

УДК 53.082.5:535:621.373.826

К.М. Музика, О.М. Білаш, А.В. Кукоба

Харківський національний університет радіоелектроніки, Харків

РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ СТВОРЕННЯ СЕНСОРНОЇ ЗОНИ ЕЛЕКТРОХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНТНОЇ МІКРОФЛЮЇДНОЇ СИСТЕМИ НА БАЗІ МЕТОДУ ЛЕНГМЮРА-БЛОДЖЕТТ

Розроблено технологію створення сенсорної зони в електрохемілюмінесцентній мікрофлюїдній системі з використанням методу Ленгмюра-Блоджетт. Апробовано властивості сенсорної зони на предмет визначення амінокислоти пролін.

електрохемілюмінесценція, метод Ленгмюра-Блоджетт, біпіридил рутенію, стеаринова кислота, пролін, мікрофлюїдна система

Вступ

Конструктивно-технологічна інтеграція сенсорних пристроїв із пристроями пробопідготовки на так званому «чипі» поряд з досягненнями аналітичної хімії, інструментального проточно-інжекційного аналізу [1] (особливо, капілярного аналізу) [2] і мікро- і нанотехнологій заклали науково-методологічний фундамент для розробки мікрофлюїдних систем (МФС), які знайшли широке застосування в області біомедицини [3]. Реалізація МФС значною мірою обмежується готовністю відповідних технологій та складністю аналізу в мікроформаті. Останнє обумовлюється мініатюрними розмірами сенсорних зон і низькими концентраціями в біопробах сполук, що визначаються. Висока чутливість аналізу в МФС перш за все характеризується ефективністю сенсору, щодо детектування даного компоненту.

До одного з найчутливіших методів визначення належить електрохемілюмінесцентний (ЕХЛ), який має великий потенціал до реалізації в мікросистемах [4, 5]. Ця можливість ініційована використанням технології Ленгмюра-Блоджетт (ЛБ), що може потенційно використовуватись для виготовлення нових типів електродів для ЕХЛ-аналізу. [5]. Процес ЛБ полягає в багаторазовому переносі мономолекулярних шарів із поверхні рідкої субфази на тверду підкладку, що детально описано в роботі [6]. В огляді Гондельберга (163 посилань) обговорюються електрохімічні властивості тонких плівок електроактивних речовин, нанесених на поверхню електроду методом ЛБ [7]. Розглянуто перспективи застосування електроактивних плівок ЛБ (ПЛБ) в електрокаталізі, електроаналізі. Зазначається, що застосування електрохімічних методів може привести до кращого контролю властивостей ПЛБ.

Найбільш важливі перевагами сенсорних шарів, створених із застосуванням ЛБ технології [8, 9], це:

- висока однорідність плівки;
- можливість контролю товщини плівки з точністю до однієї молекули;
- високе відношення активної поверхні молекулярних шарів до об'єму плівки;
- можливість нанесення оптимального числа

моношарів, що забезпечують найбільший аналітичний ефект (інтенсивність сигналу);

– можливість варіації хімічної природи плівки за допомогою зміни властивостей амфіфілу або створенням змішаних моношарів.

Набуття сенсорних властивостей можливо шляхом іммобілізації низькомолекулярного компоненту, що несе певні функції. Зокрема, нами для отримання сенсорної зони (на базі явища ЕХЛ) пропонується інкорпорувати у ПЛБ молекули електрохемілюмінофорів-реагентів. Однак, проблемою є те, що існуючі найбільш ефективні електрохемілюмінофори, наприклад, металоорганічні комплекси не є амфіфільними і не здатні самостійно утворювати однорідні і стабільні ленгмюрівські моношари на поверхні водної субфази і, таким чином, ЛБ плівки.

Метою даної роботи є розробка технології створення ЕХЛ сенсорної зони у МФС шляхом створення ПЛБ змішаної бінарної системи на основі термодинамічно стабільних амфіфільних мономерних сполук з іммобілізованими в них неамфіфільними молекулами електрохемілюмінофорів на струмопровідній підкладці з індій олов'яного оксиду (ІТО). Для цього необхідно вирішити задачі: дослідити умови формування ПЛБ із молекулами електрохемілюмінофорів; апробувати отримані плівки на предмет сенсорних властивостей щодо визначення амінокислоти пролін.

Методика модифікації електрода сенсора плівками ЛБ

Для інкорпорування в ПЛБ було відібрано водорозчинний електрохемілюмінофор – біпіридилний комплекс рутенію. Його вибір обумовлено високою інтенсивністю ЕХЛ у водних розчинах та відносно невеликою енергією електрон-збудженого стану (спектр люмінесценції в жовто-червоному діапазоні), що збільшує вірогідність його ЕХЛ при відносно низьких значеннях доступних електродних потенціалів в умовах водних розчинів.

З урахуванням роботи [10] в якості матриці іммобілізації біпіридилного комплексу рутенію при

створенні ПЛБ застосовувалась відома мономерна сполука – стеаринова кислота (СтК). Для формування моношарів на її основі та перенесення на струмопровідну підкладку із ІТО використовувалась установка ЛБ, реалізована в приладі фірми Microtestmachines Co (LT-102). Перед нанесенням моношарів підкладки з ІТО покриттям промивались у ізопропіловому спирті, хлороформі і воді.

Вибір оптимальних параметрів нанесення плівок ЛБ здійснювали за допомогою π – А ізотерм, що демонстрували послідовність фазових переходів у моношарі при його стисненні.

Для формування мультишарових ЛБ плівок з піридинієвими комплексами рутенію на поверхню субфазі (водний розчин комплексу рутенію з концентрацією 0,25 мМ) краплинами (об'єм розчину складав 0,12 см³ з концентрацією 0,1 мМ) наносили СтК. У результаті ініціювання адсорбції комплексів рутенію на заряджений ленгмюрівський моношар СтК на поверхні водної субфазі спонтанно створювались амфільні іонні пари СтК/комплекс рутенію. Встановлено, що ступінь адсорбції і, тим самим, концентрація електрохемілюмінофору у моношарі, контролюється як значенням рН водної субфазі, так і розмірним співвідношенням молекул стеаринової кислоти з піридинієвим комплексом рутенію.

Поверхневий тиск, який забезпечує формування максимально конденсованих і стабільних моношарів на субфазі, а також структурно впорядкованих багатошарових ПЛБ на твердих підкладках, знаходився в межах тисків на π – А діаграмі, для яких варіація π є лінійною функцією площі на молекулу. Цій умові для усіх досліджених систем СтК/комплекс рутенію відповідав тиск $\pi \approx 30$ мН/м.

В загальному процес утворення ПЛБ із комплексом рутенію здійснювався за наступною схемою:

- а) підготовка поверхні струмопровідних підкладок;
- б) приготуванні водного розчину комплексу рутенію;
- г) приготуванні розчину СтК у неполярному розчиннику;
- д) нанесення розчину СтК на поверхню водного розчину комплексу рутенію у ленгмюрівський установці;
- е) формування конденсованого ленгмюрівського моношару на межі розподілу вода/повітря;
- є) послідовне перенесення моношарів на підкладки з ІТО методом вертикального ліфту;
- ж) просушування отриманих структур у камері без доступу світла за температури повітря 50 ÷ 60 °С.

Апробація сенсорної зони на предмет ЕХЛ визначення проліну

Експериментальні зразки ІТО-електродів, модифікованих плівками ЛБ системи СтК/комплекс біпіридилу рутенію, були апробовані на предмет сенсор-

них властивостей електрохімічного та ЕХЛ детектування амінокислоти пролін, визначення якої має важливе біомедичне значення оскільки вона є маркером хронічного нефриту. При цьому, для збудження ЕХЛ використовувався стандартний електрохімічний метод циклічної вольтамперометрії (ЦВАМ). Електродні потенціали вимірювали відносно насиченого хлор-срібного електрода порівняння (Ag/AgCl).

Для запобігання фотодеструкції інкорпорованих у ПЛБ молекул комплексу рутенію модифіковані електроди зберігалися від моменту виготовлення до часу експериментальних досліджень у темряві. Монтаж електродів із ПЛБ у вимірювальну ЕХЛ-комірку здійснювався максимально швидко при активному освітленні. Всі дослідження проводились у темряві в захисній атмосфері високоочищеного аргону.

Апробація сенсорної зони МСФ на наявність проліну проводилась за наступною схемою:

1. Проведення контрольних електрохімічних та ЕХЛ досліджень модельного розчину (0,1 М фосфатного буферу з рН = 7,5) за відсутності проліну в ЕХЛ-комірці з робочим ІТО електродом ($S = 75$ мм²), модифікованим ЛБ шарами системи (СтК)/комплекс біпіридилу рутенію при $V = 100$ мВ/с та напрузі живлення ФЕП – 1400 В. (рис.1). За максимальній чутливості ФЕП не спостерігалась помітного випромінювання (рис. 1), що підтверджувало відсутність впливу на результати ЕХЛ-досліджень залишкових концентрацій електрохемілюмінофорів та сореагентів у модельному розчині, спричинених, наприклад, технологічною пам'яттю устаткування.

2. Додавання в модельний розчин проліну до концентрації 1,2 мМ. При цьому інтенсивність емісії випромінювання зростає практично втричі (рис. 1). Це пояснюється тим, що пролін, виконуючи функцію сореагенту, вступаючи у хімічну реакцію з електрогенерованими на модифікованому електроді трикатіон-радикалами рутенію, після ланцюгу перетворень призводив до електронного збудження та люмінесценції рутенію, тобто до процесу ЕХЛ.

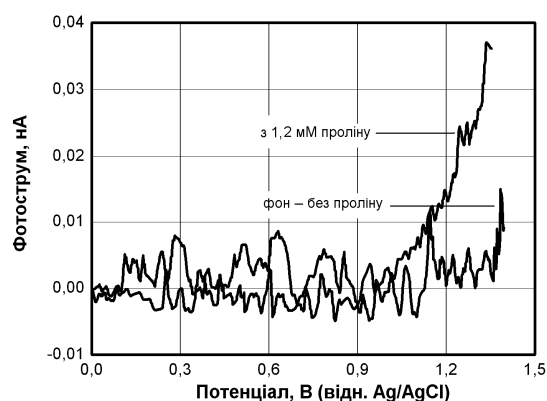


Рис. 1. Емісія ЕХЛ (фотострум) ІТО електроду ($S = 75$ мм²), модифікованого ЛБ шарами системи (СтК)/комплекс біпіридилу рутенію в 0,1 М фосфатного буферу (рН 7,5) при $V = 100$ мВ/с; напруга живлення ФЕП – 1400 В

Зазначимо, що введення у модельний розчин проліну не вплинуло на величину струму поляризації ІТО електроду, модифікованого ЛБ моношарами. Це означає, що визначення електрохімічними методами проліну за даних умов неможливе, оскільки ця АМК неелектроактивна. Однак, як видно з рисунку, ЕХЛ-метод у цьому випадку демонструє свою адекватність і перспективність, з точки зору аналізу.

Таким чином, експериментальні дані апробації отриманої нами сенсорної зони МФС на предмет визначення АМК пролін доводять перспективність використання першої (разом з відповідними методиками ЕХЛ аналізу) для кількісного визначення аналітів, які, навіть, неможливо визначати електрохімічними методами.

Висновки

При розробці технології формування сенсорної зони МФС показано що:

– поверхневий тиск формування максимально конденсованих і стабільних моношарів бінарної системи (СтК)/комплекс біпіридилу рутенію становить 30 мН/м;

– ПЛБ на базі СтК набувають функціональних властивостей при іммобілізації в них молекул комплексу рутенію;

– можливість застосування отриманих ПЛБ на поверхні підкладки з ІТО в якості сенсорів на амінокислоту пролін.

Подяки. Робота виконана в рамках проекту G-77 Українського науково-технологічного центру. Керівник проекту – проф. М.М. Рожицький.

Список літератури

1. Zhou G-J and Chen H-Y. Flow Injection Chemiluminescence Determination of Amino Acids by Oxidation with

N-Bromosuccinimide // ANALYTICAL SCIENCES. – 2002. – VOL. 18. – P. 693-696.

2. Oguri S., Yoneya Y., Mizunuma M. et al, Selective Detection of Biogenic Amines Using Capillary Electrochromatography with an On-Column Derivatization Technique // Anal. Chem. – 2002. – Vol. 74. – P. 3463-3469.

3. Bashir R., BioMEMS: state-of-the-art in detection, opportunities and prospects // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2004. – Vol. 56. – P. 1565-1586.

4. Du Y., Wei H., et al. Microchip Capillary Electrophoresis with Solid-State Electrochemiluminescence Detector // Anal. Chem. – 2005. – Vol. 77. – P. 7993-7997.

5. Qiu H., Yan J., Sun X. et al. Microchip Capillary Electrophoresis with an Integrated Indium Tin Oxide Electrode-Based Electrochemiluminescence Detector // Anal. Chem. – 2003. – Vol. 20. – P. 5435-5440.

6. Basu J.K., Sanyal M.K. Ordering and growth of Langmuir-Blodgett & X-ray scattering studies // Physics Reports. – 2002. – Vol. 363. – P. 1-84.

7. Гондельберг Л.М. Применение электро-химических методов для изучения электроактивных пленок Ленгмюра-Блоджетт // Успехи химии. – 1997. – № 12 (66). – С. 1141-1161.

9. Арсланов В.В. Полимерные монослои и пленки Ленгмюра-Блоджетт. Влияние химической структуры полимера и внешних условий на формирование и свойства организованных полимерных ансамблей // Успехи химии. – 1994. – № 1 (63). – С. 3-42.

10. Пленки Ленгмюра-Блоджетт с иммобилизованными комплексами рутенія и исследование их оптических свойств / О.Н. Безкровная, Ю.Н. Саввин и др. // XI Міжнародна конференція з фізики і технології тонких плівок. МКФТТПН-ХІ. – 2007. – Т. 1. – С. 7-12.

Надійшла до редколегії 00.00.2007

Рецензент: д-р фіз.-мат. наук, проф. А.І. Бих, Харківський національний університет радіоелектроніки, Харків.