



УДК 543.544

Массочувствительные сенсоры для определения антибиотиков на основе полимеров с молекулярными отпечатками, полученными методом электрохимической полимеризации

Карасева Н.А., Соболева И.Г., Ермолаева Т.Н.

Липецкий государственный технический университет, Липецк

Поступила в редакцию 26.11.2012 г.

Аннотация

Предложен пьезокварцевый сенсор с покрытием на основе полимеров с молекулярными отпечатками, полученными методом электрохимической полимеризации, позволяющий высокочувствительно и селективно определять антибиотики в жидких средах. Изучено влияние природы функционального мономера и разрыхляющего агента на структуру и массу полимера. Показано, что наиболее стабильные покрытия, обеспечивающие оптимальные метрологические характеристики сенсоров, формируются на основе анилина и резорцина. Сенсоры апробированы при анализе фармацевтических препаратов.

Ключевые слова: пьезокварцевый сенсор, электрополимеризация, полимеры с молекулярными отпечатками, антибиотики

Piezoelectric sensor with coating, synthesized by the method of electrochemical polymerization, which allow to detect antibiotics highly sensitively and selectively, was suggested. Influences of functional monomer nature and detergent agent on the structure and mass of the polymer were investigated. It was shown, that most stability coating, providing optimal metrological sensors characteristic, is formed on basis of aniline and resorcin. Sensors were tested by pharmaceutical product analysis.

Keywords: piezoelectric sensor, electropolymerization, molecularly imprinted polymers, antibiotics

Введение

Сенсоры, рецепторные покрытия которых содержат синтетические материалы, способные подобно биологическим реагентам (антителам, ферментам и т.д.), осуществлять селективное связывание молекул аналита благодаря наличию в их структуре сайтов молекулярного распознавания – “молекулярных отпечатков”, называют биомиметическими. Полимеры с молекулярными отпечатками (МИП), относительно недороги, стабильны в агрессивных средах и при длительном хранении, а также могут быть использованы для анализа высокотоксичных соединений [1-4]. Образование сайтов молекулярного распознавания происходит в результате импринтинга, в ходе которого вокруг молекулы целевого соединения определенным образом формируются функциональные группы. После ее удаления

из полимерной матрицы в образовавшихся нанопорах возможно повторное связывание молекул заданного типа. Использование полимеров с молекулярными отпечатками в комбинации с массочувствительными пьезокварцевыми резонаторами позволяет осуществлять прямое детектирование широкого спектра соединений путем непосредственного определения массы аналита, сорбированного на поверхности сенсора. Наиболее распространённый подход к синтезу полимеров с молекулярными отпечатками – блочная полимеризация. Однако наряду с достоинством – универсальностью, этот подход характеризуется трудоемкостью (измельчение полимера и выделение фракций частиц необходимого размера, использование связующего реагента, нанесение суспензии на поверхность сенсора), длительностью синтеза полимера и, как правило, невысокой воспроизводимостью массы получаемого полимера.

Более предпочтительными в этом отношении представляются электрохимические способы получения молекулярно-импринтированных полимеров непосредственно на поверхности электродов пьезокварцевых сенсоров. Электросинтезированные покрытия демонстрируют химическую стабильность, прочность связи с металлической поверхностью электрода и хорошую воспроизводимую по массе. Кроме того, электрохимический способ синтеза позволяет следить за качеством покрытия в ходе процесса и широко варьировать условия: изменять режимы поляризации, природу электролитов, функциональных мономеров, разрыхляющих реагентов и др.

Актуально практическое применение сенсоров с МИП, позволяющих с высокой чувствительностью и селективностью выявлять превышение допустимого содержания токсичных и лекарственных веществ, в частности антибиотиков, в объектах окружающей среды и пищевых продуктах, а также осуществлять контроль качества фармацевтических препаратов.

Эксперимент

Полимеризацию осуществляли на полярографе LP 7 в рабочем растворе 0,1 М HCl с добавлением мономера, разрыхляющего реагента и темплата в режиме циклической развёртки потенциала в пределах от -0,2 В до +1,6 В со скоростью 400 мВ/мин в течение 8 циклов. Рабочим электродом служил пьезокварцевый резонатор (10 МГц±1 Гц) с золотым электродом диаметром 4 мм; электродом сравнения – хлоридсеребряный электрод ЭВЛ-1МЗ.1; вспомогательным – угольный. После получения полимерного покрытия сенсор высушивали в течение двух часов при температуре 80⁰С. Для удаления темплата и несвязавшихся компонентов полимеризационной смеси сенсор промывали в бидистиллированной воде при 40⁰С до постоянной массы.

Оценку качества покрытия проводили с помощью метода пьезокварцевого микровзвешивания в режиме «dip & dry»: сенсоры погружали в исследуемые растворы определяемых соединений разных концентраций на 10 мин, высушивали в потоке горячего воздуха, после чего измеряли частоту колебаний до установления постоянного значения. Аналитический сигнал индикаторного сенсора регистрировали относительно сенсора сравнения с рецепторным покрытием, полученным по аналогичной схеме, за исключением добавления темплата, что позволяло учесть неспецифические взаимодействия компонентов раствора с покрытием сенсора: $\Delta F_{ан} = \Delta F_{ПМО} - \Delta F_{ПС}$, где $\Delta F_{ан}$ – аналитический сигнал, $\Delta F_{ПМО}$ –

изменение частоты колебаний сенсора, $\Delta F_{ПС}$ – изменение частоты колебаний сенсора с покрытием на основе полимера сравнения.

Обсуждение результатов

Для синтеза полимеров электрохимическим методом на поверхности электрода пьезокварцевого резонатора (ПКР) необходимо было изучить влияние природы функционального мономера и разрыхлителя на массу и устойчивость покрытия, а также сорбционную способность полимера по отношению к лекарственным препаратам.

В качестве мономеров были использованы ароматические соединения такие, как анилин, пиррол и антраниловая кислота (табл. 1). Сравнительный анализ пленочного покрытия показал, что лучшими свойствами обладают полианилиновые плёнки – они инертны как к органическим, так и неорганическим растворителям (за исключением сильных концентрированных кислот), прочно связаны с поверхностью электрода, однородны. Полипиррольные покрытия полностью закрывают всю площадь электрода, обладают хорошей адгезией, но по структуре поверхность клочковатая и зернистая. Антраниловая кислота проявляет разрыхляющие свойства, что сказывается на малой сцепляемости с поверхностью ПКР, растворимости в агрессивных средах, низкой воспроизводимости массы, поэтому ее лучше использовать для получения гетерополимеров с анилином или пирролом.

Таблица 1. Влияние функционального мономера на массу покрытия ПКР (n=3, P=0,95)

Функциональный мономер	Масса покрытия, мкг	s_r
анилин	55.4 ± 6.8	0.05
пиррол	61.4 ± 6.4	0.05
антраниловая кислота	63.7 ± 8.7	0.10

Однако, получение МИП только с использованием анилина вследствие его плотности затрудняет встраивание в структуру достаточного количества молекул темплата. Поэтому была рассмотрена совместная полимеризация мономера с разрыхляющими реагентами – ароматическими гидроксипроизводными, которые способствуют появлению объемно-сшитых структур и облегчают встраивание молекул аналита (табл. 2). Выявлено, что лучшими морфологическими характеристиками обладают покрытия с резорцином; использование системы на основе ПАН и резорцина расширяет диапазон определяемых содержаний лекарственных препаратов с помощью биомиметического сенсора.

В качестве темплатов применены следующие лекарственные препараты – стрептоцид, тетрациклин, фурацилин, фурадонин, сульфадиметоксин, сульфадимезин и сульфален. Для оценки сорбционной эффективности покрытия были построены градуировочные графики зависимости аналитического сигнала от концентрации. Рассчитаны коэффициенты чувствительности биомиметического сенсора, пределы обнаружения аналитов и коэффициенты селективности. Градуировочные функции для всех соединений линейны в диапазоне концентраций 0,01-0,15 мг/мл; пределы обнаружения составляют 0,6-0,8 нг/мл; отмечена хорошая воспроизводимость определений (s_r 0,04). Коэффициенты селективности сенсоров к целевым компонентам определены относительно структурно родственных соединений: к стрептоциду относительно п-нитроанилина - 7,69, к тетрациклину

относительно ализарина - 5,88, к фурацилину и фурадонину относительно друг друга - 9,09 и 5,56 соответственно, к сульфадимезину и сульфалену относительно сульфадиметоксина - 3,15 и 5,67, к сульфадимезину и сульфадиметоксину относительно сульфалена - 6,25 и 5,67, к сульфадиметоксину и сульфалену относительно сульфадимезина - 5,25 и 6,22 соответственно. Для повышения селективности детектирования в сложных, многокомпонентных системах рекомендуется проводить измерения с использованием двухсенсорной системы, нивелирующей влияние неспецифических воздействий.

Таблица 2. Характеристика электрополимеризованных пленок на основе полианилина (n=3, P=0,95)

Разрыхляющий реагент	Масса покрытия, мкг	Характеристика пленки
пирокатехин	47.6 ± 3.8	рыхлая с невысокой адгезией
резорцин	71.8 ± 5.8	однородное, равномерное покрытие, полностью закрывающее поверхность электрода с хорошей адгезией
гидрохинон	42.2 ± 3.2	неравномерное покрытие
пирогаллол	55.0 ± 3.5	плохая воспроизводимость по массе
1-нитрозо-2-нафтол	57.2 ± 6.8	невысокая связываемость с поверхностью сенсора, плохая воспроизводимость по массе
ализарин	-	-

Сенсоры апробированы при анализе лекарственных форм (табл. 3); установленные концентрации антибиотиков соответствуют заявленным характеристикам фирм-производителей.

Таблица 3. Результаты определения антибиотиков в препаратах (n=3, P=0,95)

Лекарственный препарат	Действующее вещество	Нормативные требования, г/100 г	Содержание, г/100 г	S _r
Линимент стрептоцида	стрептоцид	5	5.20 ± 0.45	0.03
Фурадонин (таблетки)	фурадонин	50	49.30 ± 2.40	0.02
Мазь тетрациклиновая глазная	тетрациклин	1	1.10 ± 0.08	0.03
Мазь «Фастин»	фурацилин	2	1.90 ± 0.05	0.01

Список литературы

1. Su X., Dai C., Zhan J., O'Shea S.J. Quartz tuning fork biosensor // Biosens. Bioelectron., 2002. V. 17. P.111-117.
2. Бондаревский А.С., Ермолаева Т.Н. Биомимические сенсоры с рецепторными покрытиями на основе полимеров с молекулярными отпечатками // Сорбционные и хроматографические процессы. 2007. Т.7. Вып. 1. С.171-179.

3. Ebarvia B.S., Binag C.A., Sevilla III A Biomimetic piezoelectric quartz sensor for caffeine based on a molecularly imprinted polymer // *Anal. Bioanal. Chem.*, 2004. 378. P. 1331-1337.

4. Ермолаева Т.Н., Калмыкова Е.Н. Пьезокварцевые сенсоры: аналитические возможности и перспективы: монография // Липецк: ЛГТУ. 2007. 190 с.

Карасева Надежда Александровна – аспирант кафедры химии Липецкого государственного технического университета, Липецк

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

Ермолаева Татьяна Николаевна – д.х.н., профессор кафедры химии Липецкого государственного технического университета, Липецк

Karaseva Nadezhda A. – postgraduate of Chemistry department, Lipetsk State Technical University, Lipetsk

Soboleva Irina G. – candidate of chemistry science, associate professor of chemistry, Lipetsk State Technical University, Lipetsk e-mail: sobolevaig@mail.ru

Ermolaeva Tatyana N. – doctor of chemistry science, professor of chemistry, Lipetsk State Technical University, Lipetsk