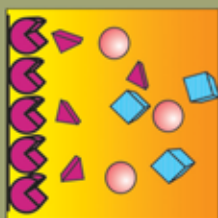


Г. К. Будников, Г. А. Евтюгин, В. Н. Майстренко

**МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ЭЛЕКТРОДЫ  
ДЛЯ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ  
В ХИМИИ, БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ**



ИЗДАТЕЛЬСТВО

**БИНОМ**

# Содержание

<b>Предисловие</b> .....	5
<b>Обозначения и сокращения</b> .....	8
<b>Введение</b> .....	10
<b>Глава 1. Методы модифицирования электродов</b> .....	19
1.1. Объемное модифицирование электродов .....	21
1.1.1. Угольно-пастовые электроды .....	24
1.1.2. Импрегнированные и композитные электроды .....	43
1.2. Поверхностное модифицирование электродов .....	45
1.2.1. Физическая адсорбция модификатора на поверхности электрода .....	45
1.2.2. Иммобилизация модификатора с образованием ковалентных связей .....	52
1.2.3. Включение модификатора в полимерную пленку .....	62
1.2.4. Модифицирование неорганическими материалами .....	88
1.2.5. Физические методы модифицирования электродов .....	98
1.2.6. Иммобилизация биокомпонентов .....	104
<b>Глава 2. Формирование сигнала-отклика на модифицированных электродах</b> .....	125
2.1. Общая характеристика модифицированных электродов .....	127
2.2. Электрокатализ на модифицированных электродах .....	134
2.3. Концентрирование на поверхности и в объеме электрода .....	154
2.4. Модифицированные электроды в энантиомерном анализе .....	169
2.5. Электроды, модифицированные наночастицами и ионными жидкостями .....	187
2.6. Ультрамикроэлектроды .....	206
2.7. Мультиэлектродные системы .....	213
<b>Глава 3. Амперометрические биосенсоры</b> .....	226
3.1. Общие принципы функционирования биосенсоров .....	227
3.2. Ферментные биосенсоры .....	238
3.2.1. Ферментные биосенсоры в медицине .....	253
3.2.2. Ферментные биосенсоры в эколого-аналитическом контроле .....	260
3.3. ДНК-сенсоры .....	268
3.3.1. Гибридизационные взаимодействия .....	270
3.3.2. Определение низкомолекулярных соединений .....	283
3.3.3. ДНК-повреждающие факторы и действие антиоксидантов .....	288

3.4. Иммуносенсоры .....	293
3.5. Микробные сенсоры .....	308
3.6. Тканевые сенсоры .....	314
<b>Глава 4. Модифицированные электроды в электрохимическом анализе .....</b>	<b>319</b>
4.1. Определение неорганических ионов .....	319
4.2. Определение органических соединений .....	330
4.3. Определение биологически активных веществ .....	336
4.4. Модифицированные электроды в проточных методах анализа .....	345
4.4.1. Модифицированные электроды в высокоэффективной жидкостной хроматографии .....	350
4.4.2. Модифицированные электроды как детекторы в проточно-инжекционном анализе .....	359
4.4.3. Биосенсоры в проточном анализе .....	362
4.4.4. Модифицированные электроды в капиллярном зонном электрофорезе .....	368
4.5. Микрофлюидные системы с электрохимическими детекторами .....	374
4.6. Детекторы газов .....	381
4.7. Об информационных ресурсах Интернета .....	387
4.7.1. Сайты научного Интернета .....	389
4.7.2. Проблемы развития web-ресурсов .....	397
<b>Литература .....</b>	<b>400</b>

# Предисловие

Интерес к модифицированным электродам связан с потребностями ряда областей науки и практики в химических сенсорах – портативных устройствах для определения веществ без предварительной пробоподготовки анализируемых объектов. Многие сенсоры созданы на основе модифицированных электродов. Поэтому тематика научных исследований и разработок, связанных с модифицированием поверхности электрода для придания электроду специфических свойств, которые проявляли бы себя при обнаружении (распознавании) и количественном определении различных веществ, очень актуальна.

В 1994 г. в издательстве «Наука» вышла в свет монография Г. К. Будникова, В. Н. Майстренко, Ю. И. Муринова «Вольтамперометрия с модифицированными и ультрамикрoэлектродами». Еще на стадии подготовки рукописи к публикации обнаружилось, что практическое применение модифицированных электродов и технология их изготовления вызывают повышенный интерес в мировой научной литературе. Прошедшее десятилетие это подтвердило. К сожалению, книга была издана сравнительно небольшим тиражом, поэтому в некоторых лабораториях ее можно увидеть лишь в виде ксерокопий.

Повышенное внимание к модифицированным электродам связано не только с их применением в вольтамперометрическом анализе. Перспективным оказалось использование модифицированных электродов как преобразователей биохимического отклика в биосенсорах, число которых непрерывно растет, а также в детекторах (датчиках), работающих в потоке жидкости, в частности в высокоэффективной жидкостной хроматографии и капиллярном зонном электрофорезе.

Кроме того, во многих случаях прямое электрохимическое детектирование на «голом», т. е. не модифицированном, электроде происходит лишь при высоких катодных (анодных) потенциалах. При этом наблюдается заметное влияние так называемых «химических шумов» – совокупности токов разряда примесей и емкостных составляющих. Снижение потенциала отклика в результате модифицирования поверхности электрода позволяет существенно улучшить характеристики последнего. Модифицированием электродной поверхности токопроводящими полимерными пленками, а также пленками на основе неорганических материалов, которые содержат «пришитые» реагенты, имеющие специфические функ-

циональные группы (активные окислительно-восстановительные центры), можно создать настолько благоприятные условия, что аналитический сигнал будет не только специфичным, но и высокочувствительным. За прошедшее десятилетие созданы различные аналитические системы на основе модифицированных электродов, которые в электрохимическом анализе получили название электрохимических сенсоров или детекторов (датчиков).

Несмотря на то что в литературе появились обзоры и монографии, а также учебные пособия, в которых заметное место уделено электрохимическим сенсорам на основе модифицированных электродов, большинство из них скорее предназначены для студенческих аудиторий, в которых реализуется программа подготовки бакалавров. В связи с этим прежде всего следует упомянуть книги Р. В. Каттралла (Химические сенсоры: Пер. с англ. – М.: Научный мир, 2000. – 143 с.) и Б. Эггинса (Химические и биохимические сенсоры: Пер. с англ. – М.: Техносфера, 2005. – 336 с.). В книге Р. В. Каттралла интерес представляет предисловие редактора перевода О. М. Петрухина, в котором рассмотрены вопросы терминологии и постановка задачи. При желании можно обратиться также к его вступительной статье в Российском химическом журнале (2008, Т. 52, № 2).

В книге Б. Эггинса достаточно доступно излагаются проблемы сенсорики и биосенсорики и дано общее представление о механизмах отклика, поэтому она является хорошим пособием для студентов университетов. Однако природа отклика и управление селективностью в ней практически не рассматриваются. Кроме того, исследователи и сотрудники лабораторий могут получить много полезной информации из книги под ред. Ф. Шольца (Электроаналитические методы. Теория и практика: Пер. с англ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2006. – 326 с.) и книги Г. Хенце (Полярография и вольтамперометрия: Пер. с англ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2008. – 240 с.).

Следует заметить, что модифицирование поверхности (и не только электродной) для придания ей новых свойств – по своей сути задача получения нового материала. Новые модифицированные электроды, перспективные для массового изготовления как сенсоры, являются продуктом наукоемких исследований и технологий. И если их применение на практике сравнительно несложно, то для изготовления таких электродов требуется достаточно высокая квалификация персонала. Как и в любой другой области знаний, здесь необходимо обобщение сведений, опубликованных в литературе.

Методы модифицирования поверхности электрода, при которых на нее воздействуют любым способом (физическим или химическим) для придания ей специфических свойств, используются и при создании топливных элементов. Некоторые идеи при разра-

ботке методов модифицирования электродов для вольтамперометрии, основанных на каталитическом отклике, близки к уже реализованным в технологиях производства электрохимических преобразователей энергии химических реакций. При этом возникает необходимость контроля морфологии поверхности с применением современных физических методов – сканирующей электронной и атомно-силовой микроскопии. Не менее важен выбор материала подложки и состава модифицирующих слоев, в том числе на принципах самоорганизации.

Название книги отражает наш непреходящий интерес к тематике, связанной с модифицированными электродами и их применением в вольтамперометрии. Мы постарались систематизировать обширную литературу по этой проблеме и выявить основные тенденции в исследованиях и разработках.

В заключение считаем своим приятным долгом выразить глубокую признательность рецензентам – коллективу кафедры аналитической химии Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова во главе с академиком Ю. А. Золотовым и доктору химических наук, профессору Х. З. Брайниной, чьи обстоятельные замечания и советы облегчили работу над рукописью и способствовали ее улучшению. Мы благодарны также профессорам А. А. Карякину, Э. П. Медянцевой, Н. Ю. Стожко, Т. Н. Шеховцовой, доценту Л. Г. Шайдаровой за ценные советы и замечания.

Надеемся, что книга будет полезной и интересной тем, кто работает в сфере электроаналитической химии, создателям новой аппаратуры для химии, биологии, медицины и контроля состояния окружающей среды, а также студентам и преподавателям.

## Обозначения и сокращения

$A$	– площадь электрода
$C$	– концентрация вещества
$C_{\min}$	– предел обнаружения
$C_n$	– нижняя граница определяемых концентраций
$D$	– коэффициент диффузии
$E$	– потенциал электрода, редокс-потенциал
$E^\circ$	– стандартный потенциал
$i$	– ток
$i_d$	– диффузионный ток
$i_k$	– кинетический ток
$i_{\max}$	– максимальный ток
$i_p$	– максимальный ток пика
$j$	– плотность тока
$k$	– константа скорости
$k_s$	– константа скорости переноса электрона
$K$	– константа равновесия
$K_3$	– константа экстракции
$K_{ij}$	– коэффициент селективности
$K_M$	– константа Михаэлиса
$L$	– толщина слоя
$n$	– число переносимых электронов
$P$	– вероятность
$r_o$	– радиус сферического электрода
$S$	– стандартное отклонение
$S_r$	– относительное стандартное отклонение
$v$	– скорость сканирования потенциала
$t$	– время
$y_x$	– величина сигнала-отклика
АДФ	– аденозиндифосфат
АМФ	– аденозинмонофосфат
АТФ	– аденозинтрифосфат
БПК	– биологическое потребление кислорода
ВЭЖХ	– высокоэффективная жидкостная хроматография
ГК	– главная компонента
ГОД	– глюкозооксидаза
ГЦМ	– гексацианометаллат
ГЦФ	– гексацианоферрат
ГЭ	– графитовый электрод
ДДС	– додецилсульфат
ДМГ	– диметилглиоксим
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ИВА	– инверсионная вольтамперометрия

ИЖ	– ионная жидкость
ИСЭ	– ион-селективный электрод
КЭФ	– капиллярный электрофорез
М	– металл
МВ	– метилвиологен
МГК	– метод главных компонент
МС	– метиленовый синий
НКЭ	– насыщенный каломельный электрод
ПАВ	– поверхностно-активное вещество
ПАН	– пиридилазонафтол
ПВХ	– поливинилхлорид
ПДК	– предельная допустимая концентрация
ПИА	– проточно-инжекционный анализ
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РКЭ	– ртутный капающий электрод
РНК	– рибонуклеиновая кислота
СМД	– сверхмалая доза
СЭ	– стеклоуглеродный электрод
ТГФ	– тетрагидрофуран
ТГЭ	– толсто пленочный графитовый электрод
УВ	– углеродное волокно
УМЭ	– ультрамикрорезистор
УНТ	– углеродная нанотрубка
УПЭ	– угольно-пастовый электрод
УЭ	– углеродный электрод
ХМЭ	– химически модифицированный электрод
ХПК	– химическое потребление кислорода
ЦД	– циклодекстрин
ЦТАБ	– цетилтриметиламмония бромид
ЭМА	– электрохимические методы анализа
ЭХС	– электрохимический сенсор
$A_2, A^*$	– компоненты обратимой редокс-системы
$A^-$	– анион
$FADH_2$	– флавинадениндинуклеотид
Fc	– ферроцен
I	– ингибитор
ИТО	– электрод на основе оксидов индия и олова
$K^+$	– катион
М	– медиатор переноса электрона
NADH	– никотинамидадениндинуклеотид
NADPH	– никотинамидадениндинуклеотидфосфат
Ox	– окисленная форма вещества
P	– продукт реакции
PQQ	– пирролохинолинхинон
Red	– восстановленная форма вещества
S	– субстрат
SAM	– самоорганизующийся монослой
SIMCA	– метод формального независимого моделирования аналогий классов

# Введение

В настоящее время в хорошо оснащенных аналитических лабораториях при решении эколого-аналитических и медико-биологических задач, сертификации материалов и изделий из них, для оценки качества пищевых продуктов наряду с другими аналитическими методами широкое применение находят электрохимические методы анализа (ЭМА). Преимущество этих методов в относительной простоте и невысокой стоимости анализа, они имеют высокую чувствительность, хорошую селективность и экспрессность, их можно автоматизировать, что позволяет управлять производственными процессами в реальном масштабе времени. Для ЭМА характерны необычайно широкие области применения – от определения ионов тяжелых металлов и следовых количеств токсичных органических веществ в воде до диагностики генетических заболеваний. Зачастую они не требуют высокой квалификации обслуживающего персонала, что существенно для многочисленных лабораторий мониторинга загрязнения окружающей среды, контроля качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов.

Помимо прямого назначения электрохимические методы анализа применяются для детектирования веществ в потоке в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и капиллярного электрофореза (КЭФ), в проточном инъекционном анализе (ПИА). Кроме того, аналитический сигнал многих химических и биологических сенсоров – устройств, дающих прямую (без фиксированного объема пробы и ее подготовки) информацию о составе среды в непрерывном режиме и с малым временем отклика, – имеет электрохимическую природу, т. е. относится к области электрохимического анализа. Объединенные в единый блок и подключенные к компьютеру мультieleктродные системы («электронный язык», «электронный нос» и т. п.) позволяют получать информацию о природе и составе сложных смесей.

Электрохимические методы анализа переживают в последние годы своеобразное «возрождение», и это происходит не только по причине невысоких затрат на их реализацию и не только благодаря доступности соответствующих приборов. ЭМА позволяют получать данные как о содержании определяемых веществ, так и об их химической природе. Однако основная причина возврата к ЭМА связана с созданием и практическим применением химически модифицированных электродов (ХМЭ). На их основе созданы сенсоры, детекторы, датчики и другие приборы, с помощью которых

проводят определение множества различных соединений, прежде всего органических.

Понятия «химически модифицированный электрод» и «электрохимический сенсор» (ЭХС) часто являются синонимами, хотя само понятие «сенсор» трактуется неоднозначно. Поэтому до обсуждения конкретных вопросов модифицирования электродов и их практического применения дадим общий «портрет» этой междисциплинарной области электроаналитической химии, очертим ее границы, рассмотрим терминологию и основные понятия, классификацию электродов в зависимости от способов нанесения модифицирующих слоев и природы модификатора.

Как известно, многие химические вещества способны окисляться (восстанавливаться) на электроде или в растворе при определенном потенциале. Если в электрохимическую ячейку поместить два электрода с различной площадью поверхности (индикаторный и вспомогательный), то при потенциалах индикаторного электрода, соответствующих потенциалу окисления (восстановления) вещества в растворе, по величине тока электролиза можно судить о его природе и концентрации. Такую ячейку часто называют химическим сенсором с амперометрическим (вольтамперометрическим) откликом.

С развитием вольтамперометрии и ее аппаратурных модификаций, отличающихся типом электрического воздействия на ячейку, стало ясно, что чувствительность, воспроизводимость и стабильность аналитического сигнала (отклика) во времени, а также другие его характеристики существенно зависят от чистоты поверхности электрода. Электроаналитики стремились достигнуть идеальной воспроизводимости поверхности от измерения к измерению. Такой поверхностью оказалась капля ртути, вытекающая из капилляра, – ртутный капающий электрод (РКЭ), воспроизводящий свою поверхность. Появление РКЭ способствовало быстрому развитию вольтамперометрии вообще и полярографии в частности, а также родственных методов. Литература по этим вопросам весьма обширна и относится преимущественно к середине и второй половине XX в.

Однако токсичность ртути и, как следствие, принятие ограничительных мер в большинстве стран мира (наряду с другими причинами) привели к заметному сокращению «ареала» полярографии. Вместе с тем, с развитием биологии, медицины, смежных с ними областей науки и повышением внимания к вопросам охраны окружающей среды возрос интерес к методам определения биологически активных и лекарственных веществ, продуктов жизнедеятельности организмов, ферментов и т. п. как в стационарных условиях, так и в потоке жидкости, в том числе в режимах *on line* и *in situ*. Для решения проблем, связанных с собственно электродами (а отсюда и электрохимическими сенсорами), исследователи обратили

внимание на поверхность электродов (сенсоров), материалы, из которых их можно изготовить, механические и другие свойства, влияющие на природу отклика, его изменчивость под влиянием различных факторов.

Оценивая развитие исследований по «электродной» тематике во второй половине XX в., можно выделить два подхода к созданию электродов. Первый из них достаточно подробно рассмотрен в литературе. В его основе – замена ртути на другой материал (углеродные материалы, благородные металлы, включая те, на поверхности которых образуются оксидные пленки, и т. п.). Воспроизводимость поверхности таких электродов, определяющая в конечном счете качество измерения, т. е. амперометрического отклика, достигается различными способами – от механического (химического с применением агрессивных реагентов) до электрохимического (автоматизированного по программе, задаваемой измерительной аппаратурой).

Новое поколение электродов, которые в основном появились в последней четверти XX в. и интенсивно изучаются в настоящее время, основано на модифицировании их поверхности. При модифицировании на поверхность электродного материала наносят химическое соединение (один или несколько слоев), полимерную пленку или формируют оксиды (композиты) из материала электрода, которые существенным образом изменяют его способность к вольтамперометрическому отклику в результате появления специфических свойств. При этом «универсальность» электрода (например, в случае РКЭ) заметно сужается либо сводится к минимуму. Однако специфичность или селективность отклика при этом возрастает, а в случае модифицирования с применением биоматериалов становится максимальной.

В принципе понятие ХМЭ сейчас относят к любому электроду, поверхность которого обработана таким образом (физическим способом, лазерным облучением или химической обработкой с применением реагентов, включая различные пленки), что характер электрохимического отклика меняется от универсального (измеряемого в широком диапазоне потенциалов) до специфического или селективного (в узкой области потенциалов). Количество описанных в литературе модифицированных электродов достаточно велико. Разработаны способы закрепления на различных поверхностях (подложках, матрицах и т. д.) более тысячи индивидуальных неорганических, органических и металлоорганических соединений, веществ и материалов неорганической (цеолиты, глины и т. п.) и биологической (ферменты, бактерии, ткани и др.) природы, перечень которых велик. Установлены важные закономерности, которыми следует руководствоваться при закреплении модификаторов (или биоматериалов) на электродной поверхности и вблизи электрода. Рассмотрены многочисленные области практического применения

модифицированных электродов в химических сенсорах и биосенсорах (если в модифицирующем слое использован биоматериал). В настоящее время модифицированные электроды и особенно биосенсоры получили широкое распространение, что является лучшим подтверждением успехов в области фундаментальных исследований, направленных на решение специальных проблем, в частности охраны окружающей среды и здоровья человека.

При закреплении на поверхности электродов тех или иных модификаторов не всегда можно предсказать изменение их свойств, особенно во времени. Ранее распространенное мнение, что свойства модифицированного электрода определяются свойствами исходного электрода и прикрепленного модификатора, т. е. иммобилизованного соединения, также не всегда справедливо. Зачастую наблюдается несовпадение селективности аналитического сигнала для иммобилизованных металлокомплексов и находящихся в растворе. Кроме того, любая поверхность имеет неоднородности (шероховатость). Если размеры дефектов сравнимы с удерживаемым соединением (адсорбатом), то оно может взаимодействовать с различными гранями поверхности; каждая грань определенной ориентации имеет различную поверхностную энергию и следовательно разную реакционную способность. В общем случае можно ожидать несколько амперометрических откликов (например, ряд пиков) при близких потенциалах, чаще всего сливающихся на практике. В отдельных случаях эти пики разрешимы, что затрудняет количественные измерения. Модифицирование электродной поверхности направлено на усреднение ее энергетического состояния, т. е. на получение «усредненного» амперометрического отклика.

Известно также, что не все вещества электрохимически активны в доступной области потенциалов. Электродные реакции некоторых соединений протекают с большим перенапряжением, при этом аналитический сигнал имеет искаженную форму и плохо воспроизводится из-за размытости вольтамперограмм (отсутствует пик). Для устранения этого явления применяют медиаторы, которые осуществляют транспорт электронов между электродом и определяемым веществом. Частицы медиатора представляют собой обратимую окислительно-восстановительную пару, компоненты которой участвуют в последующей гомогенной химической реакции с аналитом в растворе. Таким образом удается исключить или значительно уменьшить влияние гетерогенных факторов, о которых говорилось выше (ориентация вещества у поверхности электрода, воздействие поля последнего, шероховатость, чистота поверхности и т. д.), на скорость и полноту электролиза с участием аналита. Наблюдаемый прирост тока медиатора в присутствии аналита по сравнению с током в его отсутствие является источником информации о протекающей гомогенной реакции. Таким путем удается вовлечь аналит в электрохимическую реакцию при потен-

циалах, соответствующих потенциалу редокс-пары переносчика, и понизить перенапряжение, характерное для электродной реакции анализа. Регенерация компонента редокс-пары обуславливает каталитический характер амперометрического отклика.

Использование явления гомогенного переноса электрона стимулировало поиск путей иммобилизации медиаторов на поверхности электродов с целью создания амперометрических сенсоров. Поскольку медиаторы стали использоваться в качестве «курьеров переноса заряда» между электродом и ферментами, то способы их иммобилизации вызывают повышенный интерес при создании нового поколения биосенсоров. В их конструкции электродная поверхность с иммобилизованным переносчиком функционирует как преобразователь сигнала, генерируемого биослоем. Функционально такие сенсоры сопоставимы с датчиками живых организмов – биорецепторами, преобразующими сигналы, поступающие из внешней среды, в электрические, которые легко измерить. С одной стороны, биосенсоры можно рассматривать как устройства, работающие на принципах биологического распознавания определяемых молекул или частиц, т. е. они относятся к биологическим (биохимическим) методам анализа. С другой стороны, биосенсоры – это электронные устройства, включающие в себя биочувствительный элемент, тесно связанный с физическим преобразователем либо интегрированный с ним, чаще всего с электродом.

Область биосенсоров пересекается со многими традиционными дисциплинами: биологией, биохимией, аналитической химией, энзимологией, физикой твердого тела, микроэлектроникой, информатикой. Как объект исследования биосенсоры рассматриваются в новой науке – биоэлектронике, само название которой предполагает взаимопроникновение идей биологии и электрохимического анализа. Интерес к биосенсорам обусловлен их потенциальными возможностями в контроле среды обитания и охране здоровья человека, что нашло отражение в характере научных исследований и разработок, да и методологии аналитической химии в целом. В ряде стран возникли научные коллективы и созданы соответствующие лаборатории по проблеме биосенсоров. Многообразие биосенсоров определяется различной природой биоматериала, типом физического преобразователя, способом регистрации электрического сигнала. Их конструкция, или дизайн (объемный, планарный и т. д.), тесно связана с назначением в использовании. Классификация биосенсоров также отражает области практического применения: субстратные, ингибиторные и т. д.

В последние годы наблюдается проникновение в электроаналитическую химию идей супрамолекулярной химии, в частности образование самоорганизующихся моно- и бислоев амфифильных молекул на поверхности электрода, что используется при создании селективных электрохимических сенсоров, в том числе биосенсо-

ров. Для них разработаны специальные мембраны, находящиеся в контакте с электродом-преобразователем и осуществляющие молекулярное распознавание посредством селективных рецепторов (синтетических или нативных), подобно тому, как это происходит в живых организмах. Связывание субстрата преобразуется в электрический сигнал за счет изменения физических или химических свойств активного слоя рецептора. Молекулярный дизайн (последовательное нанесение активных слоев) и применение нанотехнологии при создании новых электродов и на их основе микроаналитических систем для целей медицинской диагностики рассматриваются как перспективный путь развития электрохимического анализа и расширения сферы его практического применения. Кроме того, самоорганизующиеся монослои на поверхности электродов с точно контролируемой толщиной и направленной ориентацией молекул предоставляют уникальную возможность для изучения процессов накопления определяемых компонентов и других факторов, влияющих на величину сигнала (отклика).

Вообще же, нанесение иммобилизованного слоя на поверхность электрода, особенно при создании биосенсоров, непросто. Соответствующие технологии разработаны на основе «ноу-хау». Порой заметную роль играет искусство экспериментатора, особенно в конструкциях типа *home made*. Тем не менее поиск новых путей создания биосенсоров, особенно для медико-биологических исследований, несомненно, перспективен. К тому же эта тематика социально значима. Можно полагать, что в ближайшее время биосенсоры станут основой автоматизированных систем аналитического контроля и диагностики состояния здоровья человека.

Заметим, что появлению новых биосенсоров способствовали работы по изучению способов модифицирования электродов различными модификаторами, которые проводились независимо и параллельно с биосенсорной тематикой. В настоящее время подобные исследования также проводятся, но уже с модификаторами следующего поколения, к которым, например, относятся синтетические рецепторы и ДНК. Модифицированные электроды на их основе дают специфический отклик на различные субстраты, в том числе и на биологически активные вещества. С позиций методологии модифицирования электроды-сенсоры на тот или иной аналит, независимо от механизма отклика распознающего слоя, объединяются одним понятием «химически модифицированные электроды».

Модифицирование поверхности электрода может быть достигнуто при воздействии на его токопроводящую часть различными способами с использованием химических реагентов или биослоев. Для их иммобилизации применяют такие приемы, как:

- необратимая адсорбция на поверхности электрода;
- химическое связывание с фиксацией модификатора (биоматериала) через различные группы (спейсеры, линкеры) с образованием ковалентных связей;
- включение в полимерную пленку;
- введение в объем композита или пасту из графитовых материалов, включая технологию изготовления печатных схем, различных компонентов-модификаторов;
- образование слоя с иммобилизованным модификатором с помощью золь-гель технологии;
- нанесение пленки полимера или другого материала, содержащего полости, позволяющие распознавать молекулу аналита по механизму гость-хозяин (молекулярные отпечатки).

Эти способы определяют классификацию химических сенсоров на основе модифицированных электродов. Уместно привести мнение О. М. Петрухина относительно размывания грани между наукой и техникой (при разработке инженерных решений) применительно к таким электродам, поскольку теоретические и экспериментальные исследования и технологии их изготовления прижились и встроились друг в друга. «Сейчас уже трудно провести грань между наукой и техникой, уже сложно оперировать понятиями «наука» и «техника» в прежнем, традиционном смысле слова. Становится все труднее провести четкую грань между чисто теоретически ориентированными фундаментальными исследованиями и прикладными исследованиями и разработками. Наука все в большей степени становится техникой, а техника все в большей степени основывается на естественнонаучных открытиях. Аналитическая химия не может быть исключением из этого общего потока развития».

В книге подробно рассмотрены способы модифицирования электродов, т. е. технологии изготовления, сопоставлены их преимущества и недостатки, аналитические и операционные характеристики, достигаемые при том или ином способе иммобилизации модифицирующего слоя на электроде, другие вопросы применения модифицированных электродов.

Большинство химических сенсоров и биосенсоров, изготовленных с помощью новых технологий, дают устойчивый отклик не только в стационарных условиях, но и в потоке. Практически все сенсоры, предназначенные для биомедицинских целей, могут работать в потоке, т. е. в условиях ВЭЖХ, ПИА, КЭФ. Детектирование в потоке жидкости также рассмотрено в книге.

В настоящее время в ряде областей аналитической химии, биологии и медицины ощущается потребность в миниатюрных сенсорах на основе микропреобразователей, созданных по технологии интегральных схем (микрочипов). Миниатюризация сенсоров в

сочетании с их высокой селективностью и чувствительностью, достигаемых за счет использования разнообразных биоматериалов, позволяет решать важные задачи биологии и медицины, в том числе даже задачи определения отдельных молекул (например, с помощью капиллярного электрофореза с амперометрическим детектором на основе модифицированных ультрамикродатчиков). При условии удачных конструктивных решений потенциал таких сенсоров очень велик, однако их разработка и применение требуют высокой квалификации специалистов, а отсюда и их специальной подготовки. В образовательном процессе необходимо выработать соответствующий императив, чтобы приобщить к нему его участников. Не случайно сенсоры на основе модифицированных электродов включены в учебную литературу, т. е. эта тема переведена из сферы науки в сферу знаний. Поэтому интересно сопоставить использование некоторых терминов и понятий в литературе, пусть даже и не в строгих рамках.

Химические сенсоры (т. е. сенсоры химического состава, в отличие от сенсоров массы, скорости, расхода и т. п.) и соответствующая область химической сенсорики образуют раздел аналитической химии. Если химический сенсор дает отклик электрохимической природы, в частности, амперометрический, то он является объектом электрохимического анализа. В биосенсорах (область биосенсорики) отклик создается за счет «работы» биоматериала в биоустройстве. В общем случае амперометрический (вольтамперометрический) сенсор с модифицирующим слоем – это «безреагентная система». Такое понятие часто встречается в литературе, особенно в ранний период развития исследований в этой области. При более строгом подходе «безреагентную систему» следует отнести к устройствам, в которых реагент (модификатор) непосредственно интегрирован в сенсор (биосенсор) и не вносится в раствор при проведении измерений. В этом и состоит одно из преимуществ сенсоров вообще.

Набор сенсоров (даже не селективных) с помощью компьютерных программ позволяет решать сложные аналитические задачи. В этом случае повышение селективности достигается за счет интеллектуализации технических средств (нейронные сети, «электронный язык», «электронный нос»). Развитие современной аналитической химии достигло такого уровня, когда стало возможным ставить и решать задачи по оценке обобщенных показателей качества среды, продуктов питания и других объектов, жизненно важных для человека.

Завершая знакомство с терминами и понятиями сенсорики (биосенсорики), приведем определение химического сенсора, опубликованное на странице главного редактора Журнала аналитической химии. «Химический сенсор – это устройство для обратимого и, как правило, непрерывного, в режиме реального времени

(или с небольшим временем отклика) определения концентрации вещества (обычно одного) в той среде, где оно находится, особенно без отбора проб, причем методика определения «защита» в это устройство и не меняется, пробоподготовка чаще всего не требуется; в идеале, но не всегда, устройство портативно и может тиражироваться в относительно больших масштабах».

Остановимся также на понятиях «наночастица», «нанокompозит», «нанотехнология», объединяемые термином «нанохимия», поскольку они имеют отношение к модифицированным электродам. Развитие исследований в этом направлении идет быстрыми темпами, однако соответствующие понятия и определения в науке еще не устоялись. Как и любая другая наука, нанохимия имеет свои цели, объекты и методы исследования. Под наночастицами мы подразумеваем объекты, размеры которых лежат в пределах от 1 до 100 нм, преимущественно 1–10 нм. С позиций химической термодинамики промежуточное положение наночастиц между макроскопическими образованиями (фазами) и атомами либо простыми молекулами обуславливает их специфику. Уменьшение размера модифицирующих частиц приводит к увеличению поверхности электрода и соответственно поверхностной энергии, что влияет на чувствительность и селективность определений.

Говоря о перспективах нанохимии в создании электродов и сенсоров, в том числе с самоорганизующимися наноструктурами на поверхности, включая микрочипы и т. п., следует обратить внимание на то, что термин «нано» как междисциплинарная область химии включает в себя и электроаналитическую химию (углеродные нанотрубки, фуллерены, другие наноматериалы для электродов, ультрадисперсные порошки, пирографит, стеклоуглерод и др.). Ультрамалые размеры некоторых электродов-сенсоров, например, ансамбль нанополос как полисенсор, тоже попадают в поле зрения нанохимиков. Это отражается на частоте появления журнальных публикаций, пока что в основном международных. Хотя применение наночастиц в электрохимическом анализе не всегда оправданно и зачастую искусственно, во многих случаях они позволяют повысить возможности конкретных методов.

Следует заметить, что среди терминов, имеющих отношение к этому направлению, встречаются не только термины, которые кажутся известными и понятными, но и те, которые могут трактоваться по-разному химиками, физиками, биологами, материаловедами и др. Это проблема имеет общий характер.

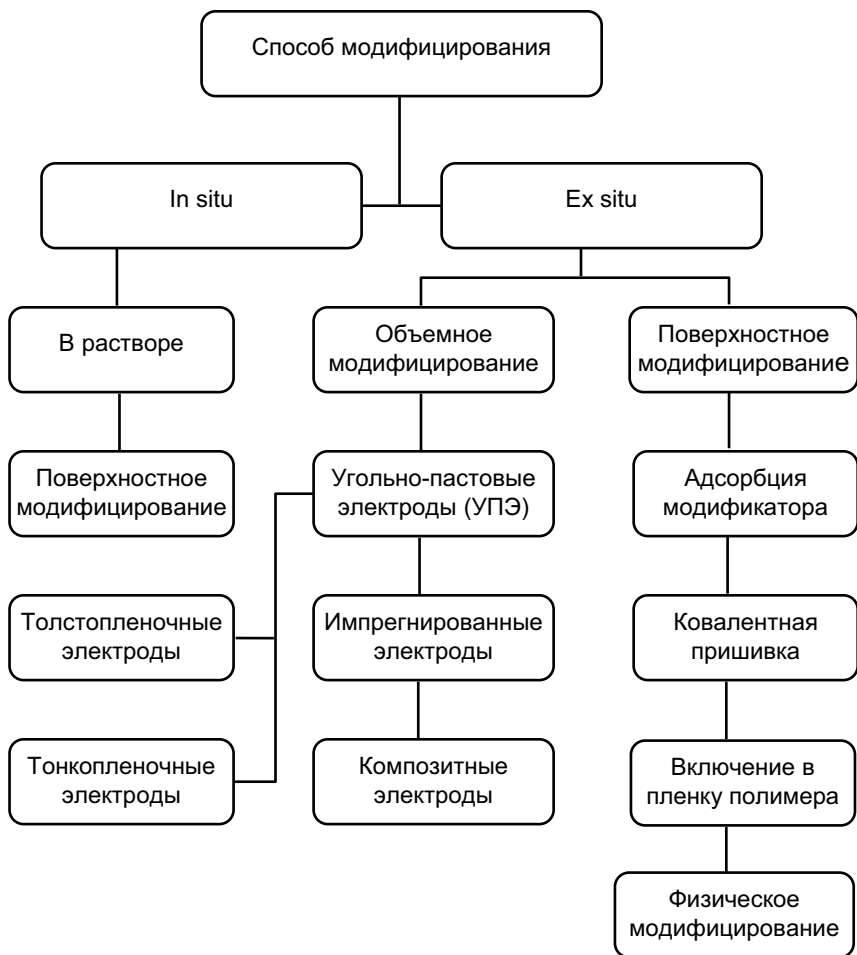
# Глава 1

## Методы модифицирования электродов

Сигнал-отклик сенсора в электрохимической системе формируется на границе раздела фаз электрод/раствор и зависит от состояния поверхности электрода, которая определяется природой материала, его однородностью, присутствием модифицирующих веществ и т. п. Поэтому от правильного выбора индикаторного электрода во многом зависит успех измерений, включая величину сигнала-отклика и возможность достижения заданных метрологических характеристик. В связи с этим материалу электродов, способам их химического и физического модифицирования, методам регенерации и расширения рабочей области потенциалов уделяется большое внимание. Требования, предъявляемые к электродам, весьма высокие; прежде всего они должны обеспечить протекание электрохимической реакции с высокой скоростью при малых перенапряжениях, быть инертными к воздействию среды и селективными по отношению к определяемым веществам. На рис. 1.1 представлены основные способы модифицирования электродов, реализованные на практике.

При модифицировании электродов *in situ* растворимый модификатор вводят в анализируемый раствор. Особенно широко этот способ применяется в инверсионной вольтамперометрии (ИВА). В качестве модификаторов используются металлы (ртуть, кадмий, медь, висмут и др.), облегчающие осаждение амальгамообразующих и электроположительных элементов, водорастворимые органические вещества: лиганды, биологически активные соединения, полимеры. Иногда используются сочетания модификаторов: металла и лиганда, полимера и металла, полимера и лиганда и др.

Другой путь модифицирования электродов *in situ* – введение в раствор органических молекул, способных к самоорганизации на поверхности электрода. Они образуют упорядоченные монослои, которые изменяют транспорт частиц деполяризатора к электроду не только за счет различий в зарядах и размерах, но и за счет гидрофобного эффекта. Так, например,  $\omega$ -карбоновые кислоты образуют на ртутной поверхности пленки Ленгмюра–Блодже, состоящие из плотноупакованных молекул, располагающихся ортогонально к поверхности электрода. Самоорганизация часто применяется при модифицировании золотых электродов. В этом случае модификаторами выступают длинноцепочечные гидрофобные мо-

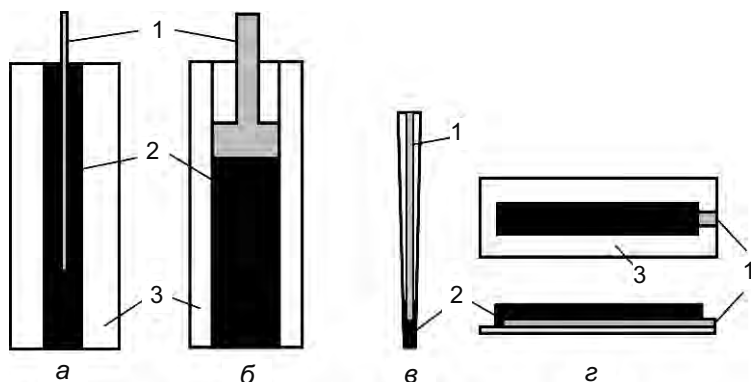


**Рис. 1.1.** Основные способы модифицирования электродов

лекулы с концевыми тиольными группами, образующими с электродом связь Au-S. Регулярность строения обеспечивается гидрофобными взаимодействиями углеводородных радикалов.

В большинстве случаев закрепление модификатора на поверхности электрода осуществляется путем адсорбции. Преимущество способов модифицирования *in situ* в том, что они не требуют пришивки молекул модификатора к электроду; достаточно очистить поверхность перед модифицированием от продуктов электрохимической реакции. Однако время жизни таких электродов относительно невелико, поскольку перед каждым измерением необходимо проводить модифицирование заново.

[ . . . ]



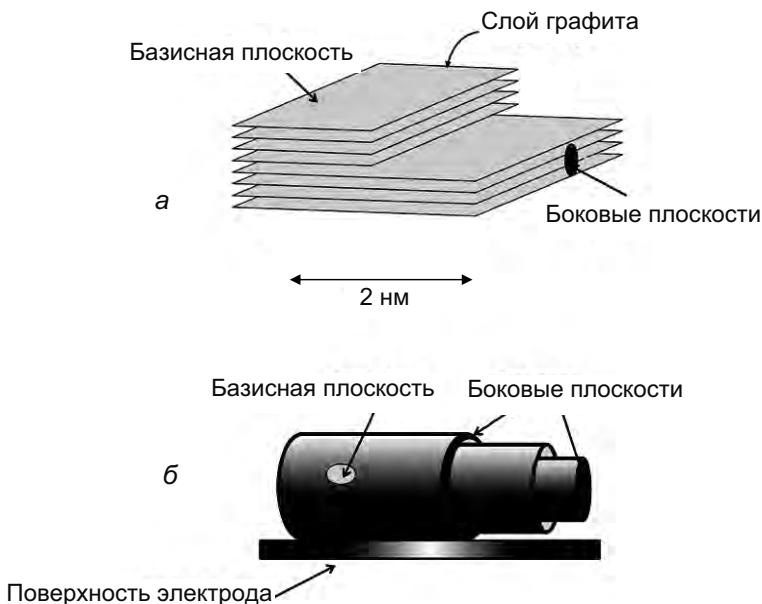
**Рис. 1.2.** Конструкции угольно-пастовых электродов

1 – токосъемник; 2 – угольная паста; 3 – изолирующая оболочка

химически устойчивы. Для достижения приемлемых показателей электропроводности наночастицы металлов обычно диспергируют в углеродную матрицу или наносят на поверхность электродов из графитовых материалов либо других металлов. В этом случае металлические порошки играют роль модификаторов основного электродного вещества.

Среди объемных углеродсодержащих электродов наибольшее распространение получили угольно-пастовые электроды (УПЭ). В простейшем случае УПЭ повторяет форму традиционного монолитного электрода – металлического или графитового стержня. Это цилиндр из угольной пасты, заключенный в полую оболочку изолирующего материала – стеклянную или пластиковую трубку (рис. 1.2, а). Она играет роль резервуара пасты и определяет геометрические размеры электрода – площадь торца цилиндра. Для таких электродов характерно достаточно большое отношение объема углеродной пасты к площади рабочей поверхности электрода. Реально в переносе заряда участвует лишь незначительная часть электродного вещества, контактирующая с анализируемым раствором. Подобная конструкция электродов имеет как свои достоинства, так и недостатки. К первым относится относительная простота изготовления. Смешение достаточно больших (до нескольких граммов) количеств компонентов позволяет добиться однородности пасты даже при ручном смешивании, при этом для регенерации активной поверхности электрода достаточно удалить тонкий поверхностный слой, например шлифуя поверхность УПЭ на шкурке или бумаге. Большой объем электрода позволяет повторять эту процедуру десятки раз, получая стабильный и воспроизводимый отклик. Механическое обновление поверхности можно проводить срезанием тонкого слоя пасты, выступающего из изолирующей трубки, острым ножом. Такой способ часто используется для элект-

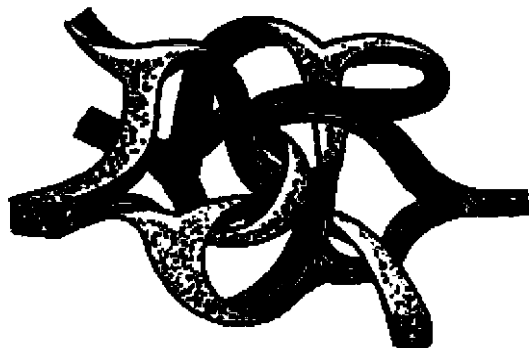
[ . . . ]



**Рис. 1.6.** Структуры графита (а) и углеродных нанотрубок (б)

Обычно углеродные материалы содержат хиноидные, карбоксильные и фенольные группы, образующиеся в результате неполного окисления поверхностных ароматических фрагментов. Обработка олеумом позволяет получать сульфированные углеродные материалы с поверхностными сульфогруппами.

*Кристаллический графит* – природный материал, представляющий собой жирное на ощупь вещество черного или темно-серого цвета. Структура кристаллического графита состоит из гексагональных полиароматических слоев, уложенных параллельно с промежутками между слоями  $3,35 \text{ \AA}$  (*базисные плоскости*). Это расстояние превышает длину углерод-углеродных связей, что позволяет полиароматическим слоям относительно легко смещаться относительно друг друга. Дефекты поверхности проявляются в виде ступеней (рис. 1.6, а), обнажающих края графитовых слоев, которые называются *боковыми* (краевыми) *плоскостями*. Базисные и боковые плоскости имеют различные электрохимические свойства. Кинетика электродных процессов на боковых плоскостях графитовых электродов более быстрая по сравнению с электродными процессами на базисных плоскостях. Заметим, что инертный при нормальных условиях кристаллический графит окисляется кислородом воздуха при температуре выше  $400 \text{ }^\circ\text{C}$ , а при  $700 \text{ }^\circ\text{C}$  он сгорает в присутствии  $\text{O}_2$ .

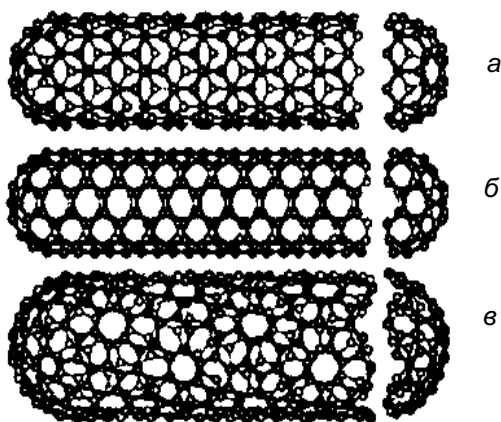


**Рис. 1.7.** Структура стеклоуглерода

*Искусственный графит* получают нагреванием смеси кокса или каменного угля с пеком, иногда в присутствии элементов, образующих карбиды, с последующим медленным охлаждением полученной массы либо при термическом разложении образующихся карбидов. В кристаллической решетке этого типа графита встречаются вздутия, искривления углеродных слоев и дефекты строения, микрополости диаметром до 3 мкм и краевые дислокационные петли размером 0,1–1 мкм. Объем пор может достигать 80–85 % от объема всего материала. Для электродов на основе искусственного графита характерны большие токи заряжения и диффузия раствора электролита в поры. Для уменьшения проникновения электролита в поры графитовых электродов их импрегнируют воском или инертными полимерами (полиэтилен низкого давления, полиэтиленгликоль), глинами, крахмалом и др.

*Стеклоуглерод* получают карбонизацией терморезактивных полимеров в вакууме или инертной атмосфере. Он имеет структуру, представляющую собой тесное переплетение углеродных лент (рис. 1.7), что определяет его большую твердость, изотропность свойств, малую пористость и непроницаемость для жидкостей и газов. По коррозионной стойкости стеклоуглерод не уступает платине, но в отличие от нее имеет гидрофобные свойства, что обуславливает особенности некоторых электрохимических процессов, например выделения водорода. Область рабочих потенциалов стеклоуглеродных электродов достаточно широка и близка к области платинового электрода. Для стеклоуглерода характерны низкие адсорбционная активность и ток заряжения, он медленно окисляется, устойчив в присутствии веществ, отравляющих металлические электроды. Недостаток стеклоуглерода – его хрупкость. В электрохимии и электрохимическом анализе обычно применяют пластины и стержни из стеклоуглерода. Они же применяются в качестве токосъемников модифицированных электродов.

[ . . . ]



**Рис. 1.8.** Схематическое изображение одностенных углеродных нанотрубок с конформациями зигзаг (а), кресло (б) и спираль (в)

крытыми. В последнем случае на концах трубок находятся фуллереноподобные «крышки». Нанотрубки получают путем осаждения частиц графита на специальных поликристаллических материалах, выполняющих функции шаблона и задающих структуру нанотрубок. Для этого используют коронарный разряд в высоком вакууме, а источником углерода могут выступать как органические соединения, так и, например, оксид углерода. Углеродные нанотрубки могут состоять из одного слоя или нескольких слоев, вложенных друг в друга. Соответственно их называют одно- и многостенными трубками. Одностенные трубки имеют диаметр от 0,4 до 2,5 нм; наиболее устойчивому энергетическому состоянию отвечает диаметр 1,4 нм. Длина трубок составляет от нескольких микрометров до десятых долей миллиметра. Одностенные трубки отличаются по взаимному расположению гексагонов углерода – скрученности. В соответствии с этим параметром выделяют три наиболее устойчивые конформации – зигзаг, кресло и спираль (рис. 1.8).

Многостенные нанотрубки разнообразнее по строению и линейным размерам. Часто они имеют дефекты поверхностных слоев, образующих боковые и базисные плоскости, аналогично графиту. Многостенные трубки отличаются также взаимным расположением слоев. Различают нанотрубки с полостями, «елочным» и «бамбуковым» расположением отдельных слоев (рис. 1.9). Расстояние между слоями в многостенных трубках составляет 3,4 Å, что несколько больше, чем в традиционном графите. «Елочную» структуру (в англоязычной литературе – «селечный скелет») можно рассматривать как частный случай расположения внутренних слоев графита с произвольным углом  $0^\circ < \varphi < 180^\circ$  между отдельными слоями; если  $\varphi = 0^\circ$ , нанотрубка состоит из параллельных концент-



**Будников Герман Константинович**, доктор химических наук, профессор Казанского государственного университета, член-корр. РАН, академик Международной академии наук высшей школы.

Научные интересы: электроаналитическая химия, химически модифицированные электроды, биосенсоры, история аналитической химии и методология ее преподавания.

Автор более 900 научных публикаций и 20 книг.



**Евтюгин Геннадий Артурович**, доктор химических наук, заведующий кафедрой аналитической химии Казанского государственного университета.

Научные интересы: электроаналитическая химия, химически модифицированные электроды, биохимические методы анализа.

Автор более 200 научных публикаций, 5 патентов на изобретения.



**Майстренко Валерий Николаевич**, доктор химических наук, профессор, член-корр. АН Республики Башкортостан, директор Научно-исследовательского института безопасности жизнедеятельности, заведующий кафедрой неорганической химии Башкирского государственного университета.

Научные интересы: электроаналитическая химия, химически модифицированные электроды, аналитическая химия стойких органических загрязнителей.

Автор более 300 научных публикаций и 7 книг.