на поверхню неорганічних матеріалів є актуальною проблемою біотехнології. Пришивання біомолекул з використанням реакцій біоконюгації проводять напряду, якщо на поверхні присутні реакційні центри, або ж опосередковано після її активації. Можливість модифікації поверхні залежить від її природи та властивостей. Так, поверхня трансдюсера може мати пористу структуру, що надає ряд переваг, за рахунок збільшеної площі контакту та виконання ролі дифузійного бар'єру. Серед пористих матеріалів окремої уваги заслуговує використання гідрогелів, як матриці чутливого елемента, завдяки можливості проведення імобілізації шляхом захоплення біомолекул у полімерну сітку чи ковалентною співполімеризацією. Важливою характеристикою твердих підкладок є їх змочуваність, що є здатністю рідини зберігати контакт із поверхнею. Відносно води поверхня може володіти гідрофільністю, за умов наявності на ній полярних функціональних груп, чи гідрофобною при умові їх відсутності.

## **2.2. Методи модифікації матриці та матеріалу підкладок трансдюсера**

Розглянемо матеріали які використовують у виробництві чутливих шарів сенсорів з використанням біологічних молекул. До них відносять полімери біологічного та синтетичного походження, а також неорганічні матеріали на основі оксидів металів, модифікацій вуглецю та благородних металів.

Полісахариди та білки це два типи біополімерів які широко використовують для імобілізації ензимів на поверхню трансдюсерів. Дані біополімери характеризуються гідрофільністю та біосумісністю. Їх використовують у формі гелів:

*Целюлоза* – придатна для імобілізації протеїнів, але оскільки піддається мікробному розкладу мало поширена на практиці.

*Декстран* – лінійний водорозчинний полісахарид, що перетворюється у нерозчинний пористий гель у процесі зшивання. Добре підходить для забезпечення селективності шляхом регулювання розміру пор. Комерційна назва декстрину *Sephadex*.

*Хітозан* - отримують із *хітину*. Полісахарид містить велику кількість аміногруп. Для отримання чутливого шару хітозан у розчинній формі змішують з розчином протеїну, а далі проводять зшивання з використанням глютаральдегіду в наслідок чого отримують стійкий гель.

*Альгінатний гель* – утворюється у присутності іонів кальцію, стабільний при рН 5-10.

*Карагени* – екстраговані із червоних водоростей полісахариди. Містять ланки галактози частково естерифіковані сульфатом. Гелі стійкі при рН>4,5 та витримують термічну стерилізацію, але нестабільні у присутності іонів  $\text{Na}^+$ . Основною перевагою полісахаридів морських водоростей вважають наявність здатних до іонізації груп  $-\text{COO}^-$ ,  $-\text{SO}_3^-$  та  $-\text{NH}_3^+$ . Завдяки цьому гелеутворення проходить під дією багатозарядних катіонів металів – так зване *монотропне гелеутворення*. Таким чином протеїн захоплюють у сітку гелю, якщо він був присутнім у маточному розчині до моменту додавання до нього розчину катіонів.

Серед протеїнових матеріалів для отримання чутливого шару найбільшого поширення отримали *колаген* та *желатин*.

*Колаген* – білок сполучної тканини у вищих хребетних. Гідрофільний, нерозчинний у воді та містить велику кількість місць зв'язування. Його волокниста структура та здатність до набухання робить його придатним матеріалом для іммобілізації ензимів різними методами.

*Желатин* – суміш пептидів та протеїнів отримана шляхом часткового гідролізу колагену. Желатин утворює гель при охолодженні розчину до 40 °С, що зручно з точки зору іммобілізації ензимів, оскільки така температура не зменшує їх активність. Стабільність гелю досить низька, тому потребує операцій додаткового зшивання.

Синтетичні полімерні матеріали надають широкі можливості іммобілізації біомолекул завдяки регулюванню їх фізичних та хімічних властивостей та стійкості до дії мікроорганізмів. Полімери для отримання підкладок поділяють на *активні* та *пасивні* полімери. Активні полімери можна модифікувати напрямую за рахунок існування в їхньому ланцюгу активних груп, а пасивні необхідно попередньо активувати. Одним з найпоширеніших синтетичних полімерів у сенсорах є *полістирен*. Бензенове кільце полістирену нітрують з отриманням амінопохідних, які далі активують реакцією діазотування. Для зменшення гідрофобності полістирену його отримують шляхом співполімеризації з гідрофільними мономерами, наприклад акрилової кислоти. Це поширений та дешевий полімер який після функціоналізації містить високу концентрацію активних груп. *Акрилові полімери* доступні у різних формах, кожна з яких містить певні специфічні реакційні групи: карбоксильну, ангідридну, амідну, гідроксильну, нітрильну чи епоксидну. Поліакрилати та поліметакрилати за рахунок карбоксильної групи в їх структурі утворюють негативно заряджену полімерну матрицю. *Поліакриламід* використовують як в якості матриці для гелю, так і для підкладки для ковалентного зв'язування. Лінійні поліакриламідні є водорозчинними тому для утворення гелю використовують відповідні зшивачі.

*Поліаміди*, або *нейлони*, кополімери дикарбоксильних кислот із діамінами. Поліаміди доступні у формі мембран, синтетичних волокон чи порошку. Цей матеріал володіє високою фізичною міцністю, біологічною стійкістю та гідрофільністю. Для активації нейлонів їх піддають м'якій частковій деполімеризації з утворенням карбокси- та аміногруп на їх поверхні.

Активні полімери, що здатні до модифікації молекулами біологічного походження, як правило містять у своєму складі ангідридну чи епоксидну групи. Епоксидна група – це гетероцикл який під дією кислоти гідролізує до

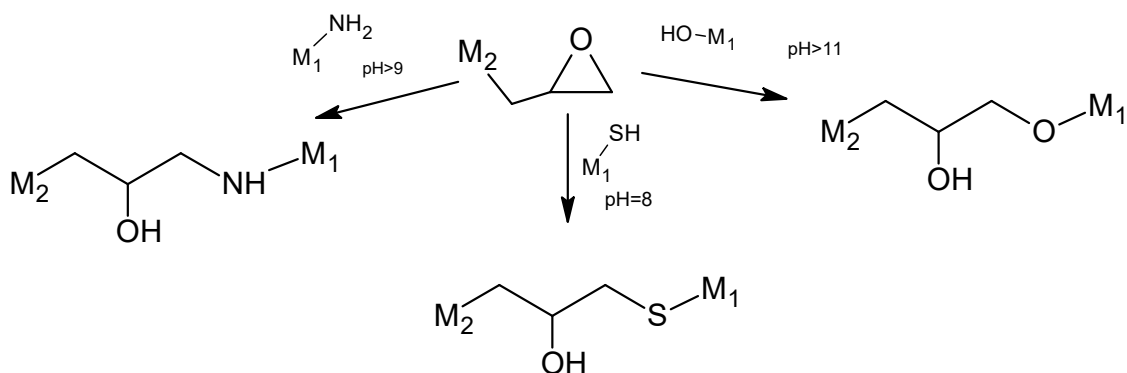


Рис. 2.7. Схема модифікації поверхні активного полімеру  $M_2$  що містить епоксидну групу з різними нуклеофілами біомолекули  $M_1$  гліколю. Епоксидна група з високим виходом реагує з нуклеофілами з розривом циклу (див. рис. 2.7).

Полікарбонати, що містять ангідридну групу модифікують молекулами протеїну через аміногрупи. Ізоціанатна група на поверхні полімеру легко реагує з аміногрупою з утворенням уреатного зв'язку (див. рис. 2.8). Подібним чином поводить себе і ізотіоціанатна група. Галогеновані полімери модифікують з використанням реакції галогену з первинними амінами з утворенням зв'язку через вторинний амін.

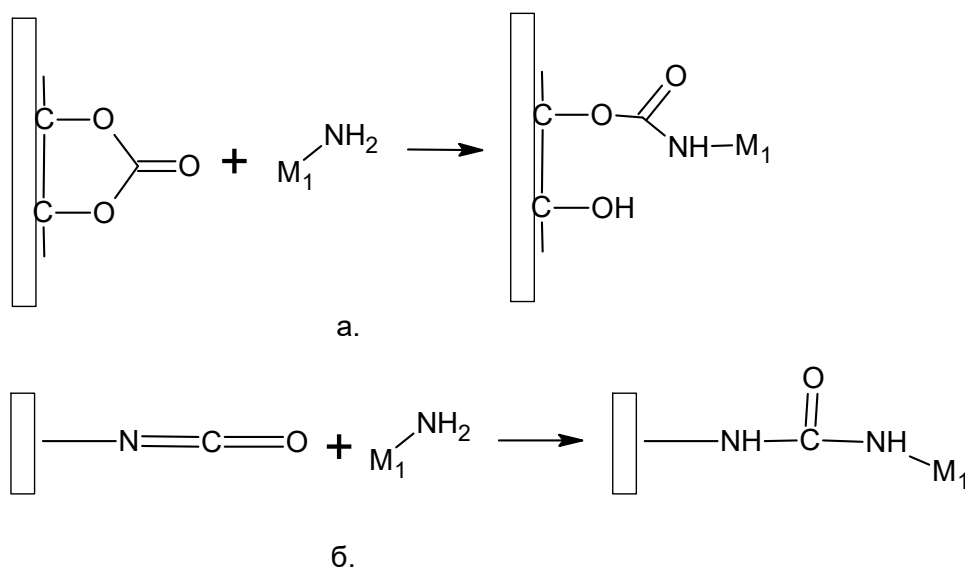


Рис. 2.8 Модифікація полімерів на поверхні яких присутні ангідридна (а) чи ізоціанатна (б) групи.

У скелеті неактивних полімерів як правило присутні аміно-, гідрокси-, та карбокси- групи, а зв'язування з такими матеріалами потребує попередньої активізації.

*Аміногрупа* – може бути присутня на поверхні сирого полімеру або отримана шляхом хімічних перетворень інших груп. Аміногрупу активізують реакцією діазотування, або з використанням глутаральдегіду як крослінкера.

Віцинальні *гідроксильні групи* характерні для полісахаридів та полівінілового спирту. Під дією перйодату гідроксильна група окислюються до альдегідної, що використовують для пришивання біомолекули через дигідрозид адипінової кислоти (див. рис. 2.4).

Розділені *гідроксильні групи*, що зустрічаються наприклад у синтетичних поліолах (поліетиленгліколь) активують з використанням карбонілдіімідазолу (CDI) чи трихлоротриазину (див. рис. 2.9)

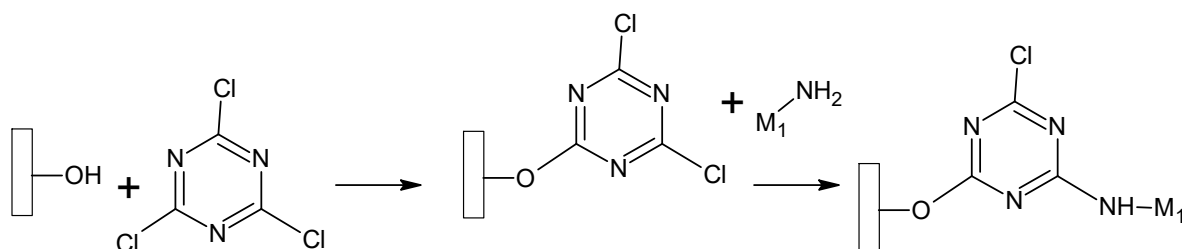


Рис. 2.9. Схема модифікації поверхні з розділеними гідроксильні групи трихлоротриaziном.

Для активізації *карбоксильної групи* використовують реакцію з карбодіімідом (CDI), та тіонілхлоридом (див. рис. 2.10).

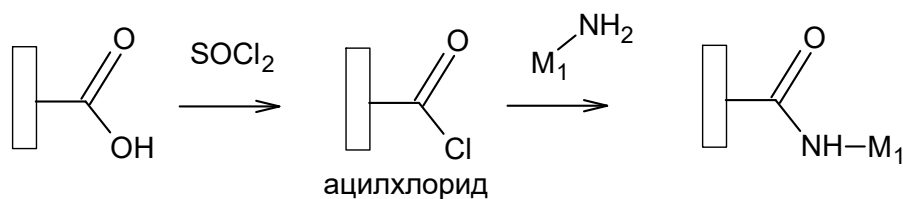


Рис. 2.10. Схема активації карбоксильної групи полімера з використанням тіонілхлориду та утворенням амідного зв'язку.

*Амідну групу* присутню у поліакриламіді та поліамідах нейлону активують гідрaziном, з утворенням ацилазиду та подальшим зв'язуванням із аміногрупою макромолекули (див. рис. 2.11).

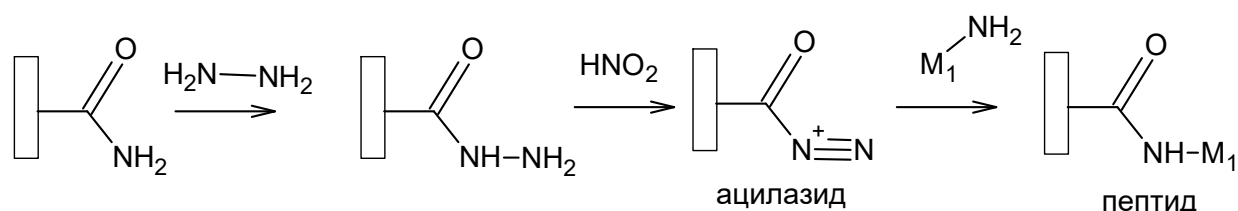


Рис. 2.11. Схема активації аміногрупи з використанням гідрозину.

З неорганічних матеріалів найбільшого поширення в якості підкладки чутливого елемента отримали *пористе скло, кварц та оксиди металів  $\text{Al}_2\text{O}_3$  та  $\text{TiO}_2$* . Вибір відповідного матеріалу базується на його хімічних властивостях, особливо по відношенню до рН середовища. Так, пористе скло нестабільне у лужному середовищі, тому його додатково покривають шаром  $\text{ZrO}_2$ . Натомість  $\text{Al}_2\text{O}_3$  та  $\text{TiO}_2$  витримують лужне середовище, а кварц більш придатний до використання у кислій області. На поверхні даних матеріалів присутні гідроксильні групи які використовують для модифікації з використанням алкоксисиланів (див. рис. 2.12).

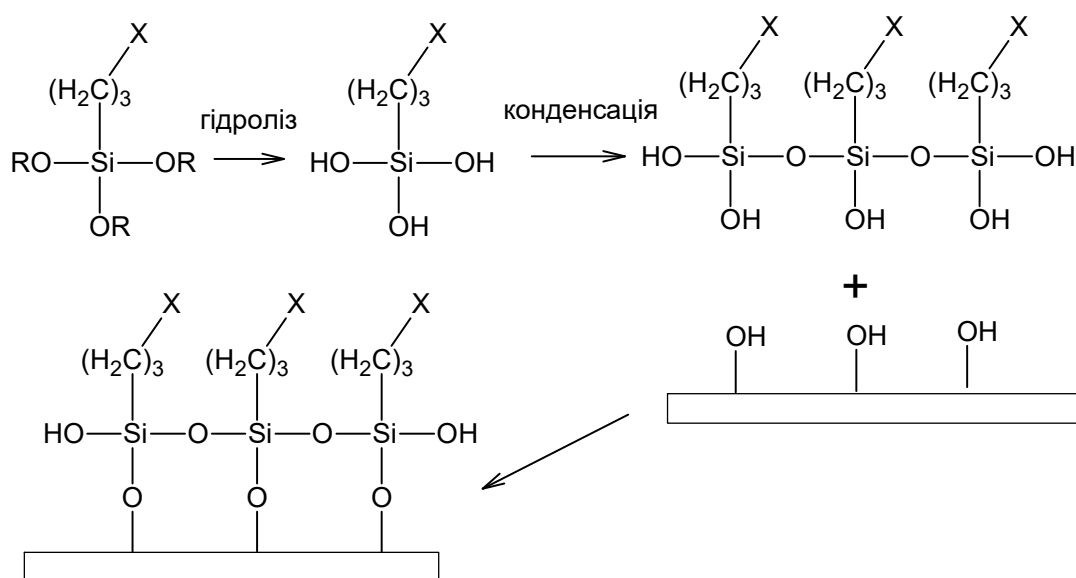


Рис. 2.12. Модифікація гідроксильних груп на поверхні неорганічних матеріалів з використанням алкоксисиланів.

Найбільш поширеним неорганічним матеріалом підкладки залишається *вуглець* та його модифікації. Графіт складається із паралельних шарів атомів вуглецю у  $sp^2$  гібридизації, що утримуються між собою під дією сил Ван дер Ваальса. Властивості крайової частини графіту сильно відрізняється від площинної частини. Базальна область графіту є гідрофобною, та володіє

хімічною інертністю. Натомість ненасичені ковалентні зв'язки на краю прошарків даного матеріалу володіють певною хімічною активністю, що веде до утворення певних груп атомів різної природи (див. рис. 2.13). Для отримання додаткових карбоксильних груп на крайовій частині графіту його електрохімічно окислюють. Вибір методу іммобілізації на графіті залежить від природи його поверхні. Якщо вибраний матеріал представляє собою переважно базальну поверхню то більш підходящим методом іммобілізації буде адсорбція. У випадку переважання крайової частини, яка характеризується певною гідрофільністю за рахунок наявності груп здатних до іонізації у лужному середовищі, то доступним стає ковалентне зв'язування.

Одним із методів інтегрування біомолекул у графіт є виготовлення графітових паст. Графітова паста складається із графітової пудри змішаної із олією та синтетичним чи біологічним рецептором. Підбір в'язучої речовини та складу суміші дозволяє розробити цілий ряд сенсорів чутливих до органічних та неорганічних речовин. Графітові пасту зручно використовувати у технології трафаретного друку, що сприяє масовому виробництву сенсорних систем. Особливу увагу в даний час приділяють і вуглецевим наноматеріалам (наприклад карбоновим нанотрубкам).

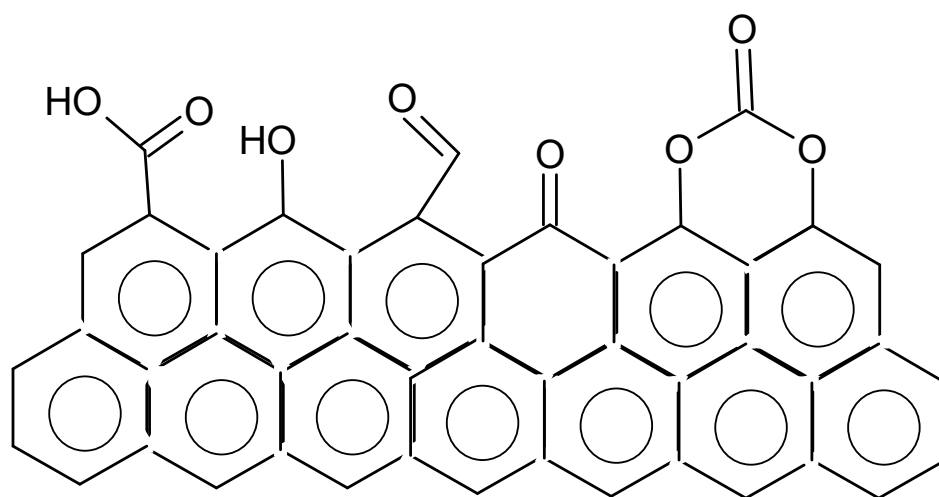


Рис. 2.13. Можливі реакційно-здатні групи на крайовій частині структури графіту.



*Метали* широко використовують в якості підкладок сенсорів. Найбільш вживаними завдяки своїй хімічній інертності є благородні метали золото, платина та паладій, в меншій мірі срібло. На поверхню металу наносять молекулярні моношари шляхом хемосорбції молекул які містять відповідну реакційну групу. Як приклад, на поверхню золота чи інших металів, пришивають тіоли у вигляді самоорганізованого моношару. Тіоли, відомі також як меркаптани, легко вступають в реакцію із золотом з утворенням міцного хімічного зв'язку через атом сірки. За нормальних умов цей процес є необоротним, що сприяє стабільності моношару. Як правило, адсорбовані молекули алкіл тіолів утворюють щільно упаковані ряди молекул в яких алкільні ланцюги розміщені під кутом  $30^\circ\text{C}$ , а сили Ван дер Ваальса між ланцюгами формують регулярну структуру (див. рис. 2.14. (а)). Моношари тіолів отримують також і на поверхні платини та срібла. Окрім тіолів, для утворення моношарів використовують тіони  $\text{R}_2\text{C}=\text{S}$ , тіокарбоксільні кислоти  $\text{RC}(=\text{O})\text{SH}$  та селеноли  $\text{R}-\text{SeH}$ .

Найбільш поширеним металом у сенсорних технологіях залишається золото, тому для функціоналізації поверхні даного металу використовують не функціоналізовані та функціоналізовані молекули тіолу. У першому випадку після модифікації поверхні сенсора іммобілізацію біомолекул проводять шляхом сорбції за рахунок гідрофобних взаємодій. Сама поверхня золота гідрофобна, тому для її гідрофілізації її модифікують тіолом до складу якого входить гідроксильна група. Можливим також є пришивання на поверхню груп здатних до електролітичної дисоціації (наприклад  $\text{COOH}$ ). Більш міцний зв'язок з поверхнею отримують ковалентним зшиванням зовнішніх замісників молекули тіолу. Серед реагентів для модифікації золотої поверхні найбільш вживаними є цистеамін та дигідроліпоева кислота (див. рис. 2.14).

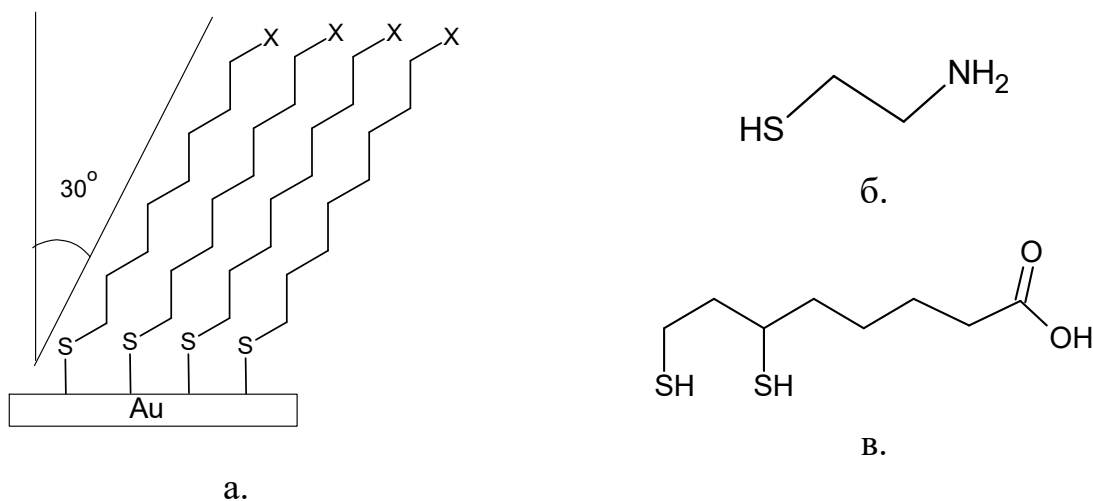


Рис. 2.14. Структура моношару отриманого на поверхні золота з допомогою тіолів (а) та поширені реагенти для модифікації золотої поверхні цистеамін (б) та дигідроліпоева кислота(в).

Деякі біологічні молекули, наприклад протеїни, завдяки присутності у їх структурі тіольних замісників, легко реагують із поверхнею золота. Якщо ж таких груп у біомолекулі немає то їх вводять з використанням реагента Траута.

Добре упорядковані моношари отримують переважно із лінійними тіоалканами. У випадку використання біологічних макромолекул складної нелінійної будови, на поверхні трансдюсера можуть залишатися вільні місця, що часто спричиняє появу фоновому сигналу. Для усунення такого фактору на другій стадії модифікації незаповнену поверхню чутливого елементу обробляють не модифікованим тіоалканом лінійної будови, таким чином пасивуючи її.

Хемісорбцію з тіолами використовують у амперометричних, п'єзоелектричних сенсорах та сенсорах на польових транзисторах. Такі ж самі підходи реалізують і для модифікації поверхні наночастинок золота.

*Напівпровідники*, особливо кремнієві напівпровідники, поширені у сенсорних технологіях матеріали. Однією з переваг кремнію є розвинена технологія мікроелектроніки, яка дозволяє виробляти сенсорні мережі мініатюрних розмірів та у промислових масштабах. Модифікацію кремнію починають із активізації його поверхні – основною метою якої є отримання

відповідних груп. Так, гідроксильні групи отримують з використанням кисневої плазми та подальшим гідролізом поверхні. Отримані групи здатні до взаємодії з трихлорсиланами у газовій фазі з утворенням упорядкованого моношару, стабілізованого силами Ван дер Ваальса та силоксановими зв'язками. Ще одним способом модифікації поверхні кремнію є отримання гідридного шару з високотемпературною обробкою воднем та подальшим використанням діазонієвої солі (див. рис. 2.15), яка під дією електрохімічного окислення утворює арильний радикал. Для отримання зв'язку Si-C використовують реакцію з молекулами 1-алкенів при підвищених температурах чи під УФ випромінюванням. Далі кінцеву метильну групу активують фотохімічно. Використання вже модифікованих 1-алкенів є проблематичним в зв'язку із підвищеною реакційною здатністю поверхневого гідридного шару, тому для пришивання до силікону карбоксильної, аміно- та тіольних груп їх попередньо пасивують, а після зшивання захист знімають.

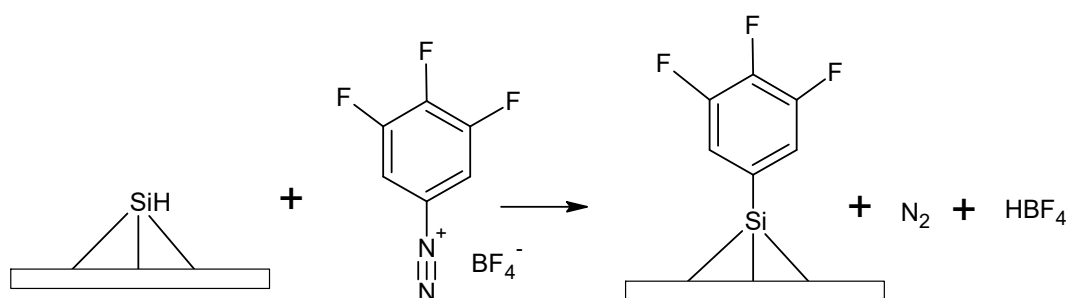


Рис. 2.15. Схема модифікації кремнію з використанням діазонієвої солі.

Відносно новий напівпровідниковий матеріал – допований алмаз, також доступний для сенсорних технологій у вигляді плівок нанесених методом осадження з газової фази на підкладках різної природи. Даний матеріал володіє підвищеною хімічною інертністю та широким електрохімічним вікном, що робить його цікавим для використання у електрохімічних сенсорах. Для модифікації алмазу виходять із гідридного шару отриманого на його поверхні шляхом обробки атомарним воднем у плазмі. Описано велику кількість шляхів обробки поверхні.

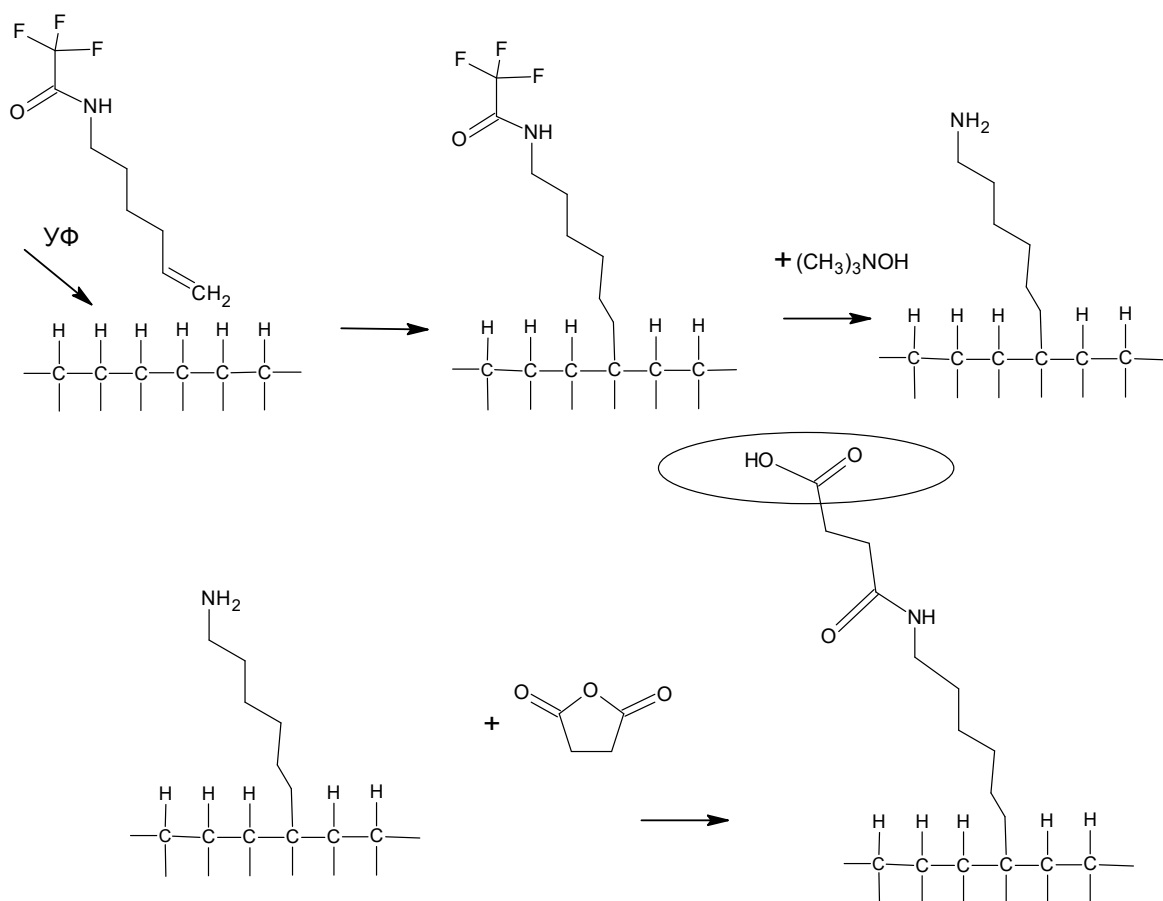


Рис. 2.16. Стадії модифікації гідридної поверхні допованого алмазу

Так, поверхню допованого алмазу на якій є гідридний шар обробляють ненасиченим аміном із захищеним трифлуороацетамідом (див. рис. 2.16). Під дією УФ випромінювання з  $\lambda=254$  нм, відбувається утворення ковалентного зв'язку між аміном та поверхнею алмазу. Далі аміногрупу звільняють від захисту під дією триметиламонію гідроксиду, що дає змогу використати підходящий крослінкер (наприклад ангідрид янтарної кислоти), що дає в результаті карбоксильні групи на поверхні. Біомолекули, такі як ДНК, ензими чи інші протеїни в подальшому пришивають з утворенням пептидного чи тіольного зв'язків з використанням карбодіміду чи підходящого гетеробіфункціонального крослінкера (наприклад SMCC).

### 2.3. Методи отримання молекулярних шарів.

Створення молекулярного шару на поверхні трансдюсера є одним із способів побудови чутливого елемента сенсора. Такий підхід дозволяє отримувати чутливий шар з бажаними характеристиками та необхідною біосумісністю з використанням рецепторів біологічного походження. Молекулярні шари часто отримують з використанням реакцій самоорганізації, в яких хаотичні, неупорядковані суміші вихідних речовин утворюють чітку структуру певної будови за рахунок специфічних, локальних, взаємодій між її компонентами. Такий процес є спонтанним, та часто оборотнім.

Організовані молекулярні структури отримують і у гетерогенних системах, наприклад при хемісорбції на тверді поверхні. Взаємодії гідрофобної природи проявляють себе у самоорганізації поверхнево-активних речовин. Також самоорганізація хімічних систем відбувається під дією електростатичних чи афінних взаємодій, що відноситься до сфери *супрамолекулярної хімії*, науки яка вивчає великі за розміром та складні молекулярні утворення, отримані самоорганізацією окремих молекул з утворенням нековалентних зв'язків. Супрамолекулярна хімія поширена у середовищі живих організмів, в яких біологічні молекули самоорганізуються за принципами цієї науки. Яскравими прикладами є утворення четвертинної структури білка, комплексів ензим-субстрат та афінні взаємодії.

Особливу роль у отриманні молекулярних шарів відіграють амфіфільні молекули поверхнево-активних речовин (ПАР). Гідрофільний кінець молекули може бути здатною до іонізації групою ( $-SO_3^-$  або  $(CH_3)_3N^+$ ), чи полярним неіонним замісником. Гідрофобний хвіст являє собою вуглеводневий ланцюг. У сенсорах, для отримання молекулярних шарів використовують природні ПАР – фосфоліпіди, оскільки вони є біосумісними з молекулами біологічних рецепторів, так як присутні у природних мембранах (див. рис. 2.17 (а)).

Якщо невелику кількість ПАР змішати з водою, її молекули накопичуються на поверхні, а гідрофобні хвости стирчать із води. При збільшенні концентрації ПАР до певної межі (критичної концентрації міцелоутворення – ККМ), молекули самоорганізуються у невеликі за розміром агрегати – міцели, у яких гідрофільні кінці направлені у об'єм водного розчину. Міцели можуть мати як сферичну форму так і форму циліндрів, які в свою чергу утворюють гексагональні структури у вигляді субміліметрових бджолиних стільниць. Складнішою формою самоорганізації ПАР є утворення ліпосом – штучно отриманих везикул (бульбашок) утворених з подвійного шару молекул ПАР із захопленням невеликої кількості розчинника (див. рис. 2.17 (в)).

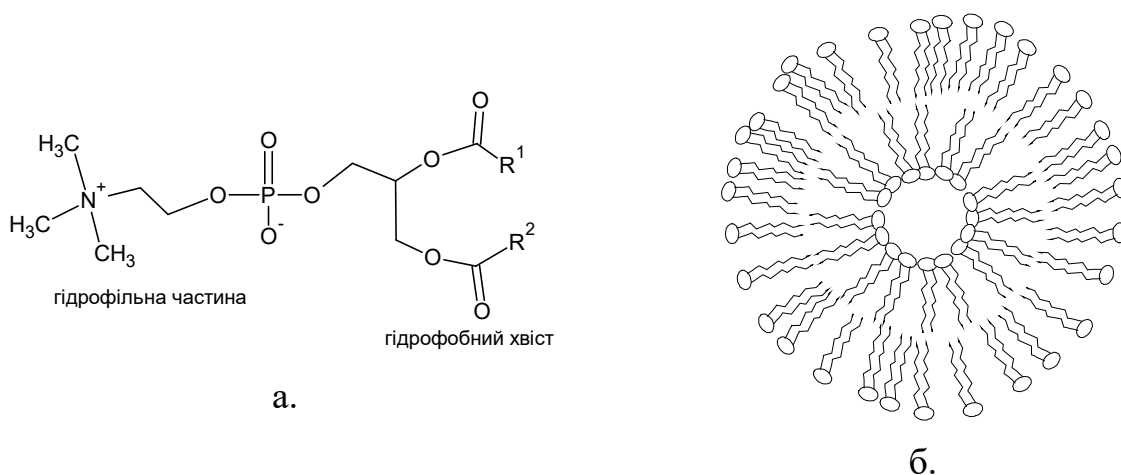


Рис. 2.17. Фосфоліпід – фосфатидилхолін (а) (загальна формула) та структура штучної ліпосоми (б).

Ліпосоми самоорганізуються в багат шарову будову. Невеликі за розміром молекули, а також білки та ензими можуть бути захоплені у середину ліпосоми. Інкапсульовані таким чином ензими володіють більшою стійкістю в часі, оскільки стінки ліпосоми відіграють роль напівпроникної мембрани яка обмежує доступ інтерферентів - інгібіторів та катіонів металів. Для отримання шару ліпідних молекул на поверхні підкладки використовують метод Ленгмюра-Блонжетт. Даний спосіб дозволяє наносити багат шарові покриття на інертні підкладки за рахунок адсорбції (див. рис.

2.18). Розведений розчин амфифільних молекул (з концентрацією значно нижчою за ККМ) містить на своїй поверхні шар гідрофобних неупорядкованих хвостів. Повздожнє стискання розчину призводить до утворення впорядкованого шару на його поверхні. Далі отриманий шар переносять на підкладку шляхом повільного занурення останньої у розчин, подальше витягування підкладки призводить до нанесення наступного шару молекул, стабілізованого міжмолекулярними взаємодіями. Така техніка дозволяє отримувати шари молекул орієнтованих один відносно одного гідрофільними чи гідрофобними частинами ПАР. Отримані таким чином бімолекулярні шари є дуже схожими на природні мембрани і тому сумісні з багатьма протеїнами та іншими біологічними сполуками.

Фосфоліпідний бімолекулярний шар не завжди стабільний на гладких підкладках. Кращих характеристик досягають з використанням пористих матеріалів на кшталт мембран для ультрафільтрації із розмірами пор 1-5 мкм, або з додатковим використанням крослінкерів для зшивання через реакційно здатні групи. Рецепторну молекулу вносять безпосередньо у розчин ПАР перед утворенням бімолекулярного шару, або ж співосаджують на поверхню одночасно із шаром ПАР.

Створення *почергових молекулярних шарів* проводять нанесенням моно шарів протилежних зарядів. Отримані шари молекул не володіють впорядкованою структурою, отриманою методом Ленгмюра-Блонжетт, проте метод є дуже простим у виконанні. Тверду підкладку, яка несе на собі певний заряд обробляють розчином поліаніонних чи полікатионних сполук. На рис. 2.19 представлено структуру бімолекулярного шару отриманого нанегативно-зарядженій підкладці. Перший шар отримують зануренням зарядженої підкладки у розчин полікатиона, далі підкладку промивають водою та занурюють її у розчин поліаніона. Процедуру повторюють до отримання бажаної товщини шару. Заряджені молекули протеїнів вносять у структуру шару, просто занурюючи підкладку з вже нанесеними шарами полііонів у розчин протеїну. Можливість чергування заряду на поверхні дає

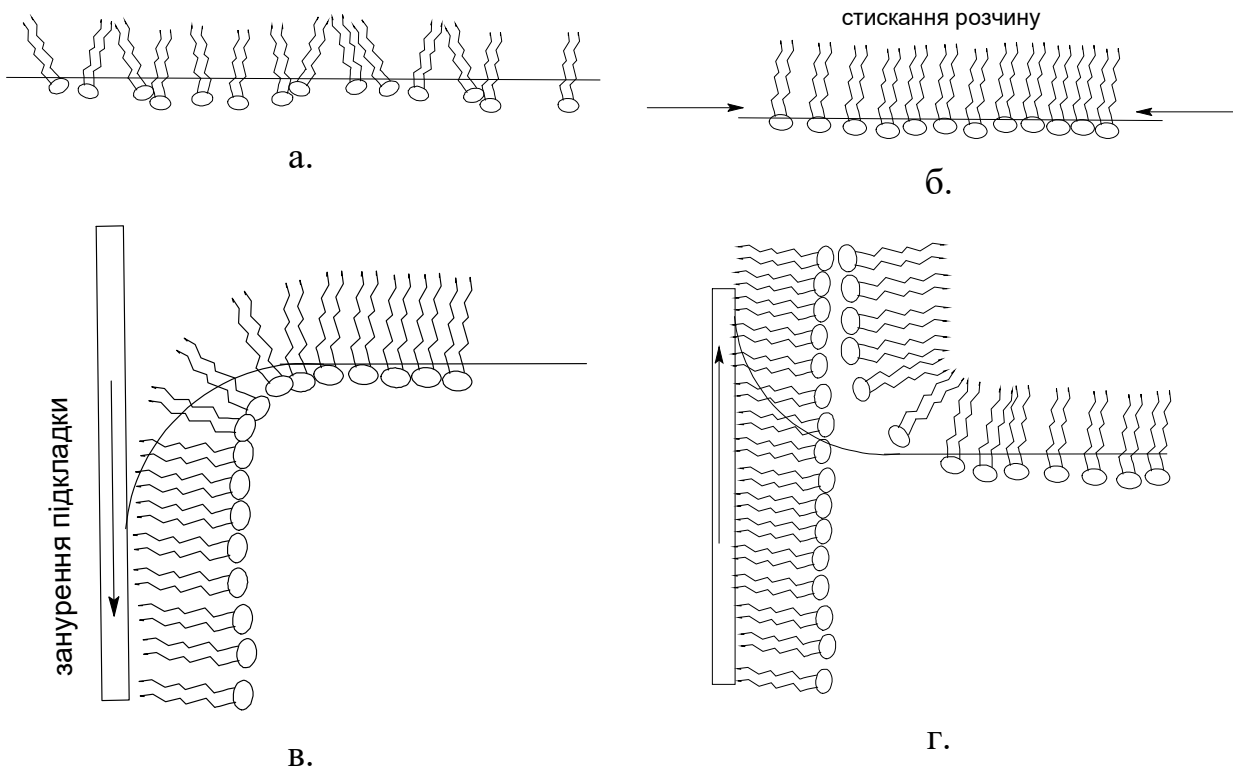


Рис. 2.18. Схема нанесення бімолекулярного шару методом Ленгмюра-Блонжета: а.- початковий розчин, б.- стиснений розчин, в.- нанесення першого шару молекул зануренням підкладки, г.- нанесення другого шару молекул.

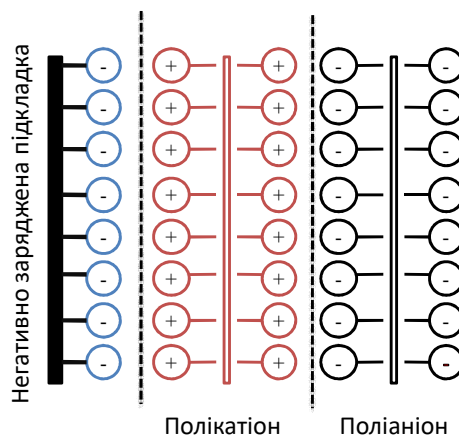


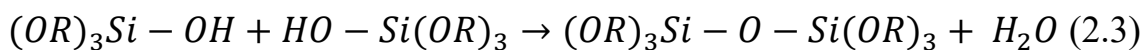
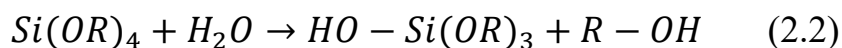
Рис. 2.19. Структура подвійного молекулярного шару отриманого з використанням розчинів поліелектролітів.

Змогу отримувати шари з різними ензимами для використання у мультиензимних сенсорах. Також такий спосіб отримання чутливого шару використовують для інтегрування у мембрану наночастинок чи живих клітин



і знаходить використання у виготовленні амперометричних, оптичних сенсорів та сенсорів на основі транзисторів ефекту поля.

Отримання чутливого шару з використанням золь-гель технологій застосовують для захоплення молекул рецептора у сітку полімера. Хімія золів та гелів відноситься до способів отримання гелів із розчинів прекурсорів. Типовими прикладами є силікагелі, що утворюють за реакцією конденсації ортокремнієвої кислоти у кислих розчинах силікату натрію. Силікагелі складаються із полімерних ланок –O-Si-O-, у яких до атомів кремнію чи оксигену пришиті органічні замісники різної природи. Синтезують силікагелі виходячи із естерів ортокремнієвої кислоти по чергово проводячи реакції гідролізу та конденсації:



Представлені стадії процесу 2.2-2.3 приводять до отримання лінійних полімерних молекул, а подальше повторення процедури гідролізу та конденсації сприяє синтезу просторових молекулярних сіток. Властивості отриманого гелю залежать від балансу згаданих реакцій, що регулюють змінюючи рН проведення реакції. У нейтральному середовищі швидкість гідролізу (2.2) набагато нижча за швидкість конденсації (2.3). У лужному – навпаки – гідроліз проходить швидше ніж конденсація. Гідроліз сприяє отриманню колоїдних частинок *золів*, процес конденсації сприяє утворенню кластерів які в подальшому під дією перехресного зшивання утворюють просторові ряди сіток із певною кількістю води між ними, тобто *гелі*.

Захоплення біомолекул у гель проводять у дві стадії на першій з яких отримують золь із прекурсора, наприклад тетраетоксисилану (TEOS), у кислому середовищі. Далі рН розчину зсувають у нейтральну область для запобігання денатурації протеїну і одночасно пришвидшують процес конденсації, що веде до утворення гелю у порах якого розташовуються молекули біополімера. Особливу увагу при захопленні білків у пори гелю приділяють концентрації спирту який утворюється у процесі гідролізу,

оскільки його присутність може призвести до денатурації білка. Для підвищення стабільності ензимів у гелі додають полісахариди, поліелектроліти чи іоногенні ПАР, молекули яких утворюють певне оточення навколо білка. Для уникнення можливого випадання осаду, у процесі отримання гелю, використовують тетракіс(2-гідроксиетил)ортосилікат (THEOS) (див. рис. 2.20). Даний прекурсор добре змішується з водою, а продуктом його гідролізу є етиленгліколь, який є біосумісним органічним розчинником. У випадку використання THEOS отримання чутливого шару можна провести у одну стадію, використавши реакції гідролізу та конденсації у присутності цільової біомолекули. М'які умови отримання гелів дозволяють використовувати їх для захоплення ензимів та інших біологічних матеріалів, таких як органи клітин чи цілі клітини та живі організми.

Властивості пор гелю регулюють використовуючи хімічно модифіковані прекурсори (див. рис. 2.20). Такі молекули містять один або два органічних замісники зв'язані із атомом кремнію через зв'язок Si-CH<sub>2</sub>-. Залежно від замісника, внутрішній поверхні пор силікагелю надають різних характеристик, наприклад гідрофобності чи заряду. Також молекули несуть на собі реакційно-здатні групи, такі як епоксидні – (в GOPS), тіо- (в MPTS) чи аміно – групи (в APTES), що здатні в подальшому служити для ковалентного зв'язування рецепторних молекул. Окрім утворення зв'язків із молекулами рецептора, органічно модифіковані алкоксисилани використовують для модифікації матеріалу поверхні трансдюсера, якщо на ній присутні відповідні, наприклад гідроксильні, групи (целюлоза, скло, чи після відповідної обробки вуглець та кремній). Золь-гель технологія отримання шарів дозволяє зберігати просторову будову білкових молекул у їх природному стані, що позитивно впливає на їх реакційну здатність у фазі мембрани. Для забезпечення провідності гелю, наприклад у амперометричних сенсорах, та переносу електрону від ензиму до поверхні електроду, у склад гелю включають провідні наноматеріали.

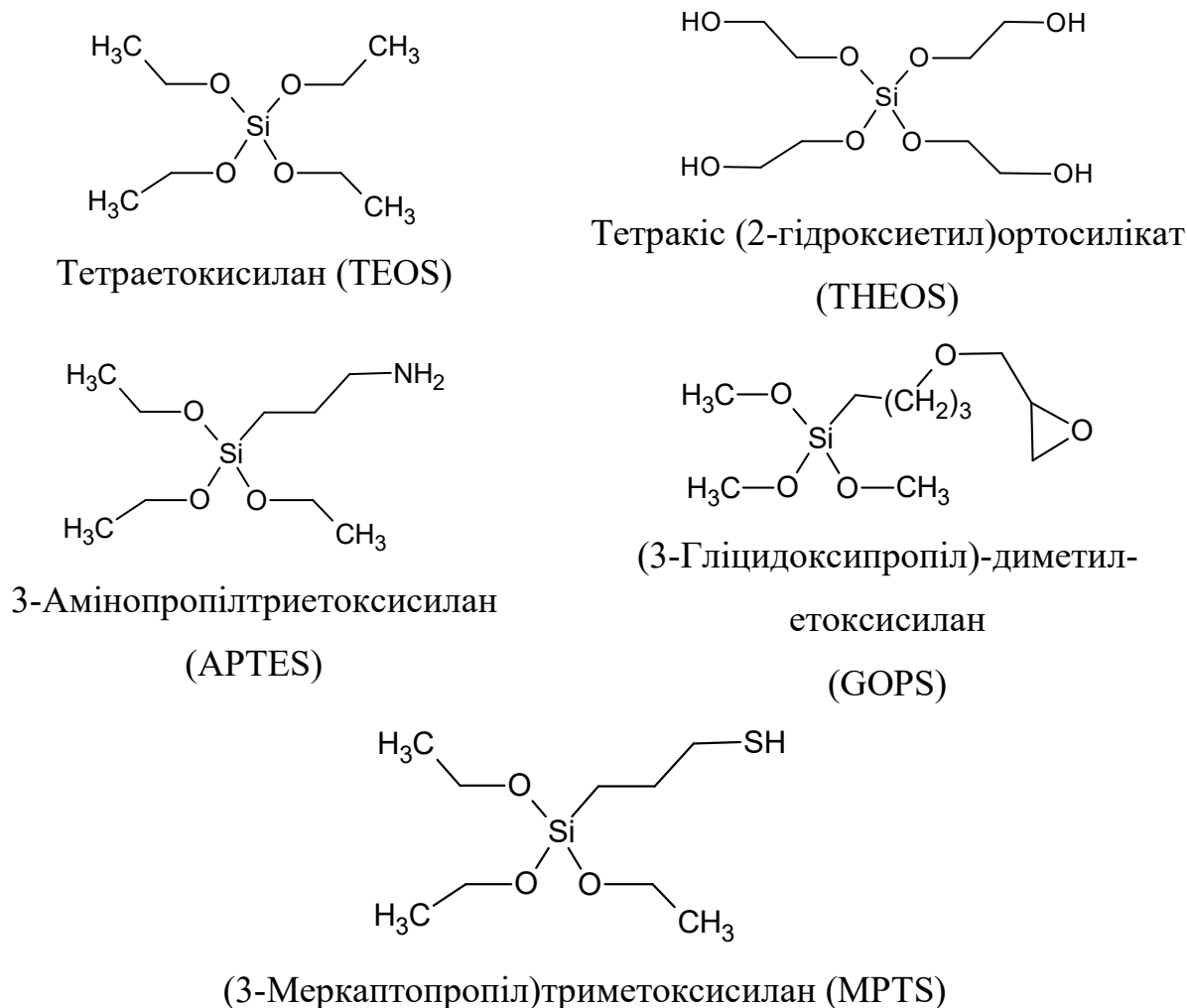
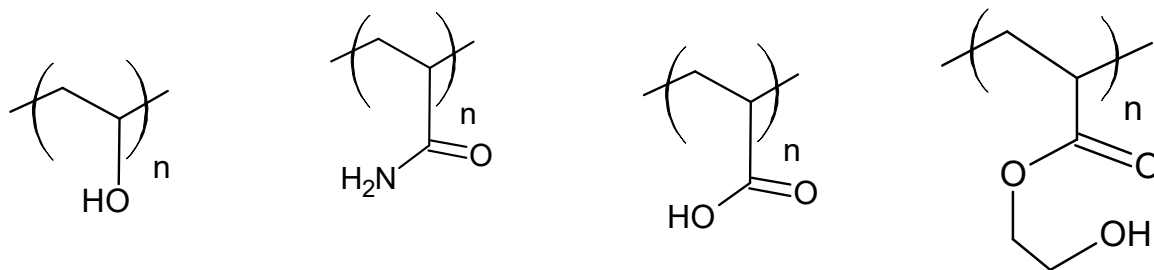


Рис. 2.20. Структурні формули поширених для отримання гелів прекурсорів у сенсорних технологіях

Окрім силікагелів для захоплення молекул у сітку полімера використовують *гідрогелі*. Гідрогель – це система тверде тіло-рідина у який полімерна матриця утворює тривимірну сітку, утворену за рахунок фізичних чи хімічних взаємодій, та містить високу концентрацію води (до 90 %). У процесі повільного безперешкодного випаровування гідрогелів отримують *ксерогелі*. Ксерогелі володіють великою площею поверхні та малим розміром пор від 1 до 10 нм. Якщо розчинник з гідрогелю видаляють у суперкритичних умовах то матеріал полімеру не зморщується і в результаті отримують *аерогель* – матеріал із дуже низькою густиною та унікальними термофізичними властивостями.

Виділяють хімічно зшиті та фізично-зшиті гідрогелі. У фізично-зшитих гідрогелях стабільність структури забезпечується фізичними взаємодіями такими як водневий зв'язок, сили Ван дер Ваальса та гідрофобні взаємодії. Прикладами є гідрогелі із полісахаридів таких як декстрин чи агароза. Деякі природні полісахариди містять у своєму складі функціональні групи: аміногрупа у хітозані, карбоксильна у альгінаті та сульфонатна у деяких карагенах. Колаген та желатин також використовують як альтернативні біополімери для отримання гідрогелів. Для отримання фізично зшитих гідрогелів вихідний розчин заморожують, а потім повільно розморозжують у середовищі води чи водно-органічної суміші отримуючи таким чином *криогель*. У процесі утворення *криогелю* кристали льоду, які ростуть під час заморожування, визначають розмір пор та їх просторову будову. Необхідні молекули рецепторів чи клітини можуть бути внесені у вихідний розчин перед отриманням гелю, або ж адсорбованими вже отриманою матрицею.

Для отримання хімічно зшитих гідрогелів, використовують полімери здатні до утворення ковалентних зв'язків (див. рис. 2.21).



Полівініловий

спирт

Поліакриламід

Поліметакрилова

кислота

Полігідроксиетил

метакрилат

Рис. 2.21. Синтетичні полімери, що використовують для отримання гідрогелів.

Захоплення у гідрогелі відноситься до м'яких методів синтезу чутливого шару, що дозволяє іммобілізувати біомакромолекули чи навіть цілі клітини без суттєвої втрати їх активності. Гель є біосумісною матрицею з розмірами пор достатніми для проникнення малих за розміром молекул аналітів, як

наприклад субстрати ензимів чи олігонуклеотидів. Тому цей метод широко використовують для отримання чутливого елементу у сенсорах різного типу.

Окрім згаданих вище гідрогелів, використання яких обмежується тільки виготовленням неактивної матриці сенсора для іммобілізації рецептора на трансдюсер, існує ряд функціоналізованих гідрогелів які можуть відігравати роль активного учасника процесу перетворення та передачі сигналу. Такі функції виконують *Red-Ox гідрогелі*, *електропровідні гідрогелі* та такі що здатні до зміни внутрішньої організації під дією різних факторів (*розумні гідрогелі*).

Red-Ox гідрогелі містять у своїй структурі комплекси рутенію або осмію, що пришиті до полімерного ланцюга. Метал у комплексі стабільний у двох ступенях окислення, тому можливим є перенос електрона від металу у нижчій ступені окислення до металу у вищій ступені окислення під дією зовнішньо прикладеної напруги. Red-Ox гідрогелі є складовими у деяких амперометричних сенсорах, оскільки дають можливість реалізувати перенос електрону від Red-Ox ензимної молекули до електроду.

Властивість змінювати власний об'єм під дією зовнішніх факторів як рН чи температура властива *розумним гідрогелям*. Чутливість до рН проявляється у випадку наявності у структурі полімера заміників здатних вступати у протолітичні взаємодії. Наприклад іонізація карбоксильних груп веде до утворення негативного заряду у певних областях молекули полімеру, тому при зміні рН у області близькій до  $pK_a$  у кисле середовище гідрогель збільшуватиме свій об'єм за рахунок відштовхування однойменно заряджених частин полімерного ланцюга. Така сама поведінка властива гелям із полімером до складу якого входять аміно групи, здатні протонуватися у кислому середовищі та набувати відповідного позитивного заряду. Даний процес змінює об'єму розглядають також і з точки зору збільшення осмотичного тиску як наслідок акумуляції протиіонів у об'ємі гелю. Процес є оборотним та був використаний для розробки рН сенсорів. Оскільки значна частина ензимних реакцій протікає із зміною рН

середовища, то такі гелі були застосовані як матриці при виготовленні ензимних сенсорів до певних субстратів. Невеликі за розміром молекули, іони антитіла чи інші протеїни викликають зміну об'єму гелю якщо здатні до утворення містків між рецепторними сайтами у структурі полімеру (див. рис. 2.22)

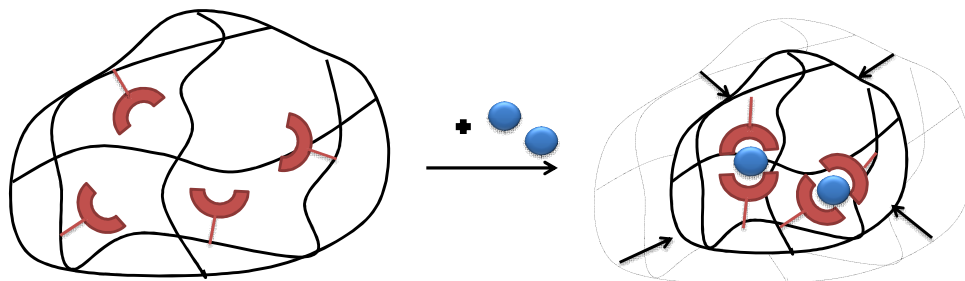


Рис. 2.22. Схема зменшення гелю в об'ємі у процесі утворення місткових зв'язків між рецепторними сайтами.

У випадку якщо аналітом служить ензим, то до складу гідрогелю входить відповідний субстрат, що зв'язує окремі ланки полімеру. Поява ензиму веде до руйнування місткових зв'язків, що призводить до набухання гелю. Такий самий, але зворотній підхід, використовують і у сенсорах чутливих до субстратів.

Для детектування зміни об'єму гелю використовують різні підходи. Якщо гель розташований між металічними пластинами конденсатора, одна з яких є еластичною, то зміна об'єму гелю веде до зміни ємності конденсатора за рахунок зміни відстані між пластинами. Зміна об'єму гелю може бути виміряна як зміна опору п'єзо-резистивної пластини на яку нанесено «розумний гель». Власна зміна опору гелю в процесі відгуку на аналіт також використовується як механізм трансформації сигналу. Для даних цілей використовують також і зміну коефіцієнту рефракції, інші оптичні властивості а також п'єзоелектричними осциляторами (див. розділ 5). Основною перевагою використання розумних гелів у виготовленні сенсорів вважають відсутність необхідності у молекулярних мітках для трансдукції сигналу, оскільки сама матриця вже виконує дану функцію.

**Електропровідні полімери.** Електропровідні органічні полімери, це сполуки які складаються із поліконюгованих (поліспряжених) макромолекул. У скелеті електропровідних полімерів присутні ряди атомів карбону у  $sp^2$ -гібридизації. Валентні електрони розміщені на  $p_z$  орбіталі делокалізовані по скелету полімеру та отримують підвищену рухливість у разі часткового окислення, за рахунок утворення вільних  $\pi$ -орбіталей. Для нанесення електропровідних полімерів на підкладку використовують метод електрохімічного осадження із розчинів, що дозволяє отримувати тонкі шари на поверхні. Молекула рецептора може бути ковалентно пришитою до бокового ланцюга полімеру. Сам по собі електропровідний полімер може одночасно служити і рецептором у газових сенсорах. Типовими представниками є поліпірол, поліанілін, політіофен (див. рис. 2.23).

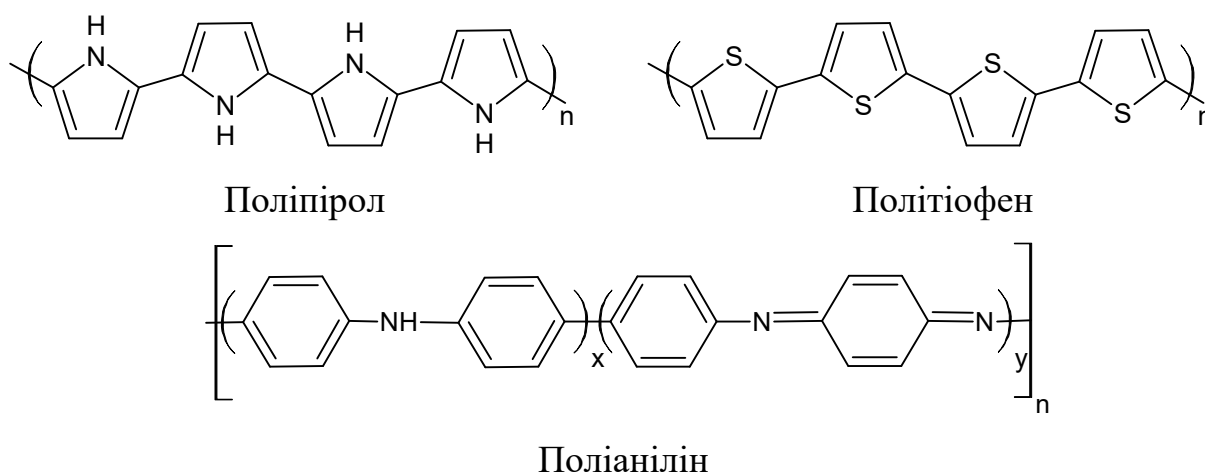


Рис. 2.23. Поширені в сенсорних технологіях електропровідні полімери

Нанесення поліпіролу на підкладку проводять із розчину піролу шляхом накладання на матеріал електрода сталого позитивного потенціалу. На першій стадії окислення піролу призводить до утворення радикал катіонів які далі сполучаються між собою з утворенням плівки. Матеріал підкладки повинен бути інертним у умовах електрохімічної полімеризації. Ланки полімерного ланцюга несуть позитивний заряд, тому аніони присутні у розчині самовільно інтегруються у сітку полімера урівноважуючи таким чином заряд. Умови проведення синтезу сприяють неповному заповненню вакантних орбіталей, що і веде до отримання позитивного заряду. Заряд  $\delta +$

делокалізований по ланцюгу полімера та збалансований присутніми протиіонами – допантами (див. рис. 2.24). Допантом може служити як малий за розміром неорганічний аніон так і об’ємний поліаніон. Тип допantu впливає на властивості отриманого полімеру.

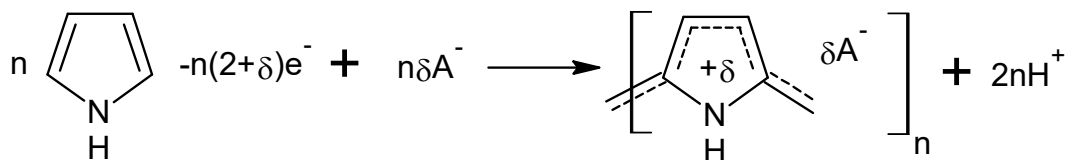


Рис. 2.24. Схема електрохімічного отримання поліпіролу де  $\delta$  середній частковий заряд ланки полімеру ( $\delta < 1$ ).

З точки зору електропровідності поліпірол володіє властивостями напівпровідника. Під дією електричного поля електрони «перестрибують» із одної молекули на іншу, що в свою чергу провокує переміщення допantu у протилежному напрямку вздовж полімерного ланцюга а його рухливість має визначальне значення для провідності полімеру.

Перед полімеризацію пірол може бути хімічно модифікованим по атому нітрогену, але в такому випадку процес полімеризації ускладнюється стеричними ефектами. Поліпірол використовують у газових сенсорах, оскільки його провідність залежить від кількості адсорбованих молекул газу. Для захоплення молекул у сітку поліпіролу, синтез проводять у присутності молекул рецепторів, таких як протеїни чи нуклеїнові кислоти, що для кращого ефекту повинні бути негативно зарядженими.

Шляхом співполімеризації модифікованих молекул піролу із чистим піролом вдається контролювати структуру отриманого шару, та регулювати його властивості. У випадку, якщо молекула рецептора не витримує умов електрохімічної полімеризації, то її ковалентно пришивають до вже виготовленої полімерної плівки.

Поліпірол зручно використовувати при виготовленні мікро-сенсорних систем методом електрополімеризації. Кожен окремий електрод із матриці може бути окремо з’єднаним з джерелом струму і модифікований полімером у певних умовах, що надає окремим сенсорам різних властивостей.



**Полімерні мембрани.** Полімерні мембрани виконують різноманітні функції у конструкції чутливого елемента:

- матриця для захоплення ензимів чи інших сенсорних молекул;
- виготовлення ПВХ пластифікованих сенсорів;
- напівпроникні мембрани для покращення селективності;
- забезпечення рівномірної дифузії субстрату до ензиму у фазі мембрани.

Для нанесення полімерної мембрани на підкладку як правило використовують попередньо отримані полімери, з відомими характеристиками, у вигляді їх розчинів у органічному розчиннику. Розчин полімеру наносять на підкладку та залишають для випаровування розчинника і утворення тонкої полімерної мембрани. Важливо, щоб вибрана для виготовлення сенсора підкладка добре змочувалась даним розчином. Додавання до розчину полімеру гідрофобних рецепторів дозволяє отримати вже готовий чутливий елемент, що використовують у виготовленні іон-селективних сенсорів на основі макроциклічних сполук чи іонообмінних рецепторів. Розчин полімеру наносять на підкладку методами багаторазового занурення, випаровування з краплі, та спінування яке полягає у нанесенні крапель розчину на центр підкладки яка обертається з певною швидкістю, що дає змогу регулювати товщину отриманого шару. Важливо отримувати відтворювані за товщиною та пористістю мембрани, що також залежить і від властивостей матеріалу підкладки. Після нанесення нестійкої мембрани, її міцність підвищують реакціями зшивання.

Для отримання сенсорних масивів використовують техніку фотополімеризації, для чого fotocутливий прекурсор наносять на всю поверхню підкладки, яку потім вибірково опромінюють у певних зонах, що викликає фотополімеризацію. Такий підхід дозволяє вибірково модифікувати необхідні частини сенсорної матриці.

Деякі полімерні мембрани проявляють селективну проникність до сполук, що використовують у виробництві сенсорів. Селективність може

визначатися розмірами пор мембрани, розчинністю у полімері чи специфічними взаємодіями між полімером та речовинами які дифундують у ньому.

Газопроникні мембрани являють собою розчини полімерів на поверхні сенсора чи тверді мембрани з щільною чи пористою структурою. У щільних мембранах, такого матеріалу як силікон, проникність газу лімітується його розчинністю у полімері, натомість у пористому Тетлоні, газ дифундує через гідрофобні пори, непроникні для молекул води.

Мембрани з фіксованим розміром пор використовують для обмеження доступу великих та об'ємних молекул до рецептора у фазі мембрани. Прикладом такого матеріалу є фільтри *Nucleopore* – тонкі полікарбонатні мембрани з розміром пор від 0,01 до 30 мкм. Малі молекули, наприклад ензими чи субстрати, проникають через мембрану, натомість об'ємні протеїни ні. Типовим використанням полікарбонатних мембран є їх нанесення на поверхню амперометричних глюкозних сенсорів, що дозволяє зменшити вимивання ферменту із складу мембрани, але не перешкоджає проникненню кисню та глюкози до чутливого елемента. Ацетат целюлози у вигляді мембран отримують випаровуванням ацетонового розчину полімеру на поверхні чутливого елемента. Така мембрана не проникна для аніонів та великих молекул і використовується у конструкції амперометричного кисневого сенсора.

*Іонообмінні мембрани* виготовляють з полімерів до структури яких входять іонні групи, що надають їм селективної проникності до іонів протилежного заряду. Типовими представниками є Нафіон та полівінілпіридин (див. рис. 2.25). Нафіон володіє високою концентрацією гідрофільних  $\text{SO}_3^-$  груп та довгими, незшитими між собою, фрагментами гідрофобних ланцюгів, що надає його структурі певної еластичності. При контакті із водним розчином гідрофільні частини ланцюга відділяються від гідрофобних та утворюють заповнені водою пустоти та канали.

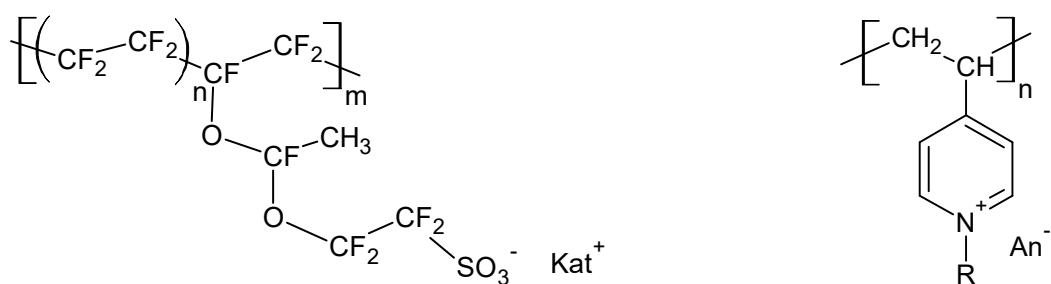


Рис. 2.25. Структура іонообмінних полімерних мембран нафіону (а) та полівінілпіридину (б)

Нафiон, як катiонiт, володiє проникнiстю до катiонiв пiд дiєю прикладеної ззовнi рiзницi потенцiалiв, що використовують у амперометричних сенсорах для усунення стороннього впливу анiонiв. Полiвiнiлпiридин та полiпiрол проявляють подiбнi властивостi по вiдношенню до катiонiв.

Для отримання iон селективних мембран у потенцiометричних сенсорах використовують полiвiнiлхлоридну матрицю (ПВХ). ПВХ мембрани отримують шляхом випаровування розчину полiмеру на плоскiй поверхнi. У склад ПВХ мембран додають до 75 % пластифiкатора, який надає мембранi еластичностi та проникностi для аналiтiв. Так при використаннi лiпофiльних пластифiкаторiв (диоктилфталату чи iзопропiлмiристату) ПВХ мембрана є проникною для катiонiв, оскiльки пластифiкатор у фазi мембрани знаходиться у анiоннiй формi. Пластифiкованi ПВХ мембрани використовують для виготовлення чутливих елементiв у сенсорах на рiзнi iони. Селективнiсть залежить вiд властивостей рецептора, механiзму утворення сигналу та використаного пластифiкатора.

Ми розглянули методи iнтегрування чутливого елементу сенсора на пiдкладку, яка у багатьох випадках є складовою частиною трансдюсера. У процесi дослiджень та розробки сенсорiв виконання цих операцiй у лабораторних умовах є цiлком достатнi проте для масового виробництва такi пiдходи не зручнi. У промисловостi сенсори виготовляють з використанням технологiй мiкроелектронiки.

*Точкове формування (spot arraying)*. Полягає у точковому нанесенні малих об'ємів розчинів компонентів з використанням мікродиспенсера (мікродозатора). Для цих цілей використовують комерційні матричні принтери чи пристрої для отримання набору фрагментів ДНК. Проте високі температури та значні електричні заряди у даних пристроях можуть викликати денатурацію білкових молекул. Тому для нанесення ензимів використовують спеціально розроблений мікродиспенсер на основі п'єзоелектричного високочастотного осцилятора (див. рис. 2.26).

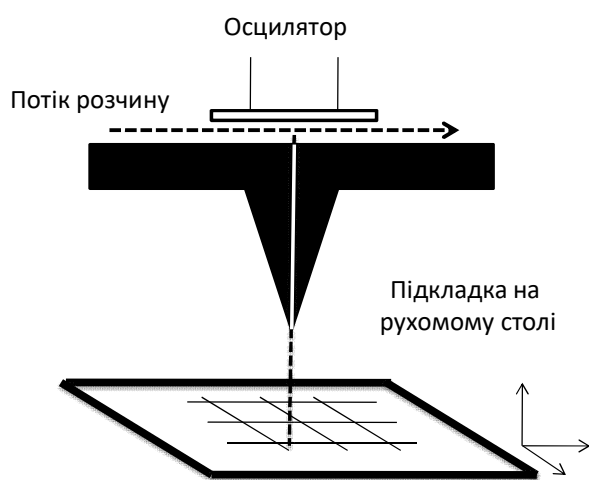


Рис. 2.26. Схема мікродиспенсера на основі п'єзоелектричного високочастотного осцилятора.

Під дією імпульсів від осцилятора, розчин ензиму у вигляді крапель об'ємом 100 пл (піко літрів) наноситься на підкладку закріплену на рухомому столі, який програмно управляється комп'ютером. Ензими фіксуються на підкладці через хемісорбцію, або хімічним зшиванням чи захопленням у полімерну сітку з допомогою реагентів які теж входять до складу розчину.

Технологія нанесення *тонких шарів* базується на використанні трафаретного друку – нанесення фарби (пасти) через отвори у шаблоні. Паста являє собою суміш компонентів чутливого елемента сенсора, яку необхідно нанести на підкладку, органічні добавки та розчинник. Після друку, шар залишають до повного висихання та піддають термічній обробці, що призводить до вигорання органічних добавок та сприяє спіканню інших компонентів. Для отримання діелектричного шару у склад пасти вносять оксиди свинцю, вісмуту та кремнію. Електропровідна паста містить оксид міді, який далі відновлюють до металу. Якщо використання високих температур не є необхідним, то в якості підкладки замість кераміки може служити

полімерний матеріал, наприклад плівка з полістиролу. Трафаретний друк дозволяє отримувати сенсори розміром до 0,5 мм, що дає змогу використовувати їх для моніторингу складу крові розмістивши, наприклад, на кінці медичного катетера. Шляхом багаторазового роздільного друку з використанням різних трафаретів отримують багатошарове покриття з різним складом пасти, чи нанесенням полімерної основи під чутливий елемент чи напівпроникну мембрану. Цю технологію використовують для виготовлення електрохімічних сенсорів, доповнюючи склад пасти чи фарби графітовою пудрою для отримання бажаної електропровідності. Ензими та кофактори також вносять до складу паст для отримання чутливого елементу сенсора.

Досягнення технологій мікроконструювання також застосовують для виготовлення мікророзмірних сенсорів. Основними етапами цього процесу є друк електричної схеми на гладкій поверхні (як правило кремнієвій), нанесення чи нарощування плівки та травлення. У методі *фотолітографії* на поверхню підкладки наносять фото чутливу полімерну плівку (фоторезист), яку далі опромінують світлом через «маску» у якій зроблено отвори відповідно до електричної схеми. Опромінені зони плівки не закріплюються на підкладці і в подальшому вимиваються у процесі проявлення. Таким чином на поверхні кремнію отримують схему ідентичну масці але у зменшеному в десятки разів масштабі. Після опромінення та проявлення, отриману поверхню протравлюють або наносять на неї додаткові шари. Залишки фоторезисту вимивають відповідними реагентами чи випалюють кисневою плазмою. Дану технологію використовують для отримання золотих структурованих поверхонь підкладки сенсора, на яку в подальшому наносять чутливий шар з використанням хемісорбції тіол-вмісних сполук. Якщо проведення селективної іммобілізації неможливе, то використовують принцип фотолітографії для отримання сітки (масиву) підкладок, далі проводять іммобілізацію рецептора на всій поверхні фоторезиста. Подальше вимивання фоторезиста разом із іммобілізованим шаром дозволяє отримати масиви чутливих елементів на поверхні підкладки. При використанні такого

підходу звертають увагу на чутливість молекул рецептора до використаного розчинника. Роздільна здатність фотолітографії дозволяє отримувати структури розміром у 2 мкм.

У методі м'якої літографії для виготовлення сенсорів використовують штамп із відтисненою структурою необхідної електричної схеми. Штамп виготовляють із еластомера – полі(диметилсилоксану) з використанням форми отриманої за допомогою класичної фотолітографії. Поверхню штампу просочують фарбою з спиртовим розчином тіоалкану. При контакті штампу із золотою поверхнею у місцях прилягання до золота утворюються самоорганізовані молекулярні шари. Даний метод отримав назву *мікроконтактного друку*. Залежно від хімічних властивостей використаного тіолу (наявності відповідних груп на кінці молекули) поверхні надають гідрофобних чи гідрофільних властивостей, а також можливості зшивання із рецепторними молекулами, як вже було описано вище. Мікроконтактний друк використовують і для прямого нанесення молекул протеїнів з використанням їх розчину в якості фарби. Молекули затримуються на поверхні підкладки за рахунок адсорбції та наявності у їх складі тіольних груп. Цікавим підходом отримання шарів біомолекул є афінний друк (*affinity-contact printing*), що полягає у селективному нанесенні протеїнів з використанням штаму з пришитими афінними групами. Поверхню штампу попередньо активують кисневою плазмою для отримання сіланольних груп (-Si-OH) до яких в подальшому пришивають триалкоксисилани модифікованими для ковалентного зв'язування антитіл. Отриманий штамп занурюють у розчин протеїнів, де за рахунок афінних взаємодій штамп «змочується» тільки необхідними білковими молекулами наприклад антигенами. Далі антигени транспортуються на підкладку через техніку м'якої літографії. Такий підхід дозволяє уникнути процесу попереднього виділення білка для його використання в сенсорі.

Більш детально з методами мікротоворення сенсорів та біосенсорів можна ознайомитись у додатковій літературі.

### *Запитання для самоконтролю:*

- Які типи взаємодій реалізуються у випадку не ковалентного зв'язування молекул із матеріалом підкладки?
- Як впливає рН та іонна сила розчину на сорбований молекулярний шар?
- Які обмеження не ковалентного зв'язування?
- В чому полягає ковалентне зв'язування при модифікації поверхні? Які його переваги?
- Який основний недолік використання зшивачів нульової довжини?
- Які переваги біополімерів у виготовленні чутливого шару сенсорів?
- Які групи повинні міститись у структурі полімеру, щоб його можна було віднести до активних з точки зору їх модифікації біомолекулами?
- Перерахуйте основні способи активації неактивних полімерів.
- Поясніть хімізм процесу модифікації поверхні кремній оксиду з використанням алкоксисиланів.
- Які речовини використовують для отримання моно шарів на поверхні металів?
- Перерахуйте переваги графіту як матеріалу підкладки.
- Які речовини використовують для отримання мономолекулярних шарів?
- Які властивості ПАР використовують для отримання бімолекулярних чутливих шарів?
- Яким чином ензим можна інтегрувати у молекулярні шари?
- Які особливості будови прекурсорів для отримання силікагелів?
- Перерахуйте основні переваги використання золь-гель технології для отримання молекулярних шарів сенсорів.
- Поясніть, чому катіони Кальцію сприяють утворенню гелю алгалу? Які взаємодії сприяють зшиванню ланцюгів полімера?
- Яку роль відіграє полімерна мембрана у конструкції сенсора?

- Які мембрани використовують для зменшення процесів вимивання ензимів із чутливого елемента?
- Опишіть способи отримання структур з біологічних молекул на поверхні підкладок.
- Який принцип афінного друку у сенсорних технологіях?

**Список використаної та рекомендованої літератури:**

1. Janata, J. (2010). *Principles of chemical sensors*. Springer Science & Business Media.
2. Banica, F. G. (2012). *Chemical sensors and biosensors: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.
3. Stutzmann, M., Garrido, J. A., Eickhoff, M., & Brandt, M. S. (2006). Direct biofunctionalization of semiconductors: A survey. *Physica status solidi (a)*, 203(14), 3424-3437.
4. Ottova, A. L., & Tien, H. T. (1997). Self-assembled bilayer lipid membranes: from mimicking biomembranes to practical applications. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 42(2), 141-152.
5. Trojanowicz, M., & Miernik, A. (2001). Bilayer lipid membrane glucose biosensors with improved stability and sensitivity. *Electrochimica acta*, 46(7), 1053-1061.
6. Gupta, R., & Kumar, A. (2008). Molecular imprinting in sol-gel matrix. *Biotechnology Advances*, 26(6), 533-547.
7. Chaudhury, N. K., Gupta, R., & Gulia, S. (2007). Sol-gel technology for sensor applications. *Defence Science Journal*, 57(3), 241.
8. Ulijn, R. V., Bibi, N., Jayawarna, V., Thornton, P. D., Todd, S. J., Mart, R. J., & Gough, J. E. (2007). Bioresponsive hydrogels. *Materials today*, 10(4), 40-48.
9. Gawel, K., Barriet, D., Sletmoen, M., & Stokke, B. T. (2010). Responsive hydrogels for label-free signal transduction within biosensors. *Sensors*, 10(5), 4381-4409.



10. Hierlemann, A., Brand, O., Hagleitner, C., & Baltes, H. (2003). Microfabrication techniques for chemical/biosensors. *Proceedings of the IEEE*, 91(6), 839-863.

### 3. ЕЛЕКТРОХІМІЧНІ СЕНСОРИ

#### 3.1. Загальна характеристика сучасних електрохімічних сенсорів

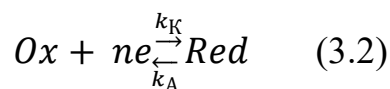
Електрохімічні сенсори мабуть є одними з найстаріших та найбільш розповсюджених груп хімічних сенсорів, про що свідчить високий рівень комерціалізації даних пристроїв і постійний науковий пошук у напрямку їх розробки та удосконалення. В основі функціонування електрохімічних сенсорів лежать закони електрохімії, яка як наука вивчає процеси переносу заряду між фазою електроду та іншою фазою, рідкою чи газоподібною. У процесі переносу заряду відбуваються хімічні зміни на поверхні електроду та у об'ємі зразку. Реакцію на поверхні та перенос самого заряду можна хімічно контролювати, що використовують у розробці електрохімічних сенсорів. Для електрохімічних сенсорів всіх типів існують наступні правила:

- Необхідне існування замкнутого електричного кола. У сенсорній системі повинні бути наявними як мінімум 2 електроди.
- Умова електронейтральності. У електрохімічній комірці сума позитивних та негативних зарядів має бути рівна 0.
- Транспорт заряду через трансдюсер та супутні складові частини сенсора повинен мати електронну природу. Натомість у зразку транспорт заряду може мати електронну, іонну чи змішану природу.

У останніх двох випадках процеси, що відбуваються на межі розділу фаз електрод/зразок є критичними факторами які визначають метрологічні характеристики та функціонування сенсора, оскільки у процесі відгуку має місце перехід від іонної провідності до електронної. Якщо через комірку чи електронно-іонний інтерфейс протікає електричний струм на межі розділу фаз відбуватиметься електрохімічна трансформація відома нам як електроліз, що описується законом Фарадея.

$$m = \frac{Q}{nF} \quad (3.1)$$

Хімічні зміни викликані проходженням заряду через поверхню електрода на якій електронна провідність металу перетворюється на іонну провідність у розчині. Загальне рівняння яке описує цей процес є окисно-відновним та характеризується відповідними константами швидкості реакцій на катоді та аноді:



Згідно рекомендацій IUPAC, *електрохімічні сенсори* – це пристрої які здатні трансформувати ефекти електрохімічної взаємодії аналіту з електродом у придатний для обробки сигнал. Ефекти можуть бути викликані електрикою або виникають спонтанно. До них віднесено наступні сенсори:

*Вольтамперометричні сенсори* включають у себе амперометричні пристрої в яких напруга вимірюється у постійно-струмовому чи змінно струмовому режимах, до сенсори можуть бути на основі хімічно-інертних електродів, хімічно-активних електродів та модифікованих електродів.

*Потенціометричні сенсори* – потенціал індикаторного електроду (ISE, Red-Ox, метал/металоксидний) вимірюють відносно електроду порівняння. ЕРС (електрорушійна сила) пропорційна логарифму концентрації визначуваної речовини.

*Хімічно сенсibilізовані транзистори ефекту поля* (польові транзистори). В даному типі сенсорів ефект взаємодії аналіту з активним шаром трансформується у зміну напруги стоку-витоку транзистора.

*Потенціометричні твердо-електролітні газові сенсори* – працюють у середовищі високих температур.

### 3.2. Потенціометричні сенсори.

Аналітичне визначення неорганічних та органічних аніонів завжди було у інтересах біомедичних наук, наук про навколишнє природне середовище та інтересах виробництва. Іон селективні сенсори завдяки своїй здатності проводити аналіз у режимі реального часу, у польових умовах та з достатньою селективністю отримали найбільше поширення у згаданих галузях. В принцип роботи іон селективних сенсорів покладено властивість іонів переносити електричний заряд, що вперше було використано в потенціометрії – електрохімічному методі аналізу у рівноважних умовах. Функціонування потенціометричних сенсорів, в основному, базується не на окисно-відновних низько селективних процесах, а на розподілі іонів на межі розділу двох фаз одна з яких є зразком, а інша – іон селективною мембраною – сконструйованою таким чином, щоб забезпечувати хімічну взаємодію із іоном аналіту. Іон селективна мембрана може являти собою тверде тіло, або розчин нанесений чи сорбований на інертний носій. За рахунок проходження реакції аналіту з мембраною відбувається неоднорідний розподіл іонів на межі розділу фаз, що веде до виникнення розподілу зарядів і як наслідок виникнення потенціалу сенсора – аналітичного сигналу потенціометричних сенсорів.

Окрім визначення іонів, потенціометричні сенсори знаходять використання і для аналізу сполук неіонного характеру. У такому випадку іон селективний сенсор відіграє тільки роль трансдюсера. Його поєднують із компонентом який реагує з аналітом утворюючи іонну сполуку, як наприклад у газових потенціометричних сенсорах чи біокаталітичних потенціометричних сенсорах, чутливий елемент яких містить у своєму складі ензими чи навіть цілі клітини.

### 3.2.1. Електроди порівняння в потенціометрії.

Згідно визначення потенціометричного сенсора електрод порівняння є невід'ємною та необхідною його частиною, оскільки вимірювання ЕРС гальванічного напівелемента є можливим тільки відносно другого стандартного напівелемента. З курсу аналітичної та фізичної хімії вам відомо, що для вимірювань стандартного потенціалу використовують водневий електрод. У сенсорах його застосування неможливе з огляду на конструктивні особливості, тому використовують вторинні електроди порівняння. В потенціометричних сенсорах електроди порівняння потрібні для забезпечення контакту із мембраною та для створення цілісного замкнутого вимірювального кола з мілівольтметром чи рН метром.

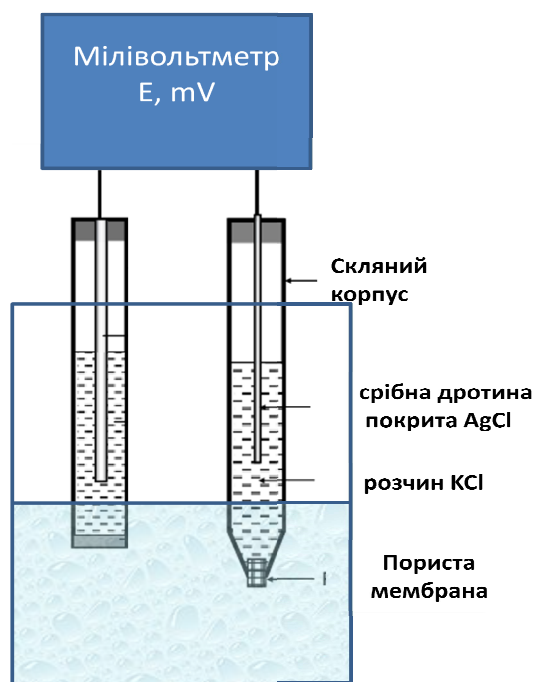


Рис. 3.1. Потенціометрична комірка та будова хлор-срібного електроду порівняння

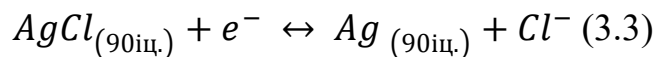
До вторинних електродів

порівняння висувають ряд вимог:

- Стабільність потенціалу.
- Відтворюваність потенціалу.
- Температурна стабільність.
- Відсутність гістерезису.
- Безперешкодний рідкий контакт (відсутність бульбашок)
- Мінімізація можливості отруєння електроду.
- Простота використання та обслуговування.

Стабільність та відтворюваність потенціалу електроду порівняння впливає на загальну точність та правильність отриманих результатів аналізу. Стабільності значень досягають підтриманням сталої концентрації аніона у внутрішньому розчині електроду порівняння. Так, хлорид-срібний електрод

порівняння являє собою срібну дротину покриту малорозчинною сполукою AgCl та зануреною у розчин KCl який через пористу мембрану контактує з досліджуваним розчином (див. рис. 3.1). Рівняння реакції такого напівелемента та рівняння Нернста наступні:



$$E_{Ag/AgCl} = E_{Ag/AgCl}^0 + \frac{RT}{F} \ln a_{Cl^{-}} \quad (3.4)$$

Де  $a_{Cl^{-}}$  - активність хлорид іонів у розчині, а  $E_{Ag/AgCl}^0$  – константа.

Активність твердих компонентів хлор-срібного електроду у рівняння Нернста не входить оскільки рівна 1. Якщо активність хлориду залишається сталою, то і потенціал електроду теж є стабільним. Згідно з рівнянням (3.3) система Ag/AgCl служить буфером електронів, тому будь яка зміна потенціалу електроду зсуває рівновагу. Таким чином потенціал електроду залежить тільки від концентрації KCl у внутрішньому розчині, що і використовують для його стабілізації. За подібним механізмом працює *каломельний електрод*  $Hg|Hg_2Cl_2(KCl)$  в якому внутрішнім розчином служить насичений KCl. Якщо хлорид іони заважають аналітичному визначенню шляхом забруднення розчину зразку, то використовують подвійний сольовий місток із підходящим електролітом, або ж застосовують *меркурій(I)/меркурій сульфатний електрод порівняння*  $Hg|Hg_2SO_4|K_2SO_4(нас)$ . Деякі характеристики відомих електродів порівняння представлено в таблиці 3.1.

Додатковим фактором, який впливає на стабільність потенціалу електроду порівняння є *дифузійний потенціал*. Дифузійний потенціал ( $\Delta\phi_D$ ) виникає на контакті сольового містка електроду порівняння і досліджуваного розчину та вносить свій вклад у загальну ЕРС комірки. Як правило він має невідоме та нестабільне значення і його неможливо врахувати.

Таблиця 3.1. Експлуатаційні можливості деяких електродів порівняння.

Тип	Напівелемент	Стандартний потенціал, мВ	Особливості використання
Каломельний	$Hg Hg_2Cl_2 KCl_{нас.}$	+244	$t_{max}$ 60 °С
Хлоридсрібний	$Ag AgCl KCl_{нас.}$	+198	$t_{max}$ 130 °С
Таламідний	$Hg, Tl TlCl KCl_{нас.}$	-517	$t_{max}$ 130 °С
Меркурійсульфатний	$Hg Hg_2SO_4 K_2SO_4 1M$	+641	$t_{max}$ 130 °С електроліт без хлориду

Розглянемо механізм виникнення дифузійного потенціалу на прикладі процесів, що відбуватимуться у проникній діафрагмі (сольовому містку) розміщеної між розчином соляної кислоти та водою. За рахунок різниці у концентраціях (активностях) хлорид іони та протони почнуть дифундувати у напрямку дистильованої води (див. рис. 3.2). Рухливість протонів набагато вища за рухливість хлорид іонів тому виникають області збагачені позитивно зарядженими протонами та негативно зарядженими хлорид іонами. Як наслідок з'являється подвійний електричний шар, що дає приріст у дифузійному потенціалі  $\Delta\varphi_D$ . Під впливом потенціалу рух протонів сповільнюється а хлорид іонів пришвидшується і система урівноважує сама себе. Рухливість деяких катіонів та аніонів наведено у додатку 1.

Даний ефект має негативний наслідок для аналізу і вносить суттєву похибку. Так, для сенсора із чутливістю у 59 мВ/декаду дифузійний потенціал у 3 мВ викликатиме похибку визначення на 0,05 одиниць рХ, що в концентраційному виразі складатиме 12 %. Катіон  $K^+$  володіє рухливістю близькою до рухливості  $Cl^-$  тому використання хлориду калію дозволяє

отримувати низькі значення дифузійного потенціалу. Значна різниця між мобільністю протону та хлорид іону викликає високе значення  $\Delta\varphi_D$  на межі

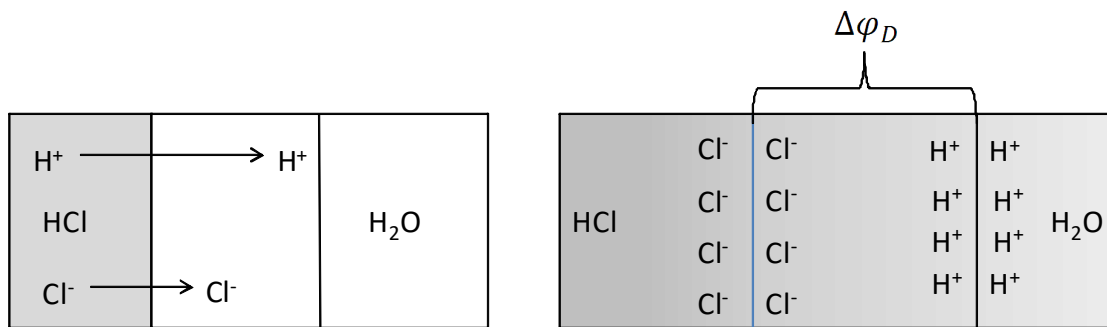


Рис. 3.2. Схема виникнення подвійного дифузійного шару у розчині HCl який контактує з водою через напівпроникну мембрану.

Контакту з розведеним хлоридом калію, і практично усувається з використанням його насиченого розчину. Додатковим прийомом нівелювання небажаного дифузійного потенціалу є використання електроду порівняння з подвійним сольовим містком (double-junction reference electrode) заповненого розчином іонів з однаковою рухливістю. Оскільки на кінцях містка виникають однакові за значенням та протилежні за знаком дифузійні потенціали то вони нівелюють один одного.

Важливою вимогою до електродів порівняння є відсутність гістерезису потенціалу під впливом зміни температури. Гістерезис виникає в наслідок розчинення малорозчинної солі з дротини за рахунок утворення комплексів (наприклад  $[AgCl_2]^-$ ) і проявляється у поганій відтворюваності потенціалу електрода при збільшенні чи зменшенні температури розчину. Усувають гістерезис додаванням до внутрішнього розчину частково відновленого AgCl чи іншої відповідної малорозчинної солі.

### 3.2.2 Будова потенціометричних сенсорів.

У потенціометричних сенсорах використовують різні типи мембран: такі як твердотільні мембрани (зрізи монокристалів, пресовані таблетки порошків важкорозчинних солей, скло) та рідинні чи пластифіковані мембрани. Для



забезпечення надійного електричного контакту в виробництві іон-селективних сенсорів використовують два підходи: з використанням прямого контакту та з внутрішнім розчином який виконує функцію рідинного контакту (див. рис 3.3). Основними перевагами рідкого контакту вважають низький дрейф потенціалу, можливість регулювання положення ізопотенційної точки та простоту конструкції. До недоліків відносять низьку механічну стійкість, дрейф потенціалу у випадку нестабільності внутрішнього розчину та можливість протікання мембрани в разі її механічного пошкодження. Роль внутрішнього електроду порівняння виконує срібна дротина вкрита малорозчинним хлоридом срібла, що являє

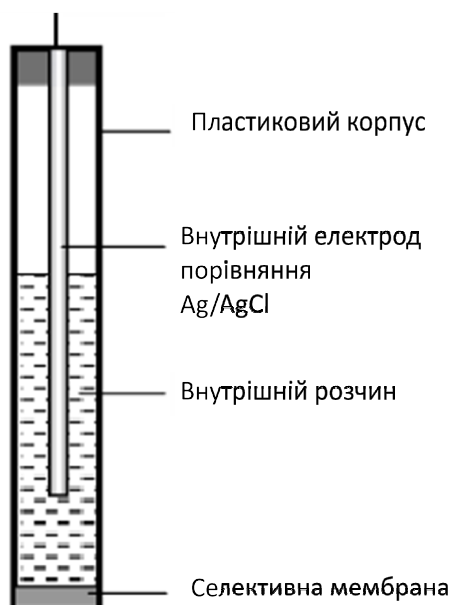


Рис. 3.3. Конструкція потенціометричного сенсора із рідким контактом

собою електрод другого роду, потенціал якого залежить від активності хлорид іонів у внутрішньому розчині. Ізопотенційна точка це значення концентрації аналіту при якій потенціал сенсора не залежить від температури. Внутрішній розчин містить відомі концентрації іонів аналіту, та іону, що визначає потенціал електроду другого роду (наприклад  $\text{Cl}^-$ ) і це дозволяє контролювати значення ізопотенційної точки сенсора та

досягти стабільності роботи. Результат аналізу проб із концентрацією аналіту близькою до ізопотенційної точки сенсора буде містити найменшу похибку спричинену коливаннями температури. Тому склад внутрішнього розчину підбирають таким чином, щоб ізопотенційна точка знаходилась на середині градувального графіка. Оскільки крутизна електродної функції (чутливість сенсора) відрізняється при різній температурі розчинів досить суттєво навіть у межах  $10\text{ }^\circ\text{C}$ , що впливає на точність отриманого результату

для проб на кінцях градуовального графіку, використовують температурну компенсацію передбачену у сучасних потенціометрах та іономірах. Окремий датчик температури занурюють у середовище аналізу а прилад автоматично коректує чутливість сенсора відповідно до температури проби.

Для твердо-тільних електродів з іонною провідністю використовують твердий контакт з епоксидної смоли у суміші з металічним сріблом. Наприклад, у сенсорах виготовлених з  $\text{Ag}_2\text{S}$ ,  $\text{AgI}$ , або сумішей з  $\text{CuS}$ ,  $\text{CdS}$  чи  $\text{PbS}$  такий контакт забезпечує перехід від іонної до електронної провідності. Схему переходу типу провідності приведено на рис. 3.4. для аргентум сульфідного (а) та лантан фторидного сенсорів (б). У фторидного сенсора забезпечення стабільного електричного контакту досягається додаванням  $\text{AgF}$  до складу епоксидного контакту. Питання надійності контакту є критичним, оскільки визначає стабільність сенсора, його довговічність та дрейф і є важливим фактором у розробці *іон селективних польових транзисторів*.

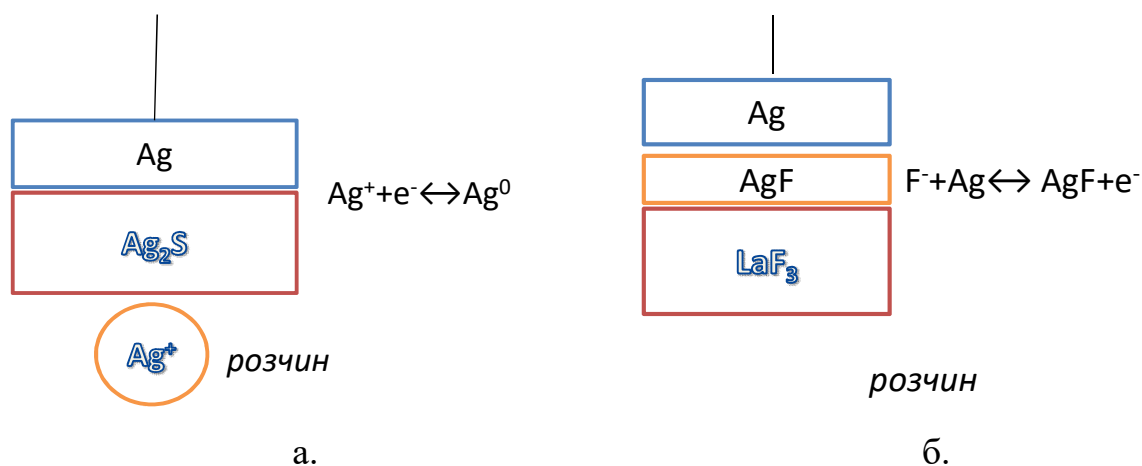


Рис. 3.4. Схема переходу іонної провідності в електронну на межі розділу фаз у чутливому елементі із твердим контактом: а.- аргентум сульфідний сенсор, б.- лантан фторидний сенсор.

### 3.2.3. Метрологічні характеристики потенціометричних сенсорів. Селективність.

Розглянемо деякі метрологічні характеристики потенціометричних сенсорів. Окрім чутливості, або ж крутизни електродної функції, відгук потенціометричного сенсора прийнято характеризувати межами лінійності градуовальної характеристики, межею визначення (див. рис. 3.5). Межа визначення в потенціометричних сенсорах, на відміну від інших типів сенсорів, визначається концентрацією аналіту, яку можна визначити із 50% похибкою. Саме тому на приведеному рисунку межа визначення вказана як логарифм концентрації при якій відхилення від прямолінійності градуовального графіка складає  $18/z$  мВ. Межі лінійності – це інтервал концентрацій в якому зберігається постійне значення крутизни і для потенціометричних сенсорів може складати інтервал у 7 порядків.

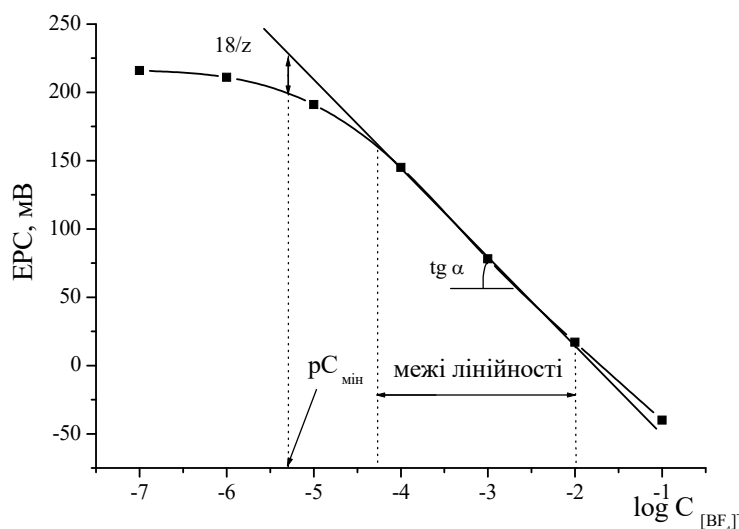


Рис. 3.5. Основні метрологічні характеристики тетрафторборат селективного сенсора.

*Селективність методу, методики та хімічного сенсора* визначає надійність отриманих результатів та коло придатних для аналізу об'єктів. Для потенціометричних сенсорів прийнято характеризувати селективність відповідними коефіцієнтами потенціометричної селективності чи їх

логарифмічними значеннями. Коефіцієнт потенціометричної селективності вказує максимальне граничне співвідношення концентрацій інтерференту до аналіту при якому можливим є проведення аналізу з заданою ступеню достовірності. Існують різні алгоритми і методики визначення та розрахунку  $pK^{pot}_{I,J}$ , які не завжди дають однакові та однозначні результати. Рекомендації IUPAC містять декілька методів визначення  $pK^{pot}_{I,J}$  які діляться на дві групи методів, а саме методи змішаних розчинів та методи розділених розчинів. Вплив сторонніх компонентів на аналітичний сигнал ІСЕ описується рівнянням Нікольського-Ейзенмана яке має наступний вигляд:

$$E = E_0 \pm \frac{R \cdot T}{z_A \cdot F} \ln \left[ a_A \pm \sum_{a_B} K_{A,B}^{pot} (a_B)^{z_A/z_B} \right] \quad (3.5)$$

де  $E$ -вимірне значення ЕРС,  $E_0$  – стандартний потенціал комірки, що включає в себе потенціал ІСЕ, потенціал електроду порівняння та потенціал присутніх в комірці контактних з'єднань (junction potential),  $z_A$  та  $z_B$  заряд іону аналіту А та іону інтерференту В відповідно,  $a_A$  та  $a_B$  активності відповідних іонів,  $K_{A,B}^{pot}$  коефіцієнт селективності іону аналіту А стосовно стороннього іону В. Якщо значення  $K_{A,B}^{pot}$  більше 1, то ІСЕ більш чутливий до інтерференту.

Використання даного рівняння Нікольського-Ейзенмана для опису селективності має ряд обмежень оскільки потребує виконання Нернстівського відгуку, як до іону аналіту, так і до іону інтерференту, що в свою чергу досить рідко спостерігається на практиці. Крім цього, рівняння не дає змоги враховувати форму електродної функції (катіонну чи аніонну), що вносить непорозуміння стосовно розрахунку коефіцієнтів потенціометричної селективності. Тому для опису складних систем, що містять іони протилежних зарядів, користуються більш ускладненими рівняннями. Серед відомих чотирьох модифікацій методів змішаних розчинів найбільш придатним для розрахунку селективності вважається метод рівноцінних

потенціалів (*Matched potential method*), який не залежить від рівняння Нікольського-Ейзенмана і рекомендований IUPAC.

**Метод розділених розчинів.** Розрізняють два варіанти методу розділених розчинів: за умови рівності активностей аналіту та інтерференту ( $a_A = a_B$ ) та рівності  $EPC$  у розчинах аналіту та інтерференту ( $EPC_A = EPC_B$ ). Метод розділених розчинів за умови однакових активностей полягає у вимірюванні  $EPC$  розчину, що містить тільки іони аналіту  $EPC_A$  з відомою активністю та окремо розчину, що містить тільки іони інтерференту  $EPC_B$  з такою ж самою активністю ( $a_A = a_B$ ) (див. рис. 3.6). Знаючи величини  $EPC_A$  та  $EPC_B$ , розрахунок проводять за наступною формулою :

$$pK_{A,B}^{pot} = \frac{(EPC_B - EPC_A) \cdot z_A \cdot F}{R \cdot T \ln 10} + (1 - z_A / z_B) \lg a_A \quad (3.6)$$

У випадку виконання умови ( $EPC_A = EPC_B$ ), що досягається шляхом одержання залежностей  $EPC$  від  $\log a$ , знаходять значення  $a_A$  та  $a_B$ , для яких виконується зазначена умова ( $EPC_A = EPC_B$ ). Після чого отримані значення  $a_A$  та  $a_B$  підставляють у формулу (3.6).

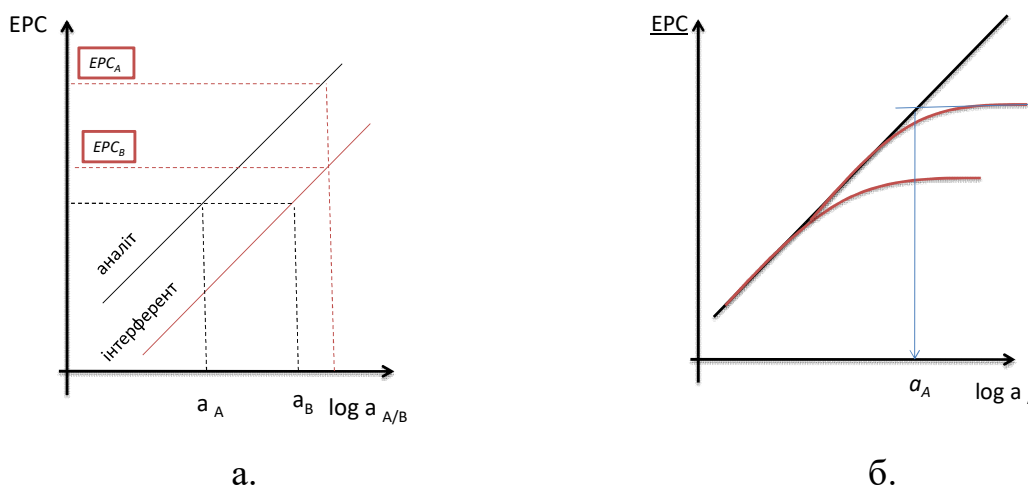


Рис. 3.6. Графічне представлення методів визначення потенціометричної селективності сенсорів: а- метод розділених розчинів, б- метод змішаних розчинів.

**Метод змішаних розчинів. Метод фіксованого інтерференту.** Вимірювання  $EPC$  проводять при сталій активності інтерференту  $a_B$  та змінній активності аналіту. Значення отриманих потенціалів наносять на

графік у вигляді залежності  $EPC$  від логарифму активності аналіту  $A$ . Шляхом знаходження точки перетину після екстраполяції прямолінійних ділянок отриманого графіку знаходять значення  $a_A$ , яке фактично є межею визначення аналіту  $A$  в присутності даної інтерференту  $B$  з певною активністю та використовують для розрахунку коефіцієнтів потенціометричної селективності з наступного рівняння:

$$K_{A,B}^{pot} = a_A / (a_B)^{z_A / z_B} \quad (3.7)$$

де  $a_B$  – активність інтерференту у розчині, а  $z_A$  та  $z_B$  – відповідні заряди іонів аналіту та інтерференту.

В багатьох методах хімічного аналізу рН зразка або підготовленої до аналізу проби відіграє суттєву роль, а в деяких випадках є фактором, який визначає селективність. Використання потенціометричних сенсорів не є винятком в цьому відношенні. Для успішного використання сенсорів на практиці необхідним є *знання робочого діапазону кислотності середовища* який практично є характеристикою селективності потенціометричного сенсора до іонів  $OH^-$  та  $H_3O^+$ . Прийнято вважати, що *робочою областю рН* є область значень за яких зберігається стає значення  $EPC$  та відгук до аналіту. Проте, на прикладі тетрафторборат селективних сенсорів було показано, що в залежності від природи активної речовини у складі чутливої мембрани, діапазон може бути розширено у кислу область (див. рис. 3.7). Так сенсор чутливий до тетрафторборат іону на основі катіонного барвника із  $pK_B=8$  зберігає відгук до тетрафторборату у сильно кислих середовищах не зважаючи на зміну абсолютних значень  $EPC$ .

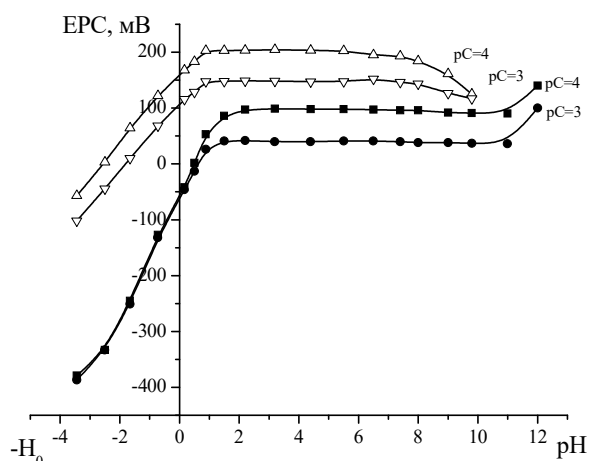


Рис. 3.7. Порівняння робочих рН областей  $\text{VF}_4$ -сенсора на основі різних активних речовин з делокалізованим зарядом.

### 3.2.4. Скляний електрод, твердотільні та пластифіковані мембранні сенсори. Активні речовини та рецептори.

Скляний потенціометричний сенсор рН вважають найстарішим і найбільш важливим потенціометричним сенсором. Історія скляного електроду почалася у 1906 році із дослідів Кремера який моделював поведінку живих мембран з використанням скла. У 1909 році Хабер та Клеменсієвич виготовили вимірювальну комірку з використанням м'якого скла в якості мембрани. За двадцять років по тому Мак Іннес та Дол опублікували чітку пропорцію рН чутливого скла яке далі комерційно протягом багатьох років використовувалося під назвою Корнінг 115 з складом 72%  $\text{SiO}_2$ , 22%  $\text{Na}_2\text{O}$  та 6%  $\text{CaO}$ . Скло даного складу є чутливим до протонів в зв'язку існуванням дефектів у матриці  $\text{SiO}_2$ , за рахунок домішок катіонного характеру. Під час контакту мембрани з водою на поверхні скляної бульбашки з'являється гідратований шар товщиною 50-100 нм, а хімічний склад гідратного шару містить компоненти скла у тих самих співвідношеннях, що і в сухому склі. Опір скляної мембрани досить високий 10-15 МОм, тому для вимірювання рН використовують прилади з високим

вхідним опором – рН-метри. Гідратований шар (див. рис. 3.8) володіє іонообмінними властивостями за рахунок хаотично розміщених на його поверхні груп Si-O<sup>-</sup>. Позитивно заряджені іони здатні вільно проникати у гідратований шар, натомість аніони, за рахунок електростатичного відштовхування, у нього не проникають, тобто гідратований шар виконує функцію напівпроникної мембрани. Тому напівелемент для скляного електрода записують як:

Ag/AgCl, 0,1 М НСl|гідратований шар|сухе скло|гідратований шар|зразок

Швидкість дифузії Н<sup>+</sup> в гідратованому шарі набагато вища ніж у катіона лужного металу, що є додатковим фактором підвищеної селективності скляного рН сенсора.



Рис. 3.8. Будова гідратованого шару скляного рН сенсора.

У склі переносником заряду є катіон металу оскільки протон має майже нульову рухливість у склі. Таким чином, потенціал скляного потенціометричного сенсора визначається процесами іонного обміну та дифузією у гідратованому шарі та сухому склі і описується рівнянням Нікольського-Езеймана.

$$E = E_0 + \frac{R \cdot T}{F} \ln \left[ a_{H^+} + K_{Me^+, H^+}^{pot} \cdot a_{Me^+} \right] \quad (3.8)$$

Де  $K_{Me^+, H^+}^{pot}$  - коефіцієнт селективності до катіона лужного металу.

Скляний електрод є найбільш селективним потенціометричним сенсором. Експериментально було показано відгук сенсора на 36 порядків зміни концентрації протонів. Проте, як бачимо у рівнянні (3.8) фігурує коефіцієнт селективності до катіону лужного металу. Тому незважаючи на високу



селективність сенсора при  $pH > 11$  виникає «лужна похибка», яку можна усунути зміною складу скла.

Переваги та недоліки потенціометричних скляних pH сенсорів:

- Рівняння Нернста (лінійність відгуку) виконується у межах pH 2-12.

- Стабільність потенціалу  $\pm 1$  мВ/тиждень.

- Можливість оптимізації ізопотенційної точки  $pH_{iso}$ .

- Нечутливість до Red-Ox систем.

- Температура експлуатації до 130 °С.

- Форму скляної бульбашки можна адаптувати до певних умов аналізу чи стану проби.

- Час життя при правильній експлуатації як мінімум 1 рік.

Проте:

- Виробництво сенсора не може бути автоматизоване.

- Кожен окремий сенсор має власні параметри, що треба враховувати при їх калібруванні.

- Необхідність періодичного калібрування.

- Не витримують експлуатації в кислих  $F^-$  вмісних розчинах.

- Високо гігроскопічні сполуки «витравлюють» гідратований шар, що призводить до виходу сенсора з ладу.

- ПАР модифікують гідратований шар та змінюють функцію сенсора.

*Халькогенідні стекла* також використовують для виготовлення селективних мембран для визначення аніонів та катіонів. Дані стекла містять високі вмісти халькогенідів таких як сульфур, селен, телур і являють собою аморфні напівпровідники із шириною забороненої зони 1-3 еВ. Основна різниця між халькогенідними та оксидними стеклами полягає у природі хімічного зв'язку. У оксидних стеклах зв'язок «оксисен – метал» слабо іонний, у халькогенідних стеклах зв'язок «метал – халькоген» має виражений ковалентний характер. Отримують такі стекла сплавленням у вакуумі при температурах 500-1200 К протягом 5-20 годин. Мембрани являють собою відполіровані зрізи стекел товщиною 1-2 мм, приклеєні до торця трубки,

контакт забезпечується нанесенням металу на внутрішню сторону скла та приклеюванням дротини з використанням електропровідного клею. До складу скла входить цільовий елемент – аналіт з додаванням Ga, Ge, As чи Sb.

Основною перевагою використання халькогенідних стекел є можливість виготовлення механічно стійких сенсорів до  $Fe^{3+}$  та Cr(VI) та інших аналітів для яких не можна виготовити сенсори з їх нерозчинних солей.

Перед використанням сенсори кондиціонують у розчині аналіту в процесі чого проходить модифікація поверхні з утворенням гідратованого напівпроникного шару. Завдяки напівпровідниковій природі стекел виникнення внутрішнього дифузійного потенціалу може відбуватись як за рахунок електронів (*n*-провідність,) так і за рахунок вакансій *p*-провідність. Типові приклади сенсорів на основі халькогенідних стекел представлені в Таблиці 3.2.

Таблиця 3.2. Халькогенідні матеріали як чутливі елементи потенціометричних сенсорів.

Аналіт	Склад скла	Чутливість, мВ/рС	Межа виявлення, М
$Na^+$	$NaCl - Ga_2S_3 - GeS_2$	50-55	$10^{-5}$
$Cu^{2+}$	$Cu - Ag - As - Se$	27-29	$10^{-7}$
$Zn^{2+}$	$ZnTe - ZnSe - GeS_2$	22-41	$10^{-6}$
$S^{2-}$	$Ag_2S - As_2S_3$	45-50	$10^{-7}$
$Br^-$	$AgBr - Ag_2S - As_2S_3$	57-60	$10^{-7}$

Окрім скляного електроду, який є класичним прикладом потенціометричного сенсора, не меншої уваги заслуговує *фторид селективний сенсор*, розробка якого у 1966 році спричинила відродження потенціометрії як методу аналізу. Визначення  $F^-$  просто та селективно не є простим завданням, тому фторид селективний сенсор є незамінним для цих цілей. Фторид селективний сенсор складається із монокристалу фториду лантану  $LaF_3$ . Провідність монокристалу дуже низька і для її збільшення його допують Європієм на стадії вирощування кристалу із розплаву.

Кристалічний  $LaF_3$  володіє гексагональною структурою ґратки яку можна уявити як чергування шарів  $LaF_2^+$  із шарами  $F^-$ . Переміщення фторид іонів у ґратці пов'язано з наявністю в ній дефектів – вакантних місць та відбувається стрибкоподібно. Допування з  $EuF_2$  збільшує кількість дефектів, що веде до збільшення провідності. Формування мембранного потенціалу відбувається за рахунок перерозподілу фторид іонів на межі розділу фаз між кристалом та розчином, що визначається концентрацією фториду у розчині (див. рис. 3.9).

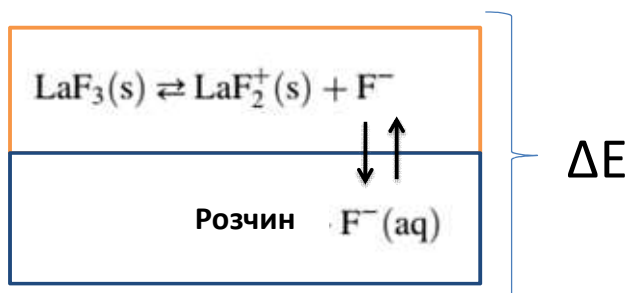


Рис. 3.9. Схема виникнення аналітичного сигналу у фторид селективному сенсорі на монокристалі  $LaF_3$

Замість іонів фтору, що перейшли в розчин, в монокристалі залишаються позитивно заряджені вакансії в кристалічній ґратці, а кількість цих вакансій залежить від активності  $F^-$ . Аніоном, що може зайняти місце  $F^-$  є  $OH^-$  який практично є єдиним інтерферентом, тому робочий діапазон  $F^-$  селективного сенсора лежить у межах рН 3-7, а аналіз проводять з використанням буферу з рН 5,5. Фторид селективний сенсор використовують для аналізу розчинів, що містять від 0,1 до 2000 мг/л. Рівняння Нернста для лантан фторидного електроду буде мати наступний вигляд:

$$E = E^0 - \frac{R \cdot T}{F} \ln \left[ a_{F^-} + K_{F^-, OH^-}^{pot} \cdot a_{OH^-} \right] \quad (3.9)$$

Класичним прикладом сенсорів на основі нерозчинних солей є сенсор з порошкоподібного  $Ag_2S$  який легко пресується в таблетки з достатньою механічною стійкістю. Механізм виникнення сигналу такий самий як і в фторидному сенсорі, але провідність таблетки зумовлена рухом катіонів срібла. Оскільки розчинність сульфід срібла залежить від концентрації  $Ag^+$

та  $S^{2-}$  у розчині, то сенсор реагує і на сульфід іон, що можна виразити через добуток активностей наступним чином:

Рівняння Нернста для аргентум сульфідного сенсора має наступний вигляд

$$E = E^0 + 59,1 \cdot \lg a_{Ag^+} \quad (3.10)$$

З іншого боку активність  $Ag^+$  та  $S^{2-}$  у розчині виражаються через добуток активностей:

$$DA_{Ag_2S} = a_{Ag^+}^2 \cdot a_{S^{2-}} \quad (3.11)$$

звідси випливає

$$a_{Ag^+} = (DA_{Ag_2S}/a_{S^{2-}})^{\frac{1}{2}} \quad (3.12)$$

замінивши  $a_{Ag^+}$  у рівнянні Нернста отримаємо

$$E = E^0 + 59,1 \cdot \lg(DA_{Ag_2S}/a_{S^{2-}})^{\frac{1}{2}} \quad (3.13)$$

після спрощення рівняння значення  $\lg DA_{Ag_2S}$  увійде у константу  $E^{01}$  і ми отримаємо наступний вираз:

$$E = E^{01} - 29,6 \cdot \lg a_{S^{2-}} \quad (3.14).$$

З приведених рівнянь видно, що активність  $S^{2-}$  визначає активність катіонів  $Ag^+$  на поверхні сенсора та впливає на потенціал мембрани, не зважаючи на те, що саме  $Ag^+$  є мобільним іоном у мембрані і відіграє роль потенціал-утворюючого іона.

Існує цілий ряд пресованих порошкових мембран, які є сумішами сульфідів срібла з іншими малорозчинними солями (таблиця 3.3). Сульфід срібла забезпечує провідність мембрани, а інша сіль відповідає за селективність сенсора. Відгук таких сенсорів формується за рахунок перерозподілу іонів срібла на межі розділу фаз згідно рівняння (3.10), а чутливість до інших компонентів мембрани визначається добутком розчинності солі, величина якого повинна перевищувати ДР сульфідів срібла. Альтернативним підходом у виготовленні твердотільних сенсорів є використання замість монокристалів органічної матриці чи спресованих

таблеток. Активною речовиною залишається порошок малорозчинної солі, а роль матриці виконує полімер. Як матрицю використовують синтетичний силіконовий каучук, ПВХ, поліетилен. Історично дані потенціометричні сенсори отримали назву сенсорних мембран по Пунгору, в честь угорського хіміка Єрно Пунгора, який вперше запропонував такий підхід до їх виготовлення. Метрологічні характеристики сенсорних мембран по Пунгору практично не відрізняються від монокристальних чи порошкових сенсорів, але мають перевагу за рахунок простоти виготовлення, і тому отримали комерційне використання. Ще одним з методів отримання сенсорів є втирання порошкових активних речовин на торець графітового стержня. Далі стержень гідрофобізують та використовують як сенсор. Зручність такого підходу полягає у простоті та можливості заміни активної речовини, що використовують у попередніх скрінінгових дослідженнях.

**Таблиця 3.3.** Склад мембран деяких комерційних та некомерційних твердотільних сенсорів.

Аналіт	Комерційний сенсор	Порошок чи монокристал	Порошок в органічній матриці
$Cl^-$	$AgCl/Ag_2S$	$Hg_2Cl_2/HgS, AgCl$	$AgCl$
$Br^-$	$AgBr/Ag_2S$	$Hg_2Br_2/HgS, AgBr$	$AgBr$
$I^-$			
$CN^-$	$AgI/Ag_2S$	$AgI$	$AgI$
$Hg^{+2}$			
$SCN^-$	$AgSCN/Ag_2S$	$Hg_2(SCN)_2/HgS, AgSCN$	$AgSCN$
$S^{2-}$	$Ag_2S$	$Ag_2S$	$Ag_2S$
$Cu^{2+}$	$Cu_xS/Ag_2S$	$CuSe$	$Cu_xS/Ag_2S$
$Pb^{2+}$	$PbS/Ag_2S$		$PbS/Ag_2S$
$Cd^{2+}$	$CdS/Ag_2S$		$CdS/Ag_2S$

Аналітичні можливості твердотільних чутливих елементів визначаються наявними в них дефектами та місцями зв'язування, що реагують з іонами розчину. Селективність таких сенсорів визначається структурою матриці тому можливості її підвищення обмежені. Альтернативою твердим мембранам є сенсори, що використовують селективне зв'язування з цільового аналіту з *молекулярним рецептором*. Для отримання мембрани *молекулярний рецептор* включений у матрицю (як правило полімерну) проникну для аналіту, а самі сенсори мають назву полімерних мембранних сенсорів (електродів). У склад таких мембран входять молекулярні рецептори які поділяють на дві групи:

*Заряджені іонні рецептори* відомі як *іонообмінники*, забезпечують іонний обмін між двома фазами, що не змішуються між собою, наприклад, водний розчин – органічний розчинник в якому розчинено іонообмінник. У фазі мембрани рецептор знаходиться разом з протиіоном у вигляді незарядженого іонного асоціату (*IA*).

*Нейтральні рецептори* (нейтральні переносиці, *іонофори*) – генерація аналітичного сигналу відбувається за рахунок утворення хімічного зв'язку між іонофором та аналітом. Іонофори можуть бути як природного так і синтетичного походження.

На початкових етапах розвитку потенціометричних сенсорів з молекулярними рецепторами, їх використовували у формі розчину нанесеного на пористий диск із полімерного матеріалу – так звані *рідкі мембрани*. Із початком використання полімерів в якості матриць та розвитком *полімерних мембранних іон селективних сенсорів* такий підхід відійшов на другий план як незручний. Процес виготовлення пластифікованих мембран досить простий. У кільце зважують певні кількості активної речовини, ПВХ та пластифікатора. Розчиняють цю суміш у органічному леткому розчиннику (ТГФ, толуол, циклогексанон). Після випаровування розчинника отриману мембрану вирізають і приклеюють до торця трубки яку заповнюють внутрішнім розчином. Метрологічні

характеристики залежать від кількісного складу мембрани, який з іншого боку визначає її механічні властивості. Окрім ПВХ у мембранах знайшли використання модифікований ПВХ, силікони, поліуретани та полістирени. Склад полімерних мембран потенціометричних сенсорів в основному близький до: 1% активного рецептора, 35 % ПВХ та 74 % пластифікатора. Пластифікатор робить матрицю пластичною та відіграє роль розчинника для рецептора та інших компонентів чутливого елемента. Пластифікатор визначає основні характеристики сенсора на основі іонного рецептора (іонообмінник), що пов'язано із розподілом аналіту між пластифікатором у фазі мембрани та водним розчином. На даний момент найбільш поширеними пластифікаторами є о-нітрофенілоктиловий ефір та дибутилсебацінат (див рис. 3.10), рідше використовують похідні нафталіну чи ефіри фталевої кислоти. Час життя полімерних мембранних сенсорів визначається процесами вимивання компонентів мембрани у розчин та як правило складає від декількох місяців до одного року.

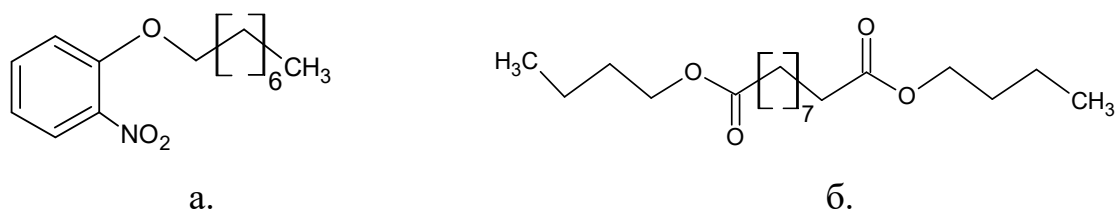
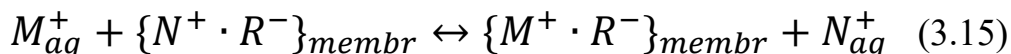


Рис. 3.10. Структурні формули пластифікаторів: о-нітрофенілоктиловий ефір (а) та дибутилсебацінат (б)

Деякі із поширених *іонних рецепторів* представлені на рис. 3.11. Кальцієвий потенціометричний сенсор містить у складі мембрани дволанцюговий ефір фосфатної кислоти (3.11 а). За рахунок різниці у коефіцієнтах розподілу мембрана на базі цього рецептора селективно реагує на  $\text{Ca}^{2+}$  у присутності  $\text{Mg}^{2+}$ . Позитивно заряджені іонні рецептори використовують для розробки мембран чутливих до аніонів. Селективність таких сенсорів переважно визначається ліпофільністю іону і тому досить низька, що в деяких випадках потребує операцій попереднього розділення

інтерферентів. Для визначення аніонних ПАВ у склад мембрани включають четвертинні амонієві солі.

У механізмі функціонування полімерних сенсорів з використанням іонних рецепторів лежить процес іонного обміну за участю іонів  $M^+$  у розчині та іону  $N^+$  у фазі мембрани з іонним рецептором  $R^-$ :



Рівновага іонного обміну описується константою іонного обміну та відповідними коефіцієнтами розподілу:

$$K = \frac{K_{p,M^+}}{K_{p,N^+}} = \frac{[M_{memb}^+][N_{aq}^+]}{[M_{aq}^+][N_{memb}^+]} \quad (3.16)$$

Екстракція у гідрофобну фазу починається із процесу дегідратації з подальшою сольватацією у органічній фазі. Енергія гідратації значно вища за енергію сольватації, тому коефіцієнт розподілу катіона в основному залежить від його енергії гідратації.

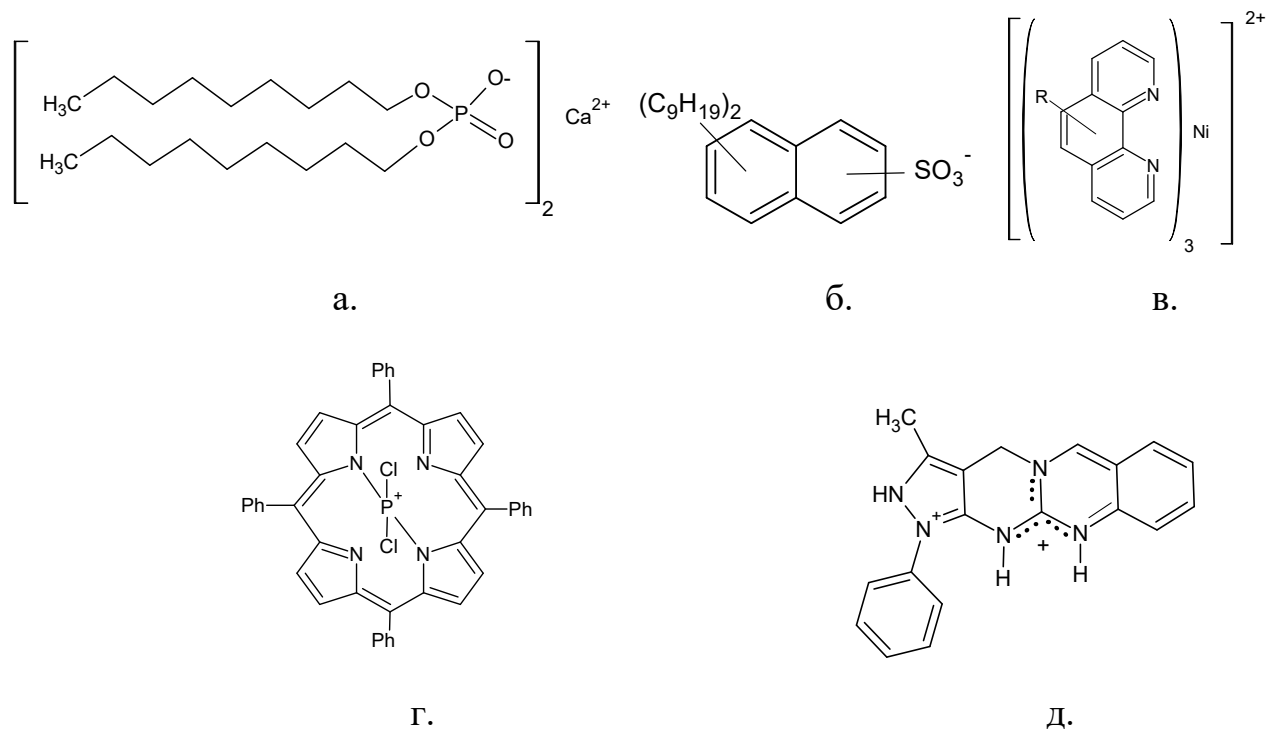
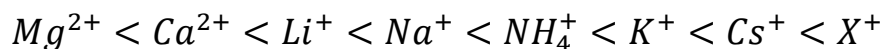


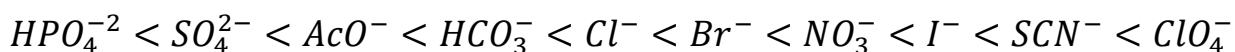
Рис. 3.11. Деякі поширені у потенціометричних мембранних сенсорах іонообмінні рецептори на відповідні аналіти: а.- диалкілфосфат ( $Ca^{2+}$ ), б.- динонілнафтилульфонат (катіони), в.- фенантролінат нікелю ( $NO_3^-$ ) г.- похідне порфірину ( $ClO_4^-$ ), д.- похідне гуанідінію ( $HSO_3^-$ ).



Коефіцієнт розподілу із зменшенням ступеня гідратації зростає, що пов'язано із збільшенням розміру іона та зменшенням його заряду, що відповідає ряду Гофмейстера в якому катіони розміщені у порядку зростання їх ліпофільності:



Де  $X^+$  органічний ліпофільний катіон. Щодо ліпофільності органічних катіонів, то вона залежить від наявності замісників у молекулі, та в основному веде до сильної сольватації молекул органічним розчинником у фазі мембрани, що компенсує гідратацію. Іншими словами, молекулам органічних катіонів енергетично вигідно знаходитись у фазі мембрани (органічному розчиннику). Екстракція аніонів у органічну фазу теж описується відповідним рядом Гофмейстера:



Таким чином селективність сенсорів з іонообмінним механізмом залежить від енергії гідратації відповідного іона і може бути прогнозована з використанням коефіцієнтів розподілу між водною та органічною фазами. Незважаючи на низьку селективність, та неможливість її суттєвого регулювання, такі сенсори знайшли широке застосування у аналізі катіонів та аніонів.

*Пластифіковані мембранні сенсори на основі нейтральних переносників (іонофорів, нейтральних рецепторів).* Іонофори це ліпофільні сполуки, що зв'язують іони та транспортують їх через мембрани клітин та, як правило, являють собою циклічні та нециклічні макромолекули. Тому перші використані у потенціометричних сенсорах *нейтральні рецептори валіноміцину та нонактин* (див. рис. 3.12) мали природне походження.

*Валіноміцин* – циклічний поліпептид винятково селективно зв'язує катіон калію і використовується у калій селективному сенсорі. Селективність валіноміцину пояснюється співрозмірністю катіона  $K^+$  з циклом молекули, та взаємодією з полярними С=О групами. Менші за розміром катіони реагують

з меншою кількістю C=O груп, а більші за розміром не поміщаються в макроцикл.

*Нонактин* проявляє більшу спорідненість до катіону амонію ніж калію завдяки утворенню водневих зв'язків з атомами кисню розвернутими у середину циклу.

Таким чином селективність таких рецепторів залежить від складності хімічної будови рецептора, природи його взаємодії з аналітом та стеричних ефектів по типу взаємодії “ключ-замок”.

Здатність нейтрального рецептора розпізнавати той чи інший іон залежить від перебігу та типу хімічної реакції. Найпростішим випадком є виникнення електростатичної взаємодії між частинками з протилежним зарядом.

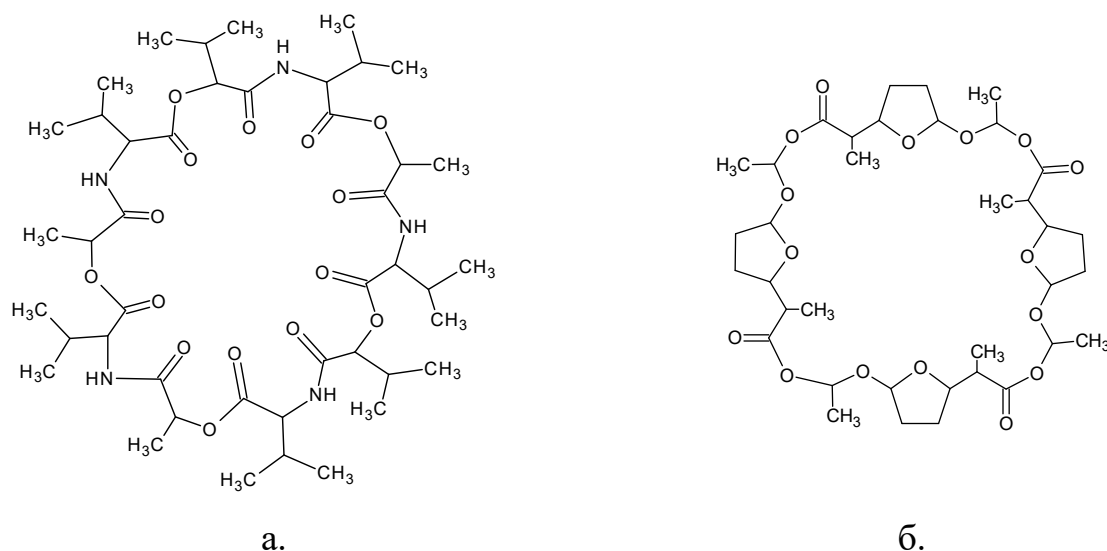


Рис. 3.12. Природні іонофори використані у потенціометричних мембранних сенсорах: а.- валіноміцин ( $K^+$ ), б- нонактин ( $NH_4^+$ ).

Такий вид взаємодії характерний для іонообмінних рецепторів, але зустрічаються і в нейтральних переносниках за рахунок поляризації хімічних зв'язків, таких як наприклад C=O, зумовлених різницею у електронегативності атомів. Такого роду іон-дипольні взаємодії характерні для рецепторів на катіони лужних металів. Менш електронегативні неметали, наприклад N та S у структурі іонофора можуть служити донорами електронів для незаповнених валентних орбіталей перехідних металів спричиняючи

утворення координаційного зв'язку. Водневий зв'язок залучений у процес розпізнавання гідратованих катіонів з утворенням місткових зв'язків між катіоном та негативно зарядженими атомами молекули рецептора з участю молекул води. Катіони перехідних металів  $Fe(II,III)$ ,  $Co(II,III)$  відомі своєю здатністю до утворення координаційних сполук з ароматичними сполуками за рахунок  $\pi$ -електронів ароматичного ядра, що також використовується у процесі розпізнавання аналіту іонофором. Згадані вище типи взаємодій можуть виникати і в процесі розпізнавання аніонів, з використанням рецепторів до складу яких входять перехідні метали.

Взаємодію метал-ліганд у процесі розпізнавання було класифіковано у рамках *концепції жорстких та м'яких кислот і основ* згідно теорії Льюїса. Кислота Льюїса це молекула здатна виступати акцептором електронної пари, а основа Льюїса її донором. До жорстких кислот та основ відносять малі за розміром частинки, що не поляризуються, натомість великі та поляризуємі відносять до м'яких кислот та основ Льюїса (див. таблицю 3.4).

Таблиця 3.4. Жорсткі та м'які кислоти – основи Льюїса.

	Жорсткі	Середні	М'які
Кислоти	$H^+, Li^+, Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Al^{3+}, Cr^{3+}, Co^{3+}, Fe^{3+}$	$Fe^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, Pb^{2+}$	$Cu^+, Ag^+, Cd^{2+}, Hg_2^{2+}, Hg^{2+}$
Основи	$F, CH_3COO^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-}, Cl^-, CO_3^{2-}, ClO_4^-, NO_3^-, NH_3, RNH_2$	$Br^-, NO_2^-, SO_3^{2-},$ <i>анілін, піридин, R-NH-R</i>	$R_2S, R-SH, R_3P, I^-, SCN^-, CN^-$

Взаємодія між сильною кислотою та сильною основою Льюїса, так як і між однаково м'якими кислотою та основою, сильніша ніж у випадку реакції між сильною кислотою та слабкою основою чи навпаки. Так атом оксигену в ефірах  $R-O-R$  є жорсткою основою і взаємодіє із лужними та лужноземельними металами, натомість тіоетер  $R-S-R$  є м'якою основою Льюїса і тому найкраще взаємодіє з м'якими кислотами  $Ag^+$  чи  $Hg^{2+}$ . Таким

чином, селективність нейтральних рецепторів визначається жорсткістю селективних груп у його молекулі, що дає широкі можливості її регулювання шляхом хімічного синтезу рецепторів з наперед заданими структурними та конфірмаційними параметрами.

Процес виготовлення ПВХ потенціометричних сенсорів на основі нейтральних переносників загалом не відрізняється від описаного вище. Як правило у складі мембрани обов'язково присутня *ліпофільна добавка* (1% від загального складу мембрани), яка має протилежний до аналіту заряд, та перешкоджає співекстракції протиіонів із розчину у фазу мембрани у вигляді іонного асоціату з аналітом. Як ліпофільні добавки у сенсорах на катіони використовують тетрафенілборатні солі, а для аніон-селективних мембран тетралкіламонієві солі (див. рис. 3.13).

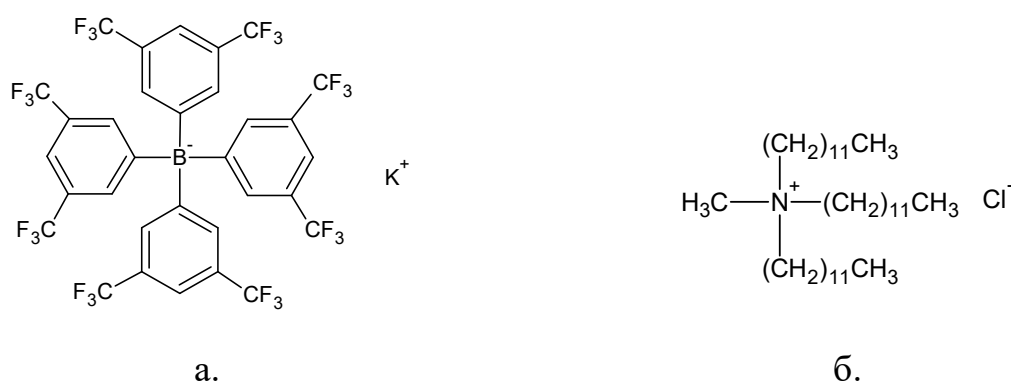


Рис. 3.13. Ліпофільні добавки до потенціометричних мембран на основі нейтральних переносників: а. – тетракіс-[3,5,-біс(трифлуорметилфеніл)]борат калію, б. – тридодецилметиламонію хлорид.

Іонна ліпофільна добавка відіграє важливу роль у досягненні бажаної межі виявлення сенсора. За високих концентрацій аніона у розчині проходить його співекстракція у фазу мембрани і сенсор проявляє чутливість до аніону, що обмежує межу відгуку до катіону. З додаванням у мембрану ліпофільної аніонної добавки співекстракція зменшується, що веде до розширення динамічної області відгуку сенсора. Взаємодія іонів аналіту з мембраною включає два процеси: розподіл аналіту між водною (*s*) та органічною фазами (*m*), що описується коефіцієнтом розподілу, та реакцією іона з молекулою

рецептора у R з утворенням комплексу  $[MR]$  у органічній фазі мембрани  $m$ . Утворення комплексу катіона з рецептором описують рівнянням :



Рухливою силою переходу катіона металу з розчину у фазу мембрани є зміна вільної енергії викликана утворенням комплексу та зв'язана з константою утворення (стійкості) комплексу:

$$K_{MR} = \frac{[MR]_m}{[M^+]_m[R]_m} \quad (3.18)$$

Константа розподілу катіона :

$$K_{p,M} = \frac{[M^+]_m}{[M^+]_s} \quad (3.19)$$

Концентрація вільного катіона металу  $M^+$  у мембрані визначається  $K_{p,M}$  отримавши вираз для  $[M^+]_m$  з (3.19) та підставивши його у (3.18) концентрацію комплексу у фазі мембрани можна виразити наступним чином:

$$[MR]_m = K_{MR}K_{p,M}[M^+]_s[R]_m \quad (3.20)$$

Оскільки у розчині окрім катіона аналіту  $M^+$  присутній також катіон інтерференту  $N^+$  то рівновагу за його участю на межі розділу між мембраною та водним розчином можна записати як:



Де  $X$  іонна ліпофільна добавка. Оскільки кожен з катіонів утворює комплекс з рецептором то коефіцієнт селективності за умови рівності концентрацій інтерференту та аналіту у водній фазі виражають як :

$$K_{M,N} = \frac{[M^+]_m}{[N^+]_m} = \frac{K_{p,M}K_{MR}}{K_{p,N}K_{NR}} \quad (3.22)$$

Таким чином селективність сенсорів на основі нейтральних переносників визначається стійкістю комплексу аналіту із молекулою рецептора який утворюється у фазі мембрани. Коефіцієнти розподілу комплексів аналіту та інтерференту з рецептором як правило мало відрізняються, тому на селективність цей параметр впливає слабо. Помітним є вплив полярності

використаного пластифікатора, чим більшою є полярність пластифікатора тим більш спорідненою є мембрана до багатозарядних катіонів.

Вище було згадано нейтральні переносники природного походження валіноміцин та нонактин, проте такі сполуки є досить високовартісними, а їх використання та селективність обмежена катіонами лужних металів. Синтетична органічна хімія розробила величезну кількість нейтральних переносників із пришитими функціональними угрупованнями для широкого спектру аналітів різної природи. Термін «іонофор» відносять і до таких сполук. Розглянемо деякі із нейтральних переносників використаних у потенціометричних сенсорах. Розрізнять наступні їх види:

- *нейтральні нециклічні рецептори катіонів та аніонів;*
- *макроциклічні рецептори катіонів та аніонів;*
- *нейтральні рецептори органічних іонів;*
- *порфірини та фталоціаніни.*

У таблиці 3.5. приведено приклади іонофорів різних класів. Розглянемо основні принципи їх взаємодії з аналітами. Молекула **a.** містить у своїй структурі 6 основних груп здатних до утворення з катіонами  $Zn^{2+}$  хелатного комплексу. Інші іони перехідних металів сильно заважають проте селективність сенсора на основі рецептора **a.** до лужних металів досить висока. Робоча область рН обмежена інтервалом 3,5-6,5 за рахунок протонування атомів азоту. Рецептор **б.** використовують у *Na*- селективних потенціометричних сенсорах. Рецептор здатний утворювати іон-дипольні зв'язки з катіоном  $Na^+$ , розмір якого сприяє оптимальному просторовому розміщенню скелета молекули. Молекула іонофора для визначення  $Ca^{2+}$  (**в**) містить шість місць зв'язування – атомів кисню ефірних фрагментів здатних до утворення координаційного зв'язку.

Нециклічні рецептори аніонів (структурні формули **г.** та **д**) здатні до утворення водневих та координаційних зв'язків. Так, рецептор **г.** селективний до  $SO_4^-$  містить фрагменти тіосечовини схильні до утворення водневого зв'язку.

Селективність такого рецептора регулюють шляхом зміни відстані між тіосечовинними фрагментами. Утворення сполуки аніона з рецептором можливе також з використанням координаційних взаємодій з катіоном металу, що входить до складу іонофора. Сам катіон також може бути зв'язаний з молекулою координаційними зв'язками, як наприклад у рецепторі гідрогенфосфат іонів (*d*). Гідрогенфосфат координується з ураніловим центром рецептора, та додатково утворює водневі зв'язки із метокси групами.

Макроциклічні катіонні рецептори (*e, ε, ж*) є синтетичними аналогами природних циклічних іонофорів. На відміну від природних рецепторів, використання яких обмежене, синтетичні були розроблені для виготовлення потенціометричних сенсорів визначення багатьох катіонів та аніонів. Макроциклічні рецептори, також відомі під назвою краун етерів, характеризуються загальною кількістю атомів у циклі, та числом гетеро-атомів (O,S,N), що прийнято вказувати у назві краун етера відповідними цифрами. Селективність таких рецепторів визначається стеричними факторами (розмір циклу) та мультиплікативністю взаємодій аналіт – місце зв'язування. Окрім стеричних факторів важливе значення в селективності макроциклічних рецепторів відіграє природа гетероатомів згідно принципу жорстких та м'яких кислот Льюїса.

З практичної точки зору, цікавими є потенціометричні сенсори на аніони, оскільки існуючі твердотільні аніон-селективні електроди володіють низькою селективністю. Аза-краун сполуки (наприклад рецептор *e*) здатні утворювати водневі зв'язки з оксигенвмісними аніонами такими як  $\text{NO}_3^-$ .

Такий самий механізм реалізується і з імідазолієвими замісниками. Наприклад рецептор *ε*. може існувати у конформації конуса за рахунок водневих зв'язків із фторид іоном, що забезпечує селективність сенсора до хлорид іонів. Порфірини та фталоціаніни (*i, i'*) містять пірольні фрагменти, які забезпечують їх здатність до утворення комплексів з металами у центрі

молекули. Міцність зв'язків залежить від природи центрального іона металу, його ступеня окислення, та числа і природи зовнішніх лігандів.

Таким чином потенціометричні сенсори працюють на принципі специфічної взаємодії на межі розділу фаз між селективною мембраною та іонами аналіту, що викликає неоднорідність у розподілі заряду з обох сторін мембрани і як наслідок, зміну її потенціалу. Зміна потенціалу мембрани вимірюється з використанням 2-х електродів порівняння з обох її сторін. Забезпечуючи сталою активність аналіту із одної сторони чутливої мембрани, можна визначати зміну активності аналіту з іншої її сторони з використанням рівняння Нернста, що пов'язує логарифм активності аналіту із потенціалом. Іонселективні мембрани потенціометричних сенсорів можуть бути виготовлені із важкорозчинних сполук чи стекол, або ж полімерних мембран що містять у своєму складі іонообмінний чи нейтральний рецептор. Потенціометричні сенсори – це прості та робастні аналітичні пристрої що добре підходять як для лабораторних так і до польових умов використання, а їх точність 3-10 % робить їх конкурентними із іншими інструментальними методами аналізу які є високовартісними та потребують додаткових стадій пробопідготовки.

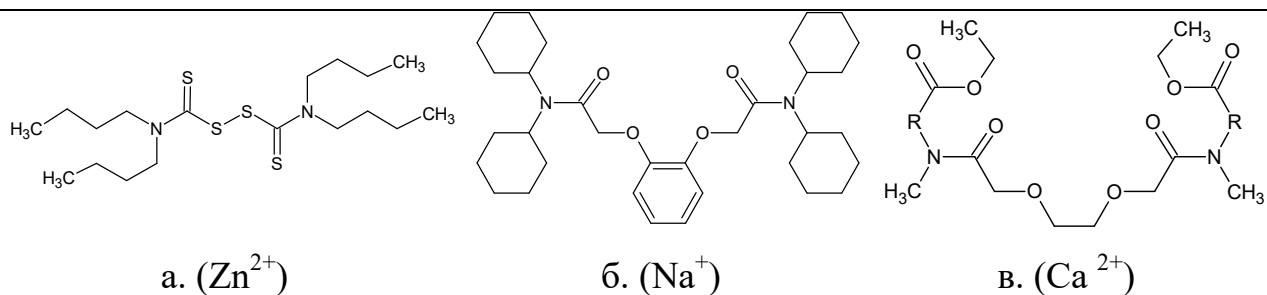
Поєднання групи потенціометричних сенсорів у сенсорні мережі дозволяє вирішити питання мультиелементності аналізу. Окрім того, слід відмітити можливість потенціометричних сенсорів фіксувати певну форму елементів, що недоступно для основної частини фізико-хімічних методів аналізу.

Більшість хімічних та біохімічних реакцій супроводжується утворенням іонів, тому потенціометричні сенсори служать як трансдюсери, що використано в газових, біокаталітичних та імуносенсорах. Поле використання потенціометричних сенсорів дуже широке. Серед них можна відмітити: навколишнє середовище, хімія морської води, біомедицина, фармацевтичний аналіз, нафтопереробна індустрія.



Таблиця 3.5 Представники нейтральних переносників (іонофорів) різної природи

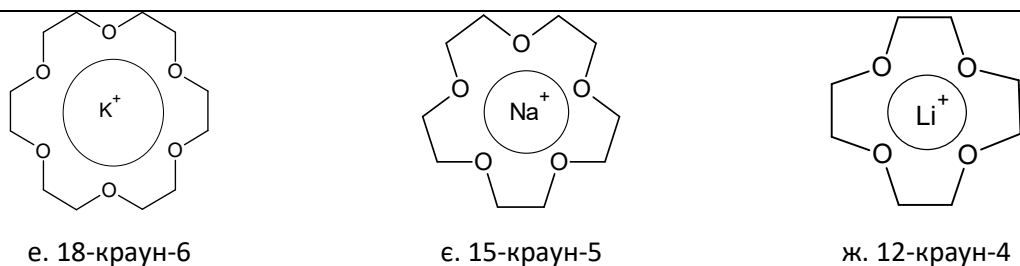
Нециклічні нейтральні рецептори катіонів:



Нециклічні нейтральні рецептори аніонів:



Макроциклічні катіонні



Макроциклічні аніонні



Порфірини фталоціаніни



### *Запитання для самоконтролю:*

- Що таке гальванічний елемент у потенціометрії?
- Яка роль електродів порівняння у гальванічних елементах?
- Опишіть будову та принцип роботи електродів порівняння. Які їх переваги та недоліки?
- Яким чином виникає дифузійний потенціал на контакті між двома розчинами з різним складом? Який його негативний вплив на правильність аналізу?
- Зобразіть схему придатну для аналітичного використання потенціометричного сенсора.
- Який фізичний зміст Нернстівського відгуку?
- Які параметри впливають на чутливість потенціометричного сенсора?
- Що таке ізопотенційна точка? Чим вона важлива?
- Які способи визначення потенціометричної селективності вам відомі? Які їх переваги та недоліки?
- Що визначає межу виявлення потенціометричного сенсора?
- З чого складаються твердотільні мембрани?
- Який механізм реакцій покладено у основу роботи твердотільних мембранних сенсорів?
- Виведіть функцію відгуку аргентум сульфідного сенсора до сульфід іонів.
- Які іони можна визначати з використанням скляних мембран у потенціометрії?
- Як формується чутливий шар на поверхні скляних мембран?
- Які фактори визначають селективність скляних мембран?
- Які типи рецепторів використовуються у полімерних мембранних сенсорах?
- З чого складається полімерна мембрана? Як її виготовляють?

- Які фактори визначають селективність мембран на основі іонних рецепторів? Як це пов'язано із ліпофільністю?
- Які структурні та конфірмаційні фактори впливають на селективність нейтральних переносників у потенціометричних сенсорах?

**Список використаної та рекомендованої літератури:**

1. Janata, Jiri. *Principles of chemical sensors*. Springer Science & Business Media, 2010.
2. Hulanicki, Adam, Stanislav Glab, and F. O. L. K. E. Ingman. «Chemical sensors: definitions and classification.» *Pure and applied chemistry* 63.9 (1991): 1247-1250.
3. Banica, Florinel-Gabriel. *Chemical sensors and biosensors: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons, 2012.
4. Goepel, Wolfgang, et al. *Sensors, chemical and biochemical sensors*. Vol. 2. John Wiley & Sons, 2008.
5. Fawcett, W. Ronald. *Liquids, solutions, and interfaces: from classical macroscopic descriptions to modern microscopic details*. Oxford University Press, 2004.
6. Lakshminarayanaiah, Nallanna. *Membrane electrodes*. Elsevier, 2012.
7. Eggins, Brian R. *Chemical sensors and biosensors*. Vol. 2. John Wiley & Sons, 2002.
8. Камман К. Работа с ионоселективными электродами. Мир, 1980.
9. Каттралл, Роберт В. Химические сенсоры. Москва. Науч. Мир, 2000.
10. Buck, Richard P., and Erno Lindner. «Recommendations for nomenclature of ion-selective electrodes (IUPAC Recommendations 1994).» *Pure and Applied Chemistry* 66.12 (1994): 2527-2536.
11. Lindner, Ernö, and Yoshio Umezawa. «Performance evaluation criteria for preparation and measurement of macro-and microfabricated ion-selective electrodes (IUPAC Technical Report).» *Pure and Applied Chemistry* 80.1 (2008): 85-104.

12. Umezawa, Yoshio, Kayoko Umezawa, and Hitoshi Sato. «Selectivity coefficients for ion-selective electrodes: recommended methods for reporting  $K_A$ ,  $B_{pot}$  values (Technical Report).» *Pure and applied chemistry* 67.3 (1995): 507-518.
13. Schöning, Michael J., and Joachim P. Klock. «About 20 years of silicon-based thin-film sensors with chalcogenide glass materials for heavy metal analysis: Technological aspects of fabrication and miniaturization.» *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis* 19.19-20 (2007): 2029-2038.
14. Bakker, Eric, and Ernö Pretsch. «Potentiometric sensors for trace-level analysis.» *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 24.3 (2005): 199-207.
15. Vassilev, V. S., and S. V. Boycheva. «Chemical sensors with chalcogenide glassy membranes.» *Talanta* 67.1 (2005): 20-27.
16. Severinghaus, John W., Poul Astrup, and John F. Murray. «Blood gas analysis and critical care medicine.» *American journal of respiratory and critical care medicine* 157.4 (1998): S114-S122.
17. Kauffmann, J-M., and GC GUILBAULT. «Enzyme electrode biosensors: theory and applications.» *Methods of biochemical analysis* 36 (1992): 63-113.

### 3.3. Іон селективні польові транзистори.

Іон-селективні польові транзистори (ІСПТ) – це потенціометричні пристрої в яких польовий транзистор (транзистор ефекту поля, field effect transistor) відіграє роль мініатюрного трансдюсера. Потенціометрична мембрана наноситься на «затвор» транзистора і входить у схему вимірювання разом із електродом порівняння який, на даний момент, залишається найбільшою перешкодою у масовому виробництві таких сенсорів.

Для кращого розуміння принципу роботи ІСПТ слід пригадати основні властивості напівпровідникових матеріалів. *Напівпровідники* за здатністю проводити електричний струм знаходиться між металами та ізоляторами. Молекулярна будова неметалів особлива тим, що їх атоми утворюють зв'язуючі та розпушуючі молекулярні орбіталі. Електрони із зв'язуючої орбіталі можуть потрапити на розпушуючу орбіталь тільки за рахунок збудження. Електрони не можуть перебувати в області між орбіталями, це «заборонена зона», яка характеризується шириною забороненої зони (див. рис. 3.14).

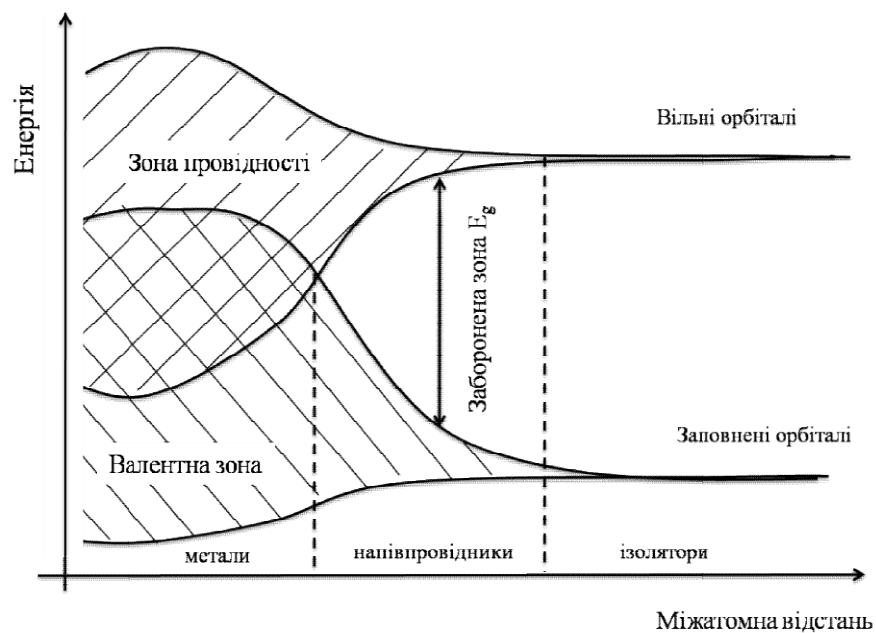


Рис. 3.14. Класифікація матеріалів за розміщенням енергетичних зон та міжатомною відстанню.

У металах забороненої зони немає, орбіталі перекриваються, а електрони можуть вільно переміщатись, чим пояснюється їх висока провідність. У напівпровідниках існують додаткові зони: *зона провідності* та *валентна зона*, які розділені між собою енергетично забороненою зоною. Напівпровідники в залежності від внесених у них домішок можуть володіти електронною провідністю за рахунок надлишку електронів (*p-typ*) та дірковою провідністю *n-typ*, а також характеризуються рівнем Фермі, який відповідає енергетичному рівню з імовірністю знаходження на ньому електрона рівною 0,5. Імовірність знаходження електрона на тому чи іншому енергетичному рівні  $E$  при різних температурах  $T$  описує функція розподілу Фермі-Дірака  $f(E)$ :

$$f(E) = \frac{1}{e^{\frac{E-E_F}{k_B T}} + 1} \quad (3.33)$$

де  $k_B$  – стала Больцмана. Функція розподілу Фермі-Дірака показує, що при звичайних температурах всі дозволені енергетичні рівні заповнені, і тільки деяка кількість електронів мають енергії вищі за рівень Фермі.

Для чистого напівпровідника (Si), рівень Фермі ( $E_F$ ) розміщений рівно посередині між валентною зоною та зоною провідності. У напівпровідників допованих елементами III групи, наприклад Бором (*p-typ* провідності), рівень Фермі зміщений до енергій валентної зони, а у напівпровідників допованих Стилбієм чи іншими елементами V групи (*n-провідність*) рівень Фермі зміщений до зони провідності. Іншими словами, розподіл Фермі-Дірака вказує на достатню імовірність перебування електронів у зоні провідності у напівпровідників із n-провідністю, а провідність таких матеріалів зумовлена рухом електронів у зоні провідності. Натомість для r-типу напівпровідників переважно заповненими є енергетичні рівні валентної зони, а провідність зумовлена рухом дірок у валентній зоні.

В сенсорах напівпровідники використовують у вигляді структур за типом метал-діелектрик-напівпровідник (МДН структура) (див. рис. 3.15). Товщина металічного шару та діелектрика складає 50-100 нм, що служить

ідеальною умовою для виникнення ємнісного струму, тобто МДН структура є прикладом конденсатора. У МДН конденсаторах напівпровідник з'єднаний із заземленням, а напругу прикладають між металом та напівпровідником. В результаті прикладання невисокої напруги, на межі контакту напівпровідника з ізолятором, та металу з ізолятором виникає певний заряд

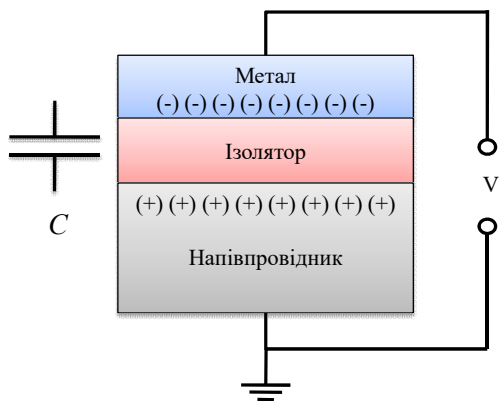


Рис. 3.15. Структура МДН на основі напівпровідника р-типу, та виникнення заряду на межі розділу МДН (конденсатор).

з протилежним значенням але рівний за величиною. Ємність такого конденсатора залежить від *електричного поля* викликаного прикладеною напругою. Тому МДН конденсатор належить до пристроїв *ефекту поля*. Подальше збільшення напруги до граничної величини проходить інверсія типу провідності від р-типу в n-тип.

*Пристрої ефекту поля – напівпровідникові пристрої властивості яких можуть бути регульованими під дією електричного поля.*

Для відстеження змін властивостей у МДН структурі користуються польовим транзистором (транзистором ефекту поля (МДНПТ)) – пристроєм з електрично регульованим значенням опору. Розглянемо діод з р-n переходом (див. рис. 3.16). На межі контакту напівпровідників різного типу електрони із напівпровідника n-типу здатні дифундувати у об'єм напівпровідника р-типу. Це приводить до утворення заповнених дірок у напівпровіднику р-типу (негативні іони) та залишає у напівпровіднику n-типу позитивно заряджені місця. Таким чином регіон контакту збіднений на носії заряду (див. рис. 3.16 (а)). Струм може текти через діод тільки в тому випадку якщо негативний полюс прикладено до напівпровідника n-типу а позитивний до р-типу (див. рис. 3.16 (б)). В такому випадку електрони з р – напівпровідника переходять

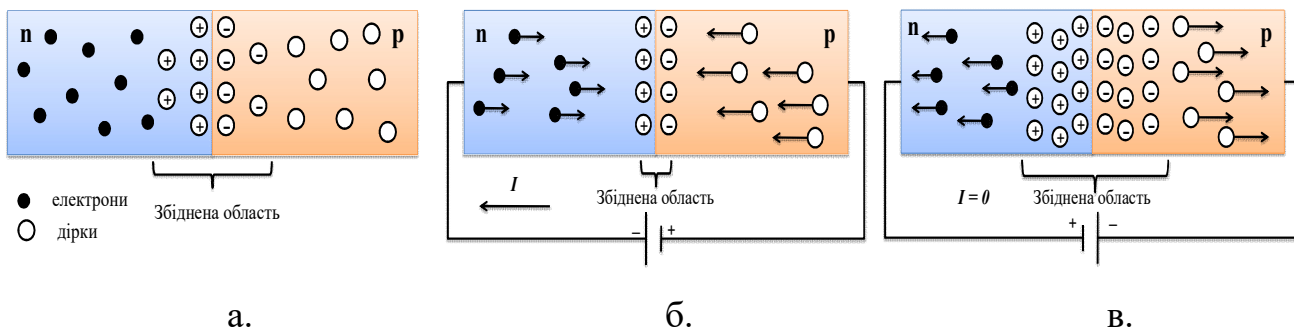


Рис. 3.16. Напівпровідниковий діод.

Через межу контакту у напівпровідник n-типу, те саме відбувається із дірками у протилежному напрямку. Збіднений регіон потоншується а опір такого діода невисокий. У випадку зміни полярності (напрямок протікання струму) носії заряду рухаються від місця контакту залишаючи за собою широку збіднену зону. За таких умов опір занадто великий для протікання струму. Завдяки таким властивостям діоди використовують для перетворення змінного струму у постійний.

На відміну від діода, який працює у режимі увімкн./вимкн., польовий транзистор здатен регулювати струм, що протікає через нього від 0 до певного максимального значення. Його будова представлена на рис. 3.17. Він складається із кремнієвої підкладки (p-тип) і стоку та витоку виготовлених з напівпровідника n-типу. Металічний затвор нанесений на ізоляційний матеріал, що покриває напівпровідник. Прикладання напруги до стоку та витоку не викликає протікання струму через напівпровідники, оскільки у системі присутні 2 контакти напівпровідників двох типів на яких виникає збіднена носіями заряду область, тому провідність транзистора не залежить від полярності прикладеної напруги. Ситуація змінюється якщо на затвор подається напруга, що викликає появу заряду на металічному покритті. Під дією електростатичного позитивного заряду відбувається перерозподіл електронів із стоку на підкладку, змінюючи таким чином тип його провідності на n – тип у тонкому шарі підкладки під затвором транзистора (*інверсійний шар*). Таким чином з'являється прямий контакт між стоком та витокком, що спричиняє можливість протікання струму через утворений канал



транзистора. Струм, що протікає через транзистор залежить від електричного поля генерованого на затворі тому дані пристрої отримали назву транзисторів ефекту поля, чи польових транзисторів.

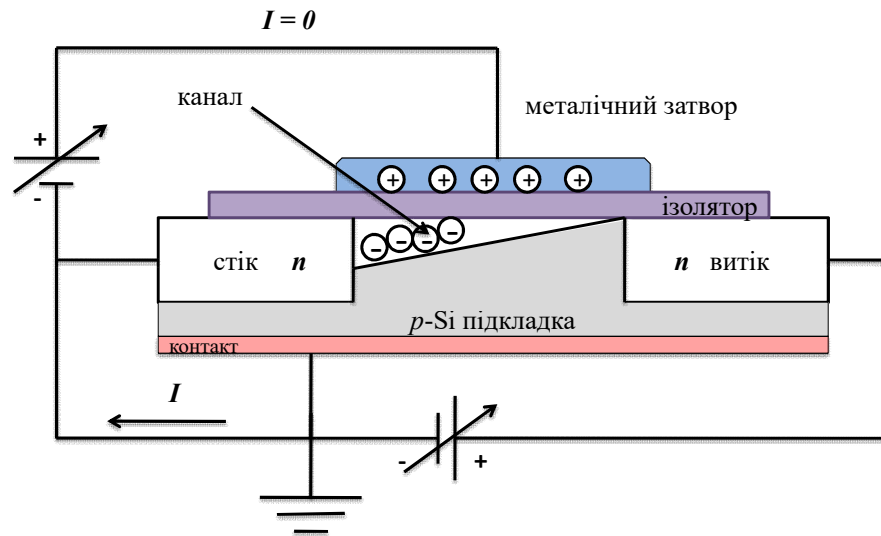
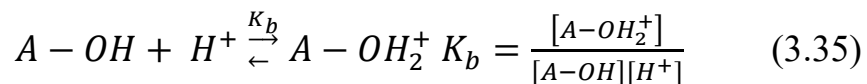
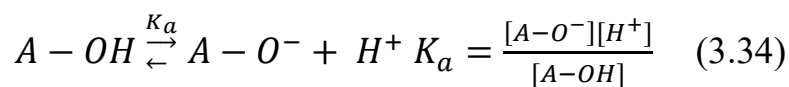


Рис. 3.17. Принципова схема транзистора ефекту поля (польового транзистора з ізольованим затвором).

Для того, щоб зробити з такого транзистора сенсор слід на затвор замість металу наносять чутливий елемент, наприклад аналітичну мембрану. Таким чином отримують іон селективні польові транзистори (ІСПТ). Як мембрани найчастіше використовують потенціометричні іон-селективні мембрани подібні до описаних у попередньому розділі.

Розглянемо деякі приклади сенсорів на основі пристроїв з польовим ефектом. Вперше ІСПТ був використаний для розробки рН селективного сенсора (див. рис. 3.18). Даний сенсор цікавий тим, що в якості чутливої мембрани було використано поверхню самого ізолятора без металічного затвора виготовленого із  $SiO_2$ , який напряду контактує з досліджуваним розчином. Механізм виникнення сигналу пояснюється протолітичними рівновагами за участі сіланольних груп на поверхні сенсора:



Як результат взаємодії на поверхні чутливого елемента утворюється подвійний електричний шар який складається із іонних частинок на поверхні оксиду та аніонами у розчині. Оскільки  $A - OH$  проявляє як основні так і кислотні властивості, то на межі розділу фаз утворюється буферна система, ємність якої впливає на метрологічні характеристики сенсора (*пригадайте, що буферна ємність – здатність буферного розчину не змінювати pH при додаванні до неї певних кількостей кислоти чи основи*). Чим більшою є величина буферної ємності тим кращим є відгук сенсора. Буферна ємність  $\beta_s$  приповерхневого шару залежить від констант кислотності та основності відповідних груп та їх концентрації на поверхні  $N_s$ , та розраховується за формулою:

$$\beta_s = kN_s\sqrt{K_aK_b} \quad (3.36)$$

В якому  $k$  це специфічний параметр ізолятора.

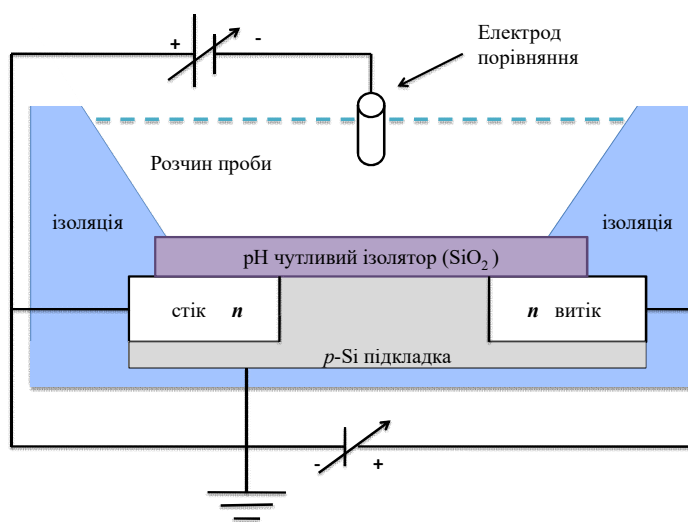


Рис. 3.18. Схематична будова pH ІСПТ.

Відгук такого сенсора формується як зміна потенціалу на межі розділу фаз між розчином та поверхнею ізолятора та у випадку високої буферної ємності  $\beta_s > 1$  описується рівнянням подібним до рівняння Нернста:

$$\Delta\varphi_s = 2.303 \frac{RT}{F} \frac{\beta_s}{\beta_s + 1} (pH_0 - pH) \quad (3.37)$$

В якому  $pH_0$  це  $pH$  при якому значення  $\Delta\varphi_s = 0$ .

Найбільш поширеними ізоляторами, що використовують як затвор у pH чутливих польових транзисторах є  $Al_2O_3$ ,  $Ta_2O_5$  та  $Si_3N_4$  який цікавий тим, що

на відміну від оксидних ізоляторів, на його поверхні утворюються 2 типи реакційних груп сіланольні та сіламінні.

Аналітичним сигналом такого сенсора може служити зміна сили струму на витоку транзистора за рахунок виникнення додаткового потенціалу між чутливим шаром на затворі та електродом порівняння, або потенціометричний відгук отриманий за умов сталості значення напруги на стоку витоку транзистора.

Метрологічні характеристики таких рН сенсорів наближаються до параметрів скляного рН електроду (робочий діапазон рН 2-12 та час відгуку близько 1 хв.). Основною перевагою таких сенсорів вважають можливість мініатюризації та масового виробництва.

Для отримання сенсорів на інші іони затвор польового транзистора покривають такою ж іон селективною мембраною як і в потенціометричних сенсорах на базі ПВХ мембрани з іонофором чи твердотільною мембраною. Термінологію IUPAC стосовно іон селективних польових транзисторів (ІСПТ) можна знайти у відповідній літературі. Спершу ІСПТ виготовляли шляхом нанесення пластифікованих мембран безпосередньо на поверхню затвора, проте такий підхід не давав необхідної чутливості в зв'язку з низькими значеннями потенціалу який виникав на межі розділу мембрана-ізолятор. Тому між мембраною та ізолятором вносять додатковий шар гідрогелю із буфером чи шар провідного полімеру. Якщо на поверхню гідрогелю нанесено мембрану з нейтральним переносником, то у процесі генерації відгуку такого сенсора спершу відбувається розподіл аналіту між розчином та мембраною, та утворенням комплексу іонофором у фазі мембрани. За рахунок цього виникає дифузійний потенціал який за умови сталості всіх контактних потенціалів та потенціалу електроду порівняння залежить від активності іонів аналіту у розчині згідно рівняння подібного до рівняння Нернста:

$$V_{\text{затвор}} = \text{const} + \frac{2.303RT}{zF} \log a_i \quad (3.38)$$

Коефіцієнт чутливості таких сенсорів часто не відповідає теоретичним значенням тому його визначають у конкретних умовах експлуатації.

Процес виготовлення ІСПТ реалізують декількома способами. Одним з них є просте нанесення розчину полімерної мембрани на затвор транзистора. Такий підхід не дозволяє отримати добру адгезію мембрани до матеріалу затвора транзистора. Додатковим обмеженням такого методу, особливо для ПВХ мембран, є утворення дуже тонкої мембрани яка недовговічна за рахунок вимивання її компонентів у розчин. ІСПТ із часом життя більше року отримують шляхом використання мембран із полісилоксану ковалентно пришитих до затвора через силанольні групи на його поверхні.

Неорганічні матеріали (наприклад суміш  $\text{AgCl-AgBr}$ , та халькогенідні стекла) наносять на затвор ІСПТ шляхом вакуумного напилення та отримують відповідні катіон селективні ІСПТ. Основним недоліком процесу є невідповідність стехіометричного складу нанесеного матеріалу вихідному, що пов'язано із використанням пульсуючого лазерного випромінювання для отримання пароподібного стану скла. Використання халькогенідних стекол дозволяє конструювати сенсорні сітки мініатюрного розміру із хорошими експлуатаційними та метрологічними характеристиками.

Для отримання мініатюрних ІСПТ необхідною умовою є надійний та мініатюрний електрод порівняння який можна інтегрувати у одну електричну схему із ІСПТ. Хлоридсріний електрод порівняння використовують для цих цілей, але його функціонування залежить від концентрації  $\text{Cl}^-$  іонів у гідрогелевому шарі, що обмежує його функціональні можливості за рахунок вимивання хлоридів та забруднення чутливого шару іонами із зразку. Як електрод порівняння використовують також польовий транзистор який не взаємодіє з іонами аналіту та іншими іонами у зразку. Даний транзистор порівняння включений у систему по диференційній схемі, що дозволяє усунути негативний вплив температури, світла та дрейфу сигналу шляхом їх релятивізації.

Як чутливий шар ІСПТ використовують композити, що містять ензими (ензимні польові транзистори, ЕПТ). У такому разі роль трансдюсера сигналу відіграє рН чутливий польовий транзистор, а аналітичний сигнал генерується шляхом ензимної реакції, побічним продуктом якої є протони чи гідроксил іони. За таких умов ензимна реакція може бути загальмована зміною кислотності середовища, що спричиняє звуження робочого діапазону сенсора. Для усунення такого впливу рН до схеми транзистора додають платиновий електрод, що максимально-близько розташований до затвору транзистора, на даному електроді проходить реакція електролізу води з метою утворення еквівалентної кількості протонів чи гідроксил іонів для нейтралізації кислотності середовища спричиненої ензимною реакцією. Кількість струму, що витрачається на електроліз визначається відгуком сенсора на зміну рН ензимної реакції.

#### ***Запитання для самоконтролю:***

- Що таке напівпровідники?
- Яким чином змінюють тип провідності класичного напівпровідника?
- Що служить носієм зарядів у напівпровідниках?
- Який механізм роботи діода?
- Яка будова польового транзистора з ізольованим затвором?
- Опишіть механізм роботи польового транзистора.
- Які матеріали використовують для отримання рН чутливого ізолятора на затворі ПТ?
- Які реакції проходять на межі розділу фаз у рН чутливого ІСПТ?
- Які полімерні матеріали використовують у виготовленні ІСПТ? Які їх переваги та недоліки?

### *Список використаної та рекомендованої літератури:*

1. Covington, A.K. (1994) Terminology and conventions for microelectronic Ion-Selective Field-Effect Transistor devices in electrochemistry. *Pure Appl. Chem.*, 66, 565–569.
2. Огороднійчук, Ю. О., Стародуб, М. Ф. (2014). Імунний біосенсор на основі іонселективних польових транзисторів для експресного визначення *Salmonella Typhimurium*. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Біологія, біотехнологія, екологія*, (204), 106-114.
3. Власов, Ю. Г., Ермоленко, Ю. Е., Легин, А. В., Рудницкая, А. М., Колодников, В. В. (2010). Химические сенсоры и их системы. *Журнал аналитической химии*, 65(9), 900-919.
4. Дзядевич, С. В. (2004). Биосенсоры на основе ионоселективных полевых транзисторов: теория, технология, практика. *Биополімери і клітина*.
5. Солдаткін, О. П. (1997). Біосенсор на основі уреазы з покращеною чутливістю для аналізу іонів важких металів. *Биополімери и клетка*, 13(5), 377.
6. Алхасов, С. С., Милешко, Л. П., Хлебинская, А. С. (2014). Принцип функционирования и основные сферы использования ионоселективных полевых транзисторов. *Технологии техносферной безопасности*, (5), 36-36.

### 3.4. Амперометричні сенсори. Будова та принцип роботи.

Моніторинг електрохімічних реакцій можна проводити у рівноважних та нерівноважних умовах. Рівноважні умови в електрохімії використовуються у потенціометричних сенсорах та описуються електрорушійною силою комірки (ЕРС) у якій загальна швидкість реакції рівна нулю. У нерівноважних умовах електрохімічна реакція протікає у певному напрямку – окислення чи відновлення, що проявляється у витраті реактивів з залученням електронів, що в свою чергу веде до змін сили електричного струму який тече через комірку. Величина цього струму зв'язана із концентрацією електроактивної речовини, яка приймає участь у електрохімічній реакції. Дане явище є спільним для амперометричних методів аналізу у яких струм вимірюють при певному фіксованому значенні напруги. Якщо ж потенціал у комірці варіюється у певних межах для отримання вольт-амперних кривих, що дозволяє підвищити селективність та чутливість, то мова йде про вольтамперометричні методи аналізу. Розрізняють також потенціостатичні та амперостатичні методи електрохімічного аналізу. Оскільки в принцип роботи амперометричних сенсорів покладено закони електрохімії, то слід коротко пригадати основні її положення.

*Електроліз* включає в себе одночасно процеси окислення та відновлення які відбуваються на відповідних електродах (катод та анод). Електрохімічну комірку конструюють таким чином, щоб аналіт вступав в електрохімічну реакцію тільки на одному з електродів, який називають робочим електродом, і струм, що виникає у комірці за рахунок реакції, визначався процесами саме на робочому електроді. Для контролю процесів, які відбуваються у електрохімічній комірці використовують двохелектродну та трьох електродну схему (див. рис. 3.19).

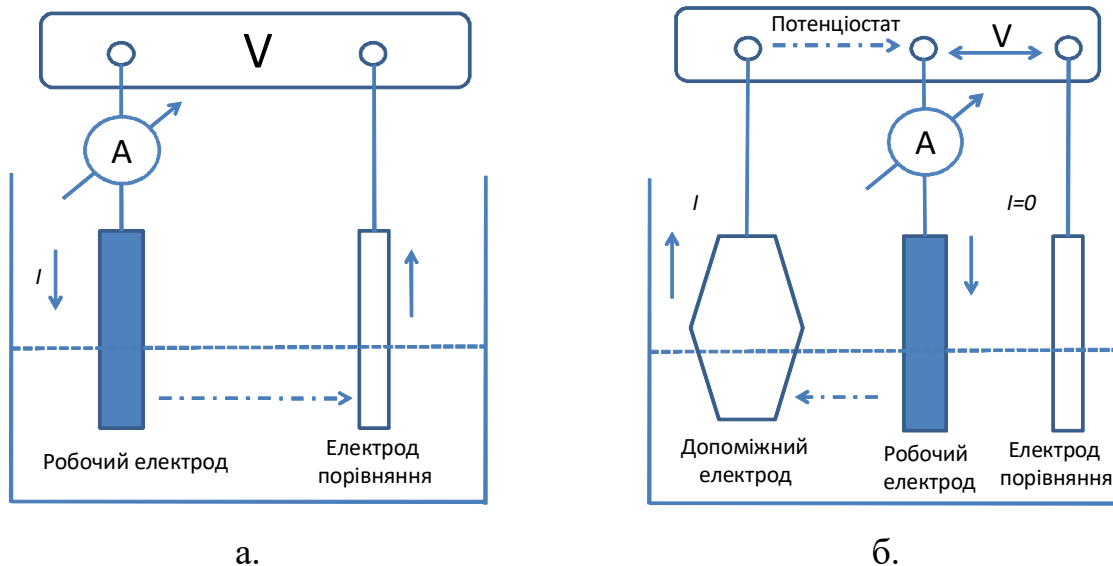


Рис. 3.19. Принципова схема двохелектродної (а) та трьохелектродної (б) електрохімічної комірки.

(стрілки вказують напрямок протікання струму)

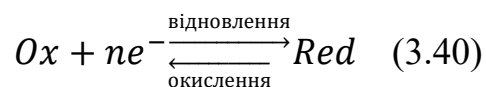
У двохелектродній комірці робочий електрод працює в парі з електродом порівняння, потенціал якого ( $E_r$ ) залишається сталим у процесі аналізу. Якщо до комірки не прикладено напругу то кожен з електродів володіє певним рівноважним потенціалом, коли напруга до електродів прикладена, потенціал робочого електроду зсувається а потенціал електроду порівняння залишається сталим. Струм, що протікає через комірку веде до зміни потенціалу у розчині згідно закону Ома викликаючи перепад напруги який можна записати як:

$$V = E_w - E_r + R_s I \quad (3.39)$$

Де  $E_w$  – потенціал робочого електрода,  $R_s$ - опір розчину у комірці,  $I$  сила струму, що тече через комірку. Таким чином прикладена напруга визначає потенціал на робочому електроді і його можна легко регулювати, якщо вплив складової опору комірки незначний. Дана вимога виконується якщо комірка працює у мікроамперному діапазоні струмів. Завдяки своїй простоті двохелектродна комірка широко використовується у електрохімічних сенсорах. Вплив опору стає критичним якщо вимірювання передбачає запис залежності сили струму від прикладеної напруги (запис вольтамперограми), оскільки складова  $R_s I$  буде змінюватись у процесі і



викликати непередбачувані коливання потенціалу робочого електроду. У такому випадку використовують трьохелектродну комірку яка включає в себе додатковий (допоміжний) електрод. За допомогою потенціостата струм протікає через робочий та допоміжний електроди, в той же час через електрод порівняння струм не тече і його рівноважний потенціал не порушується. Таким чином вплив перепаду струму викликаного опором комірки можна нівелювати, а у випадках високого його значення – програмно компенсувати. До допоміжного електроду висувають ряд вимог основною з яких є відсутність електрохімічних процесів на його поверхні, а сама його поверхня повинна бути розвинута значно більше площа робочого електроду. Як правило допоміжні електроди виготовлені з платини чи скло вуглецю. Протікання струму через електрод забезпечується рухом електронів, проте електрони не можуть вільно існувати у розчині. Для забезпечення провідності через межу розділу фаз електрод/розчин необхідно, щоб протікала електрохімічна реакція за участю присутніх у розчині сполук:



Таким чином, струм який протікає через комірку лімітується швидкістю електрохімічної реакції, що визначається електронами які пройшли через межу розділу за певний період часу. Для вибору потенціалу робочого електроду на якому відбуватиметься аналітична реакція користуються вольт-амперними кривими. Як можна пригадати із курсу аналітичної хімії, вольт-амперна крива характеризується рядом параметрів які зв'язані із кількістю електронів які приймають участь у Red-Ox процесі, та положенням потенціалу напівхвилі, яке залежить від природи речовини, фонового електроліту та матеріалу використаного робочого електроду. Потенціал напівхвилі електрохімічного процесу який не залучений у паралельній хімічній реакції дуже близький до формального окисно-відновного потенціалу Red-Ox пари. У швидких та оборотних електрохімічних реакціях потенціал напівхвилі також залежить від константи рівноваги реакції та рН

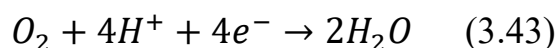
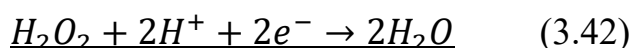
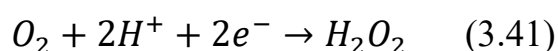
середовища. Тому потенціал робочого електроду вибирають з урахуванням всіх факторів, і він найчастіше є близьким до значення потенціалу напівхвилі. Для того, щоб електрод міг бути використаним в якості робочого, він повинен бути здатним до поляризації. Електрод поляризується, якщо його потенціал може бути зсунутим відносно рівноважного потенціалу. При прикладанні напруги у комірці із поляризованим електродом існує конденсатор, який не дозволяє проходити струму. Після досягнення певної напруги, відбувається пробій конденсатора, або ж деполіаризація електроду. Межі потенціалів у катодній та анодній області при яких електрод знаходиться у поляризованому стані мають назву електрохімічного вікна – це такі значення напруги при яких не відбувається протікання струму через комірку за умов відсутності деполіаризатора. Потенціал напівхвилі вибраної для використання в сенсорі електрохімічної реакції повинен попадати в межі електрохімічного вікна. Амперометричний метод детектування широко використовують у аналітичній практиці, оскільки за оптимальних умов  $C_{\min}$  визначуваного субстрату може досягати  $10^{-8}$  моль/л, а межі лінійності у 3-4 порядків.

У електрохімічних сенсорах найчастіше використовують стаціонарний режим отримання сигналу – величину струму визначають при певному фіксованому значенні потенціалу, та використовують його як аналітичний сигнал. Такі сенсори отримали назву амперометричних, не потребують складного обладнання та широко використовуються у розробці ензимних сенсорів. Основним недоліком є низька селективність до інших супутніх електрохімічно активних сполук. У випадку наближеності значень потенціалів напівхвилі аналіту та інтерферентів, такі сенсори володіють низькою чутливістю, та недостатньою межею виявлення за рахунок накладання струмів. Для підвищення селективності сенсор покривають напівпроникними мембранами, чи доповнюють електричну схему додатковим робочим електродом для релятивізації відгуку, подібно до того як це роблять у фотометричних методах аналізу з використанням холостого

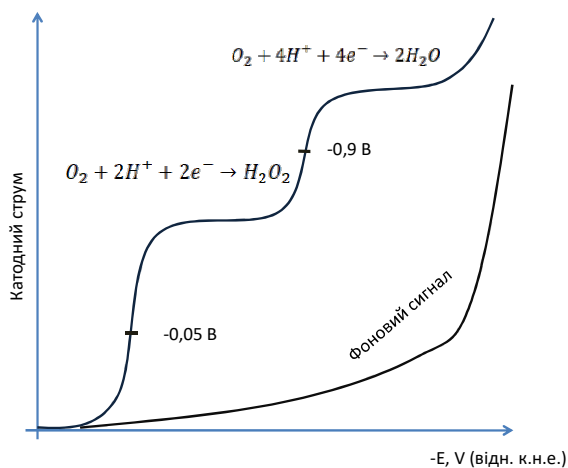
досліді. Додатковий робочий електрод служить для вимірювання сигналу спричиненого інтерферентами, який далі вираховують із сигналу сенсора.

**Амперометричні газові сенсори.** Деякі гази у розчиненому стані здатні проявляти електрохімічну активність, що використовують для виготовлення амперометричних газових сенсорів. Для обмеження швидкості дифузії газу до робочої поверхні електрода, та для її захисту від забруднення органічними речовинами, електрод покривають напівпроникною мембраною. Слід зауважити, що дані сенсори не мають розпізнавального хімічного елемента у своїй будові, і часто їх називають *датчиками*. Електрохімічна реакція в газових сенсорах може бути ініційована зовнішнім джерелом напруги, а також з використанням внутрішнього гальванічного елемента.

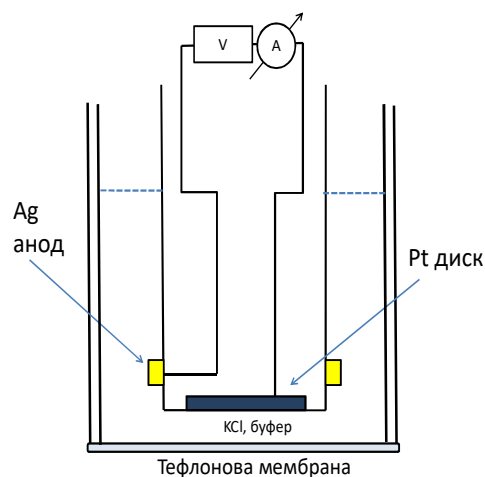
Класичним прикладом газового сенсора є електрод Кларка який часто використовують як трансдюсер для виготовлення амперометричних біосенсорів. Основне призначення електроду Кларка – визначення **розчиненого кисню**. Електрод Кларка запропонований у 1956 році для визначення кисню у крові і став першим амперометричним сенсором для визначення концентрації газів у розчині. В принцип роботи електроду Кларка покладено електрохімічне відновлення розчиненого кисню, що проходить у дві стадії:



У конструкції електроду Кларка використовують благородні метали, для яких полярограма відновлення кисню матиме тільки одну хвилю, оскільки друга хвиля перекривається процесом виділення водню. Тому в якості робочого потенціалу поляризованого електроду використовують потенціал першої хвилі (див. рис. 3.20. (а)). У реакції приймають участь протони тому її проводять у середовищі буфера.



а.



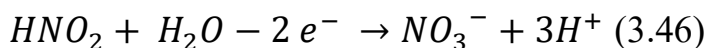
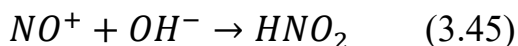
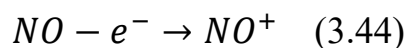
б.

Рис. 3.20. Вольт-амперні криві відновлення кисню на РКЕ (а) та схематична будова електроду Кларка (б).

Електрод Кларка це по суті електрохімічна комірка відділена від досліджуваного середовища Тefлоновою чи іншою напівпроникною плівкою (Рис. 3.20. (б)). Цей матеріал є гідрофобним, проте в той же час проникним для газів і дозволяє розчиненому кисню потрапляти до поверхні платиного електроду виготовленого у вигляді диску. Платиновий диск розміщений максимально близько до тefлонової плівки і відіграє роль катоду. На ньому відбувається електрохімічне відновлення кисню. Внутрішній простір заповнений буферним розчином із КСl, а роль аноду виконує срібний електрод у вигляді кільця чи окремих срібних стержнів. На робочий електрод подають постійний потенціал відновлення кисню в районі першої полярографічної хвилі (близько -0,600 В). Струм, який виникає за рахунок протікання електрохімічної реакції пропорційний концентрації кисню у розчині ззовні Тefлонової мембрани. Комерційні кисневі датчики працюють у режимі вимірювання парціального тиску кисню. Цей параметр залежить від сольового складу розчину, що необхідно враховувати при його використанні. Кисневі датчики потребують періодичної калібровки з використанням стандартних розчинів кисню. Оскільки використана електрохімічна реакція є оборотною, то електрод Кларка можна застосовувати для визначення пероксиду водню за його анодною реакцією при потенціалі + 0,600 В.

Електрод Кларка використовують для визначення кисню у крові, морській воді, соках та розчинах хімічних виробництв. Аналіз газової фази з електродом Кларка теж можливий, але обмежений випаровуванням та висиханням мембрани. Якщо на поверхню тефлонової плівки електроду Кларка нанести мембрану із ензимом, то він перетворюється на трансдюсер сигналу амперометричного сенсора, який реагує на зміну концентрації розчиненого кисню у мембрані з ензимом, за рахунок протікання ензимної реакції з аналітом. Другий механізм перетворення сигналу базується на детектуванні пероксиду водню який також є учасником ензимних реакцій.

**Сенсор оксиду азоту (NO).** NO є медіатором багатьох процесів нервової, імунної та кардіо систем організму. Він також залучений у патфізіологічних станах таких як септичний шок, гіпертензія та нейродегенеративних захворюваннях. Оксид азоту (II) здатен до електрохімічного окислення та відновлення. За рахунок заважаючого впливу кисню, у сенсорах NO використовують процес окислення який протікає у три стадії:



У біологічних зразках присутні інші Red-Ox активні сполуки аніонного характеру такі як аскорбінова кислота, нітрит іон та інш. які можуть вступати в реакцію на аноді. Для обмеження їх доступу до робочого електроду сенсор покривають мембраною із Нафіону – який являє собою катіоніт та перешкоджає доступу аніонів до робочого електроду (див. рис. 2.25). В той же час Нафіон є проникним для нейтральної молекули NO. Оскільки Нафіон проникний для катіонів (допамін, серотонін) та нейтральних сполук (пероксид водню) сенсор містить додаткову мембрану гідрофобного характеру, що дозволяє усунути вплив таких сполук (див. рис. 3.21).

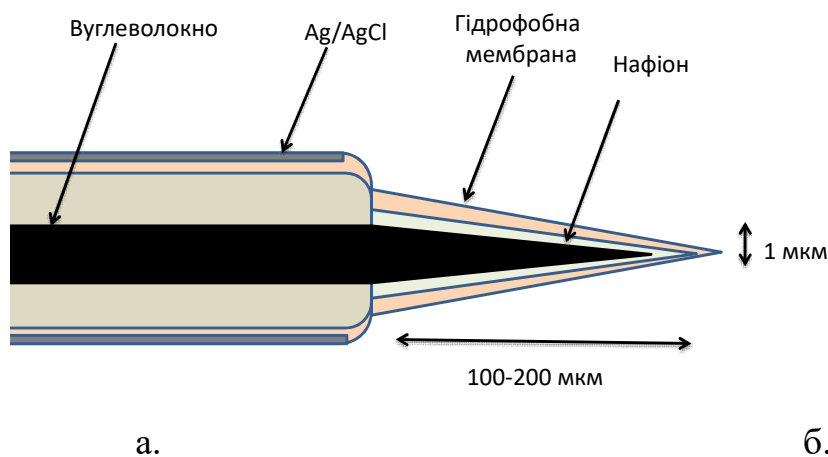


Рис. 3.21. Будова мікророзмірного амперометричного сенсора NO

Амперометричний сенсор оксиду азоту складається із мікрОВОЛОКОННОГО вуглецю із конічним наконечником вкритим Нафіоном та гідрофобною мембраною. Електрод порівняння виконаний у вигляді тонкого шару нанесеного на облицювання карбонового волокна. Даний сенсор проявляє лінійний відгук у межах 10-1000 нмоль/л та придатний до *in vivo* вимірювань.

Амперометричні газові сенсори потребують зовнішнього джерела напруги для стимулювання електрохімічної реакції. Альтернативою такій конструкції є сенсори типу гальванічної комірки. Основний принцип полягає у створенні умов за яких електрохімічна реакція протікає самовільно. Наприклад, відновлення кисню відбувається на катоді, в той же час на аноді проходить інший електрохімічний процес, який викликає появу потенціалу протилежного знаку.

Різноманітністю сенсорів з гальванічним елементом є сенсори типу *паливної комірки*. Паливна комірка це гальванічна комірка здатна генерувати електричний струм за рахунок електрохімічних реакцій газоподібних сполук. Паливні комірки виготовляють у вигляді дифузійних електродів, що містять каталізатори. Дані сенсори розроблені для визначення водню, монооксиду вуглецю, вуглеводнів, та летких спиртів. Принцип роботи водневого сенсора типу паливної комірки представлено на рис. 3.22, на катоді та аноді протікають зазначені електрохімічні перетворення, що пришвидшуються каталізатором.

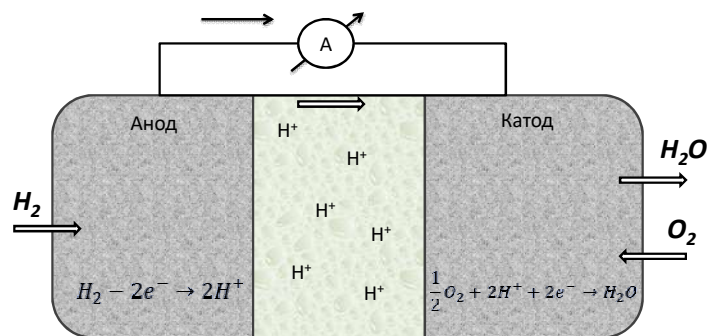


Рис. 3.22. Принципова схема амперометричного сенсора водню по типу паливної комірки

Струм тече через комірку за рахунок міграції протонів водню через поліелектроліт. В той же час, струм що тече по зовнішньому електричному колі між катодом та анодом має достатню для вимірювання величину, яка залежить від концентрації водню у газовій фазі у районі аноду. Даний тип сенсорів використовують за стандартних умов. Для виготовлення сенсора здатного працювати за високих температур, наприклад двигунах внутрішнього згорання, конструкція сенсора базується на твердому електроліті. Тверді електроліти це сполуки з іонною провідністю, тобто протікання струму в них відбувається за рахунок руху іонів. Приклад кисневого сенсора зображено на рис. 3.23.

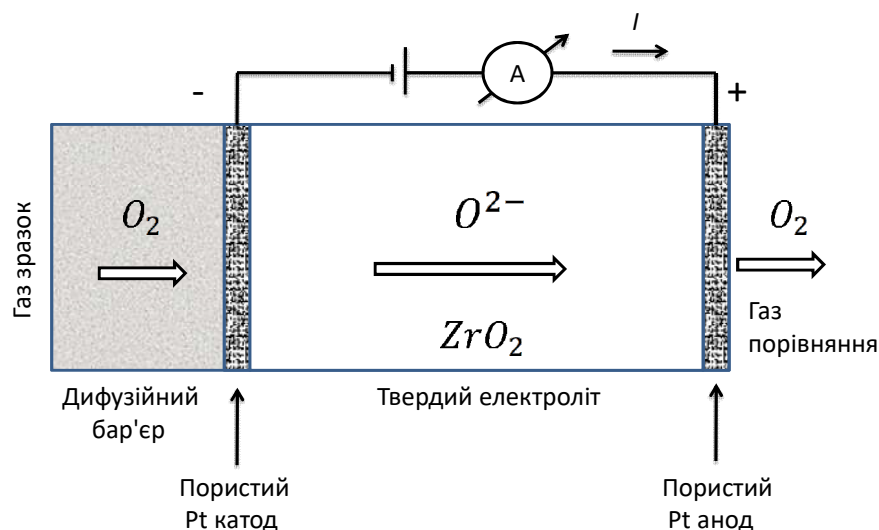
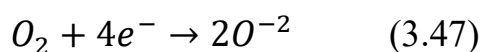
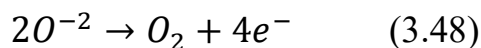


Рис. 3.23. Принцип роботи твердотілого газового амперометричного сенсора кисню ( $t^{\circ} = 700 - 800^{\circ}\text{C}$ ).

Роль катоду та аноду виконують пористі платинові пластини розміщені з обох боків іонного провідника – оксиду цирконію. Анод контактує із газом порівняння у якому концентрація кисню залишається сталою. Катод вкритий дифузійним бар'єром із проникного для кисню матеріалу для забезпечення сталої швидкості дифузії до його поверхні. На катоді відбувається процес відновлення:



Утворені іони кисню під дією прикладеної ззовні напруги напрямлено рухаються у бік аноду, та досягаючи його окислюються до молекулярного кисню за зворотнім рівнянням:



Таким чином сенсор ніби «перекачує» кисень із області проби у область газу порівняння під впливом зовнішньої напруги. Сила струму, що протікає через твердий електроліт залежить від кількості іонів кисню які утворюються на катоді та їх дифузії через електроліт, а отже і від парціального тиску кисню у газовій фазі. Основною перевагою такої конструкції газового сенсора є відсутність впливу коливань температури, що використано у двигунах внутрішнього згорання для контролю якості паливної суміші (λ-зонд).

### **3.4.1. Механізми виникнення аналітичного сигналу в ензимних сенсорах.**

Принципи амперометрії використовують у перетворенні сигналу з використанням ензимних окисно-відновних реакцій. В основі роботи практично всіх амперометричних біосенсорів покладено реакції переносу електрону, як результату Red-Ox взаємодії електроактивних сполук ензимної реакції. Роль ензиму полягає у продукуванні або споживанні електроактивних сполук концентрація яких стехіометрично відповідає концентрації аналіту.



Прототипом сучасних амперометричних ензимних сенсорів був сенсор глюкози запропонований Клакром та Ліонсом у 1962 р. в якому в якості трансдюсера використовували описаний вище електрод Кларка. Сенсор детектував пероксид водню як продукт ензимної реакції, який мігрує до аноду де окислюється до води. Принципова схема електроду Кларка як трансдюсера амперометричних ензимних сенсорів представлена на рис. 3.24.

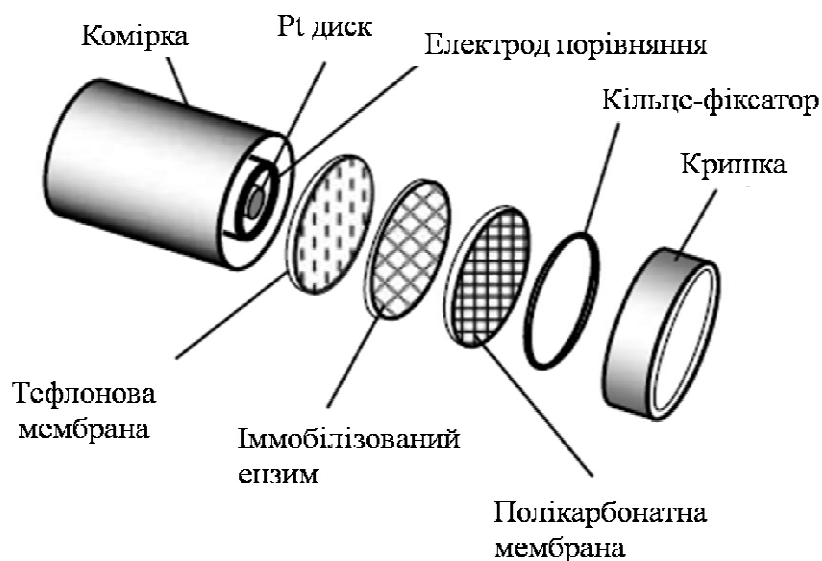
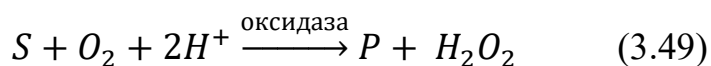


Рис. 3.24. Типова будова амперометричного біосенсора на основі електроду Кларка.

Розвиток сенсорних технологій з використанням ензимів привів до виникнення ряду підходів до отримання аналітичного сигналу. Розрізняють три генерації амперометричних ензимних сенсорів. Перша генерація включає в себе сенсори, що працюють на принципі електрохімічного моніторингу пероксиду водню як продукту ензимної реакції чи невитраченого на ензимну реакцію кисню. У другій генерації кисень чи пероксид замінено на штучний акцептор електронів (Red-Ox медіатор) який додатково вносять у склад чутливої мембрани разом з ензимом. Третя генерація містить групу сенсорів із прямим переносом електрону від ензиму до електроду без участі медіатора, як правило з використанням наноматеріалів, для забезпечення електричного контакту між ензимом та поверхнею робочого електроду. Розглянемо генерації сенсорів на прикладі пристроїв на основі оксидаз, які в організмі є

природними каталізаторами процесів окислення певного субстрату S до продукту P:



*Перша генерація амперометричних біосенсорів.* Найпростішим підходом до моніторингу ензимної реакції є використання супутніх продуктів реакції чи вихідних речовин. У випадку реакції (3.49) для цих цілей придатними є молекули кисню та пероксиду водню. Таким чином амперометричний сенсор являє собою датчик кисню, на чутливу тефлонову мембрану якого нанесли розчин ензиму. Аналіт (наприклад глюкоза) разом з розчиненим у пробі киснем дифундує через напівпроникну мембрану до ензимного шару, де відбувається реакція окислення глюкози до глюконолактону під дією глюкооксидази, це в свою чергу спричиняє зменшення концентрації розчиненого кисню, що фіксують з допомогою кисневого датчика. Основним недоліком такого механізму отримання сигналу є чутливість сенсора до зміни концентрації кисню у самій пробі, а також рН досліджуваного зразку повинно бути строго контрольоване в зв'язку з його впливом на потенціал відновлення кисню.

Альтернативою кисню може служити пероксид водню, який є продуктом ензимної реакції (див. рівняння 3.49). Пероксид водню окислюється на робочому аноді комірки до води. Недоліком використання пероксиду водню є супутні інтерференти такі як аскорбат та урат аніони. Вони теж піддаються електрохімічному окисленню створюючи таким чином фоновий сигнал. Їх усувають додаванням у конструкцію сенсора напівпроникної мембрани із Нафіону яка є непроникною для аніонів але проникною для нейтральних молекул глюкози та кисню. Такий механізм перетворення сигналу використано з серією оксидаз для визначення глюкози, лактози, амінокислот, холестерину та фенолів. Окрім оксидаз у амперометричних біосенсорах першої генерації використовують дегідрогенази (таблиця 3.1).

Таблиця 3.1. Деякі оксидази та гідрогенази у біохімічних сенсорах I генерації

Фермент	Субстрат (аналіт)
Оксидази	
Глюкооксидаза	Глюкоза
Лактатоксидаза	Лактат
Холіноксидаза	Холін
Алкогольоксидаза	Етанол, Метанол, Формальдегід
Глутаматоксидаза	Глутамат
Ксантиноксидаза	Гіпоксантин
Дегідрогенази	
Альдегіддегідрогеназа	Альдегіди
Алкогольдегідрогеназа	Етанол
Глутаматдегідрогеназа	Глутамат
Гліцеролдегідрогеназа	Гліцерол

Для підвищення селективності окислення пероксиду водню, у склад мембрани вносять каталізатори – пероксидази. Пероксид водню, що утворився як продукт окислення глюкози реагує із пероксидазою окислюючи її. Пероксидаза в свою чергу приймає електрони від робочого електроду через медіатор. Амперометричні сенсори такого типу відносять до *біензимних*. Такий підхід допомагає зменшити робочий потенціал електроду, та знівелювати таким чином вплив інтерферентів оскільки продукт однієї ферментної реакції є субстратом для іншої ферментної реакції.

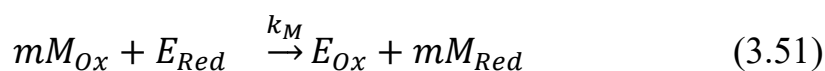
До деяких недоліків амперометричних сенсорів першої генерації відносять:

- Необхідність періодичної підготовки поверхні електродів для отримання відтворюваних результатів.
- Вплив геометричної будови сенсора на параметри відгуку.

- Вплив масо-переносу частинок через біокаталітичну та напівпроникну мембрани на динамічні характеристики сенсора.
- Необхідність постійного калібрування сенсора за рахунок протікання електролітичних процесів на його поверхні.
- Корекція та поправки на вплив фонового електроліту.

Тим не менше, сенсори першої генерації активно застосовуються у попередніх наукових дослідженнях, оскільки не потребують складного обладнання та дорогих реактивів та є зручними у виробництві одноразових біосенсорів.

*Амперометричні біосенсори другої генерації (медіаторні амперометричні біосенсори).* Для усунення недоліків пов'язаних із необхідністю кисню у пробі, у сенсорах II генерації використовують штучні акцептори електронів – медіатори. Схему реакцій, які протікають у ензимному шарі та на поверхні робочого електроду виражають наступним чином:



На першій стадії відбувається передача електронів від субстрату  $S$  до активного центру ензиму  $E_{Ox}$  з утворенням продукту  $P$  та відновленої форми ензиму  $E_{Red}$  (див. рис. 3.25). Далі відновлена форма ензиму передає електрони штучному медіатору, повертаючись таким чином у початковий стан  $E_{Ox}$ . Медіатор, як невелика за розміром молекула, вступає в пряму електрохімічну реакцію на електроді повертаючись у окислену форму. Таким чином джерелом аналітичного сигналу є третя стадія описаного процесу яка не залежить від концентрації присутнього в пробі кисню, проте залежить від рН середовища, якщо протони приймають участь у першій стадії (3.50).

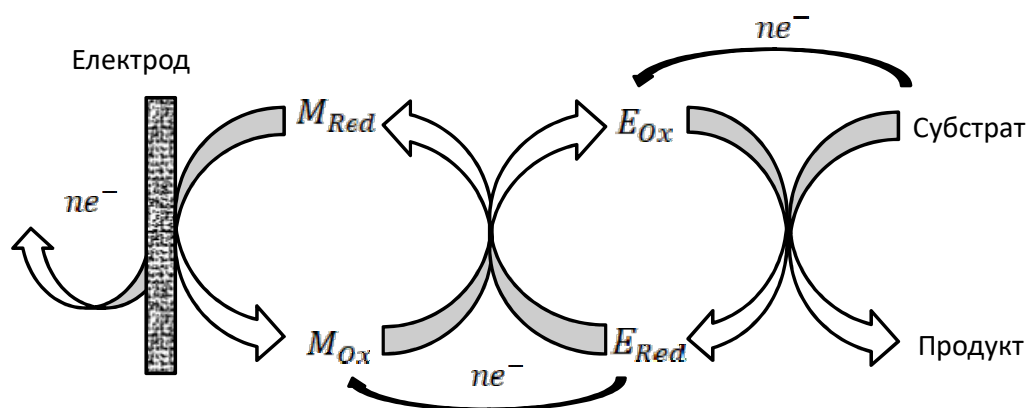


Рис. 3.25. Схема перебігу реакцій у амперометричному сенсорі II генерації.

Медіатор вносять у зразок з пробією, у такому випадку він дифундує до робочої поверхні електроду разом з аналітом, або ж він входить до складу чутливої мембрани разом із ензимом. Також медіатор додають до композитного провідного матеріалу, наприклад графітової пасти придатної для трафаретного друку. Основною проблемою у розробці амперометричних сенсорів з медіатором залишається його вибір оскільки він повинен відповідати ряду вимог. По перше медіатор повинен бути термодинамічно спроможним забрати електрон у ензиму, тобто стандартний електродний потенціал медіатора має бути більш позитивним ніж у ензиму (див. додаток 3). Також медіатор має бути стабільним, простим для іммобілізації у склад мембрани та не приймати участь у протолітичних рівновагах. Окрім цього, швидкість хімічної реакції регенерації ензиму та медіатора повинна бути достатньо високою, а сама реакція оборотною. Для стимулювання процесу потенціал робочого електроду повинен бути наближеним до потенціалу Red-Ox пари медіатора. У випадку використання сенсора *in vivo* звертають також увагу на його токсичність та можливість витримувати процедуру стерилізації.

*Неорганічні медіатори.* Одним із найперших неорганічних медіаторів є комплексний іон ферріціаніду  $[Fe(CN)]_6^{3-}$  який відновлюється до фероціаніду  $[Fe(CN)]_6^{4-}$  без участі протонів. Ферріціанід використовують у одноразових амперометричних сенсорах, в яких вимивання медіатора із

мембрани не є критичним. Оксиди металів  $Fe_2O_3$ ,  $Fe_3O_4$ ,  $MnO_2$ ,  $SnO_2$  відіграють роль медіаторів у пастових електродах виготовлених методом трафаретного друку. Найкращими для цих цілей підходять оксиди благородних металів, наприклад  $IrO_2$ , які дозволяють значно зменшити потенціал робочого електроду за рахунок чого покращити селективність.  $Fe_3O_4$  використовують у вигляді наночастинок у поєднанні із біополімером, наприклад хітозаном, що дозволяє збільшити частку ензиму у складі мембрани, та отримати велику площу поверхні робочої області сенсора.

*Органічні медіатори.* Як органічні медіатори використовують відомі сполуки здатні існувати у вигляді Red-Ox пар, наприклад бензохінон. Знайшли використання медіатори із класу окисно-відновних індикаторів – похідних феназину, та фенотіазіну (див. рис. 3.26).

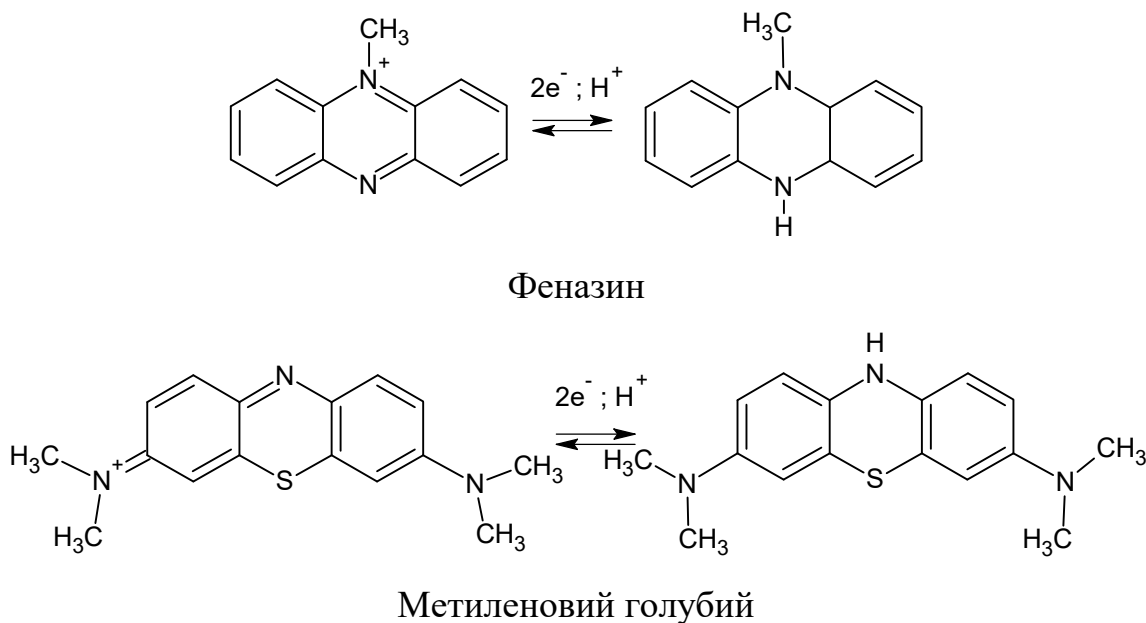


Рис. 3.26 Окисно-відновні індикатори як медіатори

З приведених прикладів видно, що у Red-Ox рівновагах даних індикаторів приймає участь протон, тому їх реальний окисно-відновний потенціал залежить від рН середовища, що беруть до уваги при їх виборі.

Окремим класом органічних медіаторів є гетероатомні ненасичені сполуки, що існують у формі радикалу чи іону завдяки стабілізації кон'югованими  $\pi$ -орбіталями. В наслідок такої будови ці сполуки вступають

у окисно-відновні реакції без участі протонів. Прикладами таких сполук є тетраціанохінодиметан (TCNQ) та тетрафулварен (TTF) (див. рис. 3.27)

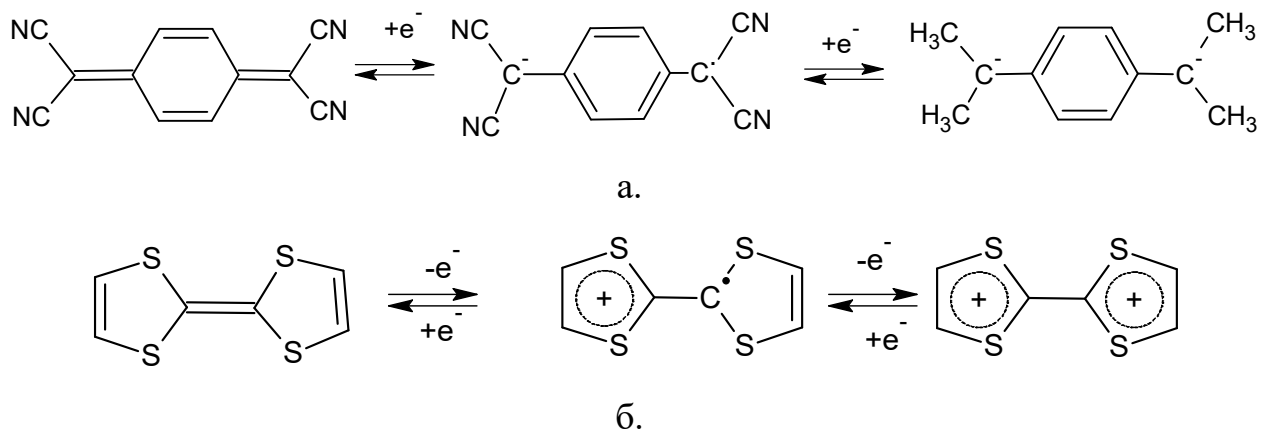


Рис. 3.27. Електрохімічні перетворення медіаторів з делокалізованим зарядом TCNQ (а) та TTF (б).

Стандартний потенціал даних медіаторів залежить від природи використаного розчинника та власної концентрації. Як правило, для переносу електрону використовують першу стадію електрохімічного процесу.

Одним з найбільш поширених медіаторів є ферроцен та його похідні. Ферроцен (рис. 3.28) це комплексна сполука заліза з переносом заряду з п'ятичленним ароматичним ядром в якості лігандів. Електрохімічне перетворення ферроцену відбувається при потенціалі +165 мВ (відносно н.к.е) який можна регулювати введенням замісників у циклопентадиєнільне кільце. Медіатор добре розчинний у воді та був вперше використаний для розробки тест систем визначення глюкози у крові для домашнього використання.

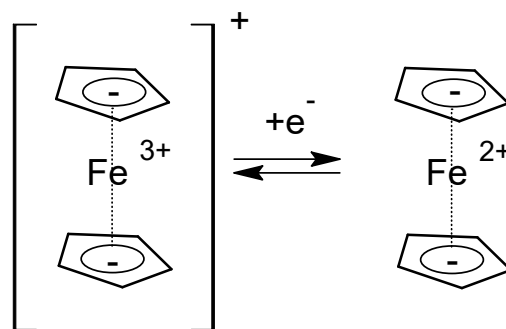


Рис. 3.28. Структура та Red-Ox рівновага ферроцену.

Виготовлення амперометричного сенсора з використанням ферроцену досить просте. Спершу на робочий електрод наносять розчин ферроцену у органічному розчиннику, далі модифікують поверхню відповідним ензимом шляхом ковалентного зв'язування чи адсорбцією. Отриманий чутливий шар додатково вкривають напівпроникною мембраною.

Окрім медіаторів для переносу електрону від ензиму до поверхні електроду використовують електропровідні Red-Ox полімери. Основна перевага їх використання – це рівномірність розподілу частинок здатних до обміну електроном у фазі мембрани, чого важко досягти з використанням медіаторів як окремих молекул, які у процесі експлуатації вимиваються із фази мембрани, що впливає на відтворюваність сенсора. Таким чином медіатор пришивають до молекул полімера, що також дає можливість ковалентного зв'язування самого ензиму у фазі мембрани до модифікованих елементарних ланок полімеру. Спрощена структура ланки такого полімеру приведена на рис. 3.29.

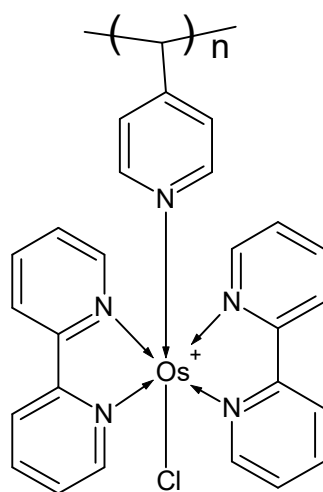


Рис. 3.29. Ланка Red-Ox полімеру на основі полівінілпіридину

У даній молекулярній структурі комплекс Осмію відіграє роль медіатора. Якщо у структурі полімера присутні гідрофільні замісники, то він може бути використаний для отримання Red-Ox гелю, що спрощує іммобілізацією ферментів на такому електроді. Передача електрону від ензиму до такого медіатора полегшується за рахунок стеричного наближення



їх реакційних центрів. Далі електрони «транспортуються» до робочого електрода через шари провідного полімеру.

У амперометричних біосенсорах третьої генерації перехід електрона від простетичної групи оксидоредуктази до електрода відбувається без участі «посередників», що значно спрощує сенсор, та дозволяє уникнути недоліків використання косубстратів чи медіаторів. Для розробки таких сенсорів використовують електроди, що складаються із органічних провідних солей. Ці сполуки являють собою солі з органічним катіоном та аніоном, таких як наприклад згадані вище тетраціанохінодиметан (TCNQ) та тетрафулварен (TTF) (див. рис. 3.27), які у ацетонітрилі утворюють відповідну сіль TCNQ·TTF.

У твердому стані структура TCNQ·TTF є стосоподібною послідовністю катіонів та аніонів відповідно донорів та акцепторів електронів. Такі сполуки мають властивості напівпровідників. Для виготовлення сенсора, органічний напівпровідник розтирають до дисперсного стану, та змішують із інертним маслом отримуючи консистенцію подібну до графітової пасти, або ж використовують повільне випаровування розчину солі на поверхні графітового електрода. Електрохімічне вікно провідних солей визначається електрохімічними реакціями які можуть протікати за участю катіона чи аніона. Так, при потенціалі більше + 0,4 В (відносно н.к.е),  $\text{TCNQ}^{\cdot-}$  окислюється до нейтрального нерозчинного у воді TCNQ, який відкладається на поверхні електрода. При потенціалі більш негативному ніж -0,2 В TTF та  $\text{TCNQ}^{\cdot-}$  вимиваються із мембрани. На основі електропровідних органічних солей розроблено ряд сенсорів для визначення глюкози та амінокислот з використанням глюкооксидази, оксидаз D- та L- амінокислот. TCNQ·TTF також використовують у вигляді композиту з поліпіролом, який сам по собі є ізолятором. Для цього кристали TCNQ·TTF вирощують у фазі полімеру, що дозволяє отримати розвинену структуру з високою площею поверхні та унікальною селективністю сенсора.

Карбонові нанотрубки знайшли використання у амперометричних сенсорах третьої генерації завдяки власній електропровідності. Як приклад на рис. 3.30. зображено модифікацію поверхні золотого електрода для отримання прямого контакту із ензимом. На першій стадії золоту поверхню модифікують цистеаміном, далі одностінні карбонові нанотрубки довжиною 120 нм (ОСКН) пришивають ковалентно через амідну групу з використанням карбоксильних груп на торцях трубок. Глюкооксидазу пришивають до другого кінця нанотрубки ковалентно чи через афінну реакцію з використанням апоензиму.

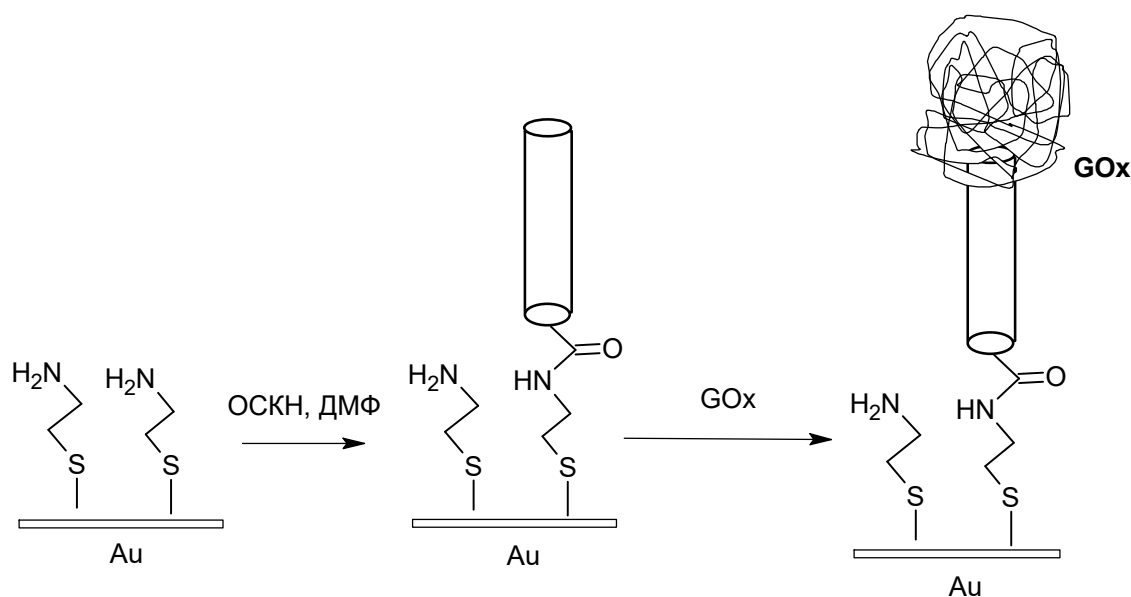


Рис. 3.30. Схема модифікації золотого електрода з використанням нанотрубок для виготовлення амперометричного сенсора глюкози.

Таким чином амперометричні біосенсори створюють на основі ензимів – каталізаторів окисно-відновних реакцій за участю аналітів (субстратів). Для перетворення сигналу процес переносу електронів у окисно-відновній реакції поєднують із електрохімічними процесами на електродах для отримання струму. Якщо у результаті реакції утворюється електроактивний продукт, чи у реакції приймає участь електроактивних кофактор, зміну концентрації якого можна електрохімічно встановлювати, то це використовують для перетворення сигналу. Проте відтворюваність та характеристики такого сенсора залежить від концентрації кофактори чи супутніх електроактивних

сполук. Для усунення такого впливу використовують природні чи синтетичні медіатори – речовини які служать переносниками електронів від ензиму до електроду і не витрачаються у процесі роботи сенсора. Медіатори можуть бути внесені у розчин, чи у склад мембрани, або навіть ковалентно пришитими до скелета полімерної матриці. Найкращим характеристиками володіють амперометричні сенсори в яких перенос електрона від ензиму до електрода відбувається напряму, без участі посередників. У основі таких сенсорів лежить використання органічних напівпровідників в якості електрода. Широкого використання набули електропровідні наночастинки.

Для масового виробництва одноразових амперометричних сенсорів використовують методи молекулярного вдрукування, чи звичайного нанесення чутливого шару шляхом абсорбції. Для отримання багаторазових сенсорів використовують захоплення в полімерну матрицю шляхом електрополімеризації.

### 3.5. Кондуктометричні сенсори.

Відомо, що розчини електролітів проводять електричний струм завдяки напрямленому руху іонів під дією електричного поля. Дослідження процесів переносу заряду є основним методом фізичної хімії розчинів електролітів та отримав широке застосування у аналітичній хімії та у виготовленні сенсорів зокрема. В принцип роботи кондуктометричних сенсорів покладено вимірювання провідності. Провідні властивості розчинів електролітів характеризуються провідністю  $L$ , що є величиною оберненою до опору  $R$  та вимірюється у Сіменсах (См, Ом<sup>-1</sup>):

$$L = \frac{1}{R} \quad (3.53)$$

Опір провідника з площею перерізу  $A$  та довжиною  $l$  залежить від його геометрії та питомого опору  $\rho$  що обернено-пропорційний до питомої електропровідності  $\lambda$ :

$$R = \rho \frac{l}{A}, \text{ та } \lambda = \frac{1}{\rho}$$

Провідність тіла залежить від власної провідності матеріалу та його геометричної форми:

$$L = \lambda \frac{A}{l} \quad (3.53)$$

Провідність розчину є мірою його здатності проводити електричний струм за рахунок руху іонів під дією електричного поля. Для вимірювання провідності використовують кондуктометричну комірку, що складається із електродів певної площі ( $A$ ) занурених у розчин електроліту на певній відстані один від одного ( $l$ ). На відміну від металічного провідника, у такій системі залучено два типи провідності – електронна у зовнішньому колі, виготовленому із металів, та іонна у розчині. Таким чином протікання струму потребує перебігу електрохімічних реакцій на поверхні електродів, наприклад електролізу води. На практиці кондуктометричні комірки не є стандартизовані за своїми параметрами, тому для кожної окремої комірки визначають *сталу комірки*  $\sigma = A/l$  з використанням стандартних розчинів електролітів з відомою провідністю.

Оскільки електропровідність визначається кількістю частинок здатних до переносу заряду, провідність розчину залежить від концентрації розчиненого в ньому електроліту. Для її опису використовують молярну електропровідність  $\Lambda$  ( $\text{См} \cdot \text{м}^2 \cdot \text{моль}^{-1}$ ):

$$\Lambda = \frac{\lambda}{c} \quad (3.54)$$

У сильно розведених розчинах електростатичні взаємодії між іонами незначні і кожен іон рухається незалежно від інших. Тому для нескінченно розведених розчинів гранична молярна провідність  $\Lambda_{\infty}$  визначається провідністю іонів кожного типу. Так, для електроліту з загальною формулою  $Kat_mAn_n$ :

$$\Lambda_{\infty} = m\Lambda_{Kat} + n\Lambda_{An} \quad (3.55)$$

Електропровідність розчину є адитивною величиною, тобто визначається сумою електропровідностей зумовлених всіма присутніми у

розчині зарядженими частинками, які одночасно можуть відрізнятися за величиною заряду та рухливістю. Більшість неорганічних аніонів та катіонів мають молярну провідність у межах 50-100  $\text{См}\cdot\text{см}^2\cdot\text{моль}^{-1}$ , тільки іони  $\text{H}^+$  та  $\text{OH}^-$  володіють молярною провідністю 350 та 200  $\text{См}\cdot\text{см}^2\cdot\text{моль}^{-1}$  відповідно за рахунок особливого механізму переносу заряду. При переході до концентрованих розчинів провідність починає сильно залежати від міжіонних взаємодій зумовлених виникненням іонної атмосфери, що описують рівнянням Кольрауша в якому  $a$  це специфічна константа певного електроліту:

$$\Lambda = \Lambda_{\infty} - aC^{1/2} \quad (3.56)$$

Таким чином, електропровідність розчинів залежить від концентрації, заряду та рухливості його компонентів. при концентраціях менших за 1 ммоль/л провідність прямо-пропорційно залежить від концентрації що використовують у аналізі простих об'єктів. Незважаючи на низьку селективність кондуктометричних вимірювань даний метод придатний для фіксації змін загальної концентрації іонів у розчині, що використано у розробці кондуктометричних сенсорів.

Трансдюсери для кондуктометричних біосенсорів виготовляють у формі малих за розміром зустрічно штирьових електродів. Електроди створюють з використанням мікроконструювання шляхом нанесення металічних контактів (переважно з металів платинової групи) у вигляді протилежно напрямлених гребінок на підкладку із ізоляційними властивостями (див. рис. 3.31). Для корегування можливих змін температури у схему добавляють терморезистор. Із зменшенням площі поверхні електродів чутливість таких сенсорів зростає. Вимірювання електропровідності проводять з використанням змінного струму для уникнення змін складу розчину під дією електролізу.

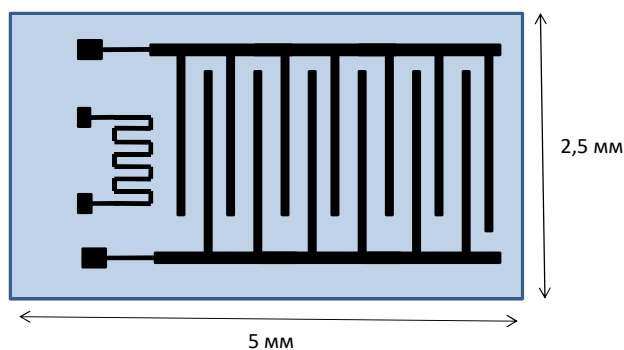
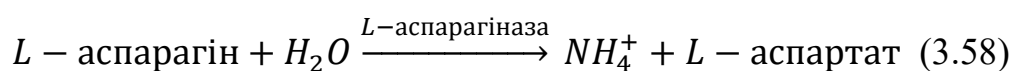


Рис. 3.31. Принципова схема кондуктометричного трансдюсера на зустрічно штирьових електродах з терморезистором.

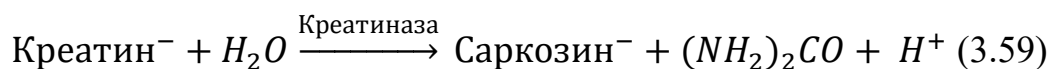
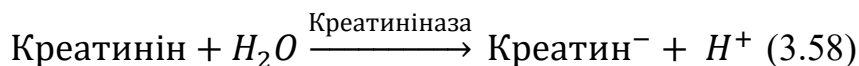
Значна частина ензимних реакцій протікає з утворенням частинок здатних змінювати провідність розчинів. Протони водню та гідрокси іони найчастіше залучені у таких реакціях, але за рахунок необхідності у буферних розчинах, новоутворені частинки  $H^+$  чи  $OH^-$  нейтралізуються та не впливають на провідність. Тому у кондуктометричних сенсорах використовують реакції, які супроводжуються утворенням інших іонів. Так, біокаталітична реакція гідролізу сечовини спричиняє появу у розчині амоній та гідрогенкарбонат іонів:



Амінокислота аспарагін (амід аспарагінової кислоти) піддається ферментативному гідролізу з утворенням протилежно заряджених іонів:



Послідовність ензимних реакцій у мультиензимному сенсорі також може бути використана для отримання заряджених частинок. Так креатинін, що є показником ниркової активності, визначають з використанням послідовності реакцій:



Сечовина, що утворюється під дією креатинази гідролізує до амоній та гідрогенкарбонат іонів, що викликає зміну провідності розчину. Іони присутні в об'ємі розчину також приймають участь у створенні провідності, тому кондуктометричні сенсори використовують у середовищі буферів з невисокою іонною силою <0,001 моль/л. приклади кондуктометричних сенсорів на основі реакцій з участю ензимів приведено у таблиці 3.2. а рухливість окремих катіонів та аніонів у додатку 1.

Таблиця. 3.2 Використання ензимних реакцій у кондуктометричних сенсорах.

Реакції утворення іонів із нейтральної молекули	
Ензим	Схема реакції
Амідази	$R(CO) - NH_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Амідаза}} -RCOO^- + NH_4^+$
Дегідратази	$HOCH_2 - CHNH_2 - COOH \xrightarrow{\text{серин дегідратаза}} CH_3 - CO - COOH + NH_4^+$
Декарбоксилази	$CH_3 - CHOH - COOH + O_2 \xrightarrow{\text{лактат оксидаза}} CH_3COO^- + HCO_3^- + 2H^+$
Утворення іонів із катіону молекули субстрату	
Естерази	$(CH_3)_3N^+ - (CH_2)_2 - O(CO)CH_3 + H_2O \xrightarrow{\text{Ацетилхолінестераза}} (CH_3)_3N^+ - (CH_2)_2 - OH + H^+ + CH_3COO^-$
Розділення на дві аніонні форми	
Кінази	$R - O(PO_3H)_3^- + Gluc \xrightarrow{\text{глюкокіназа}} R - O(PO_3H)_2^- + Gluc - PO_3H^-$
Перерозподіл іонних груп	
Фосфатази	$R - O(PO_3H)_3^- + H_2O \xrightarrow{\text{фосфатаза}} ROH + H_2PO_4^- + H^+$
Сульфатази	$R - SO_3^- + H^+ \xrightarrow{\text{сульфатаза}} R - OH + SO_4^{-2}$

Кондуктометричні ензимні сенсори використано для визначення забруднень у водах. В принцип функціонування було покладено інгібування активності ензиму певним конкретним забруднювачем. Описано також кондуктометричний сенсор із використанням живих клітин мікробдоростей

*Chlorella Vulgaris* в яких провідність визначається активністю лужної фосфатази та ацетилхолінестерази. Активність першого ферменту інгібуються іонами важких металів, а другого карбаматами та фосфорорганічними пестицидами. Як сенсор порівняння використовують кондуктометричний датчик покритий неактивним алгалом. Дані алгалові сенсори працюють під опроміненням денним світлом, яке необхідне для метаболізму живих водоростей. Згадані вище сенсори мають один недолік, а саме необхідність використання рН буферів, що неодмінно веде до зменшення чутливості за рахунок власної провідності мембрани сенсора та проби.

Для усунення такого недоліку запропоновано використовувати електропровідні полімери поліанілін чи полііндол. Так, одна з форм поліаніліну – емеральдин, здатна вступати в протолітичну рівновагу. Зміна рН приводить до внутрімолекулярних перетворень за рахунок реакцій протонування-депротонування, що призводить до зміни електричних властивостей матеріалу та його провідності (див. рис. 3.32)

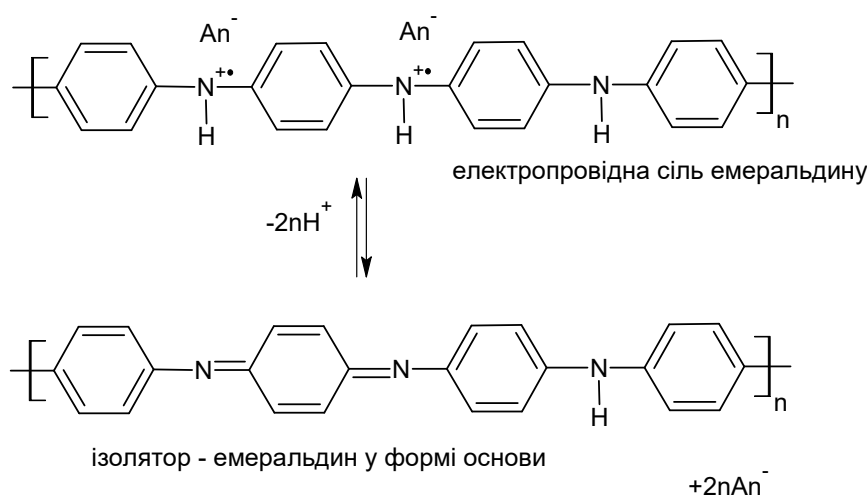


Рис. 3.32. Протолітична рівновага емеральдину.

Електропровідні полімери найкраще підходять для розробки кондуктометричних рН сенсорів. У випадку поліаніліну протонування-депротонування проходить у межах рН 4-5, що обмежує динамічний діапазон сенсора. Для розширення робочої області до рН 4-8 використовують композитні плівки які містять емеральдин, полівінілбутираль (в'язуча речовина) та ПАВ для уникнення агломерації частинок полімеру. Проте



такий сенсор необхідно регенерувати у кислих розчинах після кожного використання, час відгуку також залежить від рН та лежить у межах 1-2 хв.

Полімер, який генерує електричний струм під дією освітлення полі(*p*-фенілен-вініліден) також використовують у конструкції рН сенсора. Сенсор виготовляють шляхом нанесення тонкої 30 нм мембрани на поверхню скла між двома алюмінієвими контактами. Аналітичним сигналом є фото генерований струм вимірний при потенціалі в 1 В. Провідність полімеру зростає при збільшенні рН, що веде до збільшення фотоструму. Сенсор володіє лінійним відгуком при рН <7 та рН >8. Схематична будова сенсора та структура полімеру приведена на рис. 3.33.

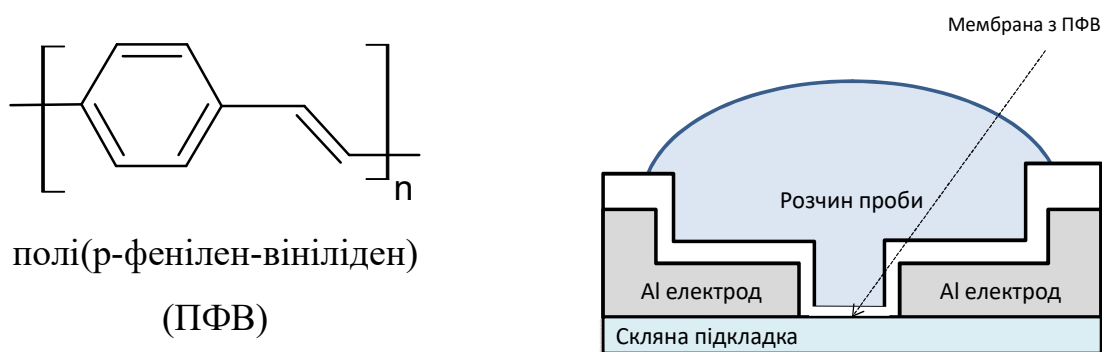


Рис.3.33. Структура полі(*p*-фенілен-вінілідену) та схема рН сенсора на його основі

Для отримання ензимних сенсорів на рН чутливу кондуктометричну мембрану наносять ензимний шар через зшивання глутаральдегідом, чи захопленням ензиму в полімер. Іони гідрогену, що продукуються ензимним шаром під час проходження реакції викликає зміну відгуку сенсора.

Кондуктометричні сенсори зручні для масового виробництва, та не потребують складного обладнання для отримання аналітичного сигналу. На відміну від потенціометричних чи амперометричних сенсорів немає необхідності у електродах порівняння, що є безперечною перевагою. Кондуктометричні сенсори створюють на базі різноманітних біоматеріалів, таких як ензими імуносполуки та навіть живі організми. Їх використовують

для визначення рН, ензимних субстратів та інгібіторів активності, а також у імуноаналізі.

### *Запитання для самоконтролю:*

- Які основні методи перетворення сигналу використовують у амперометричних сенсорах?
- Запишіть електрохімічні реакції які відбуваються при отриманні сигналу у амперометричних сенсорах першої генерації.
- Що таке Red-Ox медіатор і яка його роль у амперометричних сенсорах?
- Які переваги використання медіаторів у фазі мембрани?
- Які інтерференти можуть впливати на сигнал амперометричних сенсорів другої генерації і як цей вплив усунути?
- Які неорганічні медіатори вам відомі?
- Перерахуйте основні органічні медіатори.
- Які основні переваги фероценів як медіаторів?
- Що таке Red-Ox полімери і як їх використовують у сенсорах?
- Що таке електропровідні полімери і як їх використовують у амперометричних сенсорах?
- Перерахуйте основні переваги електрохімічних сенсорів третьої генерації.
- Яка роль органічних електропровідних солей у сенсорах?
- Які наноматеріали є придатними для виготовлення амперометричних сенсорів?
- Які переваги кондуктометричних сенсорів на основі цілих живих клітин?
- Який принцип роботи рН кондуктометричних сенсорів на основі провідних полімерів?
- Який механізм роботи ензимних кондуктометричних сенсорів? Які обмеження вони мають?

### ***Список використаної та рекомендованої літератури:***

1. Pingarrón, J. M., Labuda, J., Barek, J., Brett, C. M., Camões, M. F., Fojta, M., Hibbert, D. B. (2020). Terminology of electrochemical methods of analysis (IUPAC Recommendations 2019). *Pure and Applied Chemistry*, 92(4), 641-694.
2. Janata, Jiri. *Principles of chemical sensors*. Springer Science Business Media, 2010.
3. Banica, Florinel-Gabriel. *Chemical sensors and biosensors: fundamentals and applications*. John Wiley Sons, 2012.
4. Privett, B. J., Shin, J. H., Schoenfisch, M. H. (2010). Electrochemical nitric oxide sensors for physiological measurements. *Chemical Society Reviews*, 39(6), 1925-1935.
5. Korotcenkov, G., Han, S. D., Stetter, J. R. (2009). Review of electrochemical hydrogen sensors. *Chemical reviews*, 109(3), 1402-1433.
6. Riegel, J., Neumann, H., Wiedenmann, H. M. (2002). Exhaust gas sensors for automotive emission control. *Solid State Ionics*, 152, 783-800.
7. Clark Jr, L. C., Lyons, C. (1962). Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of the New York Academy of sciences*, 102(1), 29-45.
8. Habermüller, K., Mosbach, M., Schuhmann, W. (2000). Electron-transfer mechanisms in amperometric biosensors. *Fresenius' journal of analytical chemistry*, 366(6), 560-568.
9. Дзядевич, С. В. (2008) Амперометричні ферментні біосенсори. *Biotechnologia Acta* 1.1, 46-60
10. Ricci, F., Palleschi, G. (2005). Sensor and biosensor preparation, optimisation and applications of Prussian Blue modified electrodes. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(3), 389-407.
11. Canevet, D., Salle, M., Zhang, G., Zhang, D., Zhu, D. (2009). Tetrathiafulvalene (TTF) derivatives: key building-blocks for switchable processes. *Chemical communications*, (17), 2245-2269.

12. Qin, Y., Kwon, H. J., Howlader, M. M., Deen, M. J. (2015). Microfabricated electrochemical pH and free chlorine sensors for water quality monitoring: recent advances and research challenges. *RSC advances*, 5(85), 69086-69109.
13. Nambiar, S., Yeow, J. T. (2011). Conductive polymer-based sensors for biomedical applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 26(5), 1825-1832.
14. Lange, U., Roznyatovskaya, N. V., Mirsky, V. M. (2008). Conducting polymers in chemical sensors and arrays. *Analytica chimica acta*, 614(1), 1-26.
15. Jaffrezic-Renault, N., Dzyadevych, S. V. (2008). Conductometric microbiosensors for environmental monitoring. *Sensors*, 8(4), 2569-2588.

## 4. ОПТИЧНІ СЕНСОРИ

### 4.1. Поняття оптичних сенсорів та їх класифікація

Аналітична хімія широко та інтенсивно використовує електромагнітне випромінювання для дослідження хімічного складу через вивчення його взаємодії із зразком. Група методів аналізу, що базуються на різного роду взаємодії світла з речовиною, відома під назвою оптичних методів аналізу. У деяких випадках аналіт здатен взаємодіяти з світлом без попередньої підготовки з метою отримання оптично активної форми. Проте в переважній більшості оптичні методи аналізу передбачають отримання оптично-активної аналітичної форми з використанням відповідних реагентів, наприклад комплексоутворювачів, органічних лігандів, барвників. У оптичному сенсорі специфічний реагент входить до складу чутливого елемента, а його реакцію з аналітом відслідковують з використанням світлового потоку, який поширюється у оптичному волокні чи іншому провіднику світла.

Оскільки, робота оптичних сенсорів базується на взаємодії світла з речовиною, то пригадаємо деякі особливості електромагнітного випромінювання. Електромагнітне випромінювання характеризується напрямком поширення, частотою ( $\nu$ ), довжиною хвилі ( $\lambda$ ) та поляризацією. Оптичні sensori працюють у ультрафіолетовому (200-400 нм), видимому (400-800 нм) та інфрачервоному (2,6-16  $\mu\text{m}$ ) діапазонах спектру. Поширення світла має хвильову природу і тому електромагнітне випромінювання характеризують частотою чи довжиною хвилі. Коли електромагнітна хвиля взаємодіє з речовиною, обмін енергією відбувається у вигляді дискретних порцій енергії – фотонів. Енергія фотонів зв'язана із частотою хвилі через константу Планка ( $h$ ) :

$$E_{h\nu} = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (4.1)$$

Енергія фотону прямо пропорційна частоті  $\nu$  та обернено пропорційна довжині хвилі  $\lambda$ . Тому ультрафіолетове випромінювання є більш жорстким в енергетичному плані, ніж видима чи інфрачервона області спектру.

Електромагнітне випромінювання взаємодіє з субатомними частинками – електронами, які мають заряд та магнітний момент, що в просторі орієнтовані перпендикулярно один до одного. Оскільки, сила електромагнітного поля має хвильову природу, вільні електрони під впливом електромагнітного поля осцилюють за рахунок чого і відбувається обмін енергією між речовиною та полем. Електрони, що приймають участь у утворенні зв'язків здатні взаємодіяти тільки із дискретними порціями енергії. Обмін енергією між валентними електронами та електромагнітним випромінюванням можливий тільки тоді, коли енергія фотонів відповідає різниці енергій між двома молекулярними орбіталями. Тому хімічно зв'язані атомарні системи можуть поглинати чи випромінювати світло. Оскільки, молекула аналіту чи продукту реакції взаємодіє із фотонами певної енергії, то оптичний сенсор повинен мати пристрій для виділення електромагнітного випромінювання певної довжини хвилі – монохроматор. Також необхідними є конструкційні елементи для транспортування сигналу, та оптоелектронні компоненти такі як джерело світла та детектор. Вибір довжини хвилі може бути забезпечений світлофільтрами, дифракційними ґратками чи оптичними призмами. Детектор перетворює інтенсивність падаючого на нього випромінювання у електричний сигнал (як правило це фотодіоди чи фототранзистори). Таким чином *оптичний сенсор* це досить складний за принципом роботи пристрій, що поєднує у собі сучасні досягнення оптики, мікроелектроніки та хімії. Згідно рекомендацій IUPAC

*Оптичні сенсори – пристрої, що трансформують зміни оптичних властивостей чи явищ, які є результатом взаємодії аналіту з рецептором, у придатний для обробки сигнал.*

Оптичне перетворення сигналу досягається шляхом вимірювання абсорбції чи випромінювання світла чутливим елементом при певній довжині

хвилі. Випромінювання та абсорбція може бути спричинена як аналітом, так і оптично активною формою отриманою в процесі хімічної реакції, що протікає у чутливій мембрані. Даний клас оптичних сенсорів відносять до *реагентвмісних оптичних сенсорів*. Існує також можливість вимірювання фізичного параметру, який пов'язаний з концентрацією аналіту, наприклад коефіцієнт рефракції. Такі оптичні сенсори не використовують хімічну реакцію та відносяться до *безреагентних оптичних сенсорів*.

У основу загально прийнятої класифікації оптичних сенсорів, як і всіх інших сенсорів, покладено принцип роботи трансдюсера. Коротка характеристика типів електромагнітного випромінювання використаних у конструкції та розробці оптичних хімічних сенсорів представлено у таблиці 4.1.

Таблиця. 4.1. Явища, що використовуються у оптичних сенсорах

<b>Оптичне явище</b>	<b>Принцип отримання сигналу</b>
Абсорбція	Власне поглинання аналіту чи реакція з індикатором, прозоре середовище
Відбиття	Зміна у спектрах дифузного відбиття іммобілізованого індикатора, непрозоре середовище
Люмінесценція	Свічення в рецепторі як результат реакції аналіту з реагентом чутливого елемента
Флуоресценція	Селективне гашення, свічення після опромінення аналіту чи продукту реакції джерелом збудження
Заломлення	Зміна коефіцієнта рефракції
Оптермальний ефект	Виділення тепла спричинене поглинанням продуктом реакції чи аналітом
Розсіювання	Взаємодія світла з частинками певного розміру

У наукових оглядах по оптичних сенсорах є і інші підходи до класифікації на основі принципу роботи сенсорної платформи чи оптичних властивостей аналіту. За будовою та оптичною схемою оптичні сенсори поділяють на сенсорні платформи. *Сенсорна платформа* – фізична, просторова будова “тіла сенсора”, яка в залежності від використаного підходу поділяється на оптоволоконну та планарну сенсорну платформу (див. схему 4.1). За здатністю аналізу проявляти оптичні ефекти сенсори ділять на прямі, тобто ті в яких аналіт поглинає чи випромінює електромагнітне випромінювання без участі сторонніх реагентів, та непрямі- функціонування яких базується на протіканні хімічної реакції з отриманням оптично-активної аналітичної форми. В свою чергу, прямі та непрямі сенсорні платформи поділяють за принципом отримання аналітичного сигналу на флюорисцентні, абсорбційні, Раман спектроскопічні, рефрактометричні, інтерферометричні та інші.

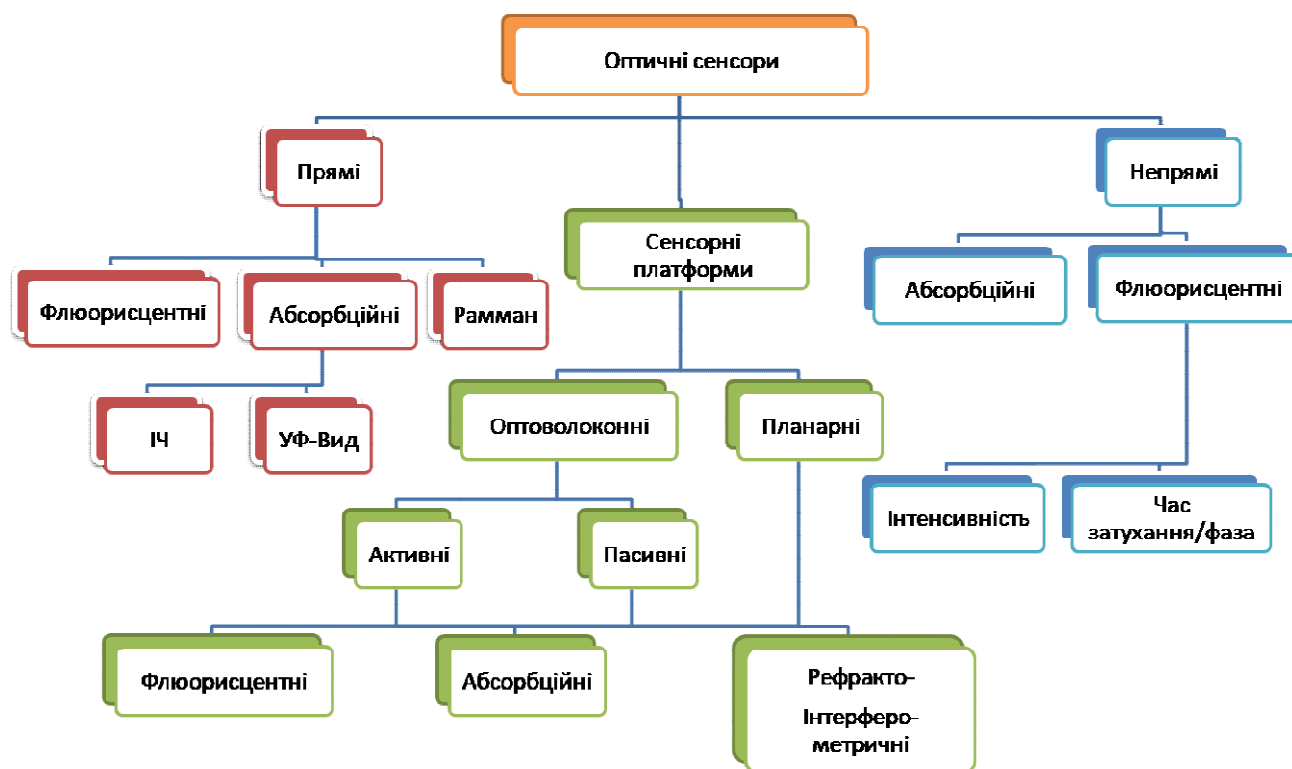


Схема 4.1. Класифікація оптичних сенсорів за будовою, та принципом отримання аналітичного сигналу.



## 4.2. Будова та принцип роботи оптичного волокна.

Перейдемо до більш детального обговорення будови оптичних сенсорів з використанням різних сенсорних платформ, оскільки, їх параметри напряму визначають метрологічні характеристики останніх. Оптичні сенсори можуть бути сконструйованими з використанням оптичного волокна чи у планарній формі.

*Оптичне волокно* – це еластичне прозоре, товщиною з людську волосину волокно, здатне проводити світло на великі відстані, не зважаючи на перегини та деформації. Оптичне волокно використовують у виготовленні активних та пасивних оптичних сенсорів. Воно складається із серцевини виготовленої із силікатного скла чи полімерного матеріалу та облицювання (див. рис. 4.1). Ззовні для міцності оптичне волокно покривають захисним шаром. Функція оптичного волокна полягає у забезпеченні «візуального контакту» в оптичній схемі сенсора. Для того, щоб оптичне волокно функціонувало, коефіцієнт заломлення світла для облицювання  $n_2$  має бути не значно меншим за коефіцієнт заломлення серцевини  $n_1$ .

Матеріал серцевини	Інтервал прозорості $\lambda$ , нм
Кварцове скло	200-1000
Полімери	400-800
Фторидне скло	> 1000

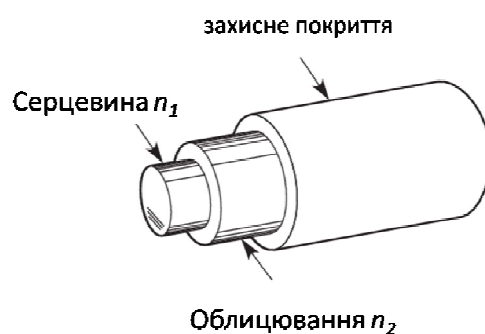


Рис. 4.1. Матеріали, що використовують у виготовленні оптичних волокон та будова оптичного волокна.

В *принцип роботи оптичного волокна* покладено явище зміни напрямку поширення променя світла на межі двох ізотропних прозорих середовищ з різними коефіцієнтами заломлення (або швидкостями поширення

електромагнітного випромінювання). Це явище має назву повного внутрішнього відбиття. Нехай світло падає із середовища в якому швидкість

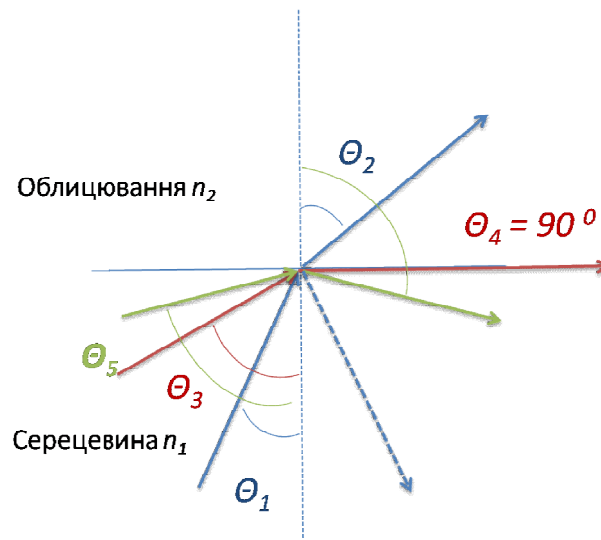


Рис. 4.2 Явище повного внутрішнього відбиття.

Його поширення є меншою на межі розділу під певним кутом  $\theta_1$  (див. рис. 4.2). Оскільки, швидкість поширення світла у облицюванні вища, ніж в серцевині, то кут заломлення  $\theta_2$  буде більшим за кут падіння променя на межі розділу. Зв'язок між кутом падіння та кутом заломлення світла на межі двох ізотропних прозорих середовищ з різними коефіцієнтами заломлення описується законом Снелла (Снелліуса) і має вираз :

$$\frac{\sin\theta_1}{\sin\theta_2} = \frac{n_2}{n_1} \quad (4.2)$$

Із рівняння випливає, що при подальшому збільшенні кута падіння до  $\theta_3$ , настане момент при якому кут заломлення світла  $\theta_4$  буде рівним  $90^\circ$  і промінь світла поширюватиметься вздовж границі розділу. Даний кут має назву критичного кута падіння. Значення критичного кута залежить від природи середовищ та є величиною сталою, оскільки, може бути визначений із коефіцієнтів заломлення відповідних матеріалів:

$$\sin\theta_{\text{критичний}} = \frac{n_2}{n_1} \quad (4.3)$$

Подальше збільшення кута до  $\theta_5$  веде до того, що кут заломлення  $\theta_6$  умовно стає більшим за  $90^\circ$ , оскільки закон Снелла свою силу не втрачає. Це в свою чергу призводить до того, що промінь світла не перетинає межу

розділу, а повертається назад у середовище з більшим коефіцієнтом заломлення, тобто відбивається. Дане явище має назву *повного внутрішнього відбиття* і використовується не тільки в оптичних сенсорах, але і в оптичних приладах, засобах передачі даних, і таке інше.

Поширення світла у оптичному волокні представлено на Рис. 4.3. Оскільки, явище повного внутрішнього відбиття спостерігається при певних умовах, однією з яких є кут правильний падіння світлового потоку, то електромагнітне випромінювання, яке потрапляє на оптичне волокно з середовища під кутом меншим за критичне значення, буде заломлюватись у облицювання, тобто працювати оптоволокно не буде.

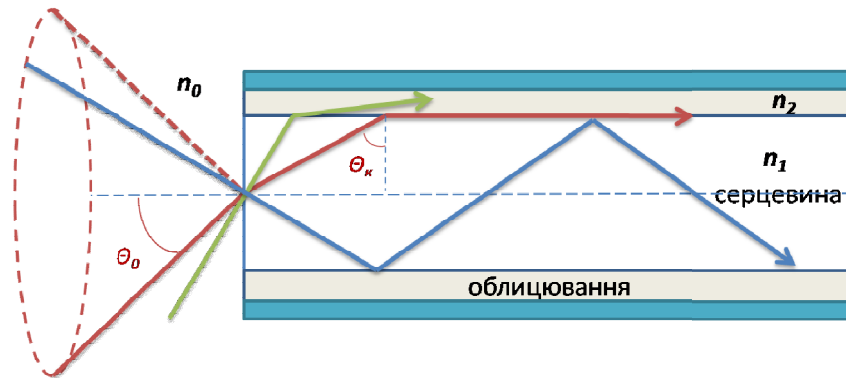


Рис. 4.3 Розріз оптичного волокна та поширення в ньому світла за механізмом повного внутрішнього відбиття.

Критичний кут під яким світловий потік повинен попадати на серцевину із зовнішнього середовища (повітря чи чутливої мембрани) визначається числовою апертурою, яку розраховують з закону Снелла з використанням відповідних коефіцієнтів заломлення зовнішнього середовища:

$$\sin\theta_0 = \frac{\sqrt{n_1^2 + n_2^2}}{n_0} \quad (4.4)$$

Даний кут визначає конус прийняття оптоволокна, який слід враховувати під час конструювання сенсора. Світло, яке падає за межами конуса, не проходить через оптоволокно. Характер випромінювання не змінюється в процесі проходження через оптоволокно. Когерентне випромінювання від лампи розжарювання попадає на серцевину у рамках

конусу прийняття, а на виході з оптоволокна ми отримаємо конус ілюмінації. У випадку використання лазерного пучка, на виході з волокна теж отримаємо лазерний пучок.

### **4.3. Поняття згасаючого електромагнітного поля. Активні та пасивні сенсорні платформи.**

У оптичних сенсорах оптичне волокно відіграє як пасивну, так і активну роль. У пасивних сенсорних платформах оптоволокно служить тільки провідником світла, натомість у активних сенсорних платформах, воно є складовою частиною трансдюсера, тобто приймає безпосередню участь у перетворенні сигналу.

*Пасивні сенсорні платформи* – оптичний сенсор в якому оптичне волокно служить для передачі оптичного сигналу від джерела світла до чутливого елемента сенсора (мембрани) та детектора спектрофотометра. Оптичне волокно не приймає участі у отриманні (генерації) аналітичного сигналу.

Прикладами таких платформ є оптоволоконні пучки та оптоди. На рис. 4.4 (а) та (б) зображено принцип роботи оптичного сенсора з чутливим елементом на плоскій підкладці. Невелику кількість проби (декілька мікролітрів) наносять на спеціальну підкладку, яка містить чутливий елемент, та залишають для завершення процесу розпізнавання. По центральному оптоволокну (див. рис. 4.4 (а)) на зразок подають світловий потік від джерела збудження (якщо наприклад сенсор функціонує на явищі люмінесценції), а периферичні оптичні волокна передають отримане свічення на детектор. Конструктивно така пасивна сенсорна платформа може складатись не з пучка, а тільки двох оптичних волокон як це показано на рис. 4.4 (б).

Альтернативою такої конструкції є пряме нанесення чутливої мембрани на плоский чи витравлений торець оптоволоконного пучка. Такі оптоволоконні пасивні сенсорні платформи мають назву *оптодів*.

**В активних сенсорних платформах** оптичне волокно є частиною чутливого елемента, що інтегрований в його структуру та приймає участь у отриманні аналітичного сигналу та його передачі на детектор.

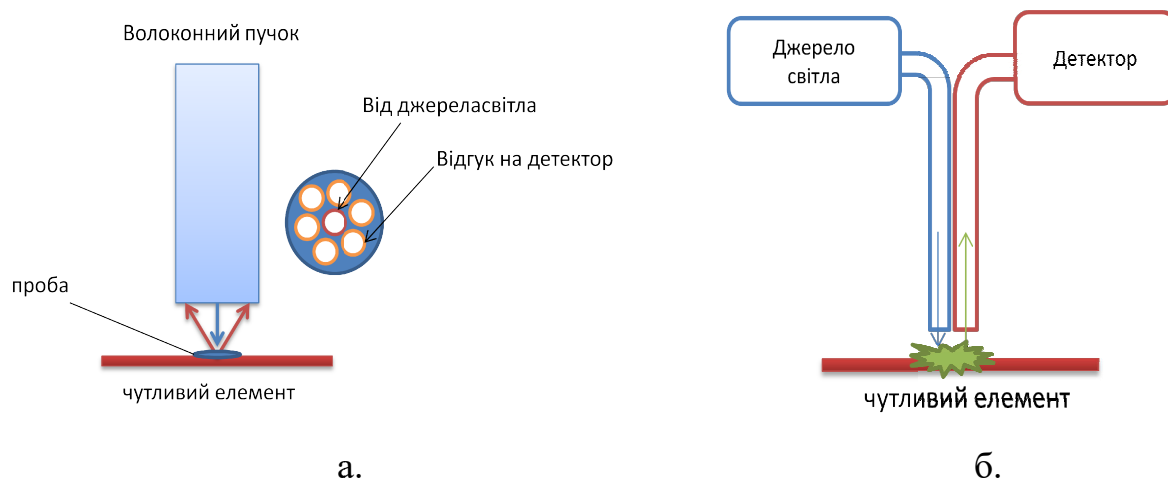


Рис. 4.4. Використання оптоволоконна у пасивних сенсорних платформах.

Такого типу сенсорні платформи отримують шляхом нанесення чутливої мембрани безпосередньо на серцевину оптичного волокна попередньо знявши з нього облицювання. Таким чином, чутлива мембрана відіграє роль обкладинки і тому повинна мати менший коефіцієнт заломлення, ніж серцевина. Працюють такі сенсори за рахунок існування затухаючого електромагнітного поля (еванесцентне поле), направлено перпендикулярно до серцевини оптичного волокна та проникаючого в глибину облицювання на 100-200 нм. Таким чином, еванесцентне поле взаємодіє тільки з частинками, розташованими безпосередньо біля серцевини і не взаємодіє із частинками у розчині (див. рис. 4.5). Якщо облицювання оптично прозоре, то затухаюча хвиля повертається у серцевину без втрати енергії. Параметри хвилі залежать від товщини облицювання та його коефіцієнту заломлення. Якщо у чутливому шарі присутні частинки здатні поглинати світло, то для перетворення сигналу використовують спектроскопію порушеного повного

внутрішнього відбиття, або ж у випадку визначення сполук здатних проявляти флюоресценцію, відповідно флюоресцентне детектування.

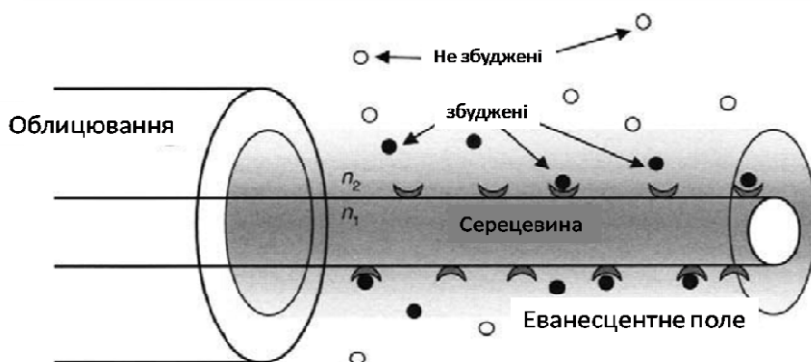


Рис. 4.5. Взаємодія еванесцентного поля в оптичному волокні із знятою обкладинкою та нанесеним на оголену серцевину флюоресцентним реагентом.

Оптичні сенсори на основі згасаючого поля володіють рядом переваг:

- Немає необхідності в додаткових оптичних пристроях.
- Можливість мінітюаризації.
- Згасаюче поле проникає на невелику глибину в 100-200 нм, що дозволяє мінімізувати вплив середовища проби на аналітичний сигнал.
- Завдяки високій потужності згасаючого поля чутливість таких сенсорів вища ніж сенсорів на пасивних платформах.
- Можливість детектування не тільки зміни фізико-хімічних властивостей, але і фізичних властивостей чутливого елемента

Ще одним різновидом оптичних сенсорів є сенсори на основі *планарної платформи*, яка являє собою діелектричну пластинку, розміщену між двома шарами обкладинок з меншим коефіцієнтом заломлення. Поширення світла, також як і в випадку оптоволокна, відбувається за рахунок повного внутрішнього відбиття. Одна з найпростіших схем використання планарної платформи представлена на рис. 4.6. Шар рецептора розміщено над серцевиною, а її компоненти взаємодіють із еванесцентною хвилею.



Рис. 4.6. Проточна комірка планарного оптичного сенсора.

Переваги планарних сенсорних платформ:

- Міцна структура, велика площа контакту з пробою;
- Можливість масового виробництва методами фотолітографії, та поєднання із іншими оптичними компонентами (лазерами, фільтрами, детекторами іін)

#### 4.4. Реагент-вмісні та безреагентні оптичні трансдюсери.

Розглянемо деякі особливості використання оптичних явищ у перетворенні сигналу в оптичних сенсорах. Спектрохімічні методи аналізу це група методів у яких аналітичним сигналом є явища абсорбції чи емісії електромагнітного випромінювання молекулами аналіту (чи аналітичної форми), присутніми у зразку. Дані процеси зумовлені енергетичними переходами між молекулярними орбіталями, які повинні відповідати енергії електромагнітного випромінювання. Зазвичай, для забезпечення перетворення сигналу необхідним є наявність оптично-активної форми (оптичної мітки, optical label), здатної поглинати чи випромінювати світло. У оптичних сенсорах роль цих реагентів відіграють органічні барвники та деякі комплекси металів. Тому такі типи перетворювачі сигналу (трансдюсерів) відносять до *реагентвмісних трансдюсерів*, в основу роботи яких покладено взаємодію світла з оптично активними сполуками.

*Абсорбція електромагнітного випромінювання.* Абсорбція світла це явище взаємодії електромагнітного випромінювання з речовиною, яке має

місце у випадку відповідності енергії випромінювання енергіям переходу між заповненою та порожньою орбітальми молекулярної сполуки. Абсорбція спостерігається у широкому діапазоні довжин хвиль у вигляді смуг поглинання в УФ-видимому та ІЧ областях спектра. Поглинання світла описується відомим нам з курсу аналітичної хімії законом Бугера-Ламберта-Бера, який прямопропорційно пов'язує оптичну густину розчину із концентрацією оптично активної сполуки:

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \log \frac{1}{T} = \epsilon lc \quad (4.5)$$

Де  $I_0$ - інтенсивність падаючого світла,  $I$  – інтенсивність світла, що пройшло через шар оптично активної сполуки,  $T$  – пропускання світла,  $\epsilon$  – молярний коефіцієнт світлопоглинання при певній довжині хвилі,  $l$  та  $c$  – товщина світлопоглинаючого шару (см) та концентрація сполуки (моль/л), відповідно.

Конструктивно найбільш простим підходом у виготовленні оптичних сенсорів є нанесення чу тливого оптично-активного елемента (полімерної мембрани з відповідним реагентом) на стінку кювети розміщеної між двома оптичними волокнами, які відіграють роль оптичної схеми спектрофотометра (див. рис. 4.7).

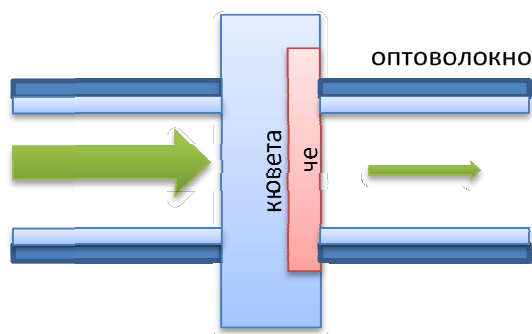


Рис.4.7 Схема оптичного сенсора на основі вимірювання абсорбції світла.

Таким чином, вимірювання абсорбції дозволяє отримати пряму залежність між концентрацією аналіту та аналітичним сигналом, проте має обмеження за рахунок відхилень від закону Бугера-Ламберта-Бера, та відносно вузький концентраційний інтервал, обмежений точністю



вимірювання оптичної густини у межах значень 0,1-2,0 та інші недоліки властиві спектрофотометричним методам аналізу.

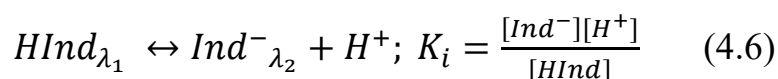
Абсорбційні методи отримання аналітичного сигналу знайшли використання у багатьох аналітичних системах, але найбільш поширеними є рН оптичні сенсори з використанням різноманітних барвників, іммобілізованих на різних матрицях (див. таблицю 4.2).

Таблиця 4.2. Приклади органічних барвників у оптичних рН сенсорах

Інтервал відгуку до рН	Барвник ЧЕ, ( $\lambda$ , нм)	Матриця
0-5,5	Конго червоний (511)	Ацетат целюлози
9-13	Алізариновий жовтий (420)	
5-10	Нільський синій (660)	Полігідрокисетилметакрилат
3-7	Бромфеноловий голубий (595)	Пористе скло

Як можна побачити із таблиці 4.2, рН оптичні сенсори на основі органічних барвників володіють досить вузьким інтервалом вимірювання, що пов'язано із процесами протонування органічних молекул ( $pK_a$ ), які відбуваються у межах 2-х порядків значень рН середовища.

Рівновагу, яка описує поведінку індикатора та відповідну константу дисоціації (константу індикатора) представляють наступним чином:



Вимірювання оптичної густини при  $\lambda_1$  та  $\lambda_2$  дає змогу визначити рН розчину. Виходячи із константи індикатора та приймаючи до уваги, що джерелом аналітичного сигналу служить тільки аніонна форма  $Ind^-$  можна записати рівняння, що пов'язує аналітичний сигнал з рН:

$$[Ind^-] = \frac{K_i}{10^{-p} + K_i} C_{Ind} \quad (4.7)$$

Для індикатора із  $pK_i=3$  дана залежність графічно буде представлена як симетрична S-подібна крива із деяким прямолінійним інтервалом, який і відповідатиме інтервалу роботи сенсора (див. рис. 4.8). Якщо чутливий елемент сенсора містить тільки 1 індикатор, то робоча область рН обмежуватиметься інтервалом у 2-3 одиниці рН.

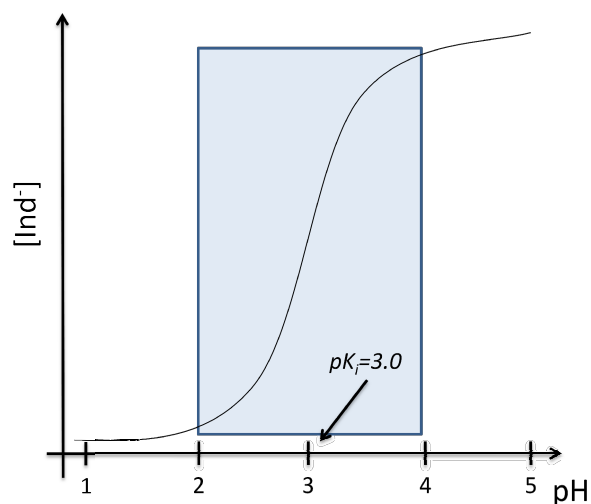


Рис. 4.8. Область відгуку рН сенсора на основі використання одного індикатора з  $pK_i=3,0$ .

Для розширення можливостей таких сенсорів у склад мембрани включають декілька індикаторів із суміжними областями переходу забарвлення, що штучно збільшує робочу область рН. Кислотно-основні індикатори пришивають шляхом ковалентного зв'язування, чи захопленням у сітку целюлозних чи полімерних мембран. В процесі іммобілізації індикатор може змінювати свої протолітичні та спектральні властивості. Як альтернативу індикаторам запропоновано використовувати електропровідні полімери, такі як поліанілін чи поліпірол, що здатні змінювати спектри світлопоглинання у видимій та ближній ІЧ областях спектру при різному рН. За рахунок того, що ці сполуки є полімерними, вони володіють рядом констант іонізації, що значно розширює їх робочий діапазон рН. Проте їх недоліком є низька селективність та загальмованість відгуку.

*Спектрометрія дифузного відбиття.* Явище дифузного відбиття спостерігається на неоднорідних поверхнях (наприклад порошок, паперова

стрічка) і полягає у відбиванні світлового потоку у різних напрямках та рефракції. Зв'язок між відбиттям світла та концентрацією абсорбуючих світло частинок описується рівнянням Кубелки-Мунка:

$$F = \frac{(R_\lambda - 1)^2}{2R_\lambda} = \frac{\varepsilon_\lambda C}{I} \quad (4.8)$$

де а  $F$  – Функція Кубелки-Мунка,  $\varepsilon$  – молярний коефіцієнт світлопоглинання, та  $R_\lambda$  коефіцієнт дифузного відбиття. З приведенного рівняння (4.8) видно, що як і в випадку основного закону світло поглинання, у дифузному відбитті також спостерігається лінійна залежність аналітичного сигналу від концентрації. Нажаль, чутливість такого типу трансдюсерів посередня, але якщо параметр межі визначення не є критичним, то вони з успіхом застосовуються у оптичних сенсорах, як наприклад, у сенсорі аліфатичних амінів на основі бромкрезолового зеленого. Принцип його роботи базувався на спектрофотометричному моніторингу поведінки бромкрезолового зеленого, нанесеного на сфери силікагелю мікронного розміру. Протолітична рівновага (див. рис. 4.9) зсувається вправо під дією легких аліфатичних амінів і призводить до зміни спектру дифузного відбиття, що і служить аналітичним сигналом.

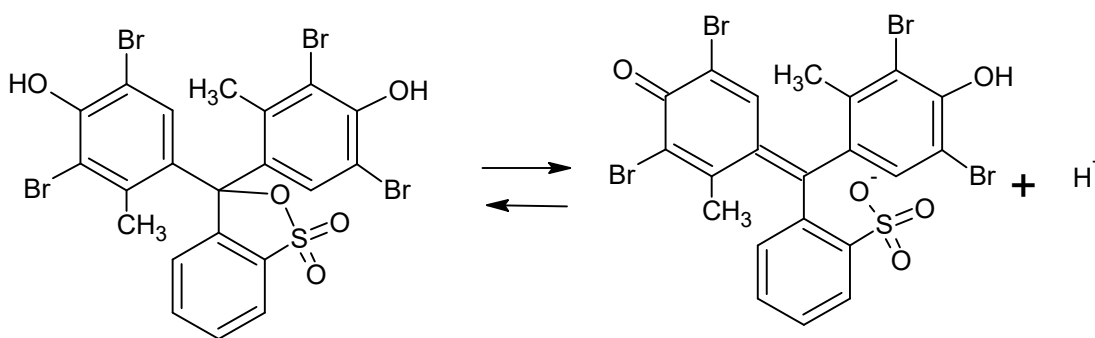


Рис. 4.9. Протолітична рівновага бромкрезолового зеленого.

Порівняно із абсорбційним принципом детектування, використання дифузного відбиття більш зручне із точки зору виготовлення сенсора. Наприклад, оптичний сенсор для визначення рН у травному тракті *in vivo* складається із двох вимірювальних каналів на основі оптоволокна, кожне з яких закінчується чутливим елементом із тимоловим голубим (рН переходу забарвлення 1,2-2,8) та бромфеноловим голубим (рН переходу забарвлення 3-

4,6), ковалентно іммобілізованими на поверхні скляних кульок певного розміру. На кінці оптода розташовано фокуруючий рефлектор для підвищення ефективності фокусування світла на оптоволокну, отриманого після взаємодії з молекулами барвника.

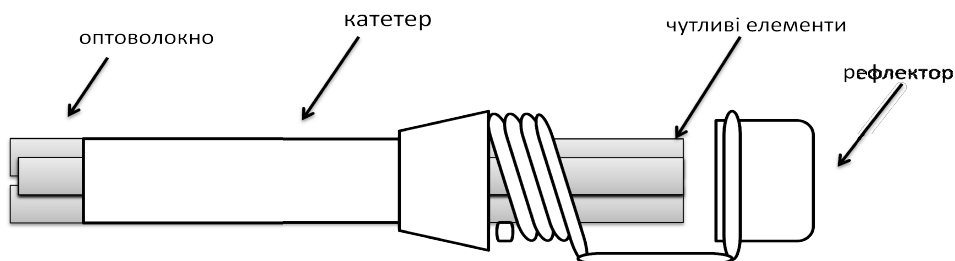


Рис. 4.10. Мініатюрний ( $d=3,5$  мм) рН сенсор для досліджень травної системи.

Якщо ж межа визначення є критичною вимогою, то звертаються як правило до *люмінесцентних методів* перетворення оптичного сигналу. *Люмінесценція* – явище випромінювання холодного світла збудженими молекулами під час їх релаксації. Перевагою люмінесценції є відносна простота обладнання у випадку звичайного режиму його використання. Серед найбільш вживаних в оптичних сенсорах типів люмінесценції можна виділити наступні: фотолюмінесценція, хемілюмінесценція, біолюмінесценція, електрохемілюмінесценція.

Часто аналіт сам по собі не проявляє люмінесценції, тому використовують оптичні мітки – *люмінофори*. Люмінофори – сполуки здатні до люмінесценції – найбільш поширені оптичні мітки (optical labels) в хімічних оптичних сенсорах.

Розглянемо принципи вимірювання люмінесценції в оптичних сенсорах:

- ***Рівноважна Флюоресценція (steady-state fluorescence)***- зразок опромінюють сталою за потужністю електромагнітною хвилею з частотою, що енергетично відповідає різниці між основним та збудженим станом молекули. За умови низьких значень оптичної густини розчину справедливе рівняння:

$$I_f = 2,3 \cdot \phi \cdot \varepsilon \cdot I_0 \cdot C \cdot l \quad (4.9)$$

де:  $I_f$  – інтенсивність флюоресценції,  $\phi$  – квантовий вихід,  $I_0$  – інтенсивність збуджуючого випромінювання. Таким чином, інтенсивність флюоресценції прямопропорційно зв'язана із концентрацією. Чутливість методу залежить від молярного коефіцієнту світлопоглинання та квантового виходу флюоресценції конкретної молекули. З іншого боку, інтенсивність свічення залежить і від потужності збуджуючого випромінювання, але даний фактор впливу обмежується стійкістю молекули до деструкції. Флюоресценція є дуже чутливим аналітичним методом. Межа визначення у флюоресцентних методах аналізу лімітується фоновим свіченням інтерферентів, наприклад, протеїни проявляють фонове свічення за рахунок наявності в їх структурі ароматичних амінокислот. Таку проблему останнім часом вирішують шляхом використання флюоресценції в ближньому ІЧ регіоні спектра з використанням органічних барвників, напівпровідникових наночастинок та нанотрубок, оскільки фонове свічення у зразках органічного походження обмежується видимою областю. Оптичні схеми сенсорів на основі явища рівноважної флюоресценції з використанням оптичного волокна та дихроїчного дзеркала представлені на рис. 4.11.

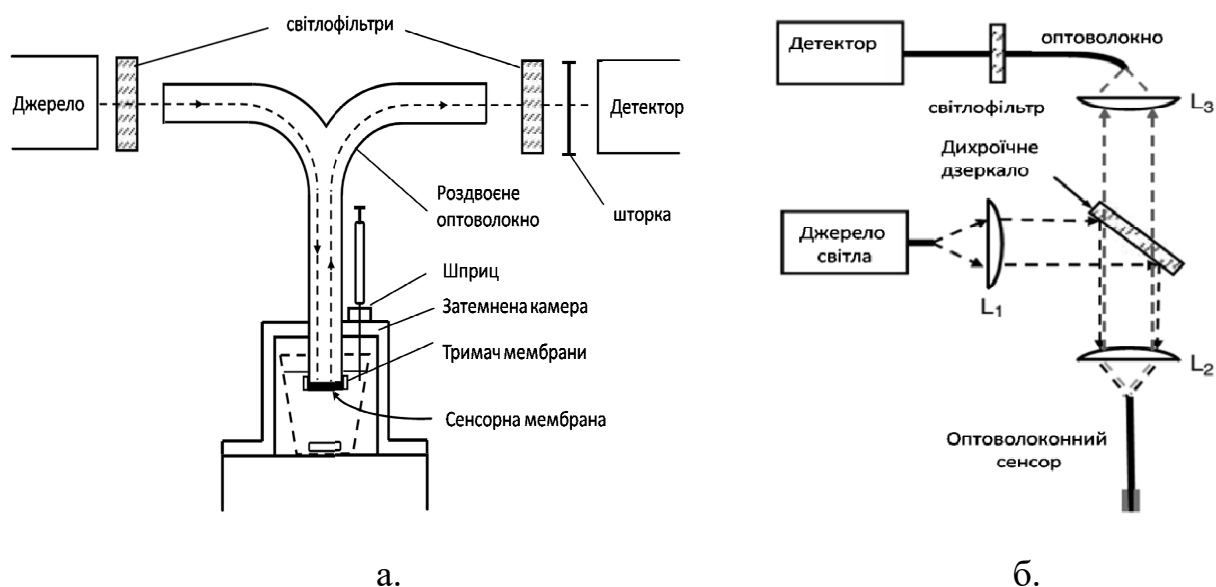


Рис. 4.11. Будова флюоресцентних сенсорів з використанням оптичного волокна (а) та дихроїчного дзеркала (б).

**Час-роздільна Флюориметрія.** У час-роздільній флюориметрії використовують опромінення зразка дуже коротким імпульсом збуджуючого світла та фіксують затримку флюоресценції в часі за відсутності опромінення. Під час опромінення частина молекул переходить у збуджений стан та релаксують згідно кінетичного рівняння першого порядку:

$$I = k_3 c^*(t) \quad (4.10)$$

Де:  $k_3$ - константа швидкості затухання,  $c^*$ - змінна у часі концентрація збуджених молекул.

Оскільки, вимірювання інтенсивності свічення відбувається за відсутності збуджуючого випромінювання, вдається уникнути негативного впливу розсіювання світла на межу визначення сенсора. Заважаючий вплив свічення компонентів матриці зразка можна усунути використанням люмінофорів із значним часом затухання. Проте даний метод трансдукції оптичного сигналу вимагає наявності дуже швидких оптоелектронних компонентів. Альтернативним методом використання часу затухання є *роздільна по фазі флюориметрія (phase-resolved fluorimetry)*. Зразок опромінюють електромагнітним випромінюванням певної частоти із змінною по синусоїді інтенсивністю. Флюоресценція викликана таким чином теж має синусоїдну залежність в часі, але зміщена по фазі відносно збуджуючого випромінювання, оскільки, релаксація не відбувається миттєво. У оптичних сенсорах у чутливій мембрані присутні два флюорофори – індикаторний та референтний. Індикаторний флюорофор має менший час затухання, ніж референтний, а їхні спектри збудження та люмінесценції перекриваються. Це дозволяє використовувати збуджуюче випромінювання одної частоти. При опроміненні індикаторний флюорофор релаксує швидко і його зсув по фазі рівний 0, а референтний релаксує з затримкою і тому зміщений по фазі на певну величину. Зміна концентрації аналіту впливає на інтенсивність свічення тільки індикатора, що дає можливість отримати відносний сигнал. Такий підхід дозволяє усунути флуктуації температури та потужності збуджуючого випромінювання та покращити точність визначення.

**Гашення люмінесценції.** Гашення люмінесценції це процеси зменшення інтенсивності свічення сполуки під впливом різних факторів, яке проходить за різними механізмами. Одним із таких механізмів є *динамічне гашення при зіткненні (collisional dynamic quenching* див. рис. 4.12) який полягає в тому, що на першій стадії молекули ліганда  $L$  під впливом постійного опромінення збуджуються  $L^*$  та релаксують двома шляхами :

- до основного стану напряму із випромінюванням квантів світла;
- через енергетичну взаємодію із молекулою гасителем (*quencher*), яка забирає надлишок енергії у  $L^*$  без випромінювання і таким чином гасить флюоресценцію.

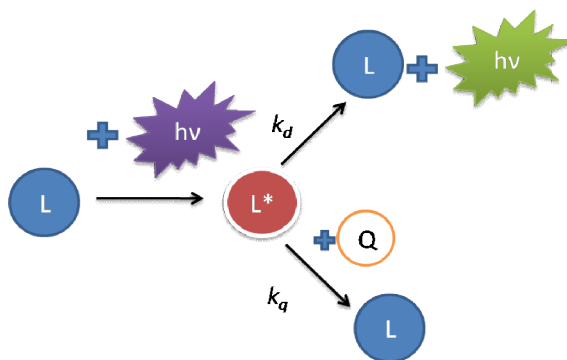


Рис. 4.12. Схема принципу гашення

Гашення флюоресценції залежить від концентрації гасителя і описується рівнянням Штерна-Фольмера:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + \frac{k_q}{k_d} C_Q \quad (4.11)$$

де:  $\frac{k_q}{k_d}$  – константа Штерна-Фольмера,  $I_0$  та  $I$  – інтенсивність флюоресценції без гасителя та у його присутності відповідно,  $C_Q$  – концентрація гасителя. Рівняння Штерна-Фольмера дозволяє визначати концентрацію гасителя з лінійного рівняння градуовального графіку за умови постійності концентрації збудженої форми в процесі вимірювання. Як і в випадку рівноважної флюорисценції, недоліком даного методу є фонове свічення інтерферентів, що впливає на межу визначення. Для усунення цього впливу використовують кінетичний підхід (час-роздільна флюориметрія) в якому аналітичним сигналом є крива кінетики гашення, а концентрацію

розраховують із значень часу життя люмінесценції. Проводять вимірювання інтенсивності флюоресценції в часі  $I_t$  нормованої по початковій інтенсивності  $I_0$

$$\frac{I_t}{I_0} = \exp[-(k_d + k_q c_Q)t] = \exp\left[-\frac{t}{\tau}\right] \quad (4.12)$$

Де  $\tau$  час життя люмінесценції у присутності гасителя який визначають із наступного рівняння:

$$\tau = (k_d + k_q c_Q)^{-1} \quad (4.13)$$

У присутності гасителя параметр  $\frac{I_t}{I_0}$  зменшується швидше, оскільки релаксація відбувається двома шляхами. Тому період напів-гашення менший у присутності гасителя. Для розрахунку концентрації гасителя (квенчера) використовують рівняння аналогічне рівнянню (4.12) проте з використанням часу життя люмінесценції:

$$\frac{\tau_0}{\tau} = 1 + \tau_0 C_Q k_q \quad (4.14)$$

Як приклад використання динамічного гашення флюоресценції у оптичних сенсорах можна розглянути оптичний сенсор кисню, в принцип роботи якого покладено здатність молекул  $O_2$  виступати в якості кваенчера (гасителя) флюоресценції. Як флюорофори у даних сенсорах використовують комплекси  $Ru^{2+}$ ,  $(Os^{2+}, Ir^{2+})$  з дипіридиллом чи 1,10- фенантроліном (див. рис. 4.13). Матрицею служить ацетат целюлози, пластифікований проникним для кисню пластифікатором. Рівняння Штерна-Фольмера для даних сенсорів має більш складний вигляд:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + a_1 c_{O_2} + \frac{a_2 c_{O_2}}{1 + a_3 c_{O_2}} \quad (4.15)$$

і включає в себе додаткові параметри  $a_1$ - $a_3$ , які описують вклад процесів дифузії кисню через матрицю, насиченість самої матриці молекулами аналіту, та неоднорідності стану люмінофору у матриці в загальний аналітичний сигнал. При дотриманні сталості згаданих параметрів аналітичний сигнал залежатиме тільки від концентрації кисню у пробі.



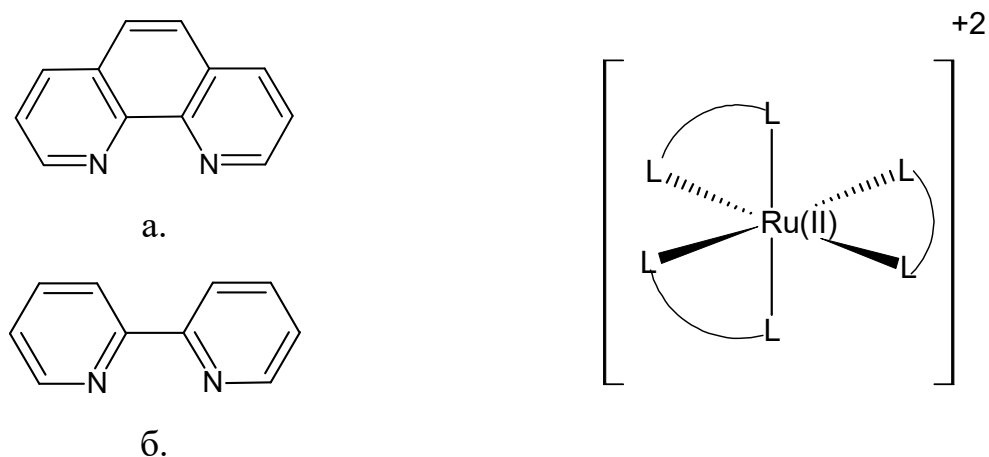


Рис. 4.13. Структура 1,10-фенантроліну (а), дипіридилу (б) та їх комплексної сполуки з Ru(II), що використовується у люмінесцентному сенсорі кисню.

Ще одним прикладом використання гашення люмінесценції у оптичних сенсорах є визначення катіонів лужних металів. Сигнал виникає за рахунок взаємодії катіона металу із макроциклічним рецептором, міченим флуоресцентним замісником. За відсутності аналіту флуоресценція гаситься за рахунок фотон-ідукованого переносу електрона з гетероциклічного атома нітрогену на вищий енергетичний рівень антрацену, що проілюстровано на рис. 4.14. У присутності іонів калію, який утворює комплекс із макроциклом, відбувається пониження енергії електронної пари на атомі нітрогену та блокування переносу електрона. Як наслідок гашення люмінесценції не відбувається, а навпаки, збільшення концентрації катіонів калію веде до зростання інтенсивності люмінесценції.

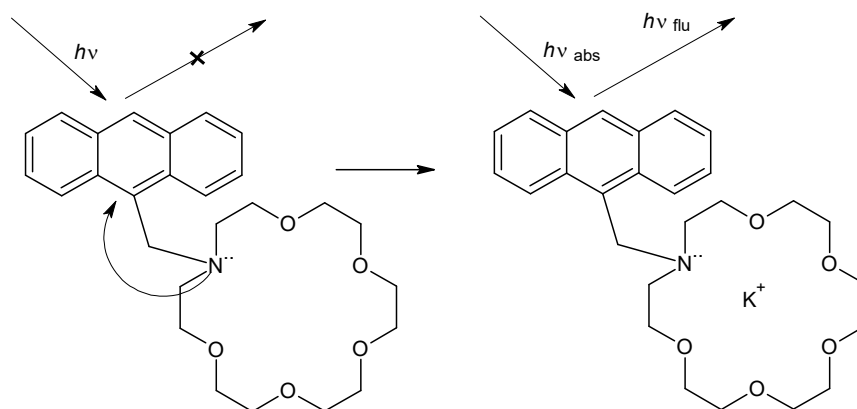
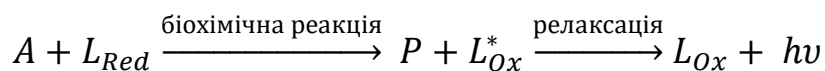


Рис. 4.14. Визначення іонів калію з макроциклічним лігандом міченим антраценом.

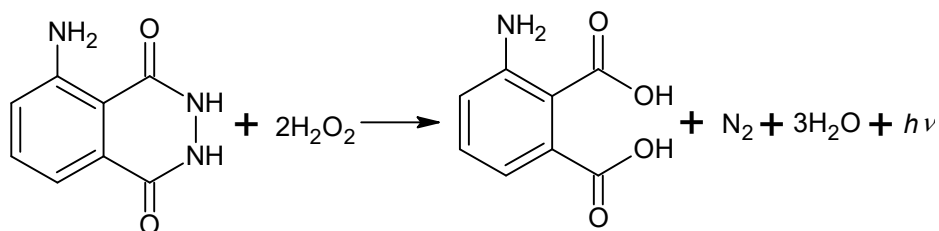
*Хемілюмінесценція та біоломінесценція.* Хемілюмінесценція – випромінювання світла збудженими молекулами отриманими в результаті хімічної реакції. В загальному цей процес включає в себе окислення сполуки з утворенням продукту у збудженому стані. Схематично це можна представити наступним чином:



A- реагент або косубстрат, P- продукт реакції. Перша стадія є швидкість-визначальною. Квантовий вихід хемілюмінесценції визначають як:

$$\Phi_{CL} = \frac{n_{\text{фотонів}}}{n_{\text{молекул}}} \quad (4.16)$$

Однією з поширених хемілюмінесцентних міток є люмінол, який окислюється пероксидом водню у присутності пероксидази кінського щавлю з утворенням молекули, що випромінює світло ( $\lambda_{max}=420 \text{ нм}$ ).



Реакцію поєднують із біохімічною реакцією утворення пероксиду водню в присутності каталази, що дозволяє визначати таким чином відповідний субстрат. Живі істоти здатні випромінювати світло за рахунок свічення молекул отриманих з допомогою біологічних процесів (наприклад світляки). Ензими, виділені із цих організмів з успіхом використовують у аналітичних цілях та у оптичних сенсорах. Люцифераза – ензим отриманий із світляка (*Photinuspyralis*), використовує аденозин-5-трифосфат (АТФ) у процесі окислення люциферину киснем. Ця реакція призводить до інтенсивного свічення та використовується для високочутливого визначення АТФ.

Великої популярності набули молекулярно розмірні біоломінесцентні та хемілюмінесцентні зонди, які не потребують джерела випромінювання і тому володіють підвищеною чутливістю, знову ж таки за рахунок відсутності фонового сигналу. Такі молекули стали потужними інструментами для

візуалізації та біомаркування вражених органів чи клітин. Запропоновано використовувати похідне люциферину та кетоаміду, що за звичайних умов окислення люциферазою у реакцію не вступає (див. рис. 4.15):

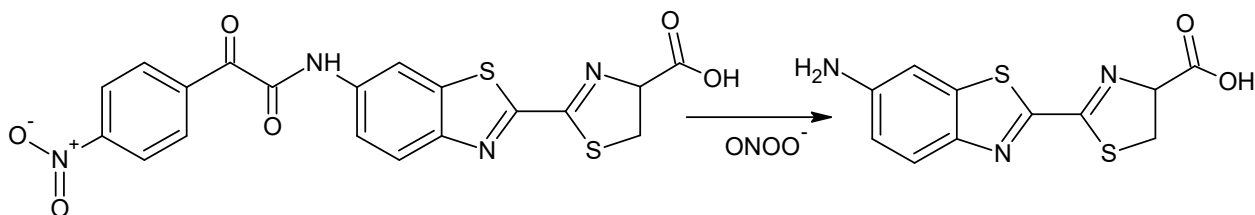


Рис. 4.15. Похідне люциферину (не проявляє люмінесценції) та продукт його взаємодії із пероксонітридом (проявляє люмінесценцію у присутності АТФ)

У присутності активних форм кисню дана сполука руйнується та піддається декарбоксілуванню, що дозволяє візуалізувати зони організму із підвищеним вмістом пероксинітриду. Основною перевагою хемілюмінесцентних сенсорів вважають відсутність збуджуючого випромінювання, що виключає можливість впливу розсіяного світла та фонового свічення супутніх сполук.

*Раманівська спектроскопія.* Спектри Раман отримують шляхом опромінення зразку монохроматичним лазером. Розсіяне від зразку світло збирають під кутом  $90^\circ$  та аналізують з допомогою спектрометра. На отриманих спектрах розрізняють лінії із меншою енергією по відношенню до збуджуючого випромінювання (Стоксове випромінювання) та із більшою енергією (антистоксове випромінювання). Різниця в енергії розсіяного світла викликана різним початковим вібраційним енергетичним станом молекул. Стоксова область відповідає за молекули, які до опромінення були на найнижчому основному енергетичному рівні та повертаються після збудження на дещо вищий енергетичний основний рівень. Тому енергія розсіяного світла нижча за енергію збуджуючого випромінювання. Антистоксові лінії виникають за рахунок існування молекул у вищому основному енергетичному рівні, а після збудження повертаються на нижчий

енергетичний рівень. Тому їх енергія вища за початкове збуджуюче випромінювання. Схему енергетичних переходів представлено на рис. 4.16.

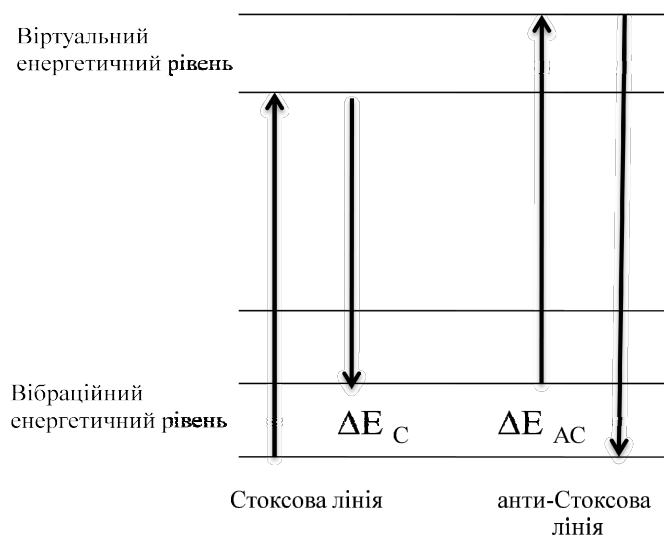


Рис. 4.16. Схema можливих енергетичних переходів у Раманівській спектроскопії.

Раманівські спектральні лінії досить слабкі за інтенсивністю, якщо були отримані із гомогенного середовища. Для їх підсилення, досліджувану сполуку сорбують на поверхні золотої чи срібної пластини, а далі знімають спектр. Такий спосіб використовують у сенсорах для детектування самого аналіту, чи пришитої до нього молекули – мітки. Раманівські спектри дуже специфічні та можуть служити як «відбитки пальців» сполук, що дозволило використовувати цей метод для їх ідентифікації та кількісного визначення.

У описаних вище спектроскопічних типах отримання сигналу розрізняють два можливі варіанти зв'язку сигналу із концентрацією аналіту, а саме – пряме та непряме перетворення сигналу. Пряме перетворення сигналу базується на використанні сполук прямо залучених до його отримання у рівноважних умовах. Цю роль може відігравати сам рецептор, його комплекс з аналітом чи обидва одночасно. В такому випадку лінійність відгуку сенсорів визначається відповідними константами стійкості комплексу. Непряме перетворення сигналу базується на використанні конкурентної реакції з оптично активними аналогами аналіту. В такому випадку рецептор

не є джерелом сигналу, але вибраний аналог є оптично-активним сам по собі чи у сполуці із рецептором.

Описані вище методи отримання аналітичного сигналу в оптичних сенсорах відносять до *реагентвмісних*. Обов'язкова присутність реагенту чи оптичних міток у структурі сенсора тягне за собою деякі ускладнення їх використання, наприклад, у медичних дослідженнях. У багатьох практичних випадках є потреба у сенсорах, отримання сигналу в яких відбувається за рахунок зміни оптичних властивостей чутливого елемента в процесі взаємодії з аналітом. До таких методів перетворення сигналу відносять *рефрактометричні*. Основним поняттям у рефрактометрії є поширення світла у прозорих середовищах, а саме електромагнітне випромінювання певної довжини хвилі поширюється у середовищі відмінному від вакууму із меншою швидкістю, що описують індексом рефракції:

$$n = \frac{c}{v_p} = \frac{\lambda_0}{\lambda} \quad (4.17)$$

Де :  $c$ -швидкість світла у вакуумі,  $\lambda_0$ - довжина хвилі у вакуумі,  $v_p$  –швидкість світла у середовищі,  $\lambda$  – довжина хвилі у середовищі.

Так як індекс рефракції пов'язаний з довжиною хвилі, тобто з хвильовою природою світла, то він відповідно залежить і від електричних та магнітних властивостей самого середовища, через яке світло проходить. Дуже малі зміни індексу рефракції чутливого елемента пов'язані із концентрацією аналіту, можуть бути виміряні відповідними фізичними методами досліджень серед яких виділяють :

- Поверхневу плазмонну резонансну спектрометрію.
- Інтерферометрію.
- Порухене повне внутрішнє відбиття.

Чутливий шар у безреагентних методах перетворення сигналу формують на поверхні обкладинки світловода. Світло взаємодіє з чутливим елементом через еванесцентну хвилю, яка чутлива до змін коефіцієнту рефракції чи товщини. Основними перевагами таких сенсорів є наступні: строге

обмеження зони контакту світлового потоку із чутливим елементом усуває вплив супутніх компонентів; оскільки світло не проходить через зразок, можливим є вимірювання у мутних чи сильно поглинаючих світло розчинах. Більш детально з цим питанням можна ознайомитись в спеціалізованій літературі.

### *Запитання для самоконтролю:*

- Який оптичний феномен забезпечує поширення світла у волоконному провіднику?
- Опишіть будову сенсорів на основі пасивних платформ.
- Що таке еванесцентне поле і де воно використовується в оптичних сенсорах?
- Які переваги планарних сенсорних платформ над іншими платформами?
- Перерахуйте процеси залучені до спектрохімічної трансдукції сигналу у оптичних сенсорах.
- Який закон описує поглинання світла? Які відхилення від закону вам відомі?
- Опишіть будову оптичного сенсора на принципі абсорбції та відбивання світла.
- Яка різниця між звичайним відбиттям світла та дифузним відбиттям?
- Що таке люмінесценція і які її види використовують у сенсорах. Наведіть приклади
- Опишіть оптичну схему флуоресцентного сенсора.
- В чому полягає метод час-роздільної флуориметрії?
- Що є аналітичним сигналом у Раманівській спектроскопії? Як його підвищують?

**Використана та рекомендована література:**

1. Hulanicki, Adam, Stanislav Glab, and F. O. L. K. E. Ingman. "Chemical sensors: definitions and classification." *Pure and applied chemistry* 63.9 (1991): 1247-1250.
2. Banica, Florinel-Gabriel. *Chemical sensors and biosensors: fundamentals and applications*. John Wiley Sons, 2012.
3. Narayanaswamy, Ramaier, and Otto S. Wolfbeis, eds. *Optical sensors: industrial environmental and diagnostic applications*. Vol. 1. Springer Science Business Media, 2013.
4. Janata, Jiri. *Principles of chemical sensors*. Springer Science Business Media, 2010.
5. Cattrall, Robert W. *Chemical sensors*. No. 04; TP159. C46, C3.. 1997.
6. Taitt, Chris Rowe, George P. Anderson, and Frances S. Ligler. "Evanescent wave fluorescence biosensors." *Biosensors and Bioelectronics* 20.12 (2005): 2470-2487
7. Oberg, Karin I., Robert Hodyss, and J. L. Beauchamp. "Simple optical sensor for amine vapors based on dyed silica microspheres." *Sensors and Actuators B: Chemical* 115.1 (2006): 79-85.
8. Baldini, F., Bechi, P., Bracci, S. et al. (1995) In-vivo optical-fiber pH sensor for gastroesophageal measurements. *Sens. Actuators B-Chem.*, 29, 164–168
9. Amao, Y. (2003). Probes and polymers for optical sensing of oxygen. *Microchimica Acta*, 143(1), 1-12.
10. Fabbrizzi, Luigi, and Antonio Poggi. "Sensors and switches from supramolecular chemistry." *Chemical Society Reviews* 24.3 (1995): 197-202.
11. Li, Jun-Bin, et al. "A bioluminescent probe for imaging endogenous peroxynitrite in living cells and mice." *Analytical chemistry* 90.6 (2018): 4167-4173.

## 5. ГРАВИМЕТРИЧНІ СЕНСОРИ

Використання зміни маси для отримання аналітичного сигналу у сенсорах є одним із найперспективніших методів трансдукції сигналу оскільки не вимагає використання молекул-міток. Проте, для фіксації таких незначних змін маси у районі *мкг* необхідним є наявність дуже чутливих пристроїв – *вібраційних (коливальних) п'єзоелектричних кристалів*. Акустика як наука вивчає механічні коливання у газовій, рідкій чи твердій фазах тому аналітичні сенсори, що працюють на принципах вимірювання частоти звукової хвилі мають назву *сенсорів акустичної хвилі*. Акустична хвиля виникає на поверхні пристрою (поверхнева акустична хвиля) чи у об'ємі. Використання акустичних хвиль у хімічних сенсорах полягає у взаємодії аналіту із модифікованою поверхнею сенсора, що викликає зміни частоти (500-2500 Гц/мкг) чи інших параметрів акустичної хвилі за рахунок зміни маси резонатора.

### 5.1. П'єзокварцові резонатори.

Основним явищем, що використовується у акустичних сенсорах є явище п'єзоелектрики. П'єзоелектричний ефект це властивість деяких кристалів поляризуватись під дією механічного навантаження. Цей ефект властивий анізотропним кристалам, таким як оксид цинку, ніобат та танталат літію. Одним з найбільш розповсюджених кристалів здатних до п'єзоелектричного ефекту є кристалічний кварц  $\text{SiO}_2$ . Поляризація кристалів кварцу під дією стиснення пов'язана з різною електронегативністю елементів. Атоми кисню мають частковий негативний заряд, а атоми кремнію частковий позитивний. У стані рівноваги, тобто за відсутності тиску на кристал, атоми розташовані таким чином, що їх заряди скомпенсовані один одним і ніякої неоднорідності у заряді на макроскопічному рівні немає. При повздовжньому стисненні гексагональна решітка викривляється таким чином, що на одній стороні



кристала виникає надлишок негативного заряду а на іншій надлишок позитивних зарядів. Якщо такий кристал помістити між двома металічними електродами, то електрони на їх поверхні будуть притягуватися або відштовхуватися від поверхні кристала. Якщо кристал поперечно стискати, то викривлення ґратки призводитиме до протилежного розподілу заряду на його поверхнях. Таким чином стиснення кристалу у певних напрямках викликає почергову зміну заряду, що призводить до виникнення напруги між металічними пластинками (див. рис. 5.1). Величина напруги залежить від кута дисторсії (деформації) кристала. Даний прямий п'єзоелектричний ефект використовують для забезпечення перетворення акустичного сигналу у електричний сигнал. Обернений п'єзоелектричний ефект також можливий і полягає у деформації кристала під дією зовнішньо прикладеної напруги, що використовують у генераторах ультразвукових коливань з застосуванням змінного струму.

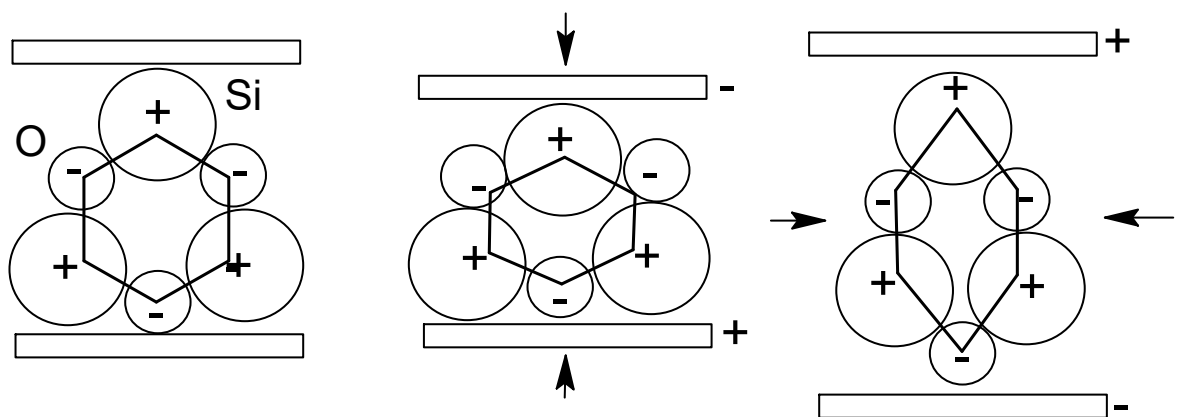


Рис. 5.1. Вплив механічної деформації на розподіл зарядів кристала  $\text{SiO}_2$ .

П'єзоелектричний кварцовий кристал отримують шляхом відрізання пластинок з цілого кристалу під певним кутом до його оптичної осі, найчастіше під кутом  $35^{\circ}15'$  якщо сенсор працюватиме у інтервалі температур  $50-70^{\circ}\text{C}$ , чи  $35^{\circ}10'$  для температур експлуатації  $25-40^{\circ}\text{C}$ , для отримання пластинок з найменшим коефіцієнтом термічного розширення. Кристал повздовжнього деформаційного зсуву, який найчастіше використовують у акустичних сенсорах, являє собою тонку кварцову

пластинку на обидві сторони якої напилено металічний контакт (Au, Ag, Pt та інші). Активна частина сенсора розташована між електродами та має діаметр 2-20 мм (див. рис. 5.2). Під дією зовнішнього впливу електричної напруги пластинка піддається повздовжньому зсуву, якщо напруга має змінний характер, то деформація пластинки відбувається у протилежному напрямку. Таким чином отримують кварцовий резонатор, що під дією змінного електричного струму коливається з певною частотою. Інтервал частот в якому працює резонатор досить вузький та наближений до власної резонансної частоти кварцової пластинки  $f_0$  яка залежить від геометрії пластинки, її маси та еластичності чи пружності використаного матеріалу.

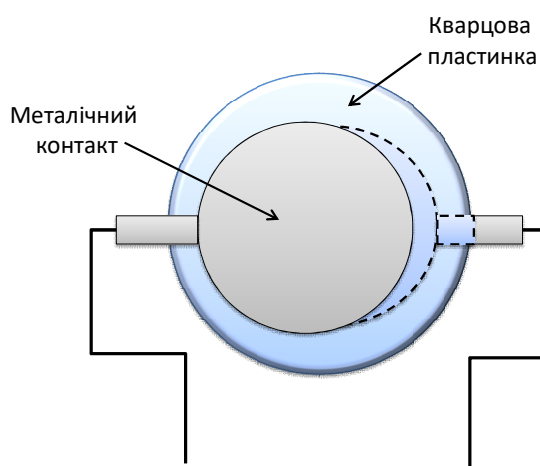


Рис. 5.2. Принципова будова кварцового резонатора.

За рахунок пружної деформації, диск резонатора зберігає потенціальну енергію на подібні стиснутої пружини. При зміні полярності на електродах пластинка починає деформуватись у іншому напрямку. У той момент коли частота струму відповідає власній частоті кристала відбувається резонанс при якому амплітуда коливань досягає максимального значення. Основним параметром для розробки п'єзо сенсорів є частота коливань резонатора, тому у вимірювальну схему окрім джерела змінного струму включають частотомір.

Найчастіше резонатори у сенсорах використовують як мікроваги. Для цього на одну з сторін резонатора наносять тонку плівку із селективними реагентами, здатними до зв'язування аналіту. Наприклад для визначення

хлорорганічних пестицидів у склад мембрани додають солі металів здатних до комплексоутворення ( $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{NiCl}_2$ ). Також використовують і антитіла та ензими. Експериментально було встановлено, що збільшення маси пластинки  $\Delta m$  веде до зменшення частоти його осциляції  $\Delta f_m$  за рівнянням Заурбрея виведеним у 1959:

$$\Delta f_m = -\frac{2f_0^2}{\sqrt{\mu_Q \rho_Q}} \cdot \frac{\Delta m}{A} = -C_f \Delta m \quad (5.1)$$

в якому :

$A$ - площа пластинки,

$\mu_Q$  – модуль пружності матеріалу пластинки,

$\rho_Q$  – густина матеріалу пластинки,

$f_0$ - резонансна частота ненавантаженої пластинки,

$C_f$  – константа чутливості.

Як видно з рівняння, константа чутливості  $C_f$  пропорційна квадрату робочої частоти резонатора тому для отримання хорошої чутливості використовують резонатори із частотою 5-10 МГц. Оскільки у рівнянні фігурує площа поверхні, то чутливість сенсора не залежить від діаметру резонатора, проте для зменшення впливу крайових електричних полів, на практиці рідко використовують диски із діаметром більше 5 мм. Для того щоб оцінити чутливість резонатора до зміни маси, розглянемо випадок кварцевих мікроваг із робочою частотою 5 МГц. Підставивши значення констант у рівняння для кварцової пластинки ми отримаємо константу чутливості  $C'_f = \frac{C_f}{A} = 56,6 \text{ Гц} \cdot \text{см}^2 / \text{мкг}$ . Тобто при сорбції 1 мкг речовини на площі в  $1 \text{ см}^2$  відбувається зміна частоти резонатора у 56,6 Гц. Якщо сучасний частотомір здатен фіксувати зміну в частоті у 1 Гц, то це дасть можливість сенсору відчувати зміну маси біля  $20 \text{ нг/см}^2$  Слід відмітити, що рівняння Заурбрея має деякі обмеження. Так, рівняння виконується якщо сорбована речовина рівномірно розподілена по площі пластинки, а зміна маси пластинки не повинна перевищувати 2% від маси пластинки. Такі

вимоги відповідають неорганічним матеріалам резонатора (метали та оксиди металів). Окрім того, рівняння виконується для резонатора розміщеного у газовій атмосфері чи вакуумі, де відсутнє розсіювання енергії за рахунок тертя. У таких умовах у калібруванні сенсора немає необхідності, оскільки його чутливість можна теоретично розрахувати.

Досить часто массенсори використовують у контакті з рідинами, що передбачає втрати енергії за рахунок передачі вібрації самій рідині, що в свою чергу веде до суттєвих змін у параметрах сенсора. Поєднання вібрацій кристала із вібрацією рідини залежить від реологічних властивостей рідини, тобто від здатності до деформації під впливом стресу. Розрізняють два типи рідин, а саме Ньютонівська (вода, розведені водні розчини), та не Ньютонівська (суспензії, гелі). Ньютонівська рідина при контакті із резонатором рухається в напрямку деформації пластинки, а швидкість руху рідини градієнтно зменшується при віддаленні від її поверхні. Таким чином Ньютонівська рідина не може бути розглянута як еластичне тіло, оскільки потенціальна енергія не накопичується а витрачається на внутрішнє тертя рідини. Не Ньютонівські рідини під дією стресу проявляють інші властивості. Серед таких рідин важливе значення мають в'язкопружні рідини так як біополімерні гелі, що часто використовують як матрицю селективних шарів, володіють подібними властивостями. Якщо дія стресу на в'язкопружну рідину припиняється, то вона частково повертає собі попередню форму, а деяка кількість енергії витрачається на внутрішнє тертя. Для ньютонівських рідин зміна частоти коливань резонатора має адитивний характер і викликана як збільшенням маси пластинки так і за рахунок тертя у рідині, тому за умови сталості в'язкості та густини рідини можливим є вимірювання зміни маси пластинки.

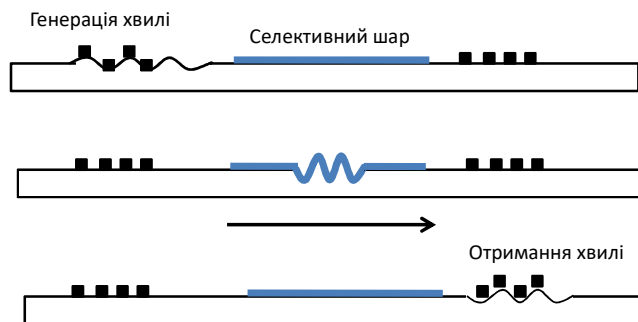
Іншим типом мас чутливих сенсорів є пристрої, що працюють на явищі *поверхневих акустичних хвиль (ПАХ)* описаним Релеєм. Так, у тонких пластинках частинки здатні до зміни положення у двох напрямках які утворюються повздовжньо-комперсійною складовою (вздовж пластинки паралельно до поверхні) та поперечно-вертикальною складовою (вгору та

вниз). Поєднання цих складових призводить до еліптичних коливань частинок навколо їх позицій у стані спокою. Товщина шару залученого у коливання складає від одної до двох довжин акустичної хвилі. Основна відмінність між поверхневими акустичними хвилями та акустичними хвилями у об'ємі полягає у різниці між двовимірними та трьохвимірними коливаннями. Таким чином технологія поверхневих хвиль легко поєднується із планарними кремнієвими електричними схемами, що значно спрощує конструкцію та полегшує масове виробництво. Ще одною перевагою ПАХ є можливість значного збільшення чутливості. Оскільки чутливість п'єзосенсора значно покращується при збільшенні робочої частоти пластинки, що залежить від її товщини, то для звичайного кварцового резонатора необхідно отримувати пластинку надто тонку і тому механічно слабку. У випадку сенсора на основі ПАХ така проблема відсутня. Розробка сенсорів на основі ПАХ почалась із створення зустрічно – штирового перетворювача у 1965 році. І вже у 1979 було створено перший сенсор на принципі ПАХ для визначення газів. Він складався із двох зустрічно – штирових перетворювачів розташованих на поверхні п'єзопластинки (кварц або  $LiNbO_3$ ) на деякій відстані один від одного і розділених лінією затримки (delay line) на яку нанесено полімерну мембрану. Один з перетворювачів служить для п'єзоелектричної генерації хвилі (трансмітер) яка через лінію затримки передається до другого перетворювача (ресивер), де знову трансформується на електричний сигнал (див. рис. 5.3). З точки зору аналітичного застосування, сигнал отримують як результат взаємодії зразка із акустичною хвилею, що проходить через чутливий шар у області лінії затримки. Сигнал вимірюють у формі зміни амплітуди  $\Delta A$ , зсуву (затримки) фази  $\Delta\phi$ , чи найбільш часто використовуваного параметра – зміни частоти осциляції  $\Delta f$ , та пов'язують вимірний параметр із концентрацією аналіту. Швидкість розповсюдження хвилі залежить від матеріалу пластинки та кута її зрізу з кристала. Типова частота роботи такого резонатора лежить у межах 30-300 МГц, що дає можливість значно підвищити чутливість визначення

зміни маси. Поширення акустичної поверхневої хвилі має механічний та електричний характер, проте цікаво відмітити, що швидкість акустичної хвилі відрізняється від швидкості електричного сигналу на 5 порядків.



а.



б.

Рис. 5.3. Принципова схема найпростішого сенсора на основі ПАХ (а), та принцип передачі хвиль від трансмітера до ресивера через лінію затримки з селективним шаром (б).

Для покращення метрологічних та експлуатаційних характеристик сенсорів на ПАХ, їх конструкцію значно змінювали та доповнювали. Проте їх принцип роботи залишається однотипним. Оскільки ПАХ суттєво послаблюється при контакті резонатора із рідинами, дані сенсори найчастіше використовують для аналізу газової фази.

Як було згадано вище, в основному для отримання аналітичного сигналу використовують зміну частоти осциляції  $\Delta f$ . За рахунок сорбції аналіту на поверхні чутливого шару  $\Delta f$  пропорційно збільшується, проте лінійна залежність спостерігається тільки у ідеальних випадках, коли процес сорбції не супроводжується зміною фізичних властивостей чутливого шару.

Окрім вимірювання частоти, відгук п'єзо сенсорів може бути отримано у вигляді зсуву фази  $\Delta\phi$  чи амплітуди, а у технічно «просунутих» сенсорах

використовують вимірювання амплітуди та зсуву по фазі одночасно із визначенням частоти, що дозволяє отримувати комплексний сигнал.

Селективний шар вибирають таким чином, щоб механізм його взаємодії з аналітом мав визначену природу фізичної чи хімічної сорбції. Завдяки високій чутливості сенсорів на ПАХ, на їх поверхню наносять дуже тонкі селективні шари, що дозволяє аналіту дифундувати у ньому та зв'язуватися з більшою кількістю селективних місць зв'язування (сайтів). Детектування з використанням *хімічної сорбції* забезпечує високу селективність сенсора, проте сенсор може бути необоротним за звичайних умов. Такий підхід часто використовують у дозиметричних вимірюваннях за допомогою одноразових сенсорів. Дозиметричні пристрої дають інтегральний (сумарний) сигнал зв'язаний з концентрацією аналіту та часом взаємодії сенсора із зразком. Завдяки відносно низькій собівартості таких сенсорів та широкому інтервалу визначуваних вмістів дозиметричні сенсори на основі ПАХ знайшли використання на практиці. Детектування на основі фізичної сорбції дозволяє отримати оборотній але низько-селективний сенсор. Цю проблему вирішують з використанням масиву неселективних сенсорів, як наприклад у системах «електронний ніс». На рис. приведено зміну частоти осциляції у процесі відгуку та регенерації сенсорів на основі ПАХ з різними механізмами взаємодії чутливого шару з аналітом. У найпростішому, ідеальному випадку, взаємодія з чутливим шаром визначається тільки фізичною адсорбцією аналіту, та рівномірною зміною маси чутливого шару (див. рис. 5.4 а). Як наслідок, аналіт дифундує у об'єм чутливого елемента з поступовим зменшенням зміни частоти коливань аж до настання термодинамічної рівноваги між газом носієм з пробєю та поверхнею чутливого шару. Регенерацію сенсора проводять простим продуванням чистим газом-носієм. Оскільки швидкість дифузії та рівноважна концентрація аналіту у газовій фазі залежить від температури, то такі пристрої потребують строгого дотримання температурних умов. При вищих температурах відгук сенсора

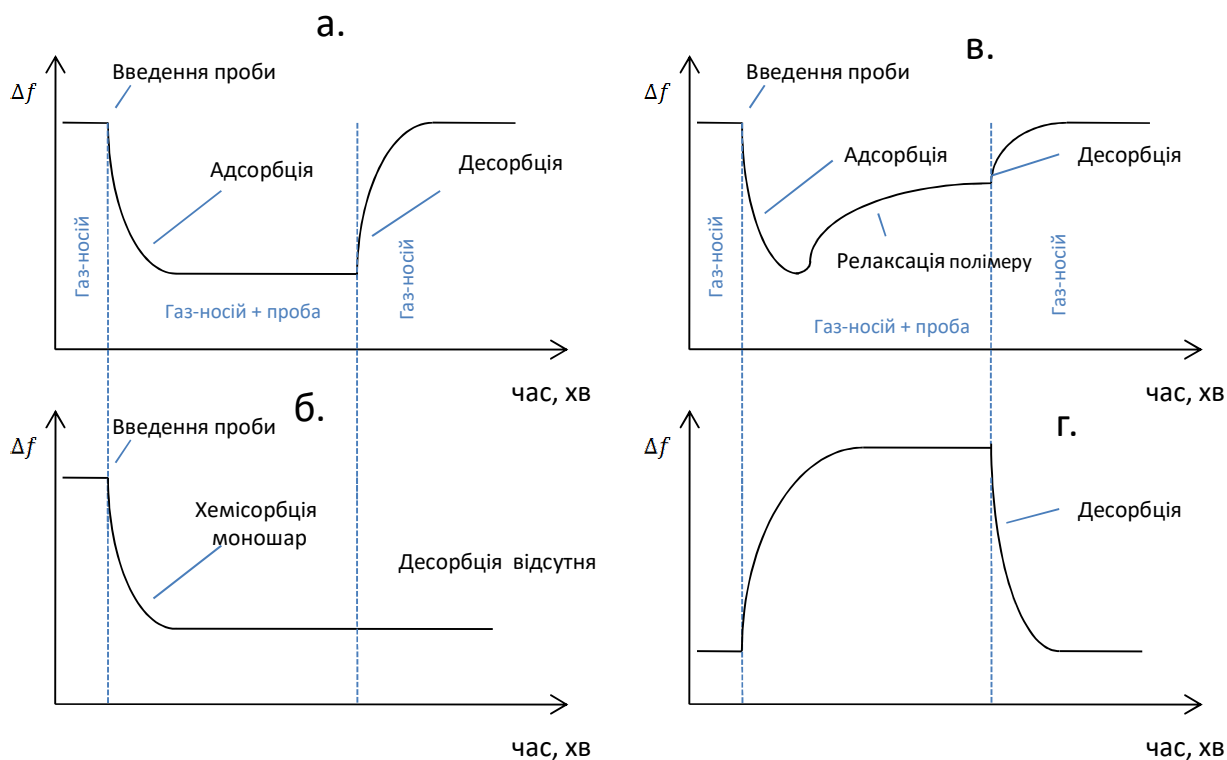


Рис. 5.4 Залежність відгуку сенсора ПАХ від механізму взаємодії аналіту із чутливими шаром: а.- ідеальний випадок, б.- хемісорбція, в.- поєднання ефекту зміни маси та в'язкопружних властивостей, г.- значна зміна властивостей полімеру від сорбції малої маси.

пришвидшується, а рівновага настає скоріше, проте при високих температурах зменшується кількість сорбованого аналіту від чого погіршується чутливість. Зменшення температури впливає на час відгуку сенсора, проте покращує межі виявлення та визначення.

При хімічній сорбції на поверхні чутливого елемента сенсор стає необоротним і продування його поверхні газом носієм не відновлює його працездатності (див. рис 5.4. б).

Ситуація значно ускладнюється, якщо у процесі сорбції відбувається модифікація поверхні чутливого шару (див. рис 5.4. в). Як видно з приведенного відгуку сенсора, динаміку зміни частоти коливань можна поділити на два відрізки. Швидкий відгук після введення проби спричинений зміною маси чутливого шару за рахунок сорбції. Далі відбувається зміна



в'язкопружних характеристик полімера, що викликає дрейф сигналу, та спотворення відгуку. У тому випадку, якщо адсорбція аналіту спричиняє суттєві зміни властивостей полімеру, зміна частоти коливань може відбуватись у зворотному напрямку (див. рис 5.4 г). Таку поведінку полімеру пояснюють внутрішнім перегрупування його ланок за рахунок процесу сорбції, до отримання енергетично вигідного просторового розташування. Релаксація полімеру призводить до зсуву в'язкопружних характеристик, електропровідності чи діелектричних властивостей, що в свою чергу має суттєвий вплив на спотворення аналітичного сигналу.

Найбільш поширеним матеріалом чутливого шару у ПАХ сенсорах є полімерні матриці отримані на поверхні шляхом випаровування розчинів полімеру. Також використовують наявні на поверхні кварцу гідроксильні групи для отримання модифікованих моно шарів здатних до сорбції аналіту. Для визначення аміаку та водню на поверхню наносять Платину та Палладій відповідно. Оскільки сенсори на ПАХ чутливі до змін тиску та температури у вимірювальну схему включають сенсор порівняння, що не має на своїй поверхні чутливого шару, але однаково чутливий до зовнішніх змін у умовах експерименту. Таким чином отримують диференціальний сигнал вільний від супутніх заважаючих впливів.

Межу виявлення сенсора ПАХ, як і в більшості аналітичних методів, визначають як співвідношення сигналу до шуму. Із збільшенням частоти коливань шум пропорційно збільшується, в той же час сигнал зв'язаний з частотою через квадрат, тому збільшення частоти веде до збільшення співвідношення сигнал-шум. Зменшення шумів досягають зменшенням лінії затримки у конструкції сенсора ПАХ.

Виготовлення селективного до певного компонента газової суміші сенсора важке і часто не досягне завдання. Проте у деяких аналітичних задачах необхідність селективного визначення окремих компонентів відсутня, а навпаки необхідним є визначення сукупних компонентів, концентрації яких визначають певний параметр об'єкту аналізу, наприклад

запах. Для досягнення такої мети створюють комплексні системи із сенсорів у різній мірі селективних до груп аналітів. Кожен із сенсорів такої сітки чутливий до певної групи газів із різними коефіцієнтами селективності. Отриманий такою системою інтегральний сигнал обробляють з використанням статистичних алгоритмів та спеціальних програм, що дозволяють приписати окремим сумішам газів певний набір параметрів індивідуальний для кожної суміші. Такі системи лягли у фізичну основу штучного носа.

### 5.1. Кантелівери у сенсорах

*Кантелівери.* Мікрокантелівери були запропоновані у 1980-х роках для вивчення властивостей твердих поверхонь методами силової атомної мікроскопії. Було помічено, що мікрокантелівери чутливі до зміни вологості середовища та температури. У 1990-х роках було показано, що мікрокантелівери, одна з сторін яких модифікована чутливим шаром, селективно реагують на певні хімічні сполуки. Це дало поштовх до виникнення нового класу хімічних сенсорів, в яких перетворення сигналу базується на механіці еластичних твердих тіл.

Мікрокантелівер являє собою пучок твердого матеріалу субміліметрового розміру завдяки чому окремі кантелівери можуть бути об'єднані у кантеліверні сенсорні сітки (див. рис. 5.5)

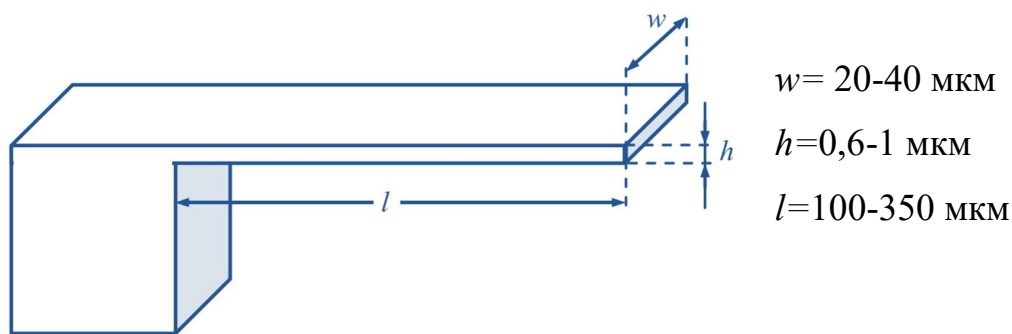


Рис. 5.5. Будова кантелівера та його типові розміри

Виготовляють їх із металів або кремнієвих матеріалів (монокристалічний чи полікристалічний кремній, нітрид кремнію), а також полімерів, з використанням технологій мікромеханічної обробки шляхом нанесення шарів чи травлення.

Отримання аналітичного сигналу відбувається шляхом зміни властивостей кантелівера після сорбції на одній з його сторін молекул аналіту. За рахунок модифікації поверхні відбувається зміна поверхневої напруженості з одної сторони кантелівера, яка не скомпенсована іншою стороною, тому вся структура деформується. На рис. 5.6. (а) показано деформації кантелівера під впливом модифікації поверхні, що викликає збільшення довжини модифікованої сторони кантелівера. У випадку зменшення поверхневої напруженості, кантелівер деформуватиметься у бік модифікованої сторони. Після встановлення рівноваги кантелівер фіксує нове положення, а величину деформації можна виміряти оптичним методом. Такий режим роботи кантелівера має назву *статичного*.

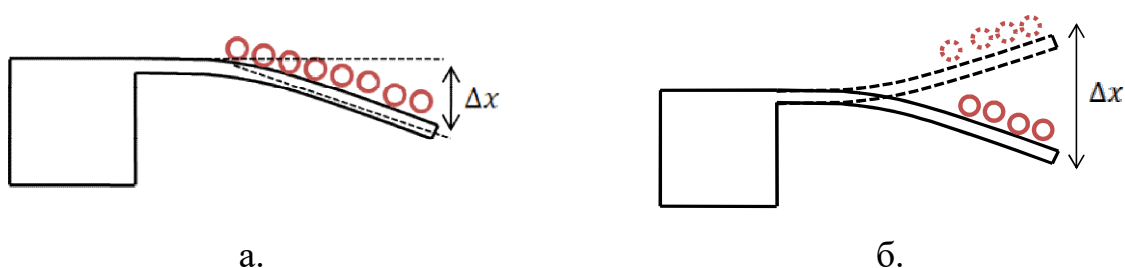


Рис. 5.6. Принцип перетворення сигналу у кантеліверних сенсорах а.- статичний режим, б- динамічний режим.

У *динамічному* режимі кантелівер коливається на власній резонансній частоті. За рахунок сорбції відбувається зміна маси кантелівера і як наслідок частота коливань теж змінюється. Чутливість таких мікроваг коливається у межах кількох пікограмів. В порівнянні з кварцовими резонаторами кантелівери на декілька порядків більш чутливі.

Для вимірювання ступеня деформації кантелівера використовують оптичний та п'єзорезистивний способи. Оптичний спосіб полягає у фіксації

зміни положення лазерного променя відбитого від поверхні кантелівера на фотоелектричний детектор. У п'єзорезистивному варіанті деформація кантелівера фіксується як зміна включеного в схему опору.

Для виготовлення кантелівера що працюватиме у динамічному режимі чутливий (селективний) шар наносять на одну або обидві сторони кантелівера, у випадку статичного режиму роботи, одну сторону кантелівера покривають селективним чутливим шаром, а протилежну – максимально пасивним до середовища проби покриттям, для усунення можливості сорбції з обох боків. Для компенсації зайвого вкладу у аналітичний сигнал супутніх процесів сорбції компонентів проби кантелівери використовують у парі із сенсором порівняння.

Розглянемо деякі основні моменти у методах перетворення сигналу кантеліверів. Як згадувалось вище, статичну деформацію викликає взаємодія аналіту із поверхнею кантелівера. Молекули сорбовані на поверхні також беруть участь у деформації за рахунок сил відштовхування, якщо присутні групи одноіменного заряду, чи зміни упорядкування молекул та їх структури що супроводжує зменшення поверхневого натягу чутливого шару. Як приклад на рис. 5.7. приведено часткові випадки таких взаємодій. Так сенсор на основі процесу гібридизації молекул одно ланцюгових ДНК реагує на упорядкування системи за рахунок гібридизації із цільовим аналітом. Після гібридизації молекули просторово орієнтуються у паралельні ряди, зменшуючи таким чином взаємне відштовхування і спричиняючи деформацію кантелівера.

Деформацію кантелівера кількісно характеризують радіусом викривлення  $r$  та описується рівнянням Стоуні:

$$\frac{1}{r} = \frac{6(1-\nu)}{Eh^2} \Delta\sigma \quad (5.2)$$

Де  $E$ - модуль Юнга (показник еластичності),  $h$ - товщина кантелівера,  $\nu$ - коефіцієнт Пуассона (співвідношення поперечної деформації до повздовжньої деформації).

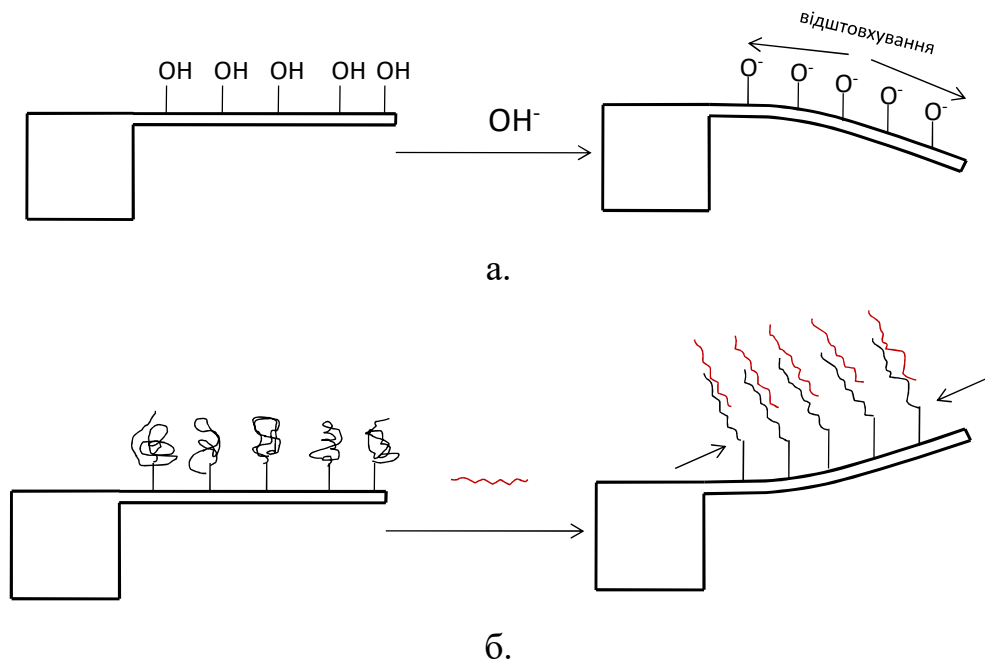


Рис. 5.7. Деформація кантелівера під дією взаємодій між молекулами на його поверхні: а.- іонізація кислотних груп, б.- гібридизація ДНК.

Оскільки  $r \gg l$  рівняння Стоуні використовують для опису залежності відхилення кантелівера від різниці поверхневої напруженості:

$$\Delta x = \frac{3(1-\nu)}{E} \left(\frac{l}{h}\right)^2 \Delta\sigma \quad (5.3)$$

З останнього рівняння видно, що чутливість можна представити як  $\frac{\Delta x}{\Delta\sigma}$ , а для її підвищення необхідно збільшувати довжину  $l$  або зменшувати товщину  $h$ . Модуль Юнга як індикатор еластичності матеріалу вказує на те, що зменшення його значення веде до збільшення чутливості.

Для того, щоб мікрокантелівер працював у резонансному режимі його коливання необхідно стимулювати п'єзрезонатором інтегрованим у його структуру. Як правило використовують нітрид алюмінію або п'єзокераміку PZT ( $\text{PbZr}_{0.52}\text{Ti}_{0.48}\text{O}_3$ ). Для біметалічних кантеліверів використовують періодичне нагрівання-охолодження із використанням лазерів чи термоелементів у структурі сенсора. Також використовують магнітні поля змінної напруженості.

Кантелівер коливається як гармонічний осцилятор з основною резонансною частотою  $f_0$ , яка визначається масою пучка  $m$  та константою пружності  $k$  за наступним рівнянням:

$$f_0 = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{nm}} \quad (5.4)$$

де  $n$  геометричний параметр кантелівера. Добуток  $nm$  це ефективна маса кантелівера. Константа пружності  $k$  визначається розмірами кантелівера та пов'язана із модулем Юнга наступним рівнянням:

$$k = \frac{Ew}{4} \left(\frac{h}{l}\right)^3 \quad (5.5)$$

Як видно з рівнянь, резонансна частота зменшується при збільшенні маси. Якщо навантаження маси відбувається рівномірно по площі резонатора то її зміну можна визначити з використанням частоти навантаженого кантелівера  $f_m$  з рівняння:

$$\Delta m = -\frac{k}{4\pi^2 n} \left(\frac{1}{f_0^2} - \frac{1}{f_m^2}\right) \quad (5.6)$$

Для вимірювання відхилень кантелівера найчастіше використовують оптичний принцип, який базується на реєстрації відбитого від кінця кантелівера лазерного променя (див. рис. 5.8). Як фотодетектор використовують ряд мікродетекторів розташованих на деякій відстані від кантелівера  $s$ . Викривлення кантелівера приводить до зсуву точки лазерного променя на відстань  $d$ .

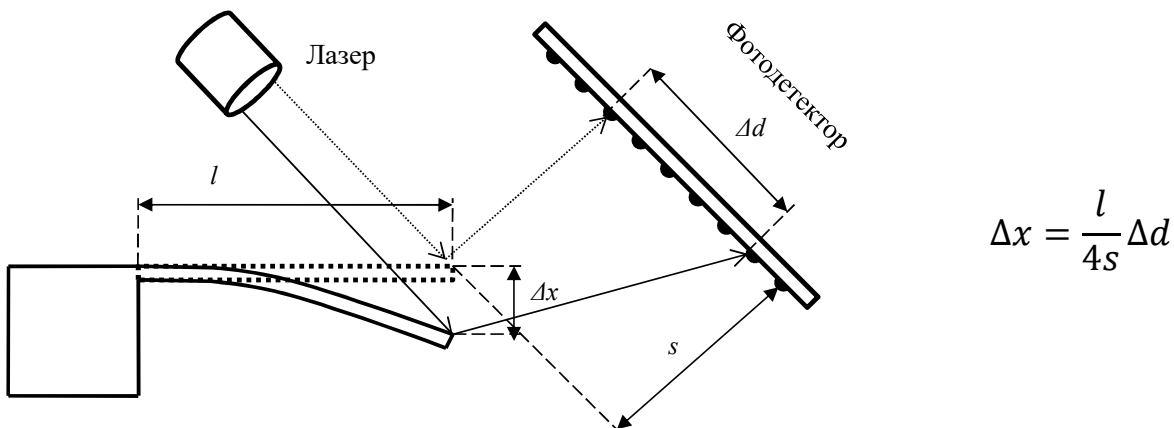


Рис. 5.8. Принципова схема оптичної реєстрації відхилення кантелівера.

Таким чином, з використанням оптичної схеми вдається фіксувати зміну положення кінця резонатора порядку фіксують відхилення в 0,1 нм. Основними недоліками такого підходу вважають необхідність постійного підлаштування та калібрування системи її чутливість до змін у середовищі аналізу, а у випадку використання сенсорних сіток, для кожного окремого кантелівера потрібне власне джерело випромінювання.

Інший поширений підхід полягає у використанні п'єзорезистивного ефекту, який полягає у здатності матеріалу змінювати власний електричний опір під дією зовнішнього напруження (стиснення, розтягування). Даний принцип використовують при розробці тензометричних датчиків. Тензометричний датчик виготовляють із напівпровідників чи металів інкорпорованих у кантелівер чи розміщених на його поверхні. За рахунок деформації кантелівера, довжина нанесеного резистора змінюється, що веде до зміни його опору, що в свою чергу фіксується електричною схемою. У порівнянні з оптичним принципом, електричне перетворення сигналу має ряд суттєвих переваг. На його відгук не впливають оптичні властивості проби, а також досягнення мікроелектронної промисловості дають змогу поєднати сенсор та перетворювач у одному мініатюрному електричному чіпі. Додатковою перевагою є можливість використання резисторів для нагрівання та підтримування сталої температури на поверхні чутливого шару.

Для отримання чутливого шару на поверхні кантелівера використовують отримані після активації поверхні кварцу ОН групи з подальшою силанізацією. Покриті золотом кантелівери функціоналізують тіакарбоксільними кислотами. Неактивні області кантелівера пасивують поліетиленгліколем, який не проявляє сорбційних властивостей до біологічних молекул.

Відтворюваність виробництва, та нанесення чутливого шару на край кантелівера досить низька. Для покращення відтворюваності збільшують ширину пучка кантелівера. У випадку виготовлення кантеліверних систем на кожен окремий кантелівер слід нанести окремий чутливий шар. Для цього

використовують технології мікроконтактного друку. Для нанесення чутливого шару по обидві сторони кантеліверів, користуються скляними мікрокапілярами. Кожен окремий сенсор просувають у отвір капіляра у який набрано реагенти для модифікації поверхні.

Мікрокантелівери використовують для наступних цілей:

**Газові сенсори та сенсори парів** – кантелівер покривають матеріалом який з помірною селективністю здатен реагувати з газом аналітом. В загальному використовують ті ж речовини, що і для виготовлення газових сенсорів інших типів. Для визначення  $H_2$  використовують покриття із металічного Палладію. Золото наносять на кантелівери чутливі до парів ртуті. Для визначення вологи сенсори покривають гідрофільними полімерами: плівнілпіролідон (ПВП), плівніловий спирт (ПВС) чи карбоксиметилцелюлоза (КЦМ). Пари органічних речовин визначають з сенсорами покритими різноманітними полімерами такими як полістирен, поліуретан, метилметакрилати та їх суміші. У зв'язку з низькою селективністю, кантелівери використовують у вигляді мереж із декількох сенсорів покритих різними полімерами. Використовуючи перехресну селективність окремих сенсорів у комплексі можна досягнути певних успіхів у детектуванні сумішей газів.

Для покращення селективності у чутливий шар кантелівера вносять зерна хроматографічного матеріалу нерухомої фази. Більш високої селективності досягають з використанням методів супрамолекулярної хімії, шляхом модифікування поверхні штучними рецепторами наприклад циклодекстринами.

**Афінні сенсори.** Найбільш поширеним підходом для виготовлення афінних кантеліверних сенсорів є використання антитіл в якості рецепторів для визначення молекул гаптенів, бактерій чи вірусів. Окрім антигенів, для модифікації поверхні використовують і штучні рецептори. Так фенілборонові кислоти (ФБК) використовують як рецептори сахаридів. Для визначення фруктози тіол-похідну ФБК використали для модифікації золотої поверхні



кантелівера. ФБК реагує із двома ОН групами молекули фруктози з утворення естеру. В залежності від рН боронат може бути нейтральним або негативно зарядженим, що використано для генерації сигналу шляхом взаємне відштовхування молекул на поверхні кантелівера (див. рис. 5.9). При рН=7 поверхнева напруженість кантелівера лінійно залежала від концентрації фруктози у межах 0-25 ммоль/л, що відповідає фізіологічному рівню.

**Сенсори для досліджень активності ферментів.** Активність ензиму визначають з використанням кантелівера на поверхню якого нанесено відповідний субстрат. Перетворення субстрату під дією каталітичного впливу ензиму зменшує масу та заряд на поверхні сенсора і як наслідок його деформацію, що дозволяє оцінити активність ензиму. Для підвищення чутливості, субстрат попередньо зшивають із наночастинками чи іншими об'ємними структурами, що веде до більш відчутної зміни маси у процесі ензимної реакції.

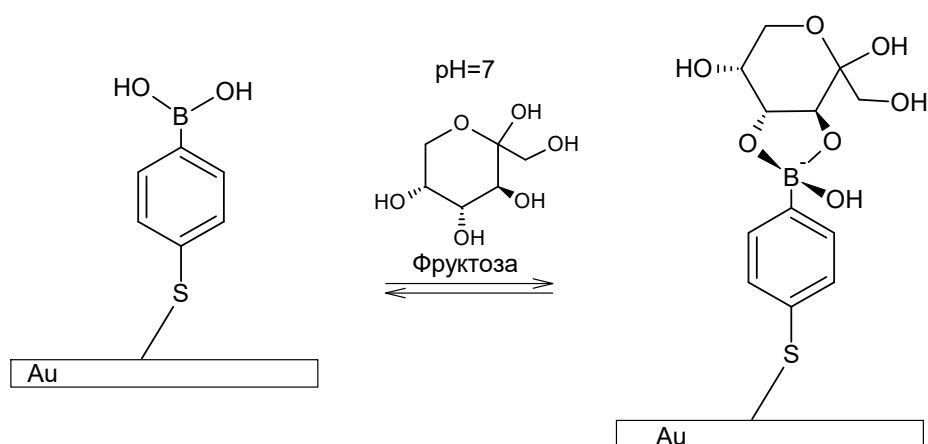


Рис. 5.9. Схема утворення зарядженого естеру на поверхні кантелівера чутливого до фруктози на основі ФБК.

**Кантелівери як трансдюсерів сенсорів нуклеїнових кислот.** Дані сенсори працюють на принципі комплементарного спарювання гетероциклічних нуклеотидів на поверхні кантелівера. Деформація кантелівера за рахунок гібридизації ДНК (утворення двониткових молекул з окремих одониткових молекул за принципом комплементарності) залежить від таких факторів як однорідність контакту поверхні з пробєю, ступені розу

порядкування молекул, рН та іонної сили. В якості кантелівера порівняння використовують сенсор модифікований нуклеотидами, які не комплементарні із цільовою ДНК.

*Запитання для самоконтролю:*

- Як п'єзоефект використовується в сенсорах?
- Які обмеження має рівняння Заурбрея?
- Від яких факторів залежить чутливість кварцових мікроваг?
- Які матеріали використовують для виготовлення резонаторів?
- Які переваги сенсорів на поверхневих акустичних хвилях над сенсорами на основі хвиль у об'ємі?
- Опишіть принципову будову сенсора на ПАХ. Який принцип його роботи?
- Які механізми зв'язування аналіту з поверхнею сенсора найкращі з точки зору селективності, чутливості?
- Чому для вимірювань використовують диференційну схему з додатковим сенсором на ПАХ?
- Які параметри можуть служити аналітичним сигналом у сенсорах ПАХ?
- Які режими роботи кантелівера в якості трансдюсера сигналу вам відомі?
- Які додаткові взаємодії на поверхні кантелівера можуть викликати його деформацію?
- Якими способами збуджують коливання кантелівера й резонансному режимі роботи?
- Який принцип оптичного детектування деформацій кантелівера? Які її переваги та недоліки?
- Нехай позолочену поверхню кантелівера модифікували тіокарбоксільною кислотою. Як впливатиме рН розчину на деформацію такого кантелівера?

- Які аналіти визначають з використанням афінних кантеліверних сенсорів?

#### Використана та рекомендована література

1. Buck, R. P., Lindner, E., Kutner, W., Inzelt, G. (2004). Piezoelectric chemical sensors (IUPAC technical report). *Pure and Applied Chemistry*, 76(6), 1139-1160.
2. Banica, Florinel-Gabriel. *Chemical sensors and biosensors: fundamentals and applications*. John Wiley Sons, 2012.
3. Kuchmenko, T. A., Lvova, L. B. (2019). A perspective on recent advances in piezoelectric chemical sensors for environmental monitoring and foodstuffs analysis. *Chemosensors*, 7(3), 39.
4. Коренман, Я. И., Кучменко, Т. А. (2002). Подходы к анализу пищевых продуктов. Разработка масс-чувствительных сенсоров. *Рос. Хим. Журн*, 46(4), 34-42.
5. Janshoff, A., Galla, H. J., Steinem, C. (2000). Piezoelectric mass-sensing devices as biosensors—an alternative to optical biosensors?. *Angewandte Chemie International Edition*, 39(22), 4004-4032.
6. Lucklum, R., Hauptmann, P. (2006). Acoustic microsensors—the challenge behind microgravimetry. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 384(3), 667-682.
7. Uludağ, Y., Tothill, I. E. (2010). Development of a sensitive detection method of cancer biomarkers in human serum (75%) using a quartz crystal microbalance sensor and nanoparticles amplification system. *Talanta*, 82(1), 277-282.
8. Ferrari, V., Lucklum, R. (2009). Overview of acoustic-wave microsensors. In *Piezoelectric transducers and applications* (207С. 39-62). Springer, Berlin, Heidelberg.

## СЛОВНИК ТЕРМІНІВ

<i>In vivo</i>	Лат. <i>в середині живого</i> - експерименти та операції які проводяться безпосередньо у живому організмі.
Амфифільність	Здатність сполуки проявляти одночасно гідрофільні та гідрофобні властивості (наприклад ПАР)
Аналіт	Речовина яка має бути аналітично виявлена чи визначена.
Антиген	Чужорідна для організму речовина, знешкодження якої відбувається шляхом зв'язування з антитілом.
Аптамер	Штучно синтезоване антитіло отримане з бібліотеки рандомізованих нуклеїнових кислот.
Біокаталізатор	Ензими чи інші біологічні сполуки які прискорюють протікання біологічних процесів
Біосенсор	Пристрій у чутливому шарі якого міститься біологічний матеріал (ферменти, тканини, клітини, антитіла чи антигени і. т.інш) який безпосередньо реагує на присутній у пробі аналіт.
Буферна ємність	Кількість кислоти чи лугу , що необхідно додати до буферного розчину, щоб змінити значення рН на одиницю.
Гель	Не рідка система з колоїдної чи полімерної сітки внутрішній простір якої заповнений рідиною.
Гідрогель	Гель в якому роль рідини відіграє вода.
Гідролаза	Клас ферментів які прискорює гідроліз ковалентного зв'язку.
Гістерезис сигналу	Ефект «пам'яті» сенсора, що проявляється у зміні величини сигналу для проби з певною концентрацією аналіту під час його повторного вимірювання після проби із більшою чи меншою концентрацією.

Допант	Або допуючий агент – речовина яку у слідових кількостях вносять у матеріал для надання останньому нових оптичних чи електричних властивостей.
Дрейф сигналу (для ІСЕ)-	повільна зміна величини сигналу сенсора у контакті із зразком з сталою концентрацією та температурою
Ензим	Білкові молекули що відіграють роль біокаталізаторів
Золь	Вільно дисперсні колоїдні системи
Зшивач (крослінкер)	Молекули що містять одну чи декілька реакційних груп та використовуються для хімічного зшивання протеїнів чи інших молекул із наявними специфічними групами
Ізолятор	Речовина, що не проводить електричного струму (діелектрик)
Ізопотенційна точка-	Певна активність аналіту, ри якій ЕРС потенціометричного сенсора не залежить від температури
Імуносенсор	Сенсор джерелом виникнення сигналу у якому служить імунохімічна реакція
Інгібування	У хім. Процес сповільнення хімічної реакції.
Інтеркаляція	У хім. Оборотний процес вкорінення молекул чи іонів у матеріал, що має багат шарову молекулярну структуру.
Інтерферент -	Будь яка речовина, відмінна від аналіту, присутність якої у зразку впливає на величину сигналу сенсора: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Супутні речовини в зразку які реагують із рецептором;</li> <li>- Речовини, висока концентрація яких викликає зміни у системи порівняння(наприклад дифузійний потенціал);</li> </ul>

- Речовини, що реагують із аналітом зменшуючи його концентрацію;
- Речовини, що реагують із чутливим елементом, блокуючи його для молекул аналіту.

Іонофор	Хімічна сполука здатна оборотно зв'язувати іони за рахунок утворення зв'язків.
Кофактор	Сполука небілкової природи яка необхідна для забезпечення біокаталітичної активності ензиму.
Критична концентрація міцелоутворення (ККМ)	Значення концентрації поверхнево активних речовин перевищення якої веде до утворення у розчині міцел.
Ксерогель	Тверда речовина отримана з гелів шляхом видалення розчинника
Ліпосома	Сферична везикула (бульбашка) утворена принаймні одним подвійним шаром ліпідів.
Ліпофільність	Схильність сполук розчинятись у органічних розчинниках
Люмінесцентна мітка	Молекула, яку пришивають до біомолекул з метою флуориметричного детектування останніх
Моношар	Неперервний шар товщиною в одну молекулу, іон чи клітину.
Оксиредуктаза	Клас ензимів, які пришвидшують процеси обміну електронами.
Пеллістор	Сенсор горючих газів
Пластифікатор	Низькомолекулярна сполука яку додають до полімера з метою його пом'якшення та надання еластичності.
Поліелектроліт	Макромолекула, яка при розчиненні у полярному розчиннику, характеризується наявністю ковалентно

	зв'язаних заряджених груп.
Простетична група	Зв'язаний небілковий кофактор молекули фермента
Рецептор (рецепторна частина)	елемент сенсора в якому відбувається перетворення хімічної інформації у певний тип енергії.
Сайт зв'язування	Частина макромолекули яка стереоселективно взаємодіє з іншими молекулами з утворенням зв'язку
Силанізація	Процес модифікації поверхні кремнію чи боросилікатних композитів з метою отримання сіланольних груп.
Субстрат	Речовина, що перетворюється у продукт під дією фермента.
Трансдюсер -	Елемент сенсора що трансформує певний тип енергії, яка несе в собі хімічну інформацію у придатний для вимірювання аналітичний сигнал
Траута реагент	2-Імінотіолан, тіолатуючий реагент який реагує з первинними аміногрупами з утворенням сульфгідрилів.
Фізичний сенсор	Пристрій, що надає інформацію про фізичний стан чи параметр системи.
Фоторезист	Полімерний матеріал який змінює свою розчинність при освітленні.
Хаотропний агент	Речовина здатна руйнувати структуру макромолекул за рахунок руйнування наявних в ній водневих зв'язків.
Хімічний сенсор	пристрій що перетворює хімічну інформацію (концентрація певного компонента зразка чи групи компонентів) у аналітично придатний сигнал. Згадана хімічна інформація може походити від хімічної реакції чи фізичного параметра системи.

Додаток 1. Рухливість та еквівалентна іонна провідність деяких катіонів та аніонів у водних розчинах при 25°C.\*

Іон	Еквівалентна іонна провідність $\text{см}^2 \cdot \text{Ом}^{-1} \cdot \text{екв}^{-1}$ .	Рухливість $u$ ( $\text{м}^2 \cdot \text{с}^{-1} \cdot \text{В}^{-1}$ )
$\text{H}^+$	349,82	$36,25 \cdot 10^{-8}$
$\text{K}^+$	73,52	$7,619 \cdot 10^{-8}$
$\text{Na}^+$	50,11	$5,193 \cdot 10^{-8}$
$\text{Li}^+$	38,69	$4,010 \cdot 10^{-8}$
$\text{NH}_4^+$	73,4	$7,61 \cdot 10^{-8}$
$\frac{1}{2} \text{Ca}^{2+}$	59,50	$6,166 \cdot 10^{-8}$
$\text{OH}^-$	198	$20,5 \cdot 10^{-8}$
$\text{Cl}^-$	76,34	$7,921 \cdot 10^{-8}$
$\text{Br}^-$	78,4	$8,13 \cdot 10^{-8}$
$\text{I}^-$	76,85	$7,96 \cdot 10^{-8}$
$\text{NO}_3^-$	71,44	$7,404 \cdot 10^{-8}$
$\text{CH}_3\text{COO}^-$	40,90	$4,24 \cdot 10^{-8}$
$\text{ClO}_4^-$	68,0	$7,05 \cdot 10^{-8}$
$\frac{1}{2} \text{SO}_4^{2-}$	79,8	$8,27 \cdot 10^{-8}$
$\text{HCO}_3^-$	44,48	$4,610 \cdot 10^{-8}$
$\frac{1}{3} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$	101,0	$1,047 \cdot 10^{-8}$
$\frac{1}{4} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$	110,5	$1,145 \cdot 10^{-8}$

\* - Bard, Allen J., and Larry R. Faulkner. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2e. John Wiley Sons, 2000.



Додаток 2. Характеристики деяких комерційно доступних потенціометричних сенсорів \*

Аналіт	Тип мембрани	Межі лінійності, моль/л		Робоча область рН	Інтерференти та і коефіцієнти селективності $K^{pot}$
$NH_4^+$	п	$10^{-6}$	- $10^{-1}$	4 - 7	$K^+$ ( $5 \cdot 10^{-2}$ )
$Br^-$	т	$5 \cdot 10^{-6}$	- $10^{-1}$	1 - 11	$CN^-$ (25), $I^-$ (20)
$Cd^{2+}$	т	$10^{-7}$	- $10^{-1}$	2 - 8	$Ag^+$ , $Pb^{2+}$ , $Cu^{2+}$ , $Fe^{3+}$ сильно заважають
$Ca^{2+}$	п	$5 \cdot 10^{-7}$	- $10^{-1}$	3 - 12	$Na^+$ ( $10^{-4}$ ), $Mg^{2+}$ ( $10^{-2}$ )
$Cl^-$	т	$5 \cdot 10^{-5}$	- $10^{-1}$	1 - 10	$CN^-$ (400), $Br^-$ (20), $I^-$ (2)
$Cl^-$	п	$5 \cdot 10^{-6}$	- $10^{-1}$	2 - 8	Сильні окисники заважають
$Cl_2$	т	$5 \cdot 10^{-7}$	- $10^{-4}$	2 - 4	Сильні окисники заважають
$Cu^{2+}$	т	$10^{-8}$	- $10^{-1}$	1 - 5	$Ag^+$ , $Pb^{2+}$ , $Cd^{2+}$ , $Fe^{3+}$ сильно заважають
$CN^-$	т	$10^{-6}$	- $10^{-3}$	11 - 13	$I^-$ (3)
$F^-$	т	$10^{-7}$	- $10^{-1}$	4 - 8	$OH^-$ ( $10^{-1}$ )
$BF_4^-$	п	$7 \cdot 10^{-6}$	- $10^{-1}$	2 - 8	Ацетат та фосфат іони сильно заважають
$H^+$	с	$10^{-14}$	- $10^{-0}$	1 - 14	$Na^+$ ( $10^{-13}$ )
$I^-$	т	$5 \cdot 10^{-8}$	- $10^{-1}$	2 - 12	$CN^-$ ( $5 \cdot 10^{-2}$ ), $S_2^-$ - сильно заважає
$Pb^{2+}$	т	$10^{-6}$	- $10^{-1}$	2 - 8	$Ag^+$ , $Pb^{2+}$ , $Cd^{2+}$ , $Fe^{3+}$ сильно заважають
$NO_3^-$	п	$10^{-5}$	- $10^{-1}$	3 - 12	$Cl^-$ ( $10^{-2}$ ), $HCO_3^-$ ( $5 \cdot 10^{-3}$ )
$ClO_4^-$	п	$7 \cdot 10^{-6}$	- $10^{-1}$	3 - 12	$NO_3^-$ ( $5 \cdot 10^{-2}$ )
$K^+$	п	$10^{-6}$	- $10^{-1}$	2 - 12	$NH_4^+$ ( $10^{-2}$ ), $Na^+$ ( $10^{-5}$ )
$Ag^+$	т	$10^{-7}$	- $10^{-1}$	1 - 7	$Hg^{2+}$ та $S_2^-$ - сильно заважає
$Na^+$	с	$10^{-7}$	- $10^{-1}$	7 - 11	$H^+$ ( $5 \cdot 10^{-1}$ ), $K^+$ ( $10^{-2}$ )
$S_2^-$	т	$10^{-7}$	- $10^{-1}$	12 - 14	$Hg^{2+}$ та $Ag^+$ - сильно заважає
$SCN^-$	т	$5 \cdot 10^{-6}$	- $10^{-1}$	4 - 7	$S_2^-$ , $OH^-$ , $Cl^-$ - сильно заважає
Твердість води	п	$5 \cdot 10^{-6}$	- $10^{-3}$	5 - 8	Заважають двовалентні катіони

Примітка : п- полімерна, т- твердотільна, с- скляна.

\*- Goepel, Wolfgang, et al. *Sensors, chemical and biochemical sensors*. Vol. 2. John Wiley Sons, 2008.

Додаток 3. Природні та штучні медіатори і їх Red-Ox потенціали\*

Природні медіатори	$E^0$ , В
Цитохром $a_3$	+0,29
Цитохром $c_3$	+0,24
Цитохром $b$	+0,08
Убіхінон	+0,10
Вітамін $K_2$	-0,03
Рубредоксин	-0,05
Флавопротеїни	-0,4/+0,2
$FAD-FADH_2$	-0,23
$FMN-FMNH_2$	-0,23
$NAD^+ -NADH$	-0,32
$NADP^+ -NADPH$	-0,32
Феродоксин	-0,43
Штучні медіатори	$E^0$ , В
Фериціанід [гексаціаноферат (III)]	+0,45
2,6Дихлорфенол	+0,24
Індофенол	+0,24
Фероцен	+0,17
Феназин метасульфат	+0,07
Метиленовий синій	+0,04
Фталоціанін	-0,02
Феносафранін	-0,23
Бензил фіолетовий	-0,36
Метил фіолетовий	-0,46

\*-Дзядевич, С. В. (2008) Амперометричні ферментні біосенсори *Biotechnologia Acta* 1.1, 46-60

## Предметний покажчик

IUPAC, 12, 16, 95, 136

### А

абсорбція, 13, 175, 185  
абсорбція світла, 185  
адсорбція, 34, 54, 55, 73, 90  
аерогель, 78  
акриловий полімер, 61  
алізариновий жовтий, 186  
алкоксисилан, 65, 91  
альбумін сироватки бика, 43  
амперометричний метод аналізу, 141  
амперометричний сенсор, 4, 20, 141, 162  
амплітуда, 209, 210  
амфіфільна молекула 71, 73  
аналізатор, 10  
аналітичний сигнал, 10, 11, 26, 104, 138, 144,  
183, 187, 195, 215, 227  
ангідрид янтарної кислоти, 70  
анізотропний кристал, 203  
анод, 141  
антиген, 18, 23, 40, 41  
антистоксове випромінювання, 198  
антитіло, 18, 23, 40, 41, 43, 58, 81, 206, 224  
антрацен, 196  
аптамер, 18, 40, 44, 45  
аскорбінова кислота, 148  
аспарагін, 166  
афінний друк, 90  
афінний сенсор, 220  
ацетат целюлози, 55, 194  
ацетилхолін, 50

### Б

біензимний сенсор, 154  
біоафінний, 22  
біокаталізатор, 21, 48, 225  
біокаталітичний рецептор, 21  
біоліганд, 40  
біолюмінесценція, 190, 196  
біоселективність, 39  
біосенсор, 16, 20, 21, 23, 40, 90, 145, 151, 152,  
155, 165  
біфункціональний зшивач, 57  
бромкрезоловий зелений, 189  
бромфеноловий голубий, 187  
Бугера-Ламберта-Бера закон, 185, 186

буферна ємність, 135

### В

валентні електрони, 174  
Ван дер Ваальса сили, 41, 42, 65, 67, 68, 79  
вдруковування, 45, 46, 163  
вільна енергія, 29, 35, 121  
віцинальні гідроксильні групи, 63  
водневий зв'язок, 36, 119  
вольт-амперна крива, 143  
вольтамперометричний метод аналізу, 141  
вольтамперометричний сенсор, 14, 95

### Г

газовий сенсор, 14, 47, 82, 95, 83, 145, 148  
газопроникна мембрана, 85  
гальванічна комірка, 148  
гаптен, 41  
гашення люмінесценції, 193  
гель, 75, 76, 81, 207  
гібридизація, 43, 65, 82, 215, 221  
гідридний шар, 68, 69  
гідрогель, 78, 79, 80, 81, 136  
гідрофільний замісник, 160  
гідрофобна мембрана, 18  
гідрофобний зв'язок, 41  
глюкоза, 48, 86, 151, 153, 154, 158, 161, 162  
глюконолактон, 153  
глутаральдегід, 57  
гомобіфункціональний крослінкер, 57  
графіт, 65  
графітова паста, 66

### Д

датчик, 145  
двохелектродна комірка, 142, 143  
декстрин, 58, 60  
денатурація білка, 42, 76  
детектор, 174, 182, 215  
дигідрозид адипінової кислоти, 58, 63  
дигідроліпоева кислота, 67  
динамічна область, 32, 33, 50  
диоктилфталат, 87  
дипіридил, 195  
дихроїчне дзеркало, 191, 192  
діелектрична стала, 36  
ДНК, 43, 44, 51, 70, 87, 215, 216, 221

дозиметричні пристрої, 210  
донорно – акцепторний зв'язок, 36  
допант, 83  
допований алмаз, 69, 70  
допоміжний електрод, 143  
дрейф сигналу, 212  
дуплекс, 44

## Е

еванесцентне поле, 182, 200  
електрод порівняння, 148  
електроліз, 94, 138, 141  
електропровідний гідрогель, 80  
електропровідний полімер, 82, 168  
електростатична взаємодія, 36, 55, 56  
електрохемілюмінесценція, 190  
електрохімічна полімеризація, 83, 84  
електрохімічна комірка, 141  
емеральдин, 168  
ензимний сенсор, 53, 81, 145, 151, 152, 169  
ензимний польовий транзистор, 17, 138  
ентропія, 35, 36, 39  
епоксидна група, 62

## Ж

желатин, 61

## З

Заурбрея рівняння, 206, 207, 221  
згасаюче поле, 183  
змочуваність, 59  
золь, 75  
золь-гель технології, 75, 77  
зустрічно штирьові електроди, 165  
λ-зонд, 151

## І

ізопропілмірилат, 87  
Ізотерма Брунауера-Еммета-Теллера, 34  
ізотіоціанатна група, 62  
імобілізація біомолекул, 55  
імуноаналіз, 40  
імуноглобуліни, 40, 42  
інверсійний шар, 133  
інгібування, 50, 225  
індекс рефракції, 200  
індикатор, 13, 175, 187, 188, 193

інтеркаляція, 44  
інтерферометрія, 200  
іон селективні польові транзистори, 134  
іонний провідник, 47, 102, 149  
іонообмінні мембрани, 86  
іонообмінні смоли, 55

## К

канал транзистора, 134  
кантелівер, 4, 213, 221  
караген, 60  
карбодімід, 56, 57  
карбоксиметилцелюлоза, 219  
карбонілдімідазол, 58, 63  
карбонові нанотрубки, 161  
катионіт, 86, 148  
квантовий вихід, 191  
кварцовий резонатор, 205  
кисневий датчик, 147  
кінетична селективність, 47  
Кларка електрод, 145, 146, 147, 151, 152  
ковалентне зв'язування, 54, 56, 62, 76, 90, 91, 159, 188  
коефіцієнт заломлення, 178, 182  
коефіцієнт селективності, 33, 230  
колаген, 61, 79  
кон'югація, 56  
Конго червоний, 186  
кондуктометричний сенсор, 163, 165, 167, 170  
кондуктометрична комірка, 164  
константа зв'язування, 32, 33  
константа стійкості, 41  
конус прийняття оптоволокна, 181  
косубстарт, 22, 160  
креатинін, 166  
кривої відгуку, 31  
кріогель, 79  
крослінкер, 70, 80, 225  
ксерогель, 78  
Кубелки-Мунка рівняння, 188, 189

## Л

лактоза, 153  
Ленгмюра-Блонжетт метод, 73, 74  
ліпосома, 72  
люмінесценція, 13, 175, 190  
люмінол, 196  
люмінофор, 190

люцифераза, 197

## М

Мас чутливі пристрої, 15  
масо-перенос, 20, 21, 29, 155  
медіатор, 152, 154, 156, 159, 170  
медіаторні амперометричні біосенсори, 155  
Метиленовий голубий, 157  
метилметакрилат, 219  
Мехаеліса-Ментен, 48, 49, 50  
мікроваги, 206  
мікроконтактний друк, 90, 219  
міцела, 72  
молекулярний друк, 45  
молярна електропровідність, 164  
монотропне гелеутворення, 60  
монохроматор, 174

## Н

наноматеріали, 6, 152  
напівпровідник, 20, 68, 131, 133, 160  
напівпроникні мембрани, 84  
нафію, 86, 148, 153  
нейлон, 62  
нейтральний переносник, 136  
нековалентне зв'язування, 55  
Нільський синій, 187  
Ньютонівська рідина, 207

## О

Оксид азоту (II), 147  
олігонуклеотид, 17, 18, 40, 43  
оптичне волокно, 178, 181  
оптичний сенсор, 174, 181, 189, 194  
оптичні методи аналізу, 173  
оптичної мітки, 185  
оптод, 13, 182  
органічні медіатор, 157, 170  
осцилятор, 15, 217

## П

п'єзоелектричний ефект, 204  
п'єзоелектричний осцилятор, 82  
п'єзокераміка, 217  
п'єзорезистивний ефекту, 81, 218  
паливна комірка, 149  
ПАР, 71, 72, 73, 76, 91, 109, 224  
ПВХ, 7, 55, 84, 87, 113, 114, 120, 136, 137

період напів-гашення, 194  
пероксидаза, 154, 196  
пірол, 83  
плазмове напилення, 53  
пластифікатор, 87, 114, 122  
пластифіковані мембрани, 87, 114, 136  
плівінілпіролідон, 219  
поверхневих акустичних хвиль явище, 208  
повне внутрішнє відбиття, 179, 180, 183, 184  
полі(р-фенілен-вініліден), 169  
поліакриламід, 62, 79  
поліанілін, 82, 168, 188  
поліаніон, 83  
полівініловий спирт, 79, 219  
полівінілпіридин, 86, 160  
поліелектроліт, 75  
полікарбонат, 62  
полімерна мембрана, 84  
поліметакрилова кислота, 79  
поліпірол, 82, 83, 84, 86, 188  
полісахариди, 60, 76, 79  
полістирен, 55, 61, 219  
полістиролу, 88  
політіюфен, 82  
поліуретан, 219  
потенціал напівхвилі, 144  
потенціометричні сенсори, 14, 95, 96, 124  
прекурсор, 76, 85  
провідні наноматеріали, 77

## Р

Раманівська спектроскопія, 197  
резонансна частота, 205  
релаксація полімеру, 212  
ресивер, 208  
рецептор, 9, 11, 18, 20, 21, 40, 123, 124  
рівноваги реакції, 29, 49, 144  
рівноважна селективність, 35  
рівняння Нернста, 14, 98, 124, 135, 137  
РНК, 40, 43  
робочий електрод, 142  
розсіювання світла, 13  
розумні гідрогелі, 80  
розчин піранья, 53

## С

Селективний шар, 35, 210  
селективність, 3, 26, 34, 36, 40, 43, 46, 51, 85,  
87, 102, 103, 114, 115, 117, 123

сенсорна платформа, 176  
сечовина, 42, 166  
силікагель, 75, 76, 189  
скляний електрод, 16  
Снелла закон, 179, 180  
спектрометрія дифузного відбиття, 188  
спектрофотометр, 181, 186  
спінювання, 53, 85  
срібний електрод, 97, 146  
стала комірки, 164  
стандартний електродний потенціал, 156  
стереоспецифічність, 36  
Стоксове випромінювання, 198  
Стоуні рівняння, 216  
субстрат, 21, 22, 28, 48, 49, 84, 144, 152, 155, 167, 220  
супрамолекулярна хімія, 71, 220

## Т

твердий електроліт, 149  
твердотільною мембраною, 136  
темплат, 45  
термістер, 15  
терморезистор, 165  
тетраетокисилан, 76, 78  
тетраоктиламмонію хлорид, 42  
тефлон, 146  
Тимоловий голубий, 189  
тіоалкан, 68  
точкове формування, 87  
транзистор ефекту поля, 14, 95  
трансдюсер, 9, 11, 20, 25  
трансмiтер, 208  
трафаретний друк, 66, 88, 156, 157  
трихлоротриазин, 63  
трихлорсилан, 68  
трьохелектродна комірка, 143

## У

ультрафіолетове випромінювання, 174

## Ф

Феназин, 157, 231

фенілборонова кислота, 220  
1,10-фенантроліну, 195  
фероціанід, 157  
ферріціанід, 157  
ферроцен, 158  
флуоресценція, 13, 175  
флюорофори, 192, 194  
фокусуючий рефлектор, 190  
фосфоліпід, 71  
фотолітографія, 89, 90, 184  
фотолюмінесценція, 190  
фотополімеризація, 53, 85  
фоторезист, 89  
фотострум, 169

## Х

халькогенідне скло, 137  
хаотропний агент, 42  
хемілюмінесценція, 190  
хемісорбція, 71, 89  
хімічна інформація, 10, 11, 12, 25, 50, 227  
хітозан, 60  
хлоридсрібний електрод порівняння, 137  
холестерин, 153

## Ц

целюлоза, 60  
цистеамін, 67

## Ч

час відгуку, 20, 136, 168, 212  
час життя, 25, 27, 109, 115, 137  
частота осциляції, 209, 210  
числова апертура, 180  
чутливий елемент, 9, 35, 88, 134

## Ш

Штерна-Фольмера рівняння, 193, 194

## Ю

Юнга модуль, 216, 217

*Навчальне видання*

**Максим Вікторович Фершал**

## **АНАЛІТИЧНІ СЕНСОРНІ СИСТЕМИ**

Навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів,  
які навчаються за напрямком підготовки «ХІМІЯ»

Гарнітура Times New Roman.  
Формат 60x84/16.  
Ум. друк. арк. 12,8. Обл. вид. арк. 8,0.  
Зам. № 15. Наклад 100 прим.

Видавництво УжНУ «Говерла»  
88000, м. Ужгород, вул. Капітульна, 18.  
E-mail: [goverla-print@uzhnu.edu.ua](mailto:goverla-print@uzhnu.edu.ua)  
*Свідоцтво про внесення до державного реєстру видавців,  
виготівників і розповсюджувачів продукції  
Серія 3т № 32 від 31 травня 2006 року*

**Ф43**

**Фершал М.В. Аналітичні сенсорні системи: навчальний посібник**  
/ Укладач. М.В. Фершал. – Ужгород: Вид-во УжНУ «Говерла», 2022. – 220 с.  
**ISBN 978-617-7825-68-4**

Розглянуто принципи роботи сенсорів та їх використання у аналізі, конструювання сенсорних систем, принципи їх роботи та отримання аналітичного сигналу. Приведено основні уявлення про електрохімічні, оптичні, гравіметричні та біосенсори і їх використання в аналізі.

Призначено для студентів та аспірантів які навчаються за напрямом підготовки «Хімія».

90 Іл. 16 Табл.

**УДК 543:544.6:535.317.2(075.8)**