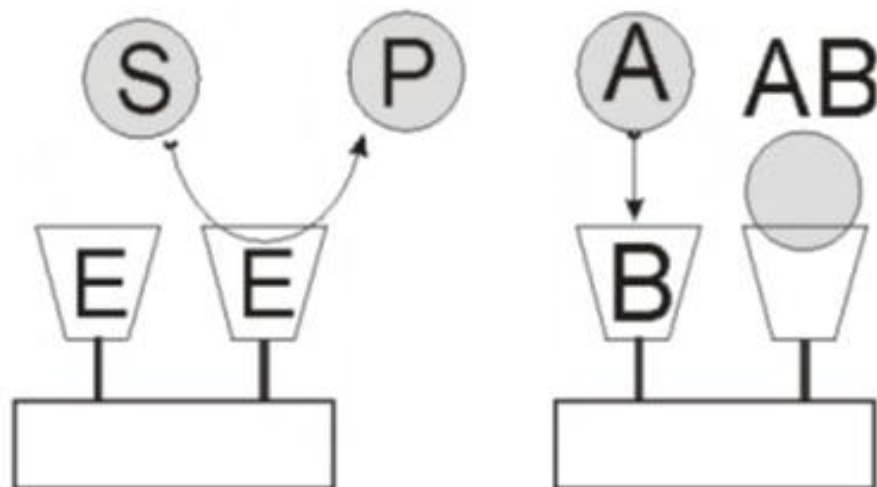


ИТМО

Ю.Э. Бурункова, Е.О. Самуйлова

СЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ И МАТЕРИАЛЫ



Санкт-Петербург
2023

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

Ю.Э. Бурункова, Е.О. Самуйлова

СЕНСОРНЫЕ СИСТЕМЫ И МАТЕРИАЛЫ

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

РЕКОМЕНДОВАНО К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ В УНИВЕРСИТЕТЕ ИТМО
по направлению подготовки 18.04.02 Энерго- и ресурсосберегающие
процессы в химической технологии, нефтехимии и биотехнологии,
12.04.04 Биотехнические системы и технологии в качестве Учебно-
методического пособия для реализации основных профессиональных
образовательных программ высшего образования магистратуры

ИТМО

Санкт-Петербург
2023

Бурункова Ю.Э., Самуйлова Е.О. Сенсорные системы и материалы– СПб: Университет ИТМО, 2023. – 117 с.

Рецензент(ы):

Олехнович Роман Олегович, кандидат технических наук, доцент факультета систем управления и робототехники, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО»

В учебном пособии рассматриваются основные типы физических и химических сенсоров, подробно исследуются материалы и технологические аспекты для конструирования биосенсоров, кратко изложены перспективы создания наносенсоров. Учебное пособие предназначено для магистров обучающихся по направлению подготовки 18.04.02 "Энерго- и ресурсосберегающие процессы в химической технологии, нефтехимии и биотехнологии", 12.04.04 «Биотехнические системы и технологии».

The logo of ITMO University, consisting of the letters 'ITMO' in a bold, sans-serif font. The letter 'I' is stylized with a vertical line extending upwards from its top.

Университет ИТМО – ведущий вуз России в области информационных и фотонных технологий, один из немногих российских вузов, получивших в 2009 году статус национального исследовательского университета. С 2013 года Университет ИТМО – участник программы повышения конкурентоспособности российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров, известной как проект «5 в 100». Цель Университета ИТМО – становление исследовательского университета мирового уровня, предпринимательского по типу, ориентированного на интернационализацию всех направлений деятельности.

© Университет ИТМО, 2023

© Бурункова Ю.Э., Самуйлова Е.О., 2023

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	5
Часть 1. Датчики.....	5
1.1. Классификации датчиков	6
1.2. Характеристики датчиков	7
Часть 2. Химические сенсоры.....	10
2.1. Характеристики химических сенсоров	11
2.2. Классификации химических сенсоров.....	12
2.3. Электрохимические сенсоры	13
2.4. Оптические химические сенсоры	19
2.5. Интегрально-оптические сенсоры.....	21
2.6. Электрические сенсоры (ЭС).....	23
2.7. Химические сенсоры на принципах пьезоэффекта	23
Часть 3. Биосенсоры.....	24
3.1. Характеристика биосенсоров.....	25
3.2. Биосенсоры на основе ферментов	26
3.2.1. Аффинные биосенсоры.....	27
3.2.2. Антитела как тест-объекты биосенсоров.....	28
3.2.3. Рецепторы как тест-объекты биосенсоров	29
3.2.4. Нуклеиновые кислоты в биосенсорах.....	30
3.2.5. Живые организмы, ткани, клетки или клеточные компоненты в биосенсорном устройстве.....	31
3.3. Клеточные биосенсоры.....	32
3.3.1. Методы иммобилизации тест-объектов для биосенсоров	34
3.3.2. Биочипы.....	36
3.3. Оптические биосенсоры	38
Часть 4. Нанотехнологии и наноматериалы для сенсорики	40
4.1. «Нольмерные» материалов для сенсоров	41
4.2. Одномерные материалы наносенсоров.....	44

4.3. Сенсорные нанопленки.....	46
4.4. Сенсоры на основе графена.....	47
4.5. Перспективы развития наносенсоров в виде одноразовых электродов	54
4.6. Современные технологии датчиков глюкозы	65
4.6.1. Неинвазивные датчики глюкозы	71
4.6.2. Трансдермальные датчики	77
4.6.3. Инвазивные датчики глюкозы	79
4.7. Датчики для обнаружения ртути в воде.....	82
Заключение	86
Список использованных источников	86
Примеры тестов для проверки освоения материала пособия.....	91
МАСТЕР-КЛАСС.....	107

ВВЕДЕНИЕ

Учебное пособие предназначено для магистрантов, обучающихся по направлениям подготовки 18.04.02 «Энерго- и ресурсосберегающие процессы в химической технологии, нефтехимии и биотехнологии» и 12.04.04 «Биотехнические системы и технологии» и изучающих дисциплины «Сенсорные системы» и «Сенсорные материалы и их применение». Данное пособие будет полезно для применения в учебном процессе при подготовке студентов к выполнению как практических работ по вышеуказанным дисциплинам, так и при их самостоятельной работе. Данное пособие также будет полезно всем обучающимся, выполняющим работы в области сенсорных материалов и систем, а также при написании квалификационных работ.

В пособии рассматриваются основные типы физических и химических сенсоров, подробно исследуются материалы и технологические аспекты для конструирования биосенсоров, кратко изложены перспективы создания наносенсоров. Более подробно данные вопросы студенты могут изучить, используя литературу [1, 2, 3, 28, 29, 30], изложенную в списке использованных источников. В конце пособия помещены тесты для контроля усвоенного материала.

ЧАСТЬ 1. ДАТЧИКИ

В результате взаимной интеграции физики, химии, биологии, информатики, электроники, оптики и других дисциплин возникла наука о датчиках - сенсорика. Датчик – это устройство, воспринимающее сигналы и внешние воздействия и реагирующее на них. Естественными сенсорами снабжен любой живой организм, и принцип их действия основывается на передаче сигналов в нервных тканях в виде электрохимических импульсов. В искусственных сенсорах в передаче сигналов в подавляющем большинстве случаев участвуют электроны. Поэтому определение датчика звучит так: датчик – первичный преобразователь, элемент измерительного, сигнального, регулирующего или управляющего устройства системы, преобразующий контролируемую величину (давление, температуру, частоту, скорость, перемещение, напряжение, электрический ток и т. п.) в сигнал, удобный для измерения, передачи, преобразования, хранения и регистрации, а также для воздействия им на управляемые процессы [1]. Все сенсоры можно разделить на две большие группы – физические и химические сенсоры. Это физические сенсоры (датчики) – принцип их действия основан на способности реагировать на такие параметры, как температура, давление, магнитное поле и др. силы, не

являющиеся предметом исследования химии. Химические сенсоры (ХС) – устройства, реагирующие на конкретные, специфические химические реакции.

Любой сенсор (датчик) состоит из двух частей (рисунок 1) – чувствительного элемента (детектора) и преобразователя (трансдюсора).

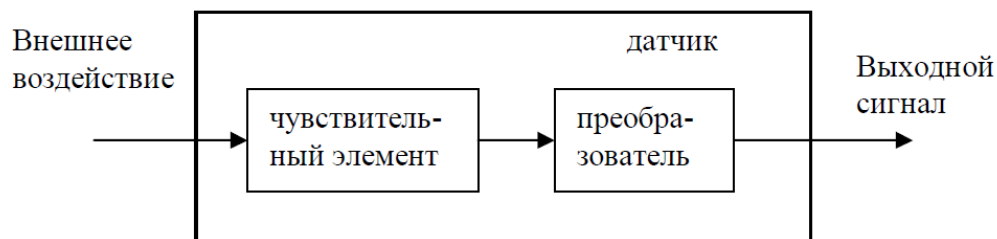


Рисунок 1 – Составные элементы датчика

Каждый датчик характеризуется набором входных параметров любой физической природы и набором выходных электрических параметров. Вне зависимости от типа измеряемого сигнала всегда происходит передача энергии от исследуемого объекта к датчику. Передача энергии может быть как положительной, так и отрицательной, поскольку энергия может передаваться от объекта к датчику, и, наоборот, от датчика к объекту. Бывает ситуация, при которой передача энергии не наблюдается, но и в этом случае происходит передача информации о существовании именно такой особой ситуации [1].

1.1. Классификации датчиков

Системы классификации датчиков могут быть очень разными в зависимости от цели проведения классификации.

Все датчики можно разделить на датчики прямого действия и составные датчики. Датчиками прямого действия называют датчики, которые построены на физических явлениях, позволяющих проводить непосредственное преобразование энергии внешнего воздействия в электрические сигналы, в то время как в составных датчиках, прежде чем получить электрический сигнал на выходе, необходимо осуществить несколько преобразований энергии.

Датчики, как правило, входят в состав измерительных и других систем, поэтому датчики могут быть как наружными, так и встроенными.

По принципу действия датчики разделяют на генераторные (пассивные) и параметрические (активные, или датчики-модуляторы). Пассивный датчик не нуждается в дополнительном источнике энергии, и в ответ на изменение воздействия на его выходе всегда появляется электрический сигнал. Такой датчик преобразует энергию внешнего сигнала в выходной сигнал.

Большинство пассивных датчиков являются устройствами прямого действия. Примерами пассивных датчиков являются термопары, фотодиоды и пьезоэлектрические чувствительные элементы. Активный датчик для своей работы требует внешней энергии, называемой сигналом возбуждения. Примерами активных датчиков являются термисторы (температурно-чувствительные резисторы), резистивный тензодатчик (электрическое сопротивление зависит от величины его деформации).

В зависимости от выбора точки отсчета датчики можно разделить на абсолютные и относительные. Абсолютный датчик определяет внешний сигнал в абсолютных физических единицах, не зависящих от условий проведения измерений, тогда как выходной сигнал относительного датчика в каждом конкретном случае может трактоваться по-разному. Термопара является относительным устройством, поскольку напряжение на его выходе является функцией градиента температуры на проволочках термопары, и определить конкретную температуру по выходному сигналу термопары можно только относительно известной базовой точки отсчета. Термистор - абсолютный датчик, так как его электрическое сопротивление напрямую зависит от абсолютной температуры по шкале Кельвина.

По виду измеряемой величины различают датчики давления, расхода, уровня, температуры, концентрации, перемещения, положения, оптические, вибрации и т. д.

По способу преобразования (физическому эффекту) выделяют несколько групп датчиков – резистивные, емкостные, электромагнитные, пьезоэлектрические, термоэлектрические, оптоэлектрические и т. п.

По виду выходной величины, в которую преобразуется входная величина, различают неэлектрические и электрические датчики.

1.2. Характеристики датчиков

Характеристики датчиков подразделяют на статистические и динамические.

Статические характеристики

Динамический диапазон внешних воздействий, который датчик может воспринять, называется *диапазоном измеряемых значений*. Эта величина показывает максимально возможное значение входного сигнала, которое датчик может преобразовать в электрический сигнал, не выходя за пределы допустимых погрешностей.

Разрешающая способность характеризует минимальное изменение измеряемой величины, которое может почувствовать датчик.

Мертвая зона – это нечувствительность датчика в определенном диапазоне входных сигналов. В пределах этой зоны выходной сигнал остается постоянным (часто равным нулю).

Воспроизводимость – это способность датчика при соблюдении одинаковых условий выдавать идентичные результаты. Причинами плохой воспроизводимости результатов часто являются тепловой шум, поверхностные заряды, пластичность материалов и т. д.

Для каждого датчика можно вывести соотношение, связывающее сигналы на его входе и выходе и называемое *передаточной функцией*. Передаточная функция может быть выражена в виде таблицы, графика, математического выражения. Передаточная функция может быть как линейной, так и нелинейной (логарифмической, экспоненциальной, степенной). Во многих случаях передаточная функция является одномерной (т. е. связывает выходной сигнал только с одним внешним воздействием). В случаях, когда на выходной сигнал датчика оказывают влияние несколько внешних воздействий, его передаточная функция становится многомерной.

Диапазон выходных значений - алгебраическая разность между электрическими выходными сигналами, измеренными при максимальном и минимальном внешнем воздействии. В эту величину должны входить все возможные отклонения от идеальной передаточной функции.

Точность - характеристика любого датчика, подразумевающая неточность или погрешность измерений. Под погрешностью измерений, как правило, понимают величину максимального расхождения между показаниями реального и идеального датчиков.

Динамические характеристики

Для любого датчика есть параметры, зависящие от времени и называемые *динамическими характеристиками*.

Выходной сигнал датчика не всегда достаточно точно отслеживает изменение внешнего сигнала. Причинами могут быть как особенности датчика, так и особенности его соединения с источником внешних воздействий, что не позволяет сигналам распространяться с бесконечно большой скоростью. Если датчик имеет ограниченное быстродействие, то он регистрирует значения внешних воздействий, отличающиеся от реальных, то есть датчик работает с динамической погрешностью. Датчики, обладающие определенными динамическими характеристиками, вносят дополнительные динамические погрешности, что приводит к искажению реального значения внешнего воздействия.

Частотные характеристики показывают насколько быстро датчик может среагировать на изменение внешнего воздействия. Частотные характеристики напрямую связаны с быстродействием датчика, выражаемого в единицах внешнего воздействия на единицу времени. Другой способ описания быстродействия заключается в определении времени, требуемого для достижения выходным сигналом датчика уровня 90% от стационарного или максимального значения при подаче на его вход ступенчатого внешнего воздействия [1].

Условия хранения - совокупность предельных значений факторов окружающей среды, воздействующих на датчик в течение определенного промежутка времени, при которых не происходит существенного изменения его рабочих характеристик и обеспечивается поддержание его работоспособности. Обычно для обеспечения успешной работы датчиков определяют условия: максимальную и минимальную температуры хранения, максимальную относительную влажность, отсутствие конденсата и др. Могут быть указаны другие параметры: максимальное давление, присутствие или отсутствие определенных газов и т. д.

Краткосрочная стабильность описывает изменения рабочих характеристик датчика в течение минут, часов и даже дней.

Долгосрочная стабильность зависит от процессов старения, которые изменяют свойства материалов датчика (электрические, механические, химические, термические...). Долгосрочный дрейф параметров может измеряться достаточно длительными интервалами времени (месяцами и годами) и является важной характеристикой для датчиков прецизионных измерений. Скорость старения определяется условиями хранения и эксплуатации, материалами, которые использовались для изготовления [1].

Надежность - это способность датчика выполнять требуемые функции при соблюдении определенных условий в течение заданного промежутка времени. На практике для определения надежности датчики подвергают квалификационным испытаниям в наихудших условиях [1].

Статистическая ошибка. Статистическая ошибка — это то, насколько можем поверить полученным результатам. Случается, что несмотря на достигнутую малую величину погрешности, статистическая ошибка может быть очень высокой, то есть в таком случае результаты измерений не могут считаться достоверными.

Международный комитет по мерам и весам считает, что статистические ошибки можно разделить на две группы А и Б [1]:

Группа А: погрешности, оцениваемые статистическими методами.

Группа Б: погрешности, оцениваемые другими методами.

Для определения статистической ошибки типа Б обычно используют всю доступную информацию, включающую:

- все данные, полученные в предыдущих измерениях,
- знания, полученные из анализа характеристик и поведения аналогичных датчиков, использования подобных материалов и инструментов,
- спецификации, выданные производителем,
- данные, полученные в процессе калибровки,
- статистические данные, полученные из справочников и другой литературы.

После получения оценок всех статистических погрешностей их необходимо объединить и определить полную стандартную статистическую ошибку. Это можно сделать при помощи закона распределения статистических погрешностей, который заключается в нахождении квадратного корня из суммы квадратов всех компонентов статистических ошибок:

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + \dots + u_i^2 + \dots + u_n^2} \quad (1)$$

где n - число компонентов полной стандартной статистической ошибки [1].

Физические сенсоры, такие как датчики присутствия, детекторы положения, перемещения и уровня, датчики деформации, силы и давления, оптические датчики и др., в данном пособии не рассматриваются. Читатель может обратиться к работам [1, 3].

ЧАСТЬ 2. ХИМИЧЕСКИЕ СЕНСОРЫ

Химические сенсоры представляют собой датчики, в которых два типа преобразователей (химический и физический) находятся в непосредственном контакте. На рисунке 2 показана схема работы химического сенсора. Химический преобразователь состоит из слоя чувствительного материала, который формирует селективный отклик на определяемый компонент - отражает присутствие определяемого компонента и изменение его содержания (маркировка - «Р»). Химически чувствительный слой – это распознающий элемент, который представляет собой вещество, которое способно селективно взаимодействовать с аналитом. Физический преобразователь (транзьюсер) преобразует энергию, которая возникает в ходе реакции селективного слоя с определяемым компонентом в результате химического или биологического

взаимодействия в электрический или световой сигнал (маркировка - «П»). Этот сигнал затем измеряется с помощью электронного и/или светочувствительного устройства (маркировка - «Э») [31].

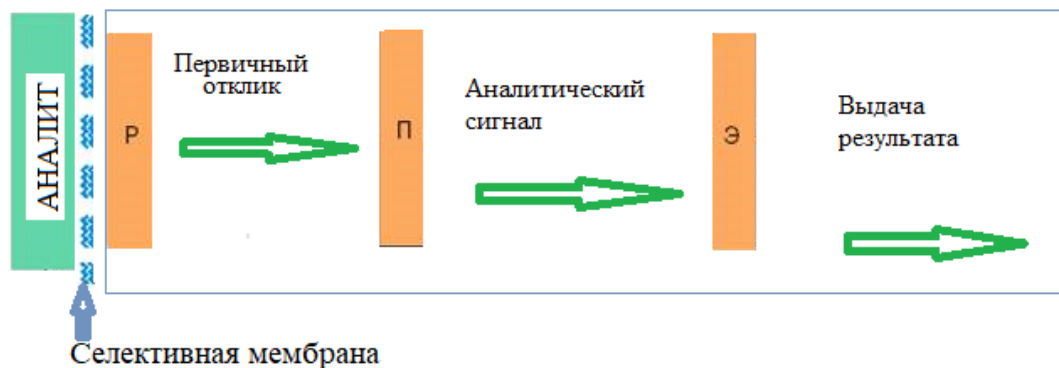


Рисунок 2 – Схема работы химического сенсора: Р – химически чувствительный слой, П – преобразователь сигнала, Э – электронный блок. Аналит - анализируемая среда. Селективная мембрана для разделения компонентов по определенным параметрам

Электронный блок – система сбора и обработки данных служит для усиления и анализа сигнала и отображения результатов. Для повышения избирательности на входном устройстве перед химически чувствительным слоем могут размещаться селективные мембраны, которые селективно пропускают анализируемые объекты. Определяемое вещество диффундирует через такую полупроницаемую мембрану к рецепторному слою, в котором формируется аналитический сигнал на компонент.

Химические сенсоры могут работать как на основе анализа параметров и процессов химических реакций, так и основываясь на физических принципах. В первом случае аналитический сигнал обусловлен химическим взаимодействием определяемого компонента с чувствительным слоем, который выполняет функцию преобразователя. Во втором случае измеряется физический параметр (коэффициент поглощения или отражения света, масса, проводимость и др.).

2.1. Характеристики химических сенсоров

Обязательными являются параметры, связанные с условиями эксплуатации, так как каждый сенсор работает в допустимом диапазоне температур, давлений, концентраций рН и др.

Важны характеристики *точность и воспроизводимость*.

Рабочий диапазон - диапазон концентраций, в котором работает метод измерения.

Линейный диапазон - для установления строится калибровочная кривая – зависимость величины сигнала от концентрации аналита, ее линейный участок называется линейным диапазоном [32].

Чувствительность химического сенсора показывает отношение сигнала к концентрации аналита, которая вызвала этот сигнал.

Предел обнаружения – минимальная концентрации аналита (или минимального количества вещества), которая может быть детектирована и измерена.

Селективность - способность детектировать конкретный аналит и не реагировать на посторонние вещества [32].

К динамическим характеристикам химических сенсоров относятся: время отклика, время жизни и время регенерации.

Время отклика необходимо для возникновения равновесия между анализируемым образцом и рецепторным слоем.

Время жизни – это срок воспроизводимой работы сенсора, он ограничен деградацией рецепторного слоя.

Время регенерации — это время, которое требуется для восстановления работоспособности распознающего элемента. [32].

2.2. Классификации химических сенсоров

В зависимости от характера отклика первичного сигнала, возникающего в чувствительном слое химических сенсоров, их можно разделить на:

- электрохимические (потенциометрические, кулонометрические, амперометрические, кондуктометрические);
- электрические (полупроводниковые на основе оксидов металлов и др.);
- магнитные (датчики Холла, магниторезистивные полупроводниковые элементы и др.);
- термометрические;
- оптические (люминесцентные, спектрофотометрические и др.);
- и др. (рисунок 3)



Рисунок 3 – Классификация химических сенсоров

Частным видом химических сенсоров считаются биосенсоры [18].

2.3 Электрохимические сенсоры

К электрохимическим сенсорам относят потенциометрические, кулонометрические, амперометрические, кондуктометрические сенсоры.

В основу работы электрохимических сенсоров положены превращения определяемого компонента в миниатюрной электрохимической ячейке, которая генерирует аналитический сигнал. В электрохимических сенсорах (ЭХС) определяемый компонент реагирует с чувствительным слоем непосредственно на электроде или в объеме слоя раствора около электрода [18].

Селективность сенсора определяется природой материала электрода, точнее, его поверхности, а, следовательно, и величиной потенциала, при котором происходят электрохимические реакции с участием анализируемого компонента.

Недостатками этих сенсоров является [18]:

- не все вещества электрохимически активны к доступной области потенциалов;
- многие вещества реагируют на электродах при крайне отрицательных или положительных потенциалах, при этом аналитический сигнал может быть искажен или плохо воспроизводим.

Для уменьшения влияния этих факторов и повышения селективности отклика поверхность ХС модифицируют с помощью специальных соединений, которые осуществляют перенос электронов между электродом и определяемым компонентом при меньших потенциалах. Операция закрепления модификатора–переносчика на поверхности химического сенсора называется иммобилизацией. В ходе иммобилизации с помощью специальных реагентов модификатор либо вводят в пленку электропроводящего полимера, либо с помощью химических связей «пришивают» к собственно электроду-трансдьюсеру, либо удерживают на его поверхности за счет сил адсорбции. В результате модификатор перестает быть подвижным, так как он не должен вымываться анализируемым раствором, а должен работать в потоке жидкости. Модификация электродов сенсоров удлиняет срок их службы [18].

Потенциометрические сенсоры.

Потенциометрические сенсоры на ионоселективных электродах дают селективный отклик на присутствие определяемых ионов или молекул веществ в растворах. Аналитическим сигналом в них является потенциал, который образуется на поверхности твердого материала, помещенного в раствор, содержащий ионы, которые могут обмениваться с поверхностью. Величина потенциала связана с количеством ионов в растворе. Измерить поверхностный потенциал непосредственно невозможно, однако его можно измерить, используя соответствующую электрохимическую ячейку. В этом и заключается суть потенциометрического метода.[18].

Существуют различные виды ионоселективных электродов. Их классификация основана на различии селективных химических реакций, приводящих к образованию межфазного потенциала. Специфическое распознавание потенциометрическим химическим сенсором достигается благодаря химической реакции на поверхности сенсора. Таким образом, поверхность электрода должна содержать реагент, который химически и обратимо взаимодействует с аналитом. Это достигается благодаря использованию ионоселективных мембран, которые представляют собой поверхность сенсора. В потенциометрических сенсорах используются четыре типа мембран:

- Стекланные мембраны.
- Мембраны из плохо растворимых неорганических солей и их смесей или монокристаллические органические соли.
- Полимерные мембраны с иммобилизованным ионофором - ионоселективные комплексообразующие соединения или ионообменники иммобилизованы в полимерной матрице.

– Мембраны с иммобилизованными в геле или химически связанными с гелем ферментами - биосенсоры [18].

Ионоселективные полевые транзисторы

Благодаря достижениям в области микроэлектроники были разработаны ионоселективные полевые транзисторы (ИСПТ). Полевой (униполярный) транзистор — полупроводниковый прибор, принцип действия которого основан на управлении электрическим сопротивлением токопроводящего канала поперечным электрическим полем, создаваемым приложенным к затвору напряжением. Область, из которой носители заряда уходят в канал, называется истоком, область, в которую они уходят из канала, называется стоком, электрод, на который подается управляющее напряжение, называется затвором.

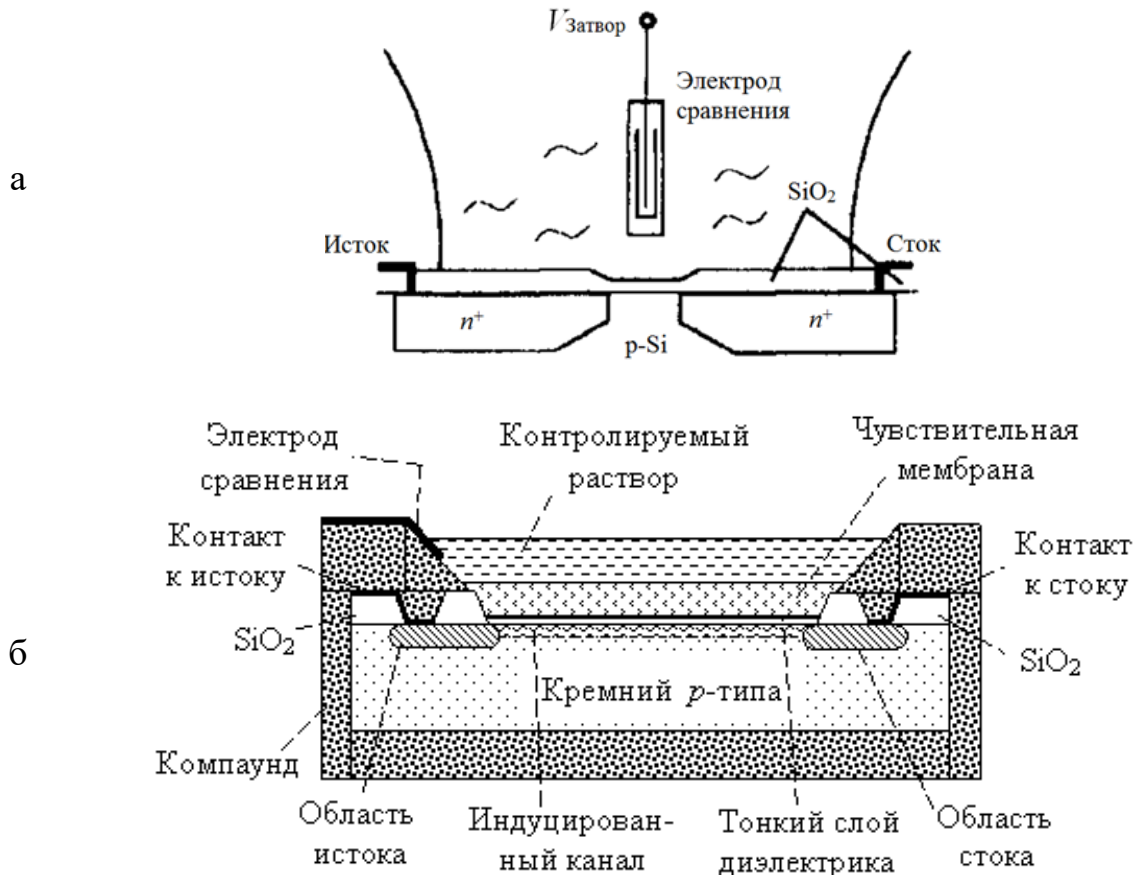


Рисунок 4 – Ионоселективный полевой транзистор.
а – Схема принципа работы ИСПТ; б – Строение ИСПТ

Ионоселективные полевые транзисторы представляют собой видоизмененный полевой транзистор с изолированным затвором. Ионоселективный полевой транзистор есть не что иное, как классический полевой транзистор с затвором в форме электрода сравнения, который отделен от самой структуры и соединяется с затворной областью через водный раствор (рисунок 4). Принцип действия ионоселективного полевого транзистора (ИСПТ) – заменить затвор полевого транзистора ионочувствительной мембраной так, чтобы силой тока управляла концентрация (активность) потенциал определяющих ионов в растворе. С помощью мембран, потенциал которых зависит от концентрации ионов в растворе, ИСПТ приобретают химическую селективность [8, 33].

Основная часть ионоселективного полевого транзистора – это полупроводник с дырочной проводимостью (*p*-типа), в котором есть две области с электронной проводимостью – исток и сток, которые представляют собой полупроводники *n*-типа. Над каналом между ними расположен управляющий электрод-затвор, отделенный от подложки слоем подзатворного диэлектрика. На поверхность полупроводника наносится металлооксидный изолятор, на который затем наносят ионоселективную мембрану.

Сила тока, проходящего между истоком и стоком, определяется входным напряжением.

Исследуемый раствор контактирует с ионоселективной мембраной, что приводит к возникновению на поверхности мембраны потенциала, который контролирует силу тока между стоком и истоком. Сила тока, в свою очередь, зависит от мембранного потенциала, который зависит от активности определяемых ионов в исследуемом растворе.

Такие устройства используются для определения разнообразных веществ, они миниатюрны и чувствительны к таким газам, как водород, аммиак, метан, сероводород с пределом обнаружения до $10^{-4} - 10^{-5} \%$.

Вольтамперометрические сенсоры.

Метод вольтамперометрии заключается в измерении силы тока в электрохимической ячейке как функции приложенного потенциала. Многие вещества окисляются или восстанавливаются при определенном потенциале, который характерен именно для данного вещества. Если потенциал зафиксирован на величине, соответствующей окислению или восстановлению определяемого вещества, то сила тока прямо связана с его концентрацией. На этом принципе основано действие амперометрических электрохимических сенсоров.

Примером может быть современный аналоговый высокопроизводительный кислородный амперометрический датчик для измерения концентрации растворенного в воде кислорода. В данном датчике есть золотой или платиновый катод, отделенный от серебряного анода пластиковой оболочкой. Газопроницаемая мембрана, которая располагается на внешней стороне нижней поверхности электрода, пропускает внутрь молекулы небольшого размера.

Селективность амперометрических химических сенсоров определяется главным образом природой материала поверхности электрода, а, следовательно, и величиной потенциала, при котором происходят электрохимические реакции с участием анализируемого компонента. Чувствительность амперометрических электрохимических сенсоров, как правило, выше потенциометрических.

Кондуктометрические сенсоры.

Кондуктометрические методы анализа основаны на измерении удельной электропроводности исследуемых растворов. Кондуктометрическое обнаружение является предпочтительным, поскольку его можно применять для обнаружения как электроактивных, так и электронеактивных веществ. Электричество переносится через растворы электролитов находящимися в растворе ионами, несущими положительные и отрицательные заряды. Для предотвращения электролиза при измерении электропроводности растворов используют переменный ток.

Электропроводность зависит от многих факторов и, в частности, от природы вещества, растворителя и концентрации. Измеряя электропроводность, можно определить содержание различных веществ и их соединений в исследуемых растворах. Электропроводность растворов определяется с помощью кондуктометров различных конструкций, измеряя электрическое сопротивление слоя жидкости, находящейся между двумя электродами, опущенными в исследуемый раствор. Возможно непрерывно измерять удельную электрическую проводимость электропроводящих растворов бесконтактным индуктивным способом. Кроме того, можно наблюдать за изменением электропроводности раствора в процессе химического взаимодействия.

В зависимости от принципа измерения методы классифицируют на:

- прямая кондуктометрия, основанная на непосредственном измерении электропроводности исследуемого раствора индивидуального вещества;
- кондуктометрическое титрование, основанное на измерении электропроводности, изменяющейся в процессе взаимодействия титранта с определяемым веществом во время титрования; при

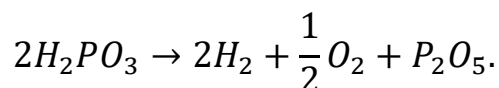
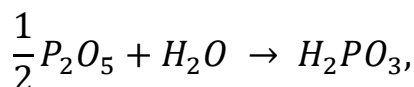
этом о содержании вещества судят по излому кривой титрования, которую строят в координатах: удельная электропроводность – количество добавленного электролита;

- хронокондуктометрическое титрование, основанное на определении содержания вещества по времени титрования, автоматически регистрируемому на диаграммной бумаге регистратора кривой титрования.

В зависимости от методов и назначения существуют различные конструкции кондуктометров.

Кулонометрические сенсоры

В основе работы этого типа электрохимических сенсоров лежит зависимость тока, протекающего через электрохимическую ячейку при контролируемом расходе анализируемого газа, подаваемого на катод, от концентрации кислорода (при условии практически полной откачки кислорода из потока). Действие кулонометрических датчиков влажности основано на непрерывном поглощении влаги пленкой из гигроскопичного вещества и одновременном её электролитическом разложении. В качестве сорбционного покрытия обычно используют фосфорный ангидрид (P_2O_5), обладающий очень высокой гигроскопичностью, большим удельным сопротивлением в сухом виде и хорошей электропроводностью после сорбции влаги. В таком датчике (рисунок 5) непрерывно происходят два процесса: поглощение влаги фосфорным ангидридом с образованием фосфорной кислоты и электролиз, сопровождающийся регенерацией фосфорного ангидрида:



Конструкцию, размеры датчика и напряжение на его электродах выбирают таким образом, чтобы влага полностью извлекалась из потока газа и проходил её полный электролиз.

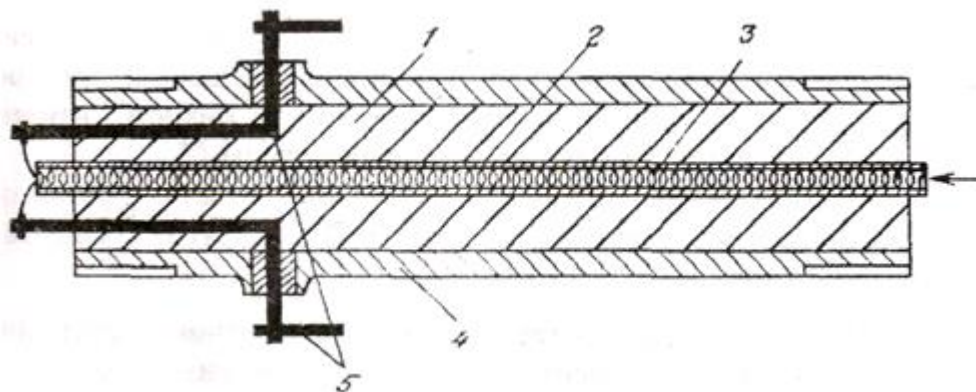


Рисунок 5 – Конструкция кулонометрического датчика:
 1 – оболочка из тефлона; 2 – трубка для пропускания газа;
 3 – электрод; 4 – корпус из нержавеющей стали; 5 – зажимы

В основе работы этого типа электрохимических сенсоров лежит зависимость тока, протекающего через электрохимическую ячейку при контролируемом расходе анализируемого газа подающего на катод, от концентрации кислорода (при условии практически полной откачки кислорода из потока). Они менее известны, однако в ряде случаев точность измерения ими выше других видов электрохимических химических сенсоров.

2.4. Оптические химические сенсоры

В оптических химических сенсорах, работающих на физических принципах, аналитический сигнал обусловлен не химическим взаимодействием определяемого компонента с чувствительным слоем, который выполняет функцию преобразователя, а измеряемым физическим параметром: интенсивностью поглощения, отражения или люминесценции света и т. д. В оптических ХС используются зависимости оптических свойств сред (коэффициентов преломления, отражения и др.) от концентраций определяемых веществ. В зависимости от типа оптических сенсоров их действие основано на следующих принципах: поглощение, отражение, люминесценция и др. Оптические химические сенсоры классифицируются в зависимости от их действия: датчик поглощения, датчик отражения, датчик люминесценции, комбинированный датчик и др. Эти сенсоры нечувствительны к электромагнитным и радиационным полям и способны передавать аналитический сигнал без искажения на большие расстояния, имеют невысокую стоимость по сравнению с ЭХС.

Фундаментальные явления, лежащие в основе действия оптических химических сенсоров:

Абсорбция. Способность вещества поглощать оптическое излучение зависит от строения атомов (молекул), а также от агрегатного состояния вещества, его концентрации, толщины слоя, длины волны и других факторов. Основные законы поглощения оптического излучения, на которых основано применение эффекта абсорбции для исследования и анализа вещества – закон Бугера-Ламберта и закон Бера.

Отражение. При падении потока света на границу раздела двух сред часть его излучения отражается обратно. При этом характер отражения зависит от свойств сред и размеров неровностей на границе раздела этих сред. Интенсивность отраженного света определяется электронным строением атомов, молекул и ионов в поверхностном слое вещества, процессами поглощения и многократного рассеяния в нем, а также зависит от длины волны падающего света, т. к. коэффициент поглощения σ в (13,14) может зависеть от λ . Это позволяет использовать эффект отражения для исследования состава и строения поверхностных слоев твердого тела и мутных сред, а также идентифицировать адсорбированные соединения.

Для исследования тонких пленок используется метод нарушенного полного внутреннего отражения, основанного на отражении, например ИК-излучения на границе двух сред, находящихся в оптическом контакте (на расстоянии порядка действия молекулярных сил). В этом случае вещество поглощает свет характеристических длин волн и отражает в остальной части спектра.

Люминесценция. Явление представляет собой свечение вещества, возникающее после поглощения им энергии возбуждения, и является избыточным излучением по сравнению с тепловым излучением тела при данной температуре. Оно может быть вызвано химическими реакциями, электрической энергией, субатомными движениями или напряжением в кристалле

Фотолюминесценция – испускание фотонов веществом, возникающее при возбуждении вещества электромагнитным излучением в ультрафиолетовом, видимом и инфракрасном диапазонах длин волн. Фотолюминесценцию характеризуют спектрами поглощения и люминесценции, поляризацией, энергетическим выходом (отношение энергии, излучаемой веществом в виде люминесценции к поглощенной энергии), квантовым выходом (отношение числа излученных квантов к числу поглощенных) и кинетикой. Характеристики фотолюминесценции позволяют сделать выводы о присутствии в исследуемых образцах определенных веществ и их концентрации.

В настоящее время из оптических ХС перспективны **сенсоры на основе волоконной оптики**.

Такие химические сенсоры имеют чувствительный слой, роль которого может выполнять поверхность волновода или иммобилизованная на волноводе фаза (материал), содержащий подходящий реагент. Оптический волновод состоит из сердцевины и оболочки. Сердцевина волновода обычно выполнена из кварцевого стекла, пластика или стекла. Сердцевина окружена оптическим изолятором – оболочкой, имеющей более низкий показатель преломления, чем сердцевина. Волноводы работают в ИК, видимой и УФ диапазонах спектра. Характеристики материала световода определяют оптический диапазон и соответственно аналитические возможности всего сенсорного устройства. Оптические волноводы могут быть выполнены на основе кварца, фторидных, германатных и халькогенидных стекол, кристаллов галогенидов таллия, серебра или цезия, а также полимерных материалов. Так, кварцевые волокна могут быть использованы в ультрафиолетовой области спектра, там, где остальные материалы поглощают излучение. Халькогенидные волноводы хорошо зарекомендовали себя в ИК области. Пластиковые и силикатные волокна дешевле. Используют как одиночные оптические волокна, так и пучки из многих оптических волокон. Оптические волокна позволяют осуществить передачу оптических сигналов об объекте анализа на очень большие расстояния, кроме того, их можно изогнуть и использовать в оптических светочувствительных устройствах.

В волоконно-оптических сенсорах (ВОС) или на торце световода закрепляется (иммобилизуется на каком-нибудь носителе по одному из способов, рассмотренному выше) реагентсодержащая фаза (РСФ), или рецепторным слоем может быть внешняя поверхность волновода. Оптосенсоры могут быть обратимыми и необратимыми. Сенсор обратим, если реагентсодержащая фаза не разрушается при ее взаимодействии с определяемым веществом. Если часть реагента потребляется в ходе определения, сенсор работает необратимо.

2.5. Интегрально-оптические сенсоры

Принцип работы интегрально-оптических химических датчиков абсорбционного типа основан на регистрации изменения интенсивности лазерного излучения, распространяющегося через исследуемую газообразную или жидкую среду, на длинах волн, характерных для данного вещества.

На рисунке 6 схематически показан поперечный разрез простого трехслойного интегрально-оптического тонкопленочного волноводного химического сенсора. Он образован тремя средами: воздухом 1, пленкой 2 и подложкой 3 с показателями преломления сред n_1 , n_2 , n_3 , соответственно.

Для обеспечения полного внутреннего отражения излучения движения в направлении волновода подбираются показатели преломления из условия: $n_2 > n_3 > n_1$.

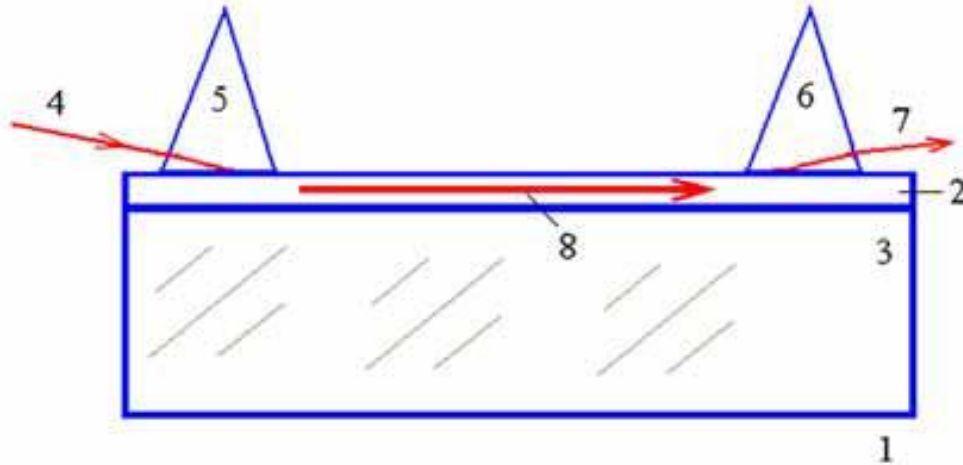


Рисунок 6 – Интегрально-оптический волноводный химический сенсор. Оптический волновод образован средами 1–3: 1 – покровный слой (воздух), 2 – волноводный слой (пленка); 3 – подложка; 4, 7 – вводимое и выводимое излучение лазера; 5, 6 – призмы ввода и вывода лазерного излучения; 8 – направляемая волноводная мода.

Лазерное излучение, введенное в волновод, распространяется в виде плоских волн, двигающихся по зигзагообразному пути и испытывающих полное внутреннее отражение на границах волновода. Оптическая энергия не ослабевает в результате интерференции волн, отраженных на границах волновода. Если рядом с волноводом в воздухе появится газ (или жидкость – на границе волноводный слой - воздух), у которого есть характерная линия поглощения, совпадающая с длиной волны лазерного излучения, то будет наблюдаться затухание мощности волноводной моды. Именно этот эффект и лежит в основе работы интегрально-оптического химического датчика абсорбционного типа. Длина сенсорной ячейки интегрально-оптического химического датчика определяется расстоянием между вводом и выводом излучения. Длина может варьироваться от нескольких миллиметров до метров [34, 35].

2.6. Электрические сенсоры (ЭС)

Принцип работы электрических сенсоров на оксидах металлов основан на изменении электропроводности их рецепторного слоя пропорциональна концентрации определяемого компонента.

Для изготовления этих ЭС используют различные оксиды металлов (SnO_2 , In_2O_3 , Nb_2O_5). В воздухе на нагретой поверхности оксидного полупроводникового материала происходит хемосорбция молекул кислорода с образованием отрицательно заряженных ионов кислорода в результате локализации на них электронов из зоны проводимости полупроводника. Электропроводность модифицированного слоя в воздухе определяется степенью заполнения его поверхности хемосорбированным кислородом. В присутствии определяемого газа на поверхности полупроводника происходит окисление молекул этого газа. При этом степень заполнения поверхности молекулами кислорода изменяется пропорционально концентрации определяемого газа. Введением в состав металлоксидных сенсоров легирующих добавок добиваются высокой селективности отклика. Эти сенсоры могут быть изготовлены по технологии микросхем, когда чувствительный слой формируется на одном кристалле вместе с электрической цепью усилителя и детектора, что позволяет обрабатывать аналитический сигнал сенсора непосредственно в месте его возникновения. Для промышленного производства полупроводниковых сенсоров применяют планарную технологию, что обеспечивает создание микромодулей, включающих чувствительные элементы, систему термостатирования и усилитель электрического сигнала. Главные преимущества сенсоров на основе полевых транзисторов: малые габариты (поверхность 1–2 мм²) и масса, быстрое действие (время, необходимое для анализа, 1 – 10 с), возможность определения сразу нескольких компонентов анализируемой смеси.

2.7. Химические сенсоры на принципах пьезоэффекта

Действие сенсоров, чувствительных к изменению массы, основано на изменении частоты колебаний пьезорезонаторов или скорости распространения поверхностно-акустических волн при селективной сорбции определяемого вещества соответственно на электродах или на межэлектродных поверхностях. Сорбционными покрытиями служат Au, Ag, полимеры, органические соединения (амины, карбоновые кислоты и их соли), разнообразные материалы, используемые в хроматографии. Такие химические сенсоры применяют для определения аммиака, ртути, оксидов серы и некоторых фосфорорганических соединений.

Например, сенсор на пары ртути с использованием принципа пьезоэффекта. Изменению резонансной частоты колебаний пьезоэлемента соответствует выражение (1)

$$\Delta F = -2,3 \cdot 10^6 \cdot F^2 \cdot \frac{\Delta m}{S}, \quad (1)$$

где F – резонансная частота колебаний пьезоэлемента, МГц; S – площадь электрода пьезоэлемента, см²; Δm – масса адсорбированного на поверхности электрода вещества, г.

Пластину кварца покрывают тончайшим слоем золота. Под воздействием паров ртути золото легко образует амальгаму. При измерении резонансной частоты такого устройства можно определить массу ртути на пластинах, а, следовательно, и концентрацию ее паров.

Для определения других компонентов их газовой фазы используются соответствующие химические реагенты, дающие селективный отклик на поверхности резонатора в присутствии этих веществ.

ЧАСТЬ 3. БИОСЕНСОРЫ

Одно из достижений биоэлектроники, являющейся симбиозом электроники и биохимии, явилось создание биосенсоров, устройств для анализа и переработки информации о химическом составе определенных объектов. Биосенсоры – это аналитические устройства, использующие биологические материалы для получения информации об определенных соединениях или молекулах (качественные и количественные характеристики) в виде электрического сигнала. Биосенсоры представляют собой частный случай химических сенсоров, так как в чувствительном слое используется биологический материал. Они отличаются от химических сенсоров тем, что они направлены на детектирование органических молекул, важных для живых организмов: высокомолекулярных, таких как белки, ДНК, и низкомолекулярных, например, глюкозы и мочевины. Основное предъявляемое к ним требование – способность улавливать определенный вид аналита и не реагировать на другие присутствующие вещества.

На сегодняшний день недостатками биосенсоров считаются невысокая стабильность и трудность получения биоорганических материалов постоянного состава, чувствительность к действию высоких и низких

температур, возможные бактерицидные загрязнения и др. Требования к новым сенсорам такие же как для ХС - простота эксплуатации, дешевизна, высокая точность, селективность и скорость анализа, но есть и принципиально новые требования - миниатюризация, работа иногда в непрерывном режиме, в ряде случаев возможность внедрения в человеческий организм.

3.1. Характеристика биосенсоров

Любой биосенсор также состоит из двух функциональных элементов: биоселектирующей мембраны, использующей различные биологические структуры, и физического преобразователя сигнала (трансдюсера), трансформирующего концентрационный сигнал в электрический. Для считывания и записи информации используют электронные системы усиления и регистрации сигнала.

В качестве биоселектирующего материала (биокомпонента сенсоров, тест-системы) используют все типы биологических структур: ферменты, антитела, рецепторы, антигены, микроорганизмы, биологические мембраны, нуклеиновые кислоты, живые клетки и др.

Используемые в биосенсорах трансдюсеры чрезвычайно разнообразны - могут быть электрохимические преобразователи (электроды), в которых трансдюсером является электрод, помещенный в исследуемый раствор, полевые транзисторы, термисторы различного рода, оптические преобразователи, использующие явления полного внутреннего отражения и поверхностного плазмонного резонанса; гравитационные; калориметрические; резонансные системы. Все виды биоэлементов можно комбинировать с различными трансдюсерами, что создает большое разнообразие различных типов биосенсоров.

Эти молекулярные компоненты без специальной подготовки не могут быть тест-объектом биосенсорного устройства, так как они могут растворяться в среде, а для живых организмов характерны процессы адаптации, сенсбилизации или какие-либо другие процессы, которые могут привести к искажению реакции на воздействие анализируемой среды и др. Биокомпоненты требуется сначала подвергнуть специальной обработке, обеспечивающей их способность работать в устройстве, после чего они могут стать элементом сенсора. Процедура обработки определяется конкретно для каждого случая, но, почти всегда, требуется проведение иммобилизации компонента. Таким образом, тест-объект биосенсорного устройства — это биологического происхождения компонент аналитической системы, обработанный специальным образом с целью обеспечения работоспособности, высокой чувствительности и селективности, а также долговечности биосенсора.

Требования к тест-объекту биосенсорного устройства: селективность к определяемому веществу (или группе веществ), безопасность в эксплуатации, доступность и невысокая стоимость, должен обеспечивать воспроизводимость результатов анализа, должен работать в заданном диапазоне параметров среды (температура, рН, влажность, и др.), могут быть и другие требования.

3.2. Биосенсоры на основе ферментов

Распознающими элементами таких биосенсоров являются ферменты – высокоспецифичные катализаторы биохимических реакций, в состав которых входит одна или несколько белковых молекул, иногда присутствует небелковая часть. Ферментативный катализ обеспечивает биоселектирующими возможностями основную массу современных биосенсоров. Ферментные биосенсоры могут быть представлены ферментными электродами, ферментными микрокалориметрическими датчиками, биодатчиками на основе хеми- и биолюминесценции (оптические биосенсоры).

Ферментные электроды — устройства основаны на применении электрохимического способа определения веществ, образующихся в ходе ферментативного превращения. Представляют собой электрод с нанесенным поверхностным слоем (каким-либо природным полимером), содержащим один или несколько иммобилизованных ферментов. Иногда фермент может находиться в растворенном состоянии в приэлектродном слое, окруженном мембраной. В зависимости от типа взятого за основу электрода устройства подразделяют на потенциметрические и амперометрические. Электроды, в которых применены иммобилизованные ферменты, во много раз долговечнее и позволяют провести несколько сот измерений, тогда как электроды, в которых используются естественные ферментные препараты — только несколько десятков раз. При адсорбции ферментов на твердых поверхностях (металлы, керамика, полимеры) они, как правило, сохраняют свою структуру и каталитическую активность.

Ферментные микрокалориметрические датчики — устройства основаны на использовании теплового эффекта ферментативной реакции. Состоят из двух колонок - измерительной и контрольной, заполненных носителем с иммобилизованным ферментом и снаряженных термисторами. При пропускании через колонку анализируемого образца происходит химическая реакция, которая сопровождается регистрируемым тепловым эффектом.

Хеми- и биолюминесцентные датчики — регистрируют световое излучение с различной длиной волны, испускаемое продуктами ферментативной реакции, находящимися в возбужденном состоянии.

Конструкция включает колонку с иммобилизованными на носителе ферментами (люциферазой, пероксидазой) и светоприемное устройство. Заложенный в систему этого типа датчиков аналитический метод характеризуется прежде всего крайне высокой чувствительностью, позволяя определять фемтомольные количества вещества.

Сопряжение ферментативно-каталитических реакций и электрохимических реакций, происходящих на электропроводящих материалах, погруженных в раствор электролита, позволило разработать много биосенсоров для определения глюкозы, аминокислот, молочного сахара, мочевины и других метаболитов.

Наиболее удобно проводить измерения на ферментных электродах в амперометрическом режиме, то есть измерять силу тока через поверхность электрода. Сила тока как скорость реакции однозначно связана с концентрацией измеряемого компонента. Фермент в режиме амперометрического биосенсора проявляет электрокаталитическую активность, то есть ускоряет процесс обмена электронами между субстратом и электродом. Электрокаталитический транспорт электронов может быть осуществлен несколькими принципиально различными путями. Простейший случай конструкции ферментного биосенсора реализуется при условии, что или субстрат, или продукт ферментативной реакции электрохимически активны, то есть способны быстро и желательно обратимо окисляться или восстанавливаться на электроде при наложении на него соответствующего потенциала. Соответственно электрохимическое детектирование процесса может быть организовано путем регистрации тока восстановления кислорода или перекиси водорода. Исследовано большое число оксидаз, использующих кислород для селективного окисления углеводов, аминокислот, органических кислот.

С помощью ферментных биосенсоров можно решать и обратную задачу. Измеряемый сигнал сенсора зависит не только от концентрации аналита, но и от каталитической активности биологического преобразователя, т. е. фермента. При некоторой определенной концентрации аналита оценивать активность фермента по величине измеряемого сигнала (потенциала, тока и т. д.).

3.2.1. Аффинные биосенсоры

Биосенсоры, использующие ферменты в рецепторном слое, иногда называют каталитическими. Существуют аффинные биосенсоры, использующие антитела, нуклеиновые кислоты и рецепторы. Принципиальное отличие между ними состоит в схеме взаимодействия тест-объектов с аналитом (рисунок 7).

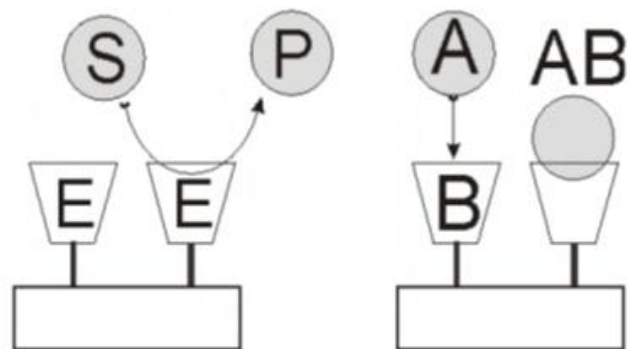
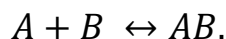


Рисунок 7 – Схема взаимодействия в аффинных биосенсорах

В ферментативных сенсорах происходит реакция по общей схеме:



Субстрат (S) связывается с ферментом (E), образуя комплекс ES , затем субстрат превращается в продукт (P) и высвобождается фермент. Для аффинных биосенсоров в рецепторном слое происходит реакция вида:



В таких реакциях не образуется новых продуктов, а происходит связывание молекул A и B в метастабильный комплекс AB . Реакции этого типа называют реакциями непродуктивного связывания. Так как акт связывания сложнее зарегистрировать, то повышаются требования к преобразователю.

3.2.2. Антитела как тест-объекты биосенсоров

Молекулы антител появляются в сыворотке крови и тканях живого организма в ответ на проникновение в последний антигена – белка или какого-либо другого соединения, чужеродного данному организму. Эта реакция называется иммунной. Антитела имеют особые участки связывания с антигеном, комплементарные соответствующим структурам молекул последнего. Молекулы антител (At) соединяются с молекулами антигенов (Ag), образуя комплекс антиген-антитело ($[At-Ag]$). Антитела обнаруживают чрезвычайно высокую специфичность к антигенам не только на уровне первичной структуры антигена, но и вторичной.

При протекании иммунной реакции *in vitro* происходит образование осадка или помутнение жидкости в результате образования комплекса

антиген-антитело – реакция преципитации. На основе иммунных реакций разработаны различные методики, основанные на визуальных исследованиях. Реакцию преципитации можно проводить не только в жидкости, но в геле (например, в агар-агаре). Образующийся комплекс антиген-антитело детектируется по появлению рассеивающей свет полосы внутри агарового блока.

На оценках количественного соотношения компонентов реакции антиген-антитело базируются все известные методы иммунного анализа. Ранее в иммунном анализе для количественного определения использовались методы на основе меченых радиоактивных атомов. Сейчас разработан иммуноферментный анализ (ИФА). ИФА позволяет обнаруживать субстанции в биологических жидкостях в концентрациях 10^{-14} – 10^{-12} М [6].

3.2.3. Рецепторы как тест-объекты биосенсоров

Рецепторы – компоненты биологических мембран, обладающие высокой степенью избирательности по отношению к молекулам, взаимодействующим с ними. Весьма трудно доказать наличие рецепторов на биомембранах из-за их чрезвычайно низкой концентрации, лабильности и неоднородности. На поверхности мембран разных клеток число рецепторов варьирует, так, на поверхности одной клетки печени имеется 250 000 рецепторов инсулина, а на поверхности клеток щитовидной железы их число не превышает 500. Часть рецепторов может диффундировать в плоскости мембраны, но в основном они фиксированы системой микрофиламентов и микротрубочек.

Основные признаки рецепторов:

1. взаимодействие эффектора с рецептором должно отвечать требованиям определенной пространственной и структурной специфичности;
2. количество связывающих мест должно быть ограниченным, и, следовательно, связывающие места должны быть насыщаемыми;
3. связывание эффектора должно иметь тканевую специфичность, соответствующую его биологической функции;
4. связывающие места должны обладать высоким сродством к гормону, а их концентрация должна соответствовать физиологической концентрации гормона;
5. связывание эффектора рецептором должно быть обратимым. [6].

Выделенные рецепторы оказались гликопротеинами или гликолипидами. Молекула любого рецептора состоит, по крайней мере, из двух частей. Одна часть - наружная - служит для связывания вещества (эффектора - гормона), при этом основную роль играют полисахаридные цепи молекул рецептора. Вторая часть молекулы рецептора - менее полярная и

служит для закрепления в липидном бислое и передачи принятого сигнала внутрь клетки. Взаимодействие между связывающими и передающими участками осуществляется благодаря конформационным перестройкам, происходящим в результате «посадки» эффектора (агониста) на связывающий участок рецептора. В этом случае происходят небольшие изменения на отдельных участках мембран, результаты которых передаются внутрь клетки, усиливаясь с помощью определенного («релейного») механизма, и в конце концов определяют течение внутриклеточных процессов [6].

Таким образом, рецепторы перспективны в качестве тест-объектов для биосенсорных устройств. Ограничением является тот факт, что свойства рецепторов в основном проявляются лишь в составе живого организма. Поэтому биосенсорных устройств на основе рецепторов гораздо меньше, чем на основе ферментов, антител, бактериальных клеток или высечек тканей, и при этом в основном используется некий биологический препарат, содержащий рецепторы, а не изолированный рецептор.

3.2.4. Нуклеиновые кислоты в биосенсорах

Для нуклеиновых кислот в отличие от белков (ферментов) характерен целый набор возможностей для регистрации их взаимодействия с молекулами анализируемого вещества.

Структурные особенности молекулы нуклеиновой кислоты (ДНК), обеспечивающие их применения в биосенсорах:

1. Двухцепочечные нуклеиновые кислоты существуют в разных пространственных формах (А, В, Z; линейная, кольцевая, суперспирализованная и др.), заметно различающихся по своим физикохимическим свойствам. Изменение внешних условий инициирует переход между этими формами.
2. Двухцепочечные молекулы нуклеиновых кислот, отрицательно заряженные фосфатные группы которых нейтрализованы противоионами, являются «жесткими»; одноцепочечные нуклеиновые кислоты – «гибкие».
3. Каждая цепь нуклеиновой кислоты содержит азотистые основания (хромофоры, поглощающие в ультрафиолетовой области спектра). Причем основания одной цепи образуют комплементарные Н-связи с азотистыми основаниями противоположной цепи (комплементарное «узнавание»).
4. Для молекул нуклеиновых кислот характерна оптическая активность.
5. Каждая цепь молекулы нуклеиновой кислоты содержит химические группы, различающиеся по своей реакционной способности.

6. Спиральная структура двухцепочечных нуклеиновых кислот в сочетании со специфическим распределением реакционноспособных групп на поверхности этих молекул обеспечивает «адресовку» тех соединений, которые взаимодействуют с молекулами нуклеиновых кислот [6].

Детектирование молекул ДНК основано на взаимодействии между комплементарными цепями. Природа этого взаимодействия – водородные связи между парами нуклеотидов. В ДНК-сенсорах рецепторный слой состоит из иммобилизованных одноцепочечных ДНК, которые улавливают из раствора комплементарные цепи. Рекордный предел обнаружения ДНК был достигнут с использованием метода электрохимической хемилюминесценции и составил 10 аМ (10^{-18} М).

ДНК-биосенсоры: обнаружение патогенных микроорганизмов, мутаций, диагностика наследственных заболеваний, методы анализа ДНК с целью идентификации личности и др. развитие [6].

3.2.5. Живые организмы, ткани, клетки или клеточные компоненты в биосенсорном устройстве

Многие организмы (как одноклеточные, так и многоклеточные), целые клетки или ткани являются источником биополимеров, пригодных к использованию в качестве биологических тестирующих элементов биосенсоров.

Разработка биосенсоров на их основе обусловлена следующими факторами:

1. Отсутствием необходимости получать очищенные ферменты или другие компоненты клеток, можно непосредственно использовать целые клетки или срезы тканей без выделения и очистки белков. Это приводит к значительному снижению стоимости.
2. Ферменты и другие биомолекулы находятся в их естественном окружении.
3. Активность ферментов стабилизирована.
4. Биосенсор можно регенерировать погружением в питательную среду. Микроорганизмы сохраняют жизнеспособность довольно долго.
5. Целые клетки могут содержать несколько кофакторов и ферментов, катализирующих реакции, которые трудно, если вообще возможно, осуществить с помощью одного иммобилизованного фермента. Кроме того, кофакторы, необходимые для ферментативных реакций, находятся в естественно иммобилизованном состоянии [6].

Однако у таких биосенсоров есть и недостатки, среди которых обычно отмечают:

1. Низкую селективность, обусловленную присутствием в клетке микроорганизма ряда ферментов, которые могут катализировать побочные реакции.
2. Часто наблюдаемый медленный отклик биосенсора, поскольку в диффузионные барьеры в данном случае включается и плазматическая мембрана.

В настоящее время уже разработаны сенсорные системы на основе живых организмов, тканей, клеток и клеточных компонент. Для создания биосенсоров используют различные микроорганизмы: *Neigrospora europea* — для определения аммиака, *Trichosporon brassicae* — для определения уксусной кислоты, *Sarcina flava* — для определения глутамина, *Azotobacter vinelandii* — для определения нитратов, срезы почек свиньи для определения глутамина. и др. На основе гриба *Aspergillus niger* группой японских ученых созданы биосенсоры для определения биогенных аминов в мясных продуктах. В тканевых электродах нашли применение срезы почек и печени свиньи, желтой тыквы, банана и др.

Невысокая собственная изменчивость и растянутая во времени ответная реакция организмов-биоиндикаторов даже на микродозы загрязнителей, которая проявляется в морфологических изменениях, смене видового состава, обуславливают их как биоиндикаторов состояния воздуха. Существует метод определения БПК (биологического потребления кислорода) – анализ на определение совокупности органических соединений, которые могут быть использованы микроорганизмами. [6]. Предложен лишеноиндикационный мониторинг состояния воздушной среды. Методы лишеноиндикации основаны на индивидуальной реакции различных видов лишайников к действию загрязнителей атмосферы. Лишайники очень чувствительны к химическим загрязнениям и могут быть хорошими индикаторами состояния окружающей среды как сами по себе, так и в качестве некоторого чувствительного элемента биосенсоров. Результаты таких исследований дают интегральную оценку степени загрязненности воздуха за длительный промежуток времени. Они могут служить хорошим дополнением к санитарно-гигиенической оценке условий среды обитания [36].

3.3. Клеточные биосенсоры

В настоящее время ферментные и клеточные биосенсоры занимают лидирующие позиции по степени разработки и внедрения. Во многих случаях применение в качестве тест-объектов клеток и клеточных органелл заметно

увеличиваются возможности выбора тест-реакций, соответственно, выбор методов регистрации.

Принцип работы клеточных биосенсоров состоит в том, что при проникновении внутрь клетки аналит вызывает синтез легко детектируемого белка. Примером является выделенный из медузы *Aequorea victoria* флуоресцентный белок GFP. При возбуждении светом с длиной волны от УФ до синего диапазона данный белок флуоресцирует в зеленом диапазоне. Сейчас разработаны методы генной инженерии, позволяющие повысить выработку определенного белка для конкретных клеток, что повышает эффективность работы сенсора.

Преимуществом такого вида сенсоров являются: возможность проведения исследований в объемах клеточного размера, возможность измерения концентрации веществ в естественной среде, а не в пробе, возможность быстрого обнаружения токсичных веществ и др. Биоматериалы и созданные на их основе биосенсоры позволили проводить процессы управляемого биосинтеза, анализ многокомпонентных систем в очень малых концентрациях, решать различные задачи медицины. Разработаны методики включения живых клеток в твердые носители различной природы. Следует указать наиболее ценные свойства иммобилизованных клеток:

- клетки – доступный биологический материал; используют клетки растений, животных, человека, но наибольшее применение нашли клетки микроорганизмов, которые культивируются, легко воспроизводятся и поддерживаются в чистой культуре.
- при использовании клеток не требуется дорогостоящих стадий очистки, как, например, для ферментов;
- методы иммобилизации позволяют получить клетки, сохраняющие в течение длительного промежутка времени до 100 % активности ферментных систем и систем жизнеспособности (включая ферментные стадии регенерации кофакторов), то есть в течение нескольких лет клетки могут сохранять все наиболее важные структуры и проявлять большую стабильность, что позволяет проводить сложные последовательные реакции и многостадийные процессы;
- для многих типов клеток, особенно микробных, разработаны эффективные методы генетических операций, дающие возможность получать мутанты с высоким содержанием того или иного белка или фермента, что дает возможность оперировать с высокоэффективными каталитическими системами.
- поскольку клетки сохраняют аппарат биосинтеза белка, потенциально могут быть разработаны высокоэффективные методы генной диагностики.

Особенности метаболизма клеток позволяют создавать биосенсоры как на индивидуальные молекулы, так и на очень широкие классы соединений. Для создания клеточных биосенсоров, так же как и для ферментных, используются самые различные преобразователи: оптические, акустические, калориметрические и весь набор электрохимических – кондуктометрические, амперометрические (медиаторы, детекторы кислорода или перекиси водорода и др.), потенциометрические (ионселективные и рН-чувствительные электроды, рН-чувствительные полевые транзисторы).

Развитие науки позволило получить биосенсоры с использованием техники светоадресуемых потенциометрических сенсоров (СПС, light-addressable potentiometric sensor, LAPS). СПС созданы на основе принципа управления параметрами полупроводника внешним электрическим полем, что является принципиальной основой биосенсора. СПС аналогичен функционально полевому транзистору, но позволяет на одном полупроводниковом кристалле формировать большое число различных биосенсорных зон, содержащих ферменты, клетки, и другие биоконпоненты. Высокая чувствительность СПС-систем позволила разработать на ее основе системы слежения за физиологическим состоянием отдельных клеток – микрофизиометры.

3.3.1. Методы иммобилизации тест-объектов для биосенсоров

Определяющим фактором при разработке клеточных биосенсоров является методика иммобилизации клеток. Процесс иммобилизации позволяет избежать потери из-за растворения или диспергирования в среде биологических тестирующих компонентов, дает возможность помещать эти элементы как можно ближе к физико-химическому датчику, решает проблемы стабилизация активности биотестирующего элемента, обеспечивает пространственное разделение отдельных молекул, предохраняет от биологического повреждения и т. д. Иммобилизованные биологические тест-объекты представляют собой биоэлементы, связанные с нерастворимыми или с водорастворимыми полимерами. В зависимости от свойств тест объектов и от задач сенсора аналитические устройства могут быть представлены для использования в виде мини-реакторов, электродов, термисторов или других.

Используются различные методы иммобилизации.

Иммобилизация путем адсорбции на носителях. Сущность его заключается в инкубировании раствора белка или суспензии клеток в водной взвеси носителя с последующим отмыванием неадсорбированных элементов. В качестве носителей используется самый широкий набор веществ органической и неорганической природы. В адсорбции белка существенную роль играют водородные связи, электростатическое взаимодействие, и

особенно координационные связи. Основным недостатком адсорбционной иммобилизации является слабая фиксация тест-объекта на носителях. Изменение рН, ионной силы раствора, температуры может привести к десорбции.

Включение в гидрофильные гели позволяет получить в иммобилизованном виде подавляющее большинство тест-объектов.

Иммобилизация путем сшивания бифункциональными реагентами. При добавлении в раствор фермента реагентов, обладающих двумя или большим числом реакционноспособных групп, глобулы белка сшиваются с образованием пространственной сетки. Иммобилизация ферментов путем сшивания бифункциональными реагентами осуществляется способами: 1) непосредственным сшиванием белков (тест-объектов); 2) сшиванием биологических тестирующих элементов с инертными белками; 3) адсорбцией тест-объектов на водонерастворимом носителе с последующей обработкой бифункциональным реагентом; 4) активацией носителей бифункциональными реагентами с последующей иммобилизацией тест-объекта.

Ковалентная сшивка с носителями. Иммобилизация выполняется путем пришивания ферментов к носителям, содержащим реакционноспособные группы, а также к предварительно активированным носителям.

Иммобилизация микрокапсулированием. Особенностью такой иммобилизации является то, что водные растворы белков включают в полупроницаемые микрокапсулы размером от одного до нескольких сотен микрон. Микрокапсулирование проводится методом межфазных коацервации и поликонденсации. При межфазной коацервации белки-реагенты растворяются в водной фазе инертного белка, который улучшает их свойства при обволакивании микроскопической сферической ультратонкой мембраной. Микрокапсулы образуются при энергичном перемешивании ферментного раствора с органическим растворителем и последующим добавлением раствора нитрата целлюлозы, из которого формируются стенки микрокапсул. При межфазной поликонденсации стенки сферических микрокапсул образуются в реакциях соединений на разделе фаз.

Включение ферментов в полые волокна - метод иммобилизации микрокапсулированием. При добавлении водного раствора фермента к раствору полимера в не смешивающемся с водой растворителе получается эмульсия, из которой формируются волокна. Ферменты захватываются в полые волокна благодаря пористой структуре последних.

Широкое распространение получил метод *инкапсулирования ферментов в сферических микрочастицах*, стенки которых формируются из фосфолипидов (липосом).

Перспективные результаты получены с использованием так называемого метода «криоиммобилизации» клеток в синтетические полимерные гели. Процедура состоит из стадии получения суспензии клеток в растворе полимера, замораживания суспензии с получением криоструктурированных гелей, размораживания с образованием пористого, механически прочного материала, устойчивого до температур 70–80 °С. Клетки, включенные в такого рода пористый материал, сохраняют активность и способны функционировать в течение нескольких месяцев.

3.3.2. Биочипы

Биочип — это электронное устройство, содержащее матрицу с нанесёнными биологическими объектами (молекулами белков, нуклеиновых кислот, биомакромолекул или биоструктур), для одновременного проведения большого числа анализов в одном образце. В основе механизма действия биочипов лежит молекулярное распознавание анализируемых молекул молекулами биополимерами, нанесёнными на чип.

В последние годы были разработаны технологии создания ДНК- или белковых биочипов. Эти миниатюрные приборы используют для анализа специфических взаимодействий биологических макромолекул. Молекулы ДНК или белков помещают на пластинки для создания соответственно ДНК-чипов или белковых чипов. Зондами в таких чипах могут служить олигонуклеотиды, фрагменты геномной ДНК, РНК, белки, рецепторы, лиганды и др. Чаще всего для изготовления чипов служат пластинки из стекла, пластика, полупроводника или металла, на которые наносят биологические макромолекулы (ДНК, белки, ферменты...), способные избирательно связывать вещества, содержащиеся в анализируемом растворе.

Существует несколько разновидностей биочипов — матричные (с иммобилизованной ДНК), микрофлюидные (капиллярные) и биочипы с использованием микросфер с цветовой кодировкой.

Во всех биочипах используют какой-либо механизм химического взаимодействия. Молекулы исследуемого образца соединяются со своей «парой» (микрозондом), помещенной в одну из нескольких тысяч ячеек на чипе. Например, нити ДНК соединяются со своей комплементарной парой, антиген — со своим антителом, субстрат — со своим ферментом. Наличие в образце определенного вещества или гена определяют по люминесцентному свечению на прореагировавшем чипе. Люминесценция является одним из методов изучения гибридизации, но данные можно получить также с помощью масс-спектрометрии, атомной силовой микроскопии и др.

В основе принципа работы всех типов биочипов с иммобилизованной ДНК лежит точное соответствие между прямой и комплементарной ДНК по

правилу Уотсона — Крика (A/T или G/C). В ходе реакции на чипе происходит взаимодействие комплементарных цепей ДНК: одна из них с известной последовательностью нуклеотидов зафиксирована на пластине, а другая одноцепочечная ДНК-мишень, меченная флуоресцентной или радиоактивной метки, наносится на ДНК-чип. При взаимодействии биочипа с исследуемым образцом, предварительно обработанным светящимся (флуоресцентным) красителем, в соответствующих ячейках происходит химическая реакция, и тогда эти ячейки начинают светиться — тем сильнее, чем интенсивнее процесс. Анализ прореагировавших чипов производится автоматически с помощью анализатора (чип-детектора), который представляет собой широкопольный микроскоп, соединенный с видеокамерой и компьютером. В обнаружении и сравнении светящихся ячеек заключается работа анализатора биочипов. В гелевых биочипах ДНК иммобилизуется в слое полиакриламидного геля толщиной 10–20 микрон, нанесенного на специально обработанную поверхность стекла. Иммобилизация осуществляется за счет образования ковалентных связей с помощью фотореакции при облучении ультрафиолетовым излучением. В гелевых биочипах взаимодействие между молекулами ДНК примерно такое же, как и в растворе, но, благодаря трехмерной конфигурации ячейки, в таких биочипах общее число иммобилизуемых молекул ДНК существенно выше, чем в поверхностных микрочипах, что приводит, соответственно, к более сильному сигналу флуоресценции из ячейки. В российских гелевых биочипах такие гели удерживают большее количество пробы, нежели двухмерные, и потому чувствительность отечественных биочипов выше, а следовательно, ниже требования к регистрирующей аппаратуре. К тому же реакции в объемном геле протекают в жидкостях, т. е. аналогично условиям как в живом организме. Это позволяет получить результат, максимально приближенный к реальности. Иностранные исследователи пошли по другому пути и используют для создания ДНК-чипов процесс фотолитографии, аналогичный процессу производства кремниевых процессоров.

Белковый микрочип

Белковый микрочип (или белковый чип) — это высокопроизводительный метод, используемый для отслеживания взаимодействий и активности белков, а также для определения их функции в больших масштабах. Чип состоит из опорной поверхности, такой как предметное стекло, нитроцеллюлозная мембрана, шарик или пластина для микротитрования, с которой связывается множество белков захвата. Молекулы-зонды, обычно помеченные флуоресцентным красителем, добавляются в матрицу. Любая реакция между зондом и иммобилизованным

белком испускает флуоресцентный сигнал, который считывается лазерным сканером.

3.3. Оптические биосенсоры

Принцип работы большинства оптических биосенсоров основан на детектировании изменений оптических явлений и свойств соответствующего индикаторного компонента.

Перспективны схемы биосенсоров на основе эффекта локализованного поверхностного плазмонного резонанса, с использованием волноводов, в которых характеристики света изменяются при абсорбции молекул на поверхность волновода и др. Поверхностный плазмонный резонанс (ППР) - стимулируемое падающим светом резонансное колебание электронов проводимости на границе раздела между материалами с отрицательной диэлектрической проницаемостью (например, металлами) и положительной диэлектрической проницаемостью (например, полимер). Эффект ППР может достигаться за счет облучения металлической поверхности пучком лазерного излучения. При определенных условиях облучения (определенная длина волны лазерного излучения, конкретное значение величины угла падающего света) металлической поверхности пучком лазерного излучения возникают волны электромагнитного возбуждения (поверхностные плазмоны). С точки зрения волновой теории поверхностные плазмон-поляритоны представляют собой волны электромагнитного возбуждения, распространяющиеся в тонком слое по границе раздела между проводником и диэлектриком. Они возникают как результат взаимодействия электромагнитных полей диэлектрика с электронной плазмой металла (коллективные электроны). Эффект плазмонного резонанса зависит не только от определенных характеристик облучения, но и от характеристик металлической поверхности. Изменения оптических и физико-химических характеристик поверхности металлического слоя могут быть осуществлены при сорбции на этой поверхности веществ из газовой фазы или из раствора. Все биосенсоры на поверхностных плазмонах используют свойство весьма большой их чувствительности к изменению диэлектрических свойств сред вблизи поверхности раздела сред. В сенсорах такого типа обычно используется метод возбуждения поверхностных плазмонов в геометрии Кречмана (рисунок 8). Обычно проводится измерения угла, при котором коэффициент отражения минимален. По фиксированным величинам минимального коэффициента отражения и ширины резонансной кривой определяют действительную и мнимую части коэффициента преломления и толщину анализируемого слоя по формуле Френеля для коэффициентов отражения.

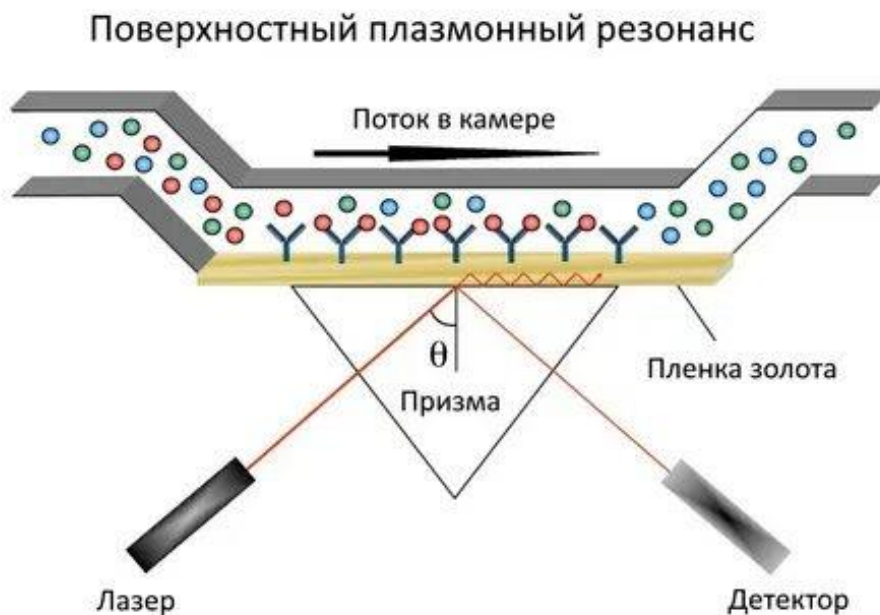


Рисунок 8 – Схема метода возбуждения поверхностных плазмонов в геометрии Кречмана

Сенсоры на основе поверхностного плазмонного резонанса представляют собой чип, основой которого является стеклянная пластинка, одна сторона которой покрыта тонким слоем золота и взаимодействует с оптической частью электронного датчика прибора. Противоположная сторона пластинки сообщается с проточной системой прибора. В проточную систему поступает проба с растворенными веществами, где и происходит анализ. Пучок света с фиксированной длиной волны, попадая на поверхность призмы, отражается от покрытой золотом стороны стеклянного чипа под углом полного внутреннего отражения, и детектируется электронно-аппаратной частью прибора. Важно, что пучок света индуцирует волну, которая проникает сквозь слой золота и стеклянную пластинку в раствор вблизи её поверхности, преломляется и возвращается в анализирующую часть системы. Изменение коэффициента преломления на проточной стороне сенсорного чипа прямо влияет на поведение света, отраженного от покрытой золотом стороны. На поверхности проточной стороны чипа осуществляется связывание веществ из анализируемой какой-либо биосистемы. Связывание веществ с поверхностью проточной стороны чипа влияет на изменение коэффициента преломления и на поведение света, отраженного от покрытой золотом стороны, что можно зарегистрировать оптической аппаратурой. Таким образом биологические взаимодействия могут быть измерены с высоким уровнем чувствительности.

Другие типы оптических биосенсоров были разработаны с использованием волноводов, в которых параметры распространения света через волновод изменяются при абсорбции молекул на поверхность волновода. Например, разработаны сенсоры, в схеме действия которых используются два волновода. Один волновод является эталонным, он изолирован от аналита, а второй волновод непосредственно контактирует с исследуемым образцом. Сравнивая константы скорости распространения света в обоих волноводах, делают заключение о концентрации аналита. Разработаны оптические биосенсоры, схема действия которых основана на изменении величины поглощения или флуоресценции соответствующего компонента.

ЧАСТЬ 4. НАНОТЕХНОЛОГИИ И НАНОМАТЕРИАЛЫ ДЛЯ СЕНСОРИКИ

Исследования, относящиеся к области наноматериалов или нанотехнологий, направлены на изучение объектов в нанометровом масштабе, т. е. рассматриваются объекты, размер которых хотя бы в одном из трех измерений лежит в интервале 1–100 нм. По геометрической форме это могут быть частицы, стержни, пленки:

- нольмерные материалы - наночастицы, нанокристаллы, нанокластеры, квантовые точки. Они используются в основном в оптических, в том числе и в биохимических сенсорах – иммуносенсорах, реже в электрохимических сенсорах;
- одномерные материалы - нанотрубки, наностержни, наноленты, нанопроволоки, применяемые в первую очередь в электрических и электрохимических сенсорах, реже в оптических (биохимических) и пьезосенсорах;
- двумерные материалы - пленки, покрытия. Сенсоры, основанные на использовании наноразмерных организованных пленочных структур (пленки Ленгмюра – Блоджетт, самоорганизованные моно- и полислои), применяемые в основном в оптических, поверхностно-акустических и пьезокварцевых (объемно-акустических) сенсорах.

Переход от макро- и микро размеров к размерам в интервале 1–100 нм приводит к качественным изменениям физико-химических свойств и структуры вещества, к появлению свойств иных не характерных для вещества той же химической природы, но в объемном состоянии.

Различные виды наноразмерных частиц могут быть внедрены в органические или неорганические матрицы с целью использовать полученные нанокompозитные материалы для конструирования сенсорных устройств.

Наносенсоры — это наноразмерные устройства, которые измеряют физические величины и преобразуют их в сигналы, которые могут быть обнаружены и проанализированы. Для изготовления наносенсоров используются различные технологические методики: литография сверху вниз, сборка снизу вверх, полиионная сборка, молекулярная самосборка и др. В аналитических устройствах наносенсоры могут быть в виде массивов наночастиц или квантовых точек, или в виде электродов на основе нанотрубок, стержней, лент, или в виде различных композиционных наноматериалов, наноразмерных пленок.

Классификации наносенсоров:

1. По геометрической форме наноматериалов. Рассматривают в качестве чувствительных элементов трубки, стержни, ленты, проволоки, наночастицы, нанотрубки, пористый кремний, наноразмерные пленки, сферы, стержни, кубики или призмы и т. д.
2. По возможности применения наноматериалов в анализе объектов окружающей среды с помощью только оптических или биохимических сенсоров, и др.
3. По типу наноматериала, применяемого в оптических сенсорах, например, квантовых точках или наночастицах диоксида кремния, модифицированных красителями.

4.1. «Нольмерные» материалов для сенсоров

В наносенсорах наиболее часто применяются так называемые: наночастицы, нанокристаллы, нанокластеры и квантовые точки. Они представляют собой ансамбли из нескольких сотен или тысяч атомов или молекул.

В наносенсорах используют различные наночастицы:

- благородные металлы (Au, Ag);
- магнитные материалы (Fe_3O_4 , Fe_3S_4 , $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, $\text{MO-Fe}_2\text{O}_3$, где $\text{M} = \text{Ni}$, Co , Zn , Mn , Mg);
- полупроводниковые материалы (CdS , CdSe , CdTe , ZnSe , PbS , PbTe);
- наночастицы, содержащие лантаноиды (Eu(III) , Sm(III) , Tb(III) , Gd(III) и т. д.);
- частицы на основе кремния, в том числе допированные красителями или с привитыми функциональными группами на их поверхности.

Наночастицы благородных металлов (Au, Ag)

Они представляют собой ансамбли из нескольких сотен или тысяч атомов или молекул. Поскольку размер таких наночастиц соизмерим и меньше волны де Бройля электрона, такие нанообъекты способны интенсивно поглощать энергию электромагнитного излучения в видимой или ближней УФ-области электромагнитного спектра. Это используется в оптических наносенсорах по схемам, аналогичным для химических и биохимических сенсоров. В сравнении с органическими красителями интенсивность поглощения и рассеяния света наночастицами на несколько порядков выше. Цвет таких частиц зависит от их размера, формы, природы материала наночастиц и фактически отсутствует у данного вещества в обычном (объемном) состоянии. Возникновение цвета у наночастиц благородных металлов (Au, Ag) и иногда Cu и Al вызвано эффектом локального поверхностного плазмонного резонанса. Результатом этого эффекта является сильное увеличение поглощения и рассеяния электромагнитной энергии, возникновение яркой окраски и других оптических свойств частиц металлов.

Химическая модификация поверхности наночастиц монослоями из органических или биологических соединений способствует селективности детектирования. В связи с этим наносенсоры, основанные на эффекте поверхностного плазмонного резонанса, широко используются в качестве биосенсоров и рассматриваются как многообещающая альтернатива иммуносенсорам.

Перспективны подходы, основанные на использовании в анализе единичной наночастицы. Поскольку в таких условиях поглощение света находится на уровне шума и его измерить нельзя, то применяют спектроскопию резонансного рэлеевского рассеяния. На серебряной наночастице удалось детектировать молекулы гексадекантиола на уровне зептомоль (10^{-21} моль), а сенсор на основе золотой частицы, модифицированной биотином, способен детектировать всего 50 молекул (10^{-22} моль) стрептавидина. Для усиления генерации выходного сигнала перспективны оптические сенсоры на основе метода поверхностно-усиленного рамановского рассеяния (методика, сочетающая использование наночастиц в комплексе со спектроскопией комбинационного рассеяния, Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS). Сенсоры на основе индивидуальных наночастиц золота или наночастиц золота, покрытых серебром или органическим лигандом, можно использовать в электрических сенсорах для определения ДНК на уровне фемтомоль. При этом возможно не только количественное определение нуклеотидов на уровне пико- и аттомоль, но и их идентификация.

Перспективным направлением является комбинация различных металлов для формирования одной частицы. Полиметаллические структуры по сравнению с монометаллическими обладают повышенной физико-химической стабильностью и селективностью в каталитических реакциях. Примерами таких структур могут служить наностержни с наконечниками из другого металла (end-capped nanorods) и частицы, построенные по типу ядро/оболочка (core/shell nanoparticles). Показано, что если наночастицы золота покрыть серебром, то аналитический сигнал возрастает в 10^{14} раз, что полезно для биоанализа.

Квантовые точки в наносенсорах

Квантовые точки (КТ) – это кристаллы неорганических полупроводниковых материалов размерами до 8–12 нм. Квантовые точки применяют в оптических сенсорах, а также в сенсорах с электрохимическим детектированием.

Уникальные оптические и электронные свойства квантовых точек обусловлены пространственными ограничениями для возбужденных электронов и дырок, существующих в нанокристаллах, и изменением интенсивности рекомбинаций электрон-дырка при взаимодействии анализируемого вещества с поверхностью нанокристалла. Чем меньше размер нанокристалла, образующего квантовую точку, тем шире энергетическая щель между дискретными уровнями энергии квантовой точки и тем короче длина волны флуоресценции. Например, частицы CdSe размером 2,5 нм флуоресцируют зеленым, а размером 7 нм – красным цветом. Принцип, заложенный в оптических сенсорах: изменение размера КТ в результате сорбции аналита можно фиксировать по изменениям их оптических свойств.

Основное преимущество КТ перед органическими красителями состоит в высокой фотостойкости, возможности направленного регулирования длины волны флуоресценции, малой полуширине спектров флуоресценции (15–40 нм), высоких квантовых выходах, что обуславливает широкое применение квантовых точек в оптических сенсорах. Предпочтительнее использовать композиционные наноматериалы, когда ядро кристалла квантовой точки, например, CdSe или CdTe, покрыто тонким слоем другого полупроводника с большей величиной энергетической щели, например, CdS, ZnS или ZnTe. Это позволяет улучшить фотостабильность кристаллического ядра, предотвращает тушение экситонов поверхностью и агрегацию частиц, в результате чего дополнительно растет квантовый выход флуоресценции.

Для получения выходного сигнала в сенсорах на основе квантовых точек используется несколько видов оптических эффектов: фёрстеровский резонансный (безызлучательный) перенос энергии от донора к акцептору; тушение флуоресценции за счет эффекта внутреннего фильтра,

безызлучательной рекомбинации, переноса электрона или связывания ионов; эффект плазмонного резонанса; фосфоресценция.

Квантовые точки эффективны для определения нуклеиновых кислот, олигонуклеотидов, белков, вирусов (гепатит В и С), для детектирования мутаций хромосом, маркеров рака и токсинов в иммуноанализе, для определения катионов и анионов, мальтозы, различных газов и т. д. [37].

Магнитные наночастицы в наносенсорах

Парамагнитные наночастицы коммерчески доступны, они могут быть легко намагничены до получения больших магнитных моментов, что обеспечивает высокую чувствительность сенсоров на их основе, в том числе в иммунных методах. Намагниченность может быть затем снята. На этом приеме основано использование магнитных частиц в диагностике в качестве контрастных материалов, и таким образом появляется возможность манипулирования биоматериалом. Применение их в анализе пока более ограничено, чем квантовых точек или нанотрубок, однако в ряде случаев имеет важное самостоятельное значение [37].

Диоксид кремния в наносенсорах

В последнее время в оптических и электрохимических сенсорах нашли применение наночастицы на основе диоксида кремния. Они легко модифицируются различными метками, в том числе красителями, устойчивы как в водных, так и неводных средах, обладают высокой адсорбционной способностью.

4.2 Одномерные материалы наносенсоров

Углеродные нанотрубки

Углеродная нанотрубка (УНТ) — это аллотропная модификация углерода, представляющая собой полую цилиндрическую структуру диаметром от десятых до нескольких десятков нанометров и длиной от одного микрометра до нескольких сантиметров (рисунок 9). УНТ состоят из одной или нескольких свёрнутых в трубку графеновых плоскостей. Существуют технологии, позволяющие сплести УНТ в нити неограниченной длины.

Углеродные нанотрубки обладают рядом уникальных свойств, обуславливающих перспективность их использования в химических сенсорах. Они характеризуются очень высокой прочностью и вместе с тем хорошей деформационной упругостью. Это объясняется геометрией их структуры, которая равномерно распределяет нагрузку, а также прочностью межуглеродных связей. Углеродные нанотрубки отличаются широким диапазоном электрических свойств. Большинство трубок – полупроводники, но есть проводники и изоляторы. Проводимость нанотрубки зависит от ориентации графитовой плоскости относительно оси нанотрубки.

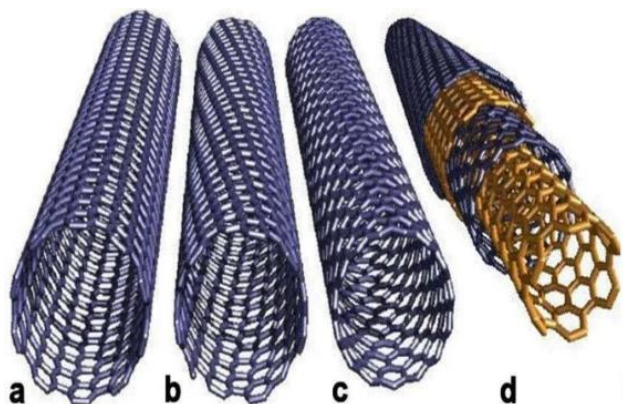


Рисунок 9 – Типы углеродных нанотрубок

Высокое соотношение длина/радиус нанотрубки (порядка 1000/1) позволяет контролировать свойства этих материалов в определенном направлении. Большая площадь поверхности нанотрубок обеспечивает эффективную адсорбцию многих веществ. Поверхность углеродных нанотрубок можно модифицировать функциональными группами или допировать объем нанотрубки другими объектами путем введения внутрь или в межслоевое пространство.

Возможна модификация поверхности углеродных нанотрубок полимерными пленками для повышения селективности сенсоров на их основе. Модификацию углеродных нанотрубок обычно проводят или в два этапа или напрямую. Двухэтапная модификация состоит в том, что сначала нанотрубки покрывают полимером, а далее полимер модифицируют необходимыми молекулами или функциональными группами. Возможна прямая модификация самих нанотрубок путем ковалентного сшивания, но при создании электрических сенсоров этот метод используется редко в связи с потерей нанотрубками проводниковых свойств. Взаимодействие аналита с распознающим элементом – компонентом, иммобилизованным на поверхности нанотрубки, приводит к хорошо фиксируемому изменению электрических свойств нанотрубки. На этом принципе построен полевой транзистор для определения белков.

Нанотрубки применяют в сенсорах на основе полевых транзисторов, используют в амперометрических сенсорах, реже в масс-чувствительных и оптических. Действие полевых транзисторов на основе полупроводниковых углеродных нанотрубок обусловлено чрезвычайно высокой чувствительностью их электрических свойств к адсорбированным веществам и к эффекту переноса заряда. Широкое применение углеродные нанотрубки нашли в биохимических сенсорах амперометрического типа. Нанотрубки вводят в покрытие из полимера или композиционного материала, нанесенного

на поверхность электрода. Такой подход позволяет детектировать многие электроактивные вещества при низком перенапряжении и обеспечивает хорошую селективность определения.

Часто углеродные нанотрубки применяют в комбинации с другими наноматериалами - наночастицами благородных металлов, самоорганизованными монослоями и пленками Ленгмюра – Блоджетт, что улучшает метрологические характеристики сенсоров [37].

Детектирование газов сенсорами на основе углеродных нанотрубок возможно при использовании термоэлектрического эффекта, ионизации газов, изменения частоты пьезокварцевого резонатора или поверхностно-акустических волн

Нанотрубки различной химической природы

Помимо углеродных нанотрубок, аналитическое применение нашли нанотрубки из других веществ, в частности, Co_3O_4 , Fe_2O_3 , SnO_2 , TiO_2 , а также Pt. Металлооксидные нанотрубки используются в основном в химических резисторах на газы и пары веществ (H_2 , CO, этанол, этиленоксид). Другим примером являются нанотрубки на основе TiO_2 , покрытые десятинанометровым слоем палладия, которые изменяют электрическое сопротивление на 170 % при воздействии водорода в малых концентрации (10^{-4}) при комнатной температуре. Платиновые нанотрубки применяют в амперометрическом сенсоре на глюкозу без использования ферментов др.

4.3. Сенсорные нанопленки

К наноразмерным пленкам относятся:

1. пленки Ленгмюра – Блоджетт, получаемые переносом мономолекулярных слоев дифильных органических молекул с поверхности жидкой субфазы на твердую подложку,
2. самоорганизованные структуры, такие как монослой алкантиолов на поверхности золота,
3. структуры, получаемые методом полиионного наслаивания.

Тонкие пленки широко применяются для модифицирования поверхности электродов в электрохимических, электрических и пьезоэлектрических сенсорах, а также поверхности волноводов в оптических сенсорах [37]

Нанопленки имеют следующие преимущества:

- малый расход аналитических реагентов и в связи с этим возможность использования дорогих эффективных реагентов;
- возможность контроля толщины пленки с точностью до одного молекулярного слоя;
- возможность варьирования аналитического диапазона сенсора путем изменения числа монослоев;

- относительно высокое отношение активной поверхности молекулярных слоев к их общему объему;
- быстрая диффузия молекул аналита в объем пленки и малое время отклика сенсоров;
- высокая однородность пленки, сочетающаяся со взаимно направленной ориентацией составляющих ее молекул и их функциональных групп;
- возможность сочетания слоев с различными аналитическими откликами, а также слоев, обладающих проницаемостью только для определенных ионов.

4.4. Сенсоры на основе графена

Графен — двумерная аллотропная модификация углерода, образованная слоем атомов углерода толщиной в один атом. Атомы углерода находятся в sp^2 -гибридизации и соединены посредством σ - и π -связей в гексагональную двумерную кристаллическую решётку. При конструировании сенсора конечной целью является увеличение его чувствительности, получить возможность регистрировать очень малые концентрации аналита. Для химических датчиков такой задачей является регистрация одной молекулы. Чувствительность современных твердотельных датчиков ограничена флуктуациями из-за тепловых движений зарядов и дефектов, в результате чего уровень шума на много порядков превышает сигнал от отдельной молекулы. Добиться предельного уровня разрешения датчика удалось при использовании графена [38]. Принцип работы такого графенового датчика был основан на изменении электрической проводимости из-за изменения концентрации носителей заряда при адсорбции молекул.

Суперчувствительность графена обусловлена:

- его квазидвумерностью (отсутствуют «внутренние» атомы, на которых адсорбция невозможна, то есть «работает» весь образец);
- его высокой металлической проводимостью;
- малым количеством структурных дефектов, что гарантирует низкий уровень шума;
- возможностью измерять сопротивление 4-контактным методом, используя низкоомные электрические контакты.

Низкомолекулярные боронатные зонды – современный подход для селективного обнаружения H_2O_2 [39].

В настоящее время широко развивается новый подход в развитии сенсорики - методика названная зондирование на основе активности

компонента (Activity-based sensing, ABS). Методика предлагает общий подход, использующий химическую реактивность как метод селективного обнаружения биологических аналитов и манипулирования ими. Химические датчики — это мощные современные инструменты исследования биохимических процессов, позволяющие отслеживать изменения малых и больших биомолекул в пространстве и времени. Клетки выполняют множество сложных задач для поддержания жизни организма с помощью протекания различных биохимических процессов, опосредованных как ионами металлов (Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , $\text{Cu}^{1+/2+}$, $\text{Fe}^{2+/3+}$, Zn^{2+}), так органическими молекулами (пептидно-белковые гормоны, цитокины, липиды, гликаны и многие другие химические соединения). В этом контексте активные формы кислорода (АФК) также могут действовать как химические сигнальные вещества – медиаторы и играть важную роль в процессах передачи окислительно-восстановительных сигналов. АФК — это общий термин, используемый для обозначения большого количества малых и неустойчивых форм молекулярного кислорода, включая гидроксильный радикал ($\cdot\text{OH}$), озон (O_3), пероксинитрит (ONOO^-), супероксид ($\text{O}_2^{\cdot-}$) и перекись водорода (H_2O_2). Исторически АФК считались опасными побочными продуктами дыхания. Действительно, неправильная регуляция окислительно-восстановительных процессов и возникающий в результате этого окислительный стресс вызывает повреждения, связанные со многими патологиями, такими как нейродегенерация, рак и аутоиммунные расстройства. В настоящее время признано, что химия и биология АФК намного сложнее, поскольку образование специфических АФК жестко регулируется и также необходимо для нормальной передачи сигналов и прохождении метаболических процессов.

В соответствии с этим H_2O_2 является особенно привилегированным окислительно-восстановительным медиатором, продуцируемым из кислорода специфическими ферментами. Относительно высокая стабильность H_2O_2 , по сравнению с другими АФК, позволяет ей перемещаться внутри и между клетками и регулировать активность специфических белковых мишеней наряду с другими окислительно-восстановительными модификаторами. Таким образом, H_2O_2 была идентифицирована как жизненно важный медиатор биологических процессов, охватывающих иммунный ответ, ангиогенез и клеточную пролиферацию, дифференцирование и др. Такая важная биологическая роль H_2O_2 мотивирует разработку новых химических инструментов, позволяющих ее избирательно отслеживать. Методика зондирования на основе активности компонента (Activity-based sensing, ABS) предлагает общий подход, использующий химическую реактивность как метод селективного обнаружения биологических аналитов и манипулирования ими. Одно из направлений современной сенсорники основано на использовании

специальных сенсоров – зондов на базе боронатов. Данная метолика позволяет обнаруживать перекись водорода в специфических условиях живых организмов.

Селективность и избирательность является основной проблемой биовизуализации. В этом контексте синтетические зонды из низкомолекулярных объектов представляют собой привлекательное дополнение к сенсорам, основанным на макромолекулах - на белках и нуклеиновых кислотах. Действительно, в контексте селективного обнаружения АФК датчики флуоресцентных белков внесли свой вклад в понимание клеточного переноса H_2O_2 , но эти реагенты требуют генетического кодирования и дополнительных технических знаний для их использования. Ранние молекулярные зонды, такие как 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин (DCFH), были отмечены неселективной реакционной способностью в сложной биологической среде. Хорошо зарекомендовавшие себя традиционные подходы, основанные на связывающих флуорофорах, не подходят для отслеживания небольших субъектов таких как АФК.

Установлен, что боронаты могут быть преобразованы в фенолы путем окисления, опосредованного H_2O_2 . Один из разработанных зондов на H_2O_2 , обозначенный как Peroxyfluor-1 (PF1), был основан на применении в качестве каркаса традиционного флуоресцеина, но модифицированного арилборонатными эфирами в 3'- и 6'-положениях ксантеноном. Это позволило селективно обнаруживать H_2O_2 в моделях живых клеток [40].

Двумя ключевыми особенностями механизма реакции окисления боронатов являются во-первых двухэлектронная природа, которая отличает пероксиды от радикальных АФК, которые действуют как одноэлектронные окислители, и во-вторых отсутствие воды. При использовании такого зонда в сочетании с соответствующими средствами контроля для устранения возможности обнаружения пероксинитрита, боронатные зонды являются надежными реагентами на основе их активности для селективного обнаружения H_2O_2 . Хороший процент обнаружения при использовании зондов и простота синтеза Peroxyfluor-1 на основе арилборонатного эфира практически с любым типом флуорофорного каркаса способствовали быстрому развитию аналогичных зондов. Имеется ряд флуорофорных структур для обнаружения H_2O_2 , которые охватывают видимый и ближний инфракрасный (ближний ИК) диапазоны длин волн, обеспечивают логометрические показания, и нацелены на специфические органеллы и одновременно отслеживают другие важные аналиты. Важно отметить, что усовершенствование дизайна и появление новых подобных химических структур для боронатных зондов открывало новые фундаментальные идеи о биологической передаче сигналов H_2O_2 , открытие трансмембранных белков,

открытие специфических субклеточных источников АФК в сочетании с протеомным анализом. Сейчас имеются обширные каталоги по фотофизическим свойствам таких зондов [41-43].

Количественная оценка флуоресценции одного эмиссионного компонента является сложной задачей. В частности, потенциальные различия в оборудовании и параметрах приборов, фотообесцвечивание, агрегация зондов, изменения в окружающей среде зонда (рН, полярность, температура и т. д.) и другие факторы могут привести к искажению и даже к невозможным результатам.

Для этой цели был разработан ряд зондов, которые основаны на резонансной передаче энергии Фёрстера. Они высокоселективны в отношении H_2O_2 и к активным формам азота. Так, были получены на этом принципе датчики, с помощью которых количественно было определено содержание H_2O_2 в изолированных митохондриях дрожжей при стимуляции антимицином А [44-45].

Чтобы провести визуализацию живых клеток флуоресцентными количественными методами, были предложены зонды Peroxy Lucifer 1 (PL1), синтезированные на основе нафталимидного ядра с арилборонатной боковой группой, в которых используется механизм внутримолекулярного переноса (ICT). Это сделало возможным провести анализ продуцируемых эндогенных всплесков H_2O_2 и локализацию их в макрофагах [46]. Был получен аналогичный зонд на основе пероксинафталина 1 (PN1) для люминесцентной визуализации глубоких тканей с помощью двухфотонной микроскопии. Он позволил отслеживать различия в базальных уровнях H_2O_2 в различных областях срезов гиппокампа мозга крысы [47].

Датчик H_2O_2 на основе боратных люминесцентных зондов, сочетающий в себе механизмы ICT и FRET, имеет сенсорной основой кумариновый каркас связанный с нафталимидом, модифицированным боронатами (CNBE). Эта стратегия позволяла отслеживать повышение уровня H_2O_2 в клетках стимулированных липополисахаридов (LPS), и для рыбок данио *in vivo* [48]. Другие примеры логометрических зондов для определения пероксида на основе подобных зондов применялись для мониторинга окислительного стресса во время ишемического повреждения головного мозга или в моделях болезни Альцгеймера и Паркинсона [49-50].

Для повышения чувствительности, необходимой для мониторинга эндогенных изменений уровней H_2O_2 были использованы другие каркасы, например из резорфуфина, интродуцированного в монобораты Peroxy Green 1 (PG1) и Peroxy Crimson 1 (PC1). Они демонстрировали более высокую интенсивность флуоресцентного излучения после извлечения из клетки, чем ранее описанные диборонатные аналоги, и сохраняли высокую селективность

по отношению к H_2O_2 . Примечательно, что эти новые защищенные моноборонатом аналоги также превзошли неселективный зонд 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин (DCFH), который традиционно использовался в анализах клеточных пероксидов. Эти улучшения в чувствительности позволили использовать PG1 для мониторинга повышения уровня эндогенного H_2O_2 в передаче сигналов фактора роста, как показано на живых клетках A431, стимулированных эпидермальным фактором роста (EGF). Высокие уровни рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR), экспрессированные на клетках A431, обеспечивают полезную биологическую модель передачи сигналов H_2O_2 .

В совокупности эти опыты дали первое прямое визуализирующее доказательство роли H_2O_2 при селективной передаче сигналов в живые клетки. Важно отметить, что PG1 позволило визуализировать H_2O_2 в постнатальных нейронах гиппокампа крысы, предполагая, что аналогичные пути передачи сигналов АФК также активны в головном мозге. Опираясь на высокую степень настраиваемости в отношении фотофизических свойств и молекулярную селективность по отношению к H_2O_2 , следующий набор достижений привел к улучшению сигнала сохранение и/или пространственное разрешение за счет введения группы нацеливания на органеллы или механизмы захвата клеток.

Действительно, способность изучать возмущения в производстве и транспортировке H_2O_2 на уровне разрешения органелл остается постоянной проблемой, которую необходимо решить в области окислительно-восстановительной биологии. Накопление молекулярных носителей, нацеленных на специфические клеточные органеллы, может быть повышено путем создания целевых флуоресцентных каркасов.

Красители на основе дипиррометена бора (BODIPY) также нашли широкое применение для обнаружения митохондриального H_2O_2 , поскольку каркас BODIPY легко настраивается и относительно инертен к колебаниям pH и полярности. Кроме того, легко настраиваемый каркас BODIPY также позволил создать аналоги, чувствительные к протеазе. Стратегия митохондриального нацеливания использовалась для разработки двухфотонных флуоресцентных зондов для логотрической визуализации H_2O_2 в образцах тканей. Разработка флуорофоров с большими сечениями двухфотонного поглощения и повышенной чувствительностью к изменениям эндогенного H_2O_2 должна обеспечить дальнейшие успехи в визуализации на основе подхода активности компонент (ABS) с помощью двухфотонной микроскопии.

Присоединение пептидов к зондам ABS также позволяет легко осуществлять возможности настраиваемого нацеливания. Проведенные работы продемонстрировали, что транспорт H_2O_2 через мембраны не является

пассивным, как считалось ранее. Вместо этого оказалось, что транспорт H_2O_2 проводится по определенным каналам. Использование высокочувствительных боронатных зондов и метода ABS позволили выявить ключевые компоненты фундаментальных внутриклеточных сигнальных механизмов H_2O_2 . Применение зондов к живым клеткам млекопитающих облегчило визуализацию H_2O_2 в каждом месте с высокой точностью. Таким образом, применения метода ABS сочетает в себе значительные возможности нацеливания по генетическому кодированию с высокой избирательностью, что создает возможности проведения подход мониторинга внутриклеточного распределения H_2O_2 в патологических моделях.

Разработка одиночных зондов, способных реагировать на несколько аналитов, стала значительным шагом вперед в области зондирования на основе метода ABS. Мультианалитное зондирование может дать новое понимание сложного взаимодействия между различными биологическими явлениями, поскольку клеточные метаболические и сигнальные пути зависят от синергии нескольких химических видов. В контексте для обнаружения H_2O_2 было разработано множество датчиков, которые одновременно реагируют на гипохлорит, оксид азота, сульфид водорода, тиолы, pH, ферменты, белковые агрегаты, и вязкость. Зонды с двойной чувствительностью обладают некоторыми общими преимуществами по сравнению с одновременным использованием зондов с одним аналитом. Датчики с двойным откликом часто используют преимущества модуляции процессов фотоиндуцированного переноса электронов (PET), внутреннего переноса заряда (ICT) или резонансного переноса энергии Форстера (FRET), в зависимости от типа исследуемой системы. Особый интерес представляют зонды с двойным откликом, применяемые к моделям нейродегенеративных заболеваний. Например, зонды для одновременного мониторинга митохондриальных изменений как H_2O_2 , так и вязкости при исследовании болезни Альцгеймера.

Существует множество структурных модификаций конструкции флуорофора ABS, которые представляют собой альтернативу флуоресцентной визуализации и/или позволяют комбинировать несколько методов визуализации. Системы, использующие ПЭТ, фотоакустические или химические/биолюминесцентные характеристики, как правило, выигрывают от биовизуализации *in vivo* за счет большей глубины проникновения в ткани, хотя иногда за счет разрешения.

Также стоит отметить хемилюминесцентные подходы, которые исключают необходимость в системах, экспрессирующих люциферазу. Фотоакустическая (РА) визуализация вызвала значительный интерес для приложений визуализации *in vivo*, поскольку в ней используется обнаружение

звука посредством возбуждения зонда более длинноволновым, более глубоко проникающим светом. Акустическое обнаружение позволяет проникать на глубину в сантиметровых масштабах, поскольку звук рассеивается в биологических тканях значительно меньше, чем излучаемый свет. Фотоакустические датчики, как правило, предназначены для сведения к минимуму процессов безызлучательного распада, тем самым обеспечивая большую часть потерь энергии при облучении в результате выделения тепла, а не излучения флуоресценции. Повышение температуры вызывает термоупругое расширение окружающих тканей, а изменение давления приводит к генерации звуковых волн, обеспечивающих контрастность изображения. Зонды с использованием фотоакустической модальности обеспечивают многообещающее направление для сенсорной области, основанной на методе ABS .

Разработка тандемных стратегий распознавания и маркировки на основе метода активности для создания молекулярных зондов, улавливаемых клетками, в последнее время вызвала значительный исследовательский интерес.

Зондирование на основе активности обеспечивает общую и универсальную платформу для достижений в области биологии. В частности, низкомолекулярные зонды предлагают ряд преимуществ для биовизуализации, в том числе простоту использования, легко настраиваемый характер и возможность быстрого скрининга на нескольких биологических моделях. Действительно, быстрое развитие синтетических низкомолекулярных флуорофоров идет параллельно с развитием генетически кодируемых белковых окислительно-восстановительных сенсоров, которые часто демонстрируют непревзойденную специфичность и чувствительность. Важным в этой области является не соревнование, а взаимная поддержка доступными ресурсами и инструментами, которые расширяют возможности делать наиболее достоверные выводы при использовании изучаемой модели, особенно когда такие инструменты используются в тандеме.

Параллельно усовершенствования низкомолекулярных датчиков H_2O_2 также могут развиваться направления, основанные на применении постоянно развивающихся возможностей проектирования исходных структур флуорофора, отвечающих за фотофизические и химические характеристики.

Кроме того, разработка красителей со смещением в дальнюю красную (700–780 нм) и коротковолновую инфракрасную область ЭМ излучения (SWIR, 1000–2000 нм) имеет чрезвычайно важное значение, поскольку профили поглощения/испускания с большей длиной волны улучшают проникновение в глубину биологических веществ и минимизируют фоновую автофлуоресценцию, что значительно улучшает биовизуализацию *in vivo* .

Таким образом, открываются широкие возможности для использования быстро растущего набора триггеров метода ABS с синтетическими достижениями в дизайне структуры флуорофора.

4.5. Перспективы развития наносенсоров в виде одноразовых электродов

Последние успехи в области создания новых сенсоров, как химических, так и биологических, связаны с созданием так называемых одноразовых электродов. Стоимость таких ХС невысока, поскольку они могут быть изготовлены по планарной технологии в большом количестве. С использованием программ машинной графики можно создать матрицу, представляющую собой чертеж ЭХС, а затем напечатать несколько сот таких сенсоров (так называемые screen-printed электроды). Для реализации этой технологии требуются совсем незначительные изменения в технологии периферийных устройств ПК: как правило, ограничиваются изменением типа расходных материалов, а именно, применяют углеродсодержащие чернила и носитель на керамической или пластиковой основе, хотя возможно и использование особой бумаги. Состав чернил полностью определяет свойства, то есть характер отклика screen-printed электрода.

При всей полезности и перспективности исследований в области нанотехнологий следует уделить внимание роли наночастиц в современной жизни человека.

Метод мета- анализа для исследования биотрансформации клеток в ответ на действия наночастиц металлов

Люди все чаще подвергаются воздействию наночастиц (НЧ), которые происходят из различных промышленных продуктов, таких как пестициды, продукты питания, текстиль, косметика или краски, которые образуются в результате сжигания или выбросов транспортных средств или которые попадают в организм в медицинских целях. Это растущее воздействие НЧ ставит под сомнение их влияние на здоровье человека. Среди этих наночастиц наночастицы на основе металлов (т. е. наночастицы металлов, оксидов металлов или сульфидов металлов) составляют важную долю, и их нанотоксикология по-прежнему вызывает озабоченность. Все чаще считается, что металлические загрязнители оказывают серьезное влияние на здоровье человека, хотя механизмы, лежащие в основе токсичности металлов, все еще широко обсуждаются. Действительно, по-прежнему сложно определить, какое биологическое воздействие на здоровье человека может быть связано с металлом, из которого они состоят.

Частицы вещества и наночастицы претерпевают множественные преобразования и высвобождают ионы металлов на разных стадиях своего

жизненного цикла, либо до достижения клеток человека, либо после их поглощения клетками и обработки ими. Однако нет единого мнения о том, как клетки человека реагируют на различные формы металлов, которым она подвергается. Помимо разнообразия форм металлов, например, их наночастиц или растворимых форм, также не ясно, могут ли клетки человека иметь общий ответ на различные металлы, и как такие ответы связаны с токсичностью металлов.

Различные ионы металлов естественным образом обнаруживаются в организме человека в различных окислительно-восстановительных состояниях, концентрациях и местоположении. Некоторые из них, такие как железо, медь, цинк или марганец, необходимы для жизни человека, регулируя экспрессию, укладку и активность жизненно важных белков. Однако все металлы также токсичны, независимо от их основной роли, когда они превышают определенную концентрацию. Генетические заболевания, приводящие к накоплению металлов (первичный гемохроматоз для железа, болезни Вильсона и Менкеса для меди), подчеркивают пагубное действие основных ионов металлов в высоких дозах, когда механизмы гомеостаза нарушены. Напротив, известно, что так называемые тяжелые металлы, т. е. свинец, ртуть или кадмий, вызывают отравление даже при малых экспозиционных дозах. Некоторые металлы, в том числе заменимые и высокотоксичные, также используются в медицине в качестве терапевтических или диагностических средств, такие как противораковые препараты платины, препараты на основе золота против ревматоидного артрита или контрастные вещества на основе гадолиния.

Клеточный ответ на соединения металлов сложно уловить, поскольку он может варьироваться не только в зависимости от природы металла, но и от его химического состава (координационная сфера, противоионы, степень окисления, кристаллизация, размер, форма или состояние поверхности НЧ). Эта сложность затрудняет выявление общих закономерностей клеточного ответа на соединения металлов. Однако, если на этот ответ влияют многие особенности, вполне вероятно, что некоторые особенности воздействия металлов опережают другие, что и определяют большую часть клеточного ответа на соединения металлов. Очень важно идентифицировать и иерархизировать реакцию клеток человека на различные металлы, с которыми клетки сталкиваются в виде наночастиц или ионных форм.

В качестве компонентов сенсоров для использования в медицине все чаще используют нанообъекты, однако до сих пор нет устойчивого мнения о влиянии таких материалов на биологический организм. Разработке методик оценок действия нанообъектов на организмы посвящается значительное число исследований, что свидетельствует об острой необходимости решения

проблемы. В современном мере все большее значение приобретают статистические методы анализа экспериментальных многофакторных данных [51].

Качественный мета-анализ является ценным инструментом для выявления воспроизводимых закономерностей между металлическими соединениями, независимо от условий воздействия и типа клеток. Использование комбинации различных исследований дает возможность преодолеть эффект партии, полагаясь на результаты, полученные в различных контекстах, в широком диапазоне экспериментальных условий и на разных клеточных линиях. Кроме того, сочетание различных анализов увеличивает статистическую мощность и дает доступ к сигналам низкой интенсивности при условии, что они повторяются в наборах данных.

Использование статистического мета-анализа в процедуре анализа транскриптомного клеточного ответа был реализован, чтобы получить всестороннее представление о цитотоксичности, экотоксичность НЧ, доставка НЧ к опухолям или состав «белковой короны» наночастиц, опираясь на широкий спектр показателей, включая количественные, а также качественные факторы исходных данных. Меньшее количество исследований использует транскриптомные данные в качестве исходных для разгадки клеточного ответа на наночастицы. Исследования транскриптомики измеряют экспрессию нескольких тысяч генов в одном эксперименте. Таким образом, это важный инструмент для всесторонней регистрации состояния клеток и затронутых биологических путей. Этот подход был использован для изучения влияния диоксида титана или наноматериалов на основе углерода на функции легких, наночастиц серебра на эпителиальных клетках, влияния различных наночастиц на растениях, грибы или водные типы, а также чтобы выделить транскрипционные механизмы действия синтетических наноматериалов. Предлагается также использовать мета-анализ общедоступных транскриптомных данных для сравнения реакции клеток человека на восемь различных металлов, т. е. кадмий, медь, золото, железо, платину, серебро, титан и цинк, либо в их ионной форме, либо в форме наночастиц [51]. Этот список металлов содержит основные (например, железо, медь и цинк) и заменимые металлы с различными профилями токсичности. Сначала сравнивается клеточный ответ на различные материалы и ионы неконтролируемым образом с целью выявить общие черты клеточных ответов без предвзятых идей. Выяснилось, что реакция клеток одинакова для ионных форм и форм наночастиц одного и того же металла. Кроме того, общий клеточный ответ характерен для пяти из восьми металлов и управляется белками, связывающими металлы независимо от токсичности или физиологических функций этих металлов. В дополнение к этому общему

ответу далее определили активные биологические функции, которые специфически активируются одним или несколькими металлами и которые могут быть связаны с эффектами металлов как лекарств или ядов. Наконец, провели контролируемое исследование, чтобы идентифицировать наборы генов, которые часто активируются с более низкой интенсивностью, что позволило бы различать клеточный ответ на ионную форму или форму наночастиц металла или на незаменимые металлы по сравнению с заменимыми.

Использовалась база данных биотехнологической информации (NCBI GEO) для проверки и для выявления наборов данных *in vitro*, которые описывают реакцию клеток человека на однократное воздействие соединения металла, которым могут быть либо металлические НЧ, либо ионы металлов. Таким образом, этот подход позволил сравнить наборы данных, полученные в очень разных контекстах, которые иначе нельзя было бы свести воедино. Например, воздействие солей Pt, используемых в химиотерапии, или наночастиц Au, используемых в наномедицине, можно сравнить с воздействием наночастиц TiO₂, используемых в качестве пищевой добавки, без априорного воздействия на их результат в клеточном транскриптоме. Этот простой подход позволяет сравнивать экспрессию генов в разных условиях без предварительного знания интересующих систем и индивидуальных клеточных ответов.

Если сосредоточиться на краткосрочных реакциях клеток, то можно рассмотреть максимальный промежуток времени 7 дней между воздействием металла и экстракцией РНК. Исследование также ограничено транскриптомными данными, полученными с помощью ДНК-микрочипов, стандартизированного метода измерения экспрессии генов с небольшим количеством коммерческих микрочипов, стандартизированных протоколов и анализа, позволяющих надежно сравнивать данные, полученные в разных лабораториях. Кроме того, все данные в базе данных GEO соответствуют стандарту MIAME (минимальная информация об эксперименте с микрочипом) при представлении микрочипов, что обеспечивает легкий доступ к экспериментальным функциям данных. Исследованы реакции клеток, подвергшихся воздействию наноматериалов - для восьми металлов: титана (Ti), железа (Fe), меди (Cu), цинка (Zn), серебра (Ag), кадмия (Cd), платины (Pt) и золота (Au). Также исследованы реакции клеток на неметаллические НЧ - на основе углерода или НЧ на основе кремния.

В выбранных наборах данных чаще всего сравнивались множественные дозы, моменты времени после воздействия, типы клеток и НЧ разных размеров, покрытий и форм. Чтобы избежать дисбаланса между наборами

данных, все экспериментальные параметры не могли быть сохранены в конечном анализе, и экспрессия генов усреднялась.

Первый вопрос, который требует решения — это в какой степени коррелируют реакции клеток на наночастицы или ионные формы одного и того же металла. Поразительный результат состоит в том, что клеточные ответы на металлические НЧ и их ионы имеют общие черты. Это сходство можно объяснить, исследуя изменения наночастиц вне или внутри клеток. С одной стороны, при воздействии на клетки может происходить внеклеточное растворение НЧ: некоторые НЧ, нерастворимые в чистой воде, такие как CuO (оксид меди), ZnO (оксид цинка), и НЧ Ag. Однако было обнаружено, что они частично растворяются в культуральной среде клеток. Действительно, белки сыворотки могут связывать ионы металлов и смещать равновесие растворения в сторону ионной формы. С другой стороны, внутриклеточная деградация НЧ часто происходит в лизосомах, где большинство НЧ конвергируют и накапливаются по пути эндоцитоза. Эндолизосомы характеризуются окислительным потенциалом, умеренной кислотностью (минимум pH 4,5), высокой протеолитической активностью и способностями к окислительно-восстановительной регуляции, включая метаболизм глутатиона, а также регуляцию и запасание ферритина. Эта среда способствует растворению нескольких металлических НЧ и оксидов, в том числе оксидов железа, ZnO, CuO, серебра и золота и, следовательно, оказывает внутриклеточное воздействие на ионы металлов. Известно, что лизосомная обработка ионов металлов регулирует метаболизм/гомеостаз металлов или обеспечивает детоксикацию посредством секвестрации.

Особенно интересен обнаруженный случай деградации НЧ Au в лизосомах: поскольку НЧ Au малореактивны, их растворение в клетках наблюдается в течение недель или месяцев. Продольный транскриптомный мониторинг во время этого процесса растворения показал, что клеточный ответ на наночастицы Au заметно отличался от клеточного ответа на ионы Au первоначально, но при этом оба ответа были идентичны для более позднего времени. Это открытие предполагает, что скорость деградации НЧ внутри клеток является ключевым фактором для понимания сходства между реакциями клеток на металлические НЧ и их ионные формы.

В дополнение к этим механизмам растворения сходства в реакциях на ионы и НЧ также могут быть объяснены в свете процесса рекристаллизации металлов внутри клеток. Например, ионы Au и НЧ имеют общую внутриклеточную судьбу, поскольку они превращаются в единую форму, называемую ауросомами, после воздействия и интернализации клетками. Такие внутрилизосомальные структуры появляются быстро после воздействия ионного золота, и они же появляются лишь в течение нескольких дней или

месяцев после воздействия наночастиц золота. Эти внутрилизосомальные структуры состоят из самособирающихся кристаллизованных нанокластеров золота. Образование ауросом наглядно иллюстрирует то, что ионы и НЧ одного и того же металла могут обрабатываться клетками одинаковым образом, вызывая аналогичную экспрессию генов. Процессы кристаллизации из ионных частиц также обнаружены для других металлов, таких как Pt, Ag, Zn и Fe. Установлено, что внутриклеточная и внеклеточная среда непрерывно трансформирует НЧ Ag, Cu, Zn, Fe и Au в их ионные формы и, наоборот, клетки, подвергающиеся воздействию ионов металлов, также могут биоминерализовать НЧ *in situ*. Таким образом, предполагается, что непрерывность внутриклеточной судьбы может объяснить то, что в основном одни и те же гены участвуют в клеточном ответе на ионные формы и наночастицы этих металлов, таким образом проявляя общий метаболизм для НЧ и ионов.

Помимо корреляции ответа клетки на ионы и НЧ одной природы, важно знать механизм реакции клеток на разные металлы. В результате исследований, как оказалось, можно выделить две группы материалов. С одной стороны, соединения на основе Cu, Zn, Cd, Ag (как ионы, так и НЧ) и ионы Au. Это группа металлов с общей клеточной реакцией, которая четко отличается от клеточных реакций на материалы второй группы, такие как Fe (как ионы, так и НЧ), Pt (ионы), Ti (НЧ), а также неметаллические НЧ кремния и углерода. Транскриптомные ответы на Pt, Ti и Fe плохо коррелируют между собой, что свидетельствует об уникальности этих трех металлических соединений. Для исследования клеточных ответов на наночастицы и ионы Cu, Zn, Ag, Cd и Au были рассмотрены семь наиболее часто активируемых протеинов. Из этого списка выделили тех, которые продемонстрировали лучше всего разницу общего ответа клеток, обработанных Cu, Zn, Ag, Cd и Au, от клеток, обработанных Ti, Fe, Pt или неметаллическими НЧ. Как оказалось, пять протеинов принадлежат к семейству металлотионеинов. Металлотионеины (MT) представляют собой небольшие белки, участвующие в хранении и детоксикации металлов. Они содержат 30% цистеина, серосодержащая группа которого может сильно взаимодействовать с ионами металлов. Два других протеина взаимодействуют с металлами и их роль более общая и менее специфичная. Основной вывод заключается в том, что Cu, Zn, Ag, Cd и Au обычно активируют MT или связанные с MT соединения в экспонированных клетках, в отличие от других исследованных металлических и неметаллических материалов. Это согласуется с известным взаимодействием этих пяти металлов с белками MT. Напротив, четких результатов о взаимодействии MT с ионами Ti не получено. Взаимодействие Pt и Fe с MT более сложное. Было замечено, что ионы Pt могут взаимодействовать с MT *in*

vivo у крыс, и что Fe (II) может связывать безметалловые МТ кролика. Однако эти исследования предполагают, что ионы Fe и Pt могут связываться только со свободной тиоловой функцией МТ и не могут вытеснять ионы металлов, которые уже связаны с белком.

Соответственно, результаты позволяют сделать классификацию металлов: те, которые имеют большее сродство, чем ионы Zn, к МТ-тиолам, и те, которые имеют более низкую энергию связи, чем ионы Zn. Это может быть связано с несколькими параметрами. Во-первых, поскольку тиолы, как известно, в кислотно-основной теории Пирсона являются мягкими основаниями, они должны взаимодействовать преимущественно с мягкими кислотами, а именно Cu^+ , Ag^+ , Au^+ , Cd^{2+} и Pt^{2+} , тогда как Zn^{2+} и Fe^{2+} имеют промежуточное поведение, а Ti^{4+} является жесткой кислотой. Это могло бы объяснить, почему ионы Ti не взаимодействуют с МТ, в то время как другие взаимодействуют, а также почему ионы Zn особенно подходят для регулирования синтеза МТ, поскольку они имеют промежуточное поведение, которое позволяет другим ионам металлов вытеснять их из МТ. Однако это не объясняет, почему ионы Pt и Fe не могут вытеснить Zn из нагруженных МТ. Вторым параметром, который может влиять на способность металлов связывать МТ, является предпочтительная конфигурация ионов внутри МТ. Ионы металлов связываются с МТ с диагональной, тригональной или тетраэдрической координацией, что неблагоприятно для ионов Pt^{2+} и Fe^{2+} . Подобный ответ на соединения на основе Cu, Zn, Ag, Cd и Au может быть связан с их химическими свойствами и, вероятно, с комбинацией двух факторов: их сродством к тиолам с мягким основанием и их принятием геометрии связывания МТ.

В целом, сравнение транскриптомных сигнатур металлов выявило общий клеточный ответ на Cu, Zn, Ag, Cd и Au, в котором доминирует МТ или активация, связанных с МТ. Напротив, три оставшихся металла, Ti, Fe и Pt, а также НЧ на основе неметаллического углерода и кремния не вызывают такой активации, поскольку они, вероятно, менее сильно взаимодействуют с тиолами МТ из-за их химических свойств.

Анализ транскриптомного клеточного ответа четко выявил общие механизмы клеточного ответа на Cu, Zn, Ag, Cd и Au. Однако эти металлы по-разному влияют на клетки и организмы. В перечень входят высоко- и среднетоксичные металлы, физиологические или эссенциальные металлы, заменимые металлы, а также ионы, широко используемые в качестве сильнодействующих лекарственных средств. Это говорит о том, что помимо общего ответа, опосредованного МТ, эти соединения могут иметь различные взаимодействия с клетками и белками. Используя анализ транскриптомного клеточного ответа, исследовали наиболее активные петидные формы. Были

зафиксированы пептиды, которые были высоко специфичны для металлической формы, и полученные данные были ассоциированы с несколькими биологическими функциями материалов. Так, детоксикация металлов в основном направляется пептидами МТ и четко идентифицирована, что подтверждает приведенный выше анализ отдельных пептидов.

К настоящему можно считать, что в клеточном ответе на НЧ в значительной степени преобладает ответ на ионы металлов, высвобождаемые после растворения НЧ, а не на состав в виде НЧ. Все большее число исследований предполагает, что большая часть наблюдаемой токсичности металлических НЧ может быть связана со свободными ионами металлов, а не с самими НЧ. Этот эффект был назван эффектом троянского коня, поскольку интернализированные НЧ могут высвобождать свои металлические соединения непосредственно внутри клетки, в то время как поглощение ионов металлов жестко контролируется клеткой. Таким образом, высвобождаемые ионы металлов играют важную роль в клеточном ответе на НЧ как в транскриптомном, так и в токсикологическом аспекте.

Исследования соединений на основе Cu, Zn, Ag, Cd, Au показали, что они вызывают похожие ответы клеток при активации других пептидов. Известен пептидный ответ на окислительный стресс (метаболизм - глутатион) или на иммунный стресс (цитокины). Взаимосвязь между ионами металлов и окислительным стрессом широко известна как определяющий фактор токсичности металлов.

Как ионы Fe, так и Fe-содержащие НЧ, по-видимому, не вызывают четкой реакции по сравнению с другими металлами. Этот неясный ответ может быть связан либо с отсутствием данных для описания этих состояний, либо с более высокой изменчивостью клеточного ответа на соединения Fe, чем на другие соединения металлов. Точно так же никакая клеточная функция явно не активируется наночастицами Ti, углерода или кремнезема. Напротив, ионы Pt вызывают повреждение ДНК, нарушение регуляции клеточного цикла и апоптоз.

Сопоставление результатов по транскриптомной реакции и биологическому действию этих металлических соединений крайне важно для анализа. Например, ионы Pt обычно используются в качестве мощного противоракового препарата, который взаимодействует с ДНК и вызывает повреждение ДНК. Этот механизм действия полностью согласуется с мета-анализом, который указывает на повреждение ДНК, вызванное именно ионами Pt. В другой области медицины ионы золота использовались в течение 50 лет для лечения пациентов с ревматоидным артритом. Ревматоидный артрит является хроническим воспалительным заболеванием, и ионы золота потенциально мешают работе иммунной системы. Здесь мета-анализ

показывает активацию нескольких пептидов, связанных с воспалением. Эта воспалительная реакция, по-видимому, опосредована сверхэкспрессией определенного типа пептида, который может «переводить» окислительный стресс в иммунный стресс.

Если ионы Pt и Au в основном известны своим медицинским применением, то другие металлы, такие как ионы Cd известны своей высокой токсичностью. Ионы Cd, в отличие от большинства других ионов, связанных с МТ, не вызывают гиперэкспрессию пептидов, связанных с окислительным стрессом, которые кодируют антиоксидантные белки. Это неожиданный результат, поскольку известно, что ионы Cd генерируют свободные радикалы. Активные формы кислорода должны быть захвачены и дезактивированы белками-антиоксидантами, чтобы избежать повреждения клеток. Следовательно, в отсутствие активации антиоксидантного белка ионы Cd могут повредить клетку, что объясняет его токсичность. В целом, анализ транскриптомного клеточного ответа подчеркивает некоторую специфичность каждого металла в соответствии с их известным биологическим эффектом. Стоит подчеркнуть, что сингулярные признаки металлов вторичны по отношению к их общей сигнатуре для группы металлов Cu, Zn, Ag, Cd и Au.

Как уже упоминалось, ответ клеток на НЧ металлов в первую очередь определяется их ответом на ионы металлов. Однако важно ответить на такой вопрос: может ли существовать другой ответ на НЧ, который может быть скрыт другими биологическими функциями, которые выступают на первый план. Чтобы проверить эту гипотезу, провели исследование для определения наборов пептидов, которые будут отличать НЧ от их ионных форм и которые могут быть скрыты доминирующим клеточным ответом.

Среди пептидов, которые связываются и активируются наночастицами, были выделены некоторые из них, которые связаны с внутриклеточным транспортом и цитоскелетом. Поскольку НЧ плотнее, крупнее и жестче, чем большинство биологических органических соединений, возникающие нарушения в клетке могут быть объяснены внутриклеточным перемещением НЧ внутри клеток, что вызывает перестройку цитоскелета. Взаимосвязь между интернализацией наночастиц и цитоскелетом изучалась и ранее для большого разнообразия наночастиц. Важно определить список родственных пептидов и генов, которые характеризуют клеточный ответ на НЧ для разных НЧ и разных клеток. Требуется оценить, как отсутствие реакции со стороны этих генов повлияет на поглощение наночастиц и внутриклеточные процессы. Наконец, принимая во внимание большое разнообразие биологических функций металлов, задались вопросом, может ли квалификация металлов как жизненно важных (Cu, Zn, Fe) или высокотоксичных (т. е. Ag, Cd, Pt) привести к

выделению списка генов при использовании того же метода, который применяли для наночастиц.

Окончательный вывод может быть сделан следующим образом. В настоящее время разработана и испытана методика оценки влияния наночастиц, основанная на применении метаанализа общедоступных данных, касающихся транскриптомного ответа клеток человека на воздействие различных наночастиц металлов или оксидов металлов (наночастицы Ti, Fe, Cu, Zn, Ag и Au), ионов металлов (Fe, Cu, Zn, ионы Ag, Cd, Pt и Au). Методы анализа позволили идентифицировать общие и отдельные признаки реакции организма на соединения металлов, а также их относительную интенсивность. Предлагаемый алгоритм анализа сочетает в себе использование строгого контроля качества (избегание избыточности, контроль распределения значения) и очень общую формулировку, которая может быть расширена или адаптирована к широкому кругу баз данных и биологических вопросов. Одно из ограничений заключается в том, что многие шаги основаны на усреднении сигнала (между различными дозами, временными точками и типами НР в качестве первого шага, между различными типами клеток в качестве второго шага), что может скрывать истинное поведение.

Первым важным биологическим вопросом, который требуется решить, является существование общего клеточного ответа на соединения металлов, как на класс материалов с определенным химическим составом, который возникает из-за сходства в транскриптомном профиле. Пять из восьми рассмотренных металлов, а именно Cu, Zn, Ag, Cd и Au, оказались группой, вызывающей общий и интенсивный транскриптомный ответ, не наблюдаемый в клетках, подвергавшихся воздействию НЧ неметаллического углерода и кремния или Fe, Ti и Pt. Эта сигнатура обусловлена обычной сверхэкспрессией генов, связанных с металлотионеинами (MT) или MT, которые участвуют в гомеостазе Zn и Cu, детоксикации тяжелых металлов и клеточном окислительно-восстановительном процессе. Из этого доминирующего клеточного ответа можно сделать вывод, что соединения на основе Cu, Zn, Ag, Cd и Au в основном обрабатываются посредством общего метаболизма, связанного с MT независимо от их конкретного исхода и судьбы внутри клетки. Еще один важный вывод метаанализа заключался в том, что Fe, Pt и Ti, а также неметаллические наночастицы были исключены из группы металлов, чей клеточный гомеостаз в основном зависит от MT. Это может быть связано с их отличительными химическими свойствами, которые определяют взаимодействие ионов металлов с MT. Эти результаты согласуются с предположением о том, что металлы можно классифицировать в соответствии с их способностью вытеснять ионы Zn из MT и, таким образом, индуцировать биосинтез MT из-за сочетания их сродства к тиолам с мягким основанием и их

принятия геометрии связывания МТ. Помимо общего воздействия ионов металлов и НЧ на путь связывания металлов, мета-анализ также выявил индивидуальные реакции для каждого типа металлов, такие как активация окислительного стресса или путей воспаления, которые обычно наблюдаются с меньшей интенсивностью, чем ответ МТ. Интересно, что эти клеточные реакции коррелируют с известными сингулярными эффектами некоторых металлов, такими как биологические функции ионов Au и Pt в качестве лекарств, что также подтверждает статистический подход в исследовании.

Помимо категоризации металлов в соответствии с их транскриптомным воздействием, основной исходный биологический вопрос, заданный в ходе этого метаанализа, заключался в том, реагируют ли клетки человека сходным образом на ионы металлов и НЧ металлов. Этот вопрос лежит в основе большинства экспериментальных установок для оценки токсичности неорганических НЧ и длительных дебатов о биологическом воздействии, связанном со структурой НЧ по отношению к их отдельным компонентам. Наш основной результат заключается в том, что реакция на различные НЧ металлов, включенные в метаанализ, не отличается от реакции соответствующих ионов металлов. Анализ методом главных компонент, а также ранжирование генов с наиболее активируемыми генами не выявили четкого различия металлических и ионных форм одного и того же металла, и при сравнении большинства металлов в обеих формах были обнаружены высокие коэффициенты корреляции. Особенно, НЧ металлов или оксидов металлов, которые склонны к деградации и высвобождению ионов (т.е. Cu, Zn, Ag), вызывают транскрипты генов, более близкие к транскриптам их конститутивных ионов. Эти важные результаты проливают свет на континуум клеточных ответов на НЧ и ионные формы, что можно объяснить общей внутриклеточной судьбой в некоторых точках их пути в клетке.

Иерархический анализ наборов транскриптомных данных также позволил искать ответы низкой интенсивности, характерные для заданного набора условий (например, НЧ против ионов, высокотоксичные и умеренно токсичные металлы, биоэссенциальные и небиеэссенциальные металлы). С помощью этой контролируемой стратегии могли бы выяснить, может ли доминирующее сходство между ответами на ионы металлов и НЧ скрывать низкоинтенсивную сигнатуру, связанную со специфичностью НЧ. Примечательно, что пролили свет на несколько генов, которые более специфически сверхэкспрессируются после воздействия наночастиц (металлических или нет) и особенно плохо разлагаемых наночастиц. Эта сигнатура, связанная с NP, содержит гены, связанные с цитоскелетом и транспортом везикул, которые могут быть индуцированы внутриклеточным переносом NP, включающим натяжение мембран и перестройку цитоскелета,

которые не наблюдаются с молекулярной формой металлов. Этот признак, связанный с физическими свойствами наночастиц (размер, высокое отношение поверхности к объему, жесткость, архитектура), важно рассматривать как первичную детерминанту клеточного ответа, который не зависит от конститутивных элементов. Вопреки тому, что мы наблюдаем в отношении формы наночастиц, ни один набор генов не может быть коррелирован с основным характером металла или его токсичностью с достаточно высоким показателем распределения.

В целом, важный вывод о том, что клеточный ответ на НЧ металлов включает в себя ответ на ионы металлов, имеет несколько последствий. С токсикологической точки зрения воздействие НЧ металлов на клеточном уровне (несмотря на некоторые различия в биораспределении или биодоступности на тканевом уровне) можно предсказать по влиянию составляющих их ионов, которое часто лучше выяснено. Это может привести к смене парадигмы, при которой более важно понимать и контролировать биотрансформацию и жизненный цикл НЧ, чем их первоначальные химические свойства. Точно так же терапевтические перспективы металлических НЧ можно было бы предвидеть с учетом биологических функций и судьбы составляющих их ионов, а также процесса кристаллизации *in situ*. Например, общая судьба НЧ Au и ионов Au.

Использование методики может помочь понять биологическое действие сложных НЧ, таких как наночастицы, которые участвуют в загрязнении атмосферы. Эти частицы трудно описать, поскольку они содержат несколько химических элементов с высокой дисперсией между частицами. Таким образом, понимание соответствующей роли растворимой части и нерастворимой части является краеугольным камнем для оценки их токсичности. Если бы реакцию на металлическую часть частицы можно было оценить для ее внеклеточной и внутриклеточной растворимой фракции, как показано в методике для простых НЧ, это могло бы значительно улучшить понимание токсичности таких загрязнителей.

4.6. Современные технологии датчиков глюкозы

Интенсивная терапия глюкозой при диабете 1 типа снижает риск осложнений, в частности микрососудистых осложнения ретинопатии, нефропатии и невропатии. Однако такое снижение осложнений было связано учащением случаев гипогликемии. Технология мониторинга уровня глюкозы используется для лечения диабета уже три десятилетия. Поддержание нормального уровня сахара требует постоянного контроля пациентом и медицинским работником, используя устройства для измерения уровня глюкозы. В настоящее время для корректировки лечения диабета

преимущественно используется точечная выборка результатов анализов по глюкозе капиллярной крови. Традиционные устройства используют ферментативные методы измерения концентрации глюкозы и предоставления информации о точечном образце. Совсем недавно стали доступны устройства для мониторинга уровня глюкозы, предоставляющие более подробные данные об отклонениях уровня глюкозы. Многие технологии используются для разработки новых датчики глюкозы, в том числе неинвазивные, непрерывного действия мониторы. Первая заявка на патент на прибор для измерения уровня глюкозы в крови у больных сахарным диабетом для применения на месте оказания медицинской помощи было подано в 1971 г. в США Антоном Клеменсом. Измеритель Эймса (Ames Euetone) был прибором, который автоматически оценивал изменение цвета ферментативных реагентных полосок. До этого определяли уровень глюкозы в крови считывая изменение цвета на глаз по диаграмме. Измерители Эймса стали обычным явлением, но были ограничены клиническими областями, такими как как врачебные кабинеты и больничные палаты. Одним из первых пациентов, использовавших устройство в домашних условиях, был Ричард Бернштейн, врач из США, страдающий диабетом 1 типа. Он написал руководство по достижению нормального уровня сахара в крови. Первые исследования с использованием измерителя Эймса для домашнего мониторинга уровня глюкозы в крови был опубликован в 1978. Были набраны 10 пациентов с диабетом 1 типа при среднем возрасте 25 лет. На момент поступления на исследование их средний гликированный гемоглобин (HbA 1c) составлял 10,3%. После обучения использованию измерителя отражения Эймса дома и последующее наблюдение в течение 4–6 месяцев, средний уровень HbA 1c составил 5,4%, что демонстрирует резкое улучшение гликемического индекса.

Ранние исследования самоконтроля уровня глюкозы в крови показали, что эта технология приемлема для пациентов и улучшает гликемический контроль. Важно отметить, что самоконтроль также снижал частоту гипогликемии. После первоначальных исследований интерес к домашнему мониторингу уровня глюкозы в крови возрос, и в 1986 году Американская диабетическая ассоциация, Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов и Национальные институты здравоохранения выпустили совместное заявление, рекомендуемое самоконтроль уровня глюкозы в крови для следующих целей:

- беременность, осложненная сахарным диабетом;
- лица со склонностью к тяжелому кетозу или гипогликемия;
- лица, склонные к гипогликемии, которые могут не испытывать обычные предупреждающие симптомы;

- лица, проходящие программы интенсивного лечения, особенно те, кто использует портативные устройства для инфузий инсулина и многократные инъекции в день;

- лица с аномальным порогом глюкозы в почках.

Указывалось, что, несмотря на споры, мониторинг уровня глюкозы в крови в домашних условиях может быть полезен для пациентов с диабетом, не получающих инсулинотерапию. После этого самоконтроль уровня глюкозы в капиллярной крови стал важным компонентом лечения сахарного диабета 1 типа, предоставляя пациентам инструмент для управления лечением и выявления гипо- или гипергликемии. Самоконтроль уровня глюкозы в крови также был исследован при диабете 2 типа, но последовательного улучшения гликемии не было продемонстрировано. Рекомендуются: самоконтроль уровня глюкозы в крови у пациентов с диабетом 2 типа, получающих инсулинотерапию; тем, кто принимает пероральные сахароснижающие препараты, для предоставления информации о гипогликемии; оценка изменений в контроле уровня глюкозы в результате приема лекарств и изменения образа жизни; мониторинг изменений при интеркуррентных заболеваниях и обеспечение безопасности при деятельности, в том числе при вождении автомобиля.

Идеальный сенсор глюкозы должен быть избирательным к глюкозе с быстрым и предсказуемым откликом на изменение концентрации глюкозы. Получение результатов должно зависеть от обратимого и воспроизводимого сигнала, а производство датчиков должно быть воспроизводимым и дешевым в больших масштабах. Он должен иметь длительный срок службы в физиологических условиях, но прежде всего должен быть приемлем для пациента. Следовательно, он должен быть неинвазивным, не требовать пользовательской калибровки и в идеале обеспечивать непрерывную информацию о глюкозе в режиме реального времени. Непрерывный мониторинг уровня глюкозы предоставляет данные о направлении, величине, продолжительности, частоте и потенциальных причинах колебаний уровня глюкозы в крови, предоставляя пациентам данные в режиме реального времени и сигналы тревоги во время гипогликемии или быстрого изменения уровня глюкозы. Непрерывный мониторинг глюкозы также необходим для осуществления контроля с обратной связью.

В рекомендациях по непрерывному мониторингу глюкозы подчеркивается важность обучения пациентов и клинического понимания технологии и данных, которые предоставляются. В действующем стандарте Международной организации (ISO DIS 15197) указано, что для эталонных значений глюкозы $\leq 4,2$ ммоль/л (75 мг/дл) датчик должен определять результат в пределах 0,83 ммоль/л (15 мг/дл), а для эталонных значений

глюкозы $\geq 4,2$ ммоль/л, датчик должен быть в пределах 20%. Помимо нормативных стандартов, точность (правильность) и прецизионность (степень точности) датчиков глюкозы по сравнению с эталонными методами можно измерить многими способами. Для оценки точности можно использовать линейную регрессию и коэффициент корреляции, но клиническая значимость ошибки в определении уровня глюкозы зависит от абсолютного значения эталонного и сенсорного уровня глюкозы, а также от направления и величины ошибки. Регрессионный анализ зависит от высокоточного эталонного метода, и коэффициенты корреляции могут быть высокими при низкой точности. Регрессия измеряет отклонение от желаемой линии $x = y$, но коэффициенты корреляции могут быть высокими независимо от точки пересечения y или градиента. И регрессия, и корреляция зависят от диапазона измеренных значений.

Часто используемым методом оценки мониторов глюкозы является сетка ошибок Кларка, разработанная в 1980-х годах. Оценивается производительность монитора по оси y относительно эталонного уровня глюкозы по оси x , определяя клинический риск для любой ошибки датчика глюкозы. Результаты попадают в одну из пяти зон риска, обозначенных А, В, С, D и Е. Области определяются следующим образом: зона А, клинически точная; зона В, доброкачественная; зона С, гиперкоррекция; зона D, невозможность обнаружения; зона Е, ошибочно. Зоны А и В клинически приемлемы, но результаты, попадающие в зону С, могут вызвать гиперкоррекцию, ведущую к гипо- или гипергликемии. Зона D представляет собой неспособность обнаружить гипо- или гипергликемию, а зона Е представляет ошибочные результаты. Чтобы установить границы риска, построение сетки ошибок Кларка предполагает (i) что целевой уровень глюкозы в крови составляет 3,9–10,0 ммоль/л, (ii) что пациенты будут корректировать только вне этого диапазона, (iii) что коррекция неуместна, если уровень глюкозы в крови выходит за пределы этого диапазона, и (iv) неадекватность лечения уровня глюкозы в крови между 3,9 и 13,3 ммоль/л нецелесообразна. Границы между рисками в сетке ошибок Кларка не являются последовательными, а это означает, что небольшое изменение концентрации глюкозы, сообщаемое датчиком, может переместить результат из благоприятной зоны В в клинически значимую зону D или наоборот. Несмотря на допущения, сделанные при построении сетки ошибок Кларка, и недостатки ее реализации, она широко использовалась при оценке сенсоров глюкозы.

В 2000 году Паркс и др. предложили сетку ошибок консенсуса, основанную на ответах 100 эндокринологов, которых попросили определить риск ошибок самоконтроля уровня глюкозы в крови. Согласованная сетка ошибок имеет непрерывные группы риска, что позволяет избежать пропусков,

возможных в сетке ошибок Кларка, и основана на консенсусном мнении большего числа врачей. Она также имеет отдельные сетки ошибок для диабета типа 1 и типа 2, что позволяет проводить отдельную оценку. Однако ответы врачей были основаны на конкретных примерах пациентов и не могут быть переданы другим лицам. При прямом сравнении с использованием того же набора данных сетка ошибок консенсуса оценила 98,6% точек данных как клинически приемлемые по сравнению с 95% в сетке ошибок Кларка. Сетки ошибок, регрессия и корреляция предоставляют данные о статической точности, но не учитывают время парных результатов. Для оценки непрерывного мониторинга уровня глюкозы временная последовательность результатов является важным фактором, который следует учитывать. В 2009 году Ковачев и др. описали непрерывный анализ сетки ошибок глюкозы (CG-EGA). При этом учитывали временные характеристики непрерывных мониторов и задержку между измерением крови для эталонных значений и интерстициальной жидкости для непрерывных значений датчика. CG-GA использует сумму анализа ошибок точечных значений глюкозы и скорости изменения глюкозы. Затем работа датчика стратифицируется для гипогликемии, эугликемии и гипергликемии с учетом различных рабочих характеристик датчиков непрерывного действия в этих диапазонах. Результаты, полученные с помощью CG-EGA, зависят от частоты дискретизации и предполагают время задержки менее 7 минут. Для оценки точности можно использовать парные данные непрерывных мониторов глюкозы и однократных измерений. Средняя разность ($MD = \text{среднее значение датчика} - \text{эталонные значения}$) и средняя относительная разница ($MRD = MD / \text{эталонное значение} \times 100$) обеспечивают оценку систематической ошибки или недооценки датчиком, но уравнивают ошибки по обе стороны от эталона. Средняя абсолютная разница ($MAD = \text{среднее значение абсолютной разницы между датчиком и контрольным значением}$) и средняя абсолютная относительная разница (MRD , абсолютная разница, выраженная в процентах от контрольного значения) дают оценку общей точности, но не дают никакого представления для направления ошибки. Графики Бленда-Альтмана выражают разницу между двумя методами по сравнению со средним значением обоих методов в парной точке данных. Этот метод может быть использован для оценки правильности или прецизионности путем нанесения на график различных модальностей измерения или повторения одной и той же модальности и дает графическое представление согласованности в дополнение к демонстрации любой взаимосвязи между систематической погрешностью и концентрацией глюкозы.

Подгонка комбинированной кривой использует линейную регрессию по методу наименьших квадратов, чтобы подогнать значения датчика к кривой.

Предполагая, что кривая датчика такая же, как эталонная, их можно наложить друг на друга, что позволит рассчитать сдвиг по горизонтали (запаздывание) и сдвиг по вертикали (смещение). Этот метод не требует одновременных парных точек данных и использовался для расчета задержки между типами датчиков и между кровью и интерстициальной жидкостью. Датчики глюкозы могут быть инвазивными, неинвазивными или минимально инвазивными и могут зависеть от трансдермальных технологий или взятия проб крови или интерстициальной жидкости (ИСФ, ISF). Методы могут измерять глюкозу напрямую или могут измерять суррогаты изменений концентрации глюкозы. Многие из рассмотренных технологий оценивают уровень глюкозы в пределах ИСФ. Трансдермальные технологии используют физическую энергию для доступа к ИСФ или крови и извлечения глюкозы. Их можно рассматривать как неинвазивные, поскольку они физически не нарушают кожный барьер. Однако они изменяют свойства кожи и могут вызывать эритему, местное раздражение и образование волдырей. Оптические технологии используют физические свойства света для оценки уровня глюкозы в ИСФ или в передней камере глаза. Эти принципы действительно неинвазивны.

Интерстициальная жидкость представляет собой некую часть небольшого объема. Глюкоза поступает в ИСФ из крови в результате свободного и быстрого обмена и удаляется из ИСФ путем поглощения клетками внутри. Концентрация глюкозы в ИСЖ зависит от кровотока, скорости метаболизма и скорости изменения концентрации глюкозы в крови. Пиковые концентрации глюкозы в интерстициальной жидкости отстают от повышения концентрации глюкозы в крови на 2–45 мин. Исследования показали, что среднее время задержки составляет 6,7 мин [22]. Однако, когда уровень глюкозы в крови падает, концентрация глюкозы в интерстициальной жидкости может упасть раньше, чем концентрация в крови, что свидетельствует о том, что глюкоза ISF может служить ранним предупреждением о гипогликемии [23]. Время задержки между уровнем глюкозы в крови и ISF зависит от вида, типа датчика, размера датчика, примененного экспериментального стимула (прием пищи, внутривенный тест на толерантность к глюкозе, пероральный тест на толерантность к глюкозе), наличия у субъекта диабета и глубины датчика в ткани. Запаздывание означает, что датчики ИСФ необходимо калибровать по значению уровня глюкозы в крови через регулярные промежутки времени. Если в точке калибровки имеется большое расхождение, эта ошибка может быть «исправлена» для всех результатов, выдаваемых датчиком ИСФ, до следующей калибровки. Несоответствие между изменениями уровня глюкозы в крови и ИСФ может свидетельствовать о том, что датчики глюкозы ИСФ не идеально подходят для использования в системах доставки инсулина с замкнутым контуром,

поскольку гипергликемические осложнения и гипогликемия (и последующая нейрогликопения) зависят от концентрации глюкозы в крови. В подкожно-подкожных замкнутых системах, где ИСФ используется для определения уровня глюкозы, а инсулин доставляется подкожно, наблюдается дальнейшее отставание в доставке и всасывании инсулина.

4.6.1. Неинвазивные датчики глюкозы

Оптические преобразователи используют свет с переменной частотой для обнаружения глюкозы, используя различные свойства света для взаимодействия с молекулами глюкозы в зависимости от концентрации. Спектроскопическое измерение отраженного или проходящего света также может хорошо подходить для измерения уровня глюкозы в передней камере глаза в результате уменьшения помех от компонентов кожи и уменьшения биохимических артефактов по сравнению с ИСФ.

Инфракрасная абсорбционная спектроскопия. Свет среднего инфракрасного диапазона имеет длину волны от 2,5 до 50 мк. В абсорбционной спектроскопии измеряется интенсивность пучка света определенной длины волны до и после взаимодействия с веществом. Полосы поглощения, видимые на этой длине волны, обусловлены фундаментальным растяжением и изгибом молекул. ИК-спектроскопия использовалась для измерения концентрации глюкозы в крови и воде *in vitro*. Однако измерению глюкозы препятствует значительное фоновое поглощение другими молекулами, в частности водой. В дополнение к этому, в этом диапазоне свет имеет небольшую длину пути через ткань, а это означает, что он может измерять только поверхностные концентрации.

Несмотря на это, концентрация глюкозы в цельной крови измерялась *in vitro* со стандартной ошибкой прогноза 0,95 ммоль/л. В отличие от среднего инфракрасного диапазона, свет ближнего инфракрасного диапазона (длина волны 0,7–1,4 мкм) обеспечивает оптическое окно, в котором 90–95% света проходит через роговой слой и эпидермис в подкожное пространство независимо от пигментации кожи. Он уже успешно используется для неинвазивного мониторинга концентрации оксигенированного и деоксигенированного гемоглобина в головном мозге недоношенных детей. Удельное поглощение NIR зависит от молекулярной структуры, и пики поглощения глюкозы в этой области малы. Для расчета концентрации глюкозы по спектру поглощения использовались методы пропускания и отражения. Для количественного определения одного растворенного вещества в сложном растворе используются несколько длин волн, а для получения значений глюкозы используется многомерный анализ с калибровкой.

Все спектроскопические методы сталкиваются с множеством проблем, включая рассеяние света. Само рассеяние можно использовать для обнаружения аналитов, включая глюкозу, и оно не использует определенные полосы поглощения, поскольку оно не зависит от длины волны. Однако в спектроскопических методах рассеяние снижает отношение сигнал/шум. Рассеяние также является переменным эффектом, зависящим от гидратации, кровотока, температуры и неглюкозных метаболитов. Существует значительная неоднородность светопоглощающих и светорассеивающих структур (таких как жир) между отдельными людьми и внутри отдельных людей с течением времени, что требует частой калибровки. Методы БИК-спектроскопии также должны преодолевать неоднородное распределение глюкозы между клетками, интерстицией и кровью в коже. На БИК-спектроскопию влияют интерференции, и она зависит от температуры. Глюкозу крови измеряли на слизистой оболочке полости рта с помощью БИК [52]. Корреляция была хорошей ($r = 0,91$), но пики специфического поглощения глюкозы значительно варьировались в зависимости от давления, прилагаемого устройством. Слизистая оболочка полости рта является очевидным кандидатом для зондирования, так как она хорошо васкуляризирована и может просвечиваться. Однако любое пероральное измерение включает слюну, которая может содержать другую концентрацию глюкозы, а остаточная пища может содержать мешающие вещества. БИК-спектроскопия измерялась на языке. Стандартная ошибка прогноза составила 3,5 ммоль/л со значительной вариабельностью, обусловленной вариабельностью содержания жира в тканях. Таким образом, БИК в идеале требует постоянного жира в тканях в дополнение к длине пути порядка 5 мм. Для решения некоторых проблем, связанных с трансдермальными оптическими методами, было предложено использовать БИК в сочетании с методами отбора образцов ИСФ, включая сонофорез. Несмотря на эти препятствия, БИК является привлекательной технологией для неинвазивного определения уровня глюкозы. Клинические испытания устройства БИК показали среднее абсолютное относительное отличие 15,1% от лабораторного измерения уровня глюкозы в крови и 99,3% точек в областях А и В сетки ошибок Кларка.

Существует методика, которая оценивает относительную интенсивность перекрывающихся спектроскопических откликов от четырех детекторов, регистрирующих спектры на разных длинах волн БИК-света. Комплексный векторный анализ используется для усиления дифференциации между целевым аналитом и мешающими веществами. К настоящему времени мочевины и глюкоза успешно дифференцированы *in vitro* в бинарных растворах.

Метод контроля инфракрасного излучения при термическом воздействии. Данный метод является суррогатным методом измерения глюкозы, основанным на том принципе, что кожная микроциркуляция зависит от локальной концентрации глюкозы. Эта взаимосвязь используется путем вызывания контролируемых периодических колебаний температуры кожи и оценки рассеяния БИК-света в коже на различной глубине ткани. После калибровки по температуре степень рассеяния можно сопоставить с концентрацией глюкозы. В предварительных исследованиях тепловое излучение барабанной перепонки позволило разработать калибровочную модель, которая затем использовалась для расчета концентрации глюкозы еще у шести субъектов. Была обнаружена хорошая корреляция, и 100% точек находились в областях А и В сетки ошибок Кларка.

Рамановская спектроскопия (спектроскопия комбинационного рассеяния). Рамановская спектроскопия оценивает рассеяние света с одной длиной волны. Это зависит от вращательного или колебательного энергетического состояния внутри молекулы, и очень специфические полосы поглощения видны с помощью рамановской спектроскопии, которую можно использовать для идентификации и количественной оценки молекул. Его преимущество заключается в меньшем влиянии воды по сравнению с БИК или ДИК спектроскопией. Однако сигнал комбинационного рассеяния слабее, чем при использовании других технологий, что требует мощных детекторов для физиологических концентраций глюкозы. Сигнал комбинационного рассеяния также чувствителен к мутности, гематокриту, толщине кожи и меланину. Как и в случае с другими оптическими методами, рамановская спектроскопия требует многофакторного анализа. Спектроскопия комбинационного рассеяния с усилением поверхности также использовалась *in vivo* у крыс. Использование этой методики имеет то преимущество, что значительно увеличивается мощность сигнала. Испытания рамановской спектроскопии *in vitro* показали клинически приемлемое обнаружение глюкозы в растворе в присутствии мочевины, аскорбата и лактата. В небольших клинических исследованиях была обнаружена хорошая корреляция.

Поляриметрия. Поляриметрия измеряет рассеивание поляризованного света. Поляризованный свет — это свет, все волны которого колеблются в одной плоскости. Оптически активное вещество — это вещество, способное вращать плоскость поляризованного света. При пропускании поляризованного света через раствор оптически активного вещества и выходе света плоскость его поляризации оказывается измененной, что и определяется. Вращение света зависит от многих факторов, включая рН, температуру, длину волны света, длину пути света и концентрацию молекулы-мишени. Поддержание поляризации света через кожу невозможно, и технология должна измерять

вращение на миллиградусы в условиях $> 95\%$ сохраняемой поляризации через ткань толщиной менее 4 мм. Это означает, что глюкоза ИСЖ и глюкоза крови не могут быть измерены с помощью этой технологии. Однако возможно его осуществление через переднюю камеру глаза. Одним из препятствий для этого является роговица, которая вызывает некоторое внутреннее вращение. Это можно компенсировать с помощью аппаратных средств. В дополнение к этому, как и в случае с глюкозой ИСЖ, существует физиологическая задержка между пиковыми концентрациями глюкозы в крови и пиковыми концентрациями глюкозы в водянистой влаге. Экспериментальные данные с использованием водянистой влаги кролика позволяют предположить, что среднее время задержки до пиковой концентрации глюкозы составляет 5 мин. Измерение *in vitro* концентрации глюкозы на иссеченной роговице кролика показало хорошую корреляцию.

Методика на основе измерения светорасеяния. Свойства оптического рассеяния ткани зависят от относительных показателей преломления частицы (например, клеточных мембран, коллагеновых волокон) и ее среды (например, крови, ИСЖ). По мере повышения концентрации глюкозы показатель преломления крови или ИСЖ падает, в то время как показатель преломления окружающего матрикса остается постоянным, что изменяет степень рассеяния ближнего ИК-света. Таким образом, рассеяние является суррогатной мерой для глюкозы. Исследования *in vivo* показали, что рассеяние уменьшается примерно на 1% при увеличении концентрации глюкозы на 5,5 ммоль/л. На рассеяние влияли большие межиндивидуальные различия, а дрейф датчика может составлять до 2% за 4 часа. На показания также влияют возможные движения, изменения температуры и изменения других физиологических параметров, таких как вода и белок.

Оптическая когерентная томография. Оптическая когерентная томография (ОКТ) была впервые разработана для выполнения томографического (то есть плоского сечения) изображения глаза. В системе ОКТ используется маломощный лазерный источник, система глубокого сканирования, устройство для отбора проб и фотодетектор. Кожу облучают когерентным светом (свет, при котором испускаемые фотоны синхронизированы во времени и пространстве) и регистрируют обратное рассеянное излучение. С помощью этого метода можно определить концентрацию глюкозы. ОКТ является суррогатным показателем уровня глюкозы. Источники ошибок включают движение, неоднородность ткани и мешающие аналиты. Однако на ОКТ не влияют мочевины, хлорид натрия (NaCl), хлорид калия (KCl), температура (± 1 °C), кровяное давление, частота сердечных сокращений или гематокрит].

Окклюзионная спектроскопия. Окклюзионная спектроскопия использует метод рассеяния и пульсирующий артериальный кровоток. Как и в случае рассеяния и ОКТ, это суррогатная мера для глюкозы. Агрегация эритроцитов приводит к усилению пропускания света и может быть воспроизведена *in vivo* путем приложения к кончику пальца давления, превышающего систолическое, в течение 2–3 с. Измерение картины рассеяния в месте агрегации эритроцитов позволяет рассчитать концентрацию глюкозы. Преимущество этого метода заключается в том, что он измеряет артериальную глюкозу, но он чувствителен ко многим внутрисосудистым переменным, таким как медикаментозное лечение, собственная агрегация эритроцитов, концентрация свободных жирных кислот и хиломикроны. Клиническое исследование показало среднюю абсолютную относительную разницу 17,2 и 95,5% значений в зонах А и В сетки ошибок Кларка.

Фотоакустическая спектроскопия. Фотоакустическая спектроскопия использует принцип, согласно которому поглощение света вызывает ультразвуковые волны. Ткань освещается источником света с определенной длиной волны, и поглощенное излучение вызывает локальный нагрев. Небольшое повышение температуры зависит от удельной теплоемкости облучаемой ткани. Объемное расширение при нагреве вызывает генерацию ультразвукового импульса, который можно обнаружить. Повышение концентрации глюкозы в тканях снижает удельную теплоемкость ткани и, таким образом, увеличивает скорость генерируемого импульса, что делает фотоакустическую спектроскопию суррогатным методом оценки уровня глюкозы. Эта технология была протестирована в водном растворе, в моделировании ткани на основе желатина, в цельной крови и в естественных условиях. Никаких помех от NaCl, холестерина или альбумина отмечено не было. Разработан прототип наручных часов с использованием фотоакустической спектроскопии. Первоначальные исследования показали хороший прогноз уровня глюкозы, и все точки попали в области А и В сетки ошибок Кларка.

Флуоресценция. Флуоресценция использует принцип разного излучения света молекулами в зависимости от состояния. Он быстрый, безреагентный и чрезвычайно чувствительный. Многие сенсоры глюкозы на основе флуоресценции основаны на принципе аффинного сенсора, при котором глюкоза связывается с меченый флуороцеином рецептором. Конканавалин А (ConA), растительный лектин из фасоли, часто используется в качестве молекулы рецептора, поскольку он имеет четыре актора для связывания глюкозы. Обычно используемые конкурирующие связующие вещества представляют собой декстран, α -метилманнозид и гликированный белок. Флуоресценция впервые была использована для обнаружения глюкозы

в 1984 г. КонА (ConA) иммобилизовали на внутренней стенке микродиализного волокна, соединенного с одним оптическим волокном. Меченый флуоресцеином декстран в волокне был вытеснен из мест связывания глюкозой, вызывая усиление флуоресценции, пропорциональное концентрации глюкозы. В 1988 г. эта концепция получила дальнейшее развитие в системе передачи энергии с резонансным флуоресцентным резонансом (FRET). При FRET энергия передается от флуоресцентной молекулы донора к молекуле акцептора за счет диполь-дипольного взаимодействия, что приводит к снижению флуоресценции и уменьшению продолжительности жизни молекулы донора. Диполь-дипольные взаимодействия происходят на уровне ангстрема, что делает FRET чрезвычайно чувствительным к изменениям расстояния между донором и акцептором. В качестве молекулы флуоресцентного донора использовали изотиоционат (FITC), а в качестве молекулы-акцептора родамин. Родамин был связан с КонА (ConA), а декстран был помечен FITC. По мере того как глюкоза вытесняла меченый декстран, расстояние между донором и акцептором увеличивалось, что приводило к уменьшению сигнала FRET. Определение глюкозы было линейным до концентрации 11,1 ммоль/л. В нормальных условиях ConA необратимо агрегирует в течение нескольких часов, что делает его непригодным для использования в составе сенсора глюкозы. Однако можно использовать его иммобилизацию в гидрогелевую или мембранную капсулу.

Другие методы флуоресценции используют реакции, катализируемые ферментами, для изменения статуса флуоресценции. Глюкозооксидаза (GOx EC 1.1.3.4) анализирует реакцию:



Флуоресцеин, связываясь с глюкозооксидазой, обеспечивает перенос энергии между флавиновой группой GOx и флуоресцеином. Изменение концентрации фермента определяется путем измерения потребления кислорода или производства перекиси водорода. GOx также можно использовать в качестве глюкозосвязывающего белка, используя присущие ему флуоресцентные свойства, и можно использовать без флавиновой группы с флуоресцентной меткой. Ферменты гексокиназа (EC 2.7.1.1)/глюкокиназа (EC 2.7.1.2) катализируют процесс фосфорилирования глюкозы. Гексокиназа, полученная из дрожжей, имеет внутреннюю флуоресценцию, которая гасится связыванием глюкозы, что делает ее идеальным кандидатом на роль сенсора глюкозы. Однако это нестабильный фермент при физиологической температуре. Его можно иммобилизовать в золь-гель, улучшая стабильность,

биосовместимость и кинетический диапазон фермента. Имобилизация также позволяет избежать тушения флуоресценции интерферентами. Другие связывающие глюкозу белки, используемые в методах флуоресценции для обнаружения глюкозы, получены из бактерий.

Синтетические производные борной кислоты были тщательно изучены на предмет их чрезвычайно специфического связывания с глюкозой и способности связываться с флуоресцентными фрагментами. Однако они имеют ограниченную растворимость *in vivo*. Для измерения концентрации глюкозы в слезной жидкости были разработаны чувствительные к глюкозе контактные линзы с использованием борной кислоты. Для этого механизма требуется портативный внешний источник света/детектор, поэтому он не обеспечивает непрерывную сенсорную информацию. Производные борной кислоты также использовались в сенсорах глюкозы для голографических контактных линз. Борная кислота внутри полимера связывает глюкозу, полимер набухает, и изменяется цвет света, отражаемого голографическим элементом контактной линзы.

4.6.2. Трансдермальные датчики

Обратный ионтофорез. Обратный ионтофорез — это трансдермальный метод, использующий применение физической энергии для доступа к ИСЖ. Низкий электрический ток подается через кожу между двумя электродами, в результате чего заряженные и незаряженные частицы проходят через дерму со скоростью, значительно превышающей пассивную проницаемость, при этом ионы перемещаются по коже для поддержания нейтральности. Кожа отрицательно заряжена при физиологическом pH и поэтому избирательно проницаема для катионов, в основном для натрия. Индуцированный обратным ионтофорезом поток переносит нейтральные молекулы, в том числе глюкозу, от анода к катоду. Концентрация глюкозы в жидкости, собранной методом обратного ионтофореза, в 1000 раз ниже, чем у ИСФ. Глюкоза может определяться в собранной жидкости с помощью платинового электрода на основе глюкозооксидазы, определяющего образование H_2O_2 .

Трансдермальный ионтофорез имеет несколько потенциальных преимуществ по сравнению с другими электродными сенсорными системами на основе ферментов. Концентрация глюкозы низкая, поэтому снабжение кислородом не является ограничивающим фактором для глюкозооксидазы. Кроме того, кожа фильтрует большие молекулы, уменьшая загрязнение электрода, а в системе ионтофореза электрохимически активные вещества, которые могут быть помехами, такие как ураты и аскорбаты, удаляются от электрода датчика к аноду. Однако система сложна в использовании и требует длительного времени прогрева вместе с калибровкой. Ток низкой мощности

вызывает эритему от легкой до умеренной степени, и система не работает, если на коже присутствует пот. In vivo результаты испытаний с использованием обратного ионофореза показали 96,0–98,9% точек в областях А и В сетки ошибок Кларка и значение r от 0,78 до 0,9. Датчик обратного ионофореза Cygnus GlucoWatch был первым трансдермальным датчиком глюкозы, лицензированным Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA). В клинических испытаниях он показал достаточную точность для домашнего мониторинга уровня глюкозы в крови. Однако он не был полезен для выявления гипогликемии с чувствительностью 23 % при концентрации глюкозы $\leq 3,3$ ммоль/л и частотой ложных тревог 51 %. Устройство было снято с производства в 2008 году.

Сонофорез. Сонофорез использует низкочастотный ультразвук для увеличения проницаемости кожи. Ультразвук вызывает расширение и сжатие газообразных включений в роговом слое, что открывает пути для ИСЖ. В клинических испытаниях за 2-минутным применением ультразвука следовал 5-минутный период вакуума для извлечения ИФЖ со скоростью 25 мкл/см²/ч (больше, чем при обратном ионофорезе). Анализ извлеченного ИСЖ по сравнению с эталонным измерением глюкозы показал среднюю относительную ошибку 23, 92% результатов в областях А и В сетки ошибок Кларка и значение $r > 0,7$. Степень накопления ИСЖ различается в 10 раз между пациентами и между участками внутри пациентов. В более поздних испытаниях техника была усовершенствована, и вакуум не требуется. Использование более короткого периода ультразвука и гиперосмолярной молочной кислоты улучшает выход ИСЖ.

Анализ жидкости на глюкозу, собранной методом вакуумирования кожи человека. При воздействии вакуума на небольшой участок кожи на границе дермы и эпидермиса образуется волдырь диаметром несколько миллиметров. Жидкость можно собрать из волдыря и проанализировать. Жидкость пузырей по составу похожа на сыворотку, но с более низкой концентрацией белка. Анализ жидкости показывает повышенную концентрацию лизосомальных и цитоплазматических ферментов, что свидетельствует о повреждении клеток. Техника кожной аспирации — хорошо переносимая, безболезненная процедура с низким риском инфицирования, а концентрация глюкозы в жидкости ниже, чем в плазме, но хорошо коррелирует. Вероятно, это более низкая концентрация в результате потребления клетками внутри волдыря. Также регистрировали время, необходимое для образования волдыря.

Методы микропор и микроиглы. Методы микропор перфорируют роговой слой, не проникая на всю толщину кожи. Микропоры могут быть сформированы импульсным лазером или локальным воздействием тепла. Затем ИСЖ можно собрать с помощью вакуума. Клинические испытания импульсного лазера у пациентов с диабетом показали хорошую корреляцию концентрации глюкозы с эталонными измерениями в течение 2 дней (93% результатов находились в пределах областей А и В сетки ошибок Кларка и $r = 0,95$), и процедура была хорошо переносимой, хотя над местами вакуума образовались волдыри. Полые микроиглы (толщиной 175 мкм) использовались для взятия проб капиллярной крови. Они способны отобрать 200 нл за счет капиллярных сил. Кровь можно анализировать с помощью системы электродов на основе ферментов. Также были разработаны стеклянные микроиглы для отбора проб ИСЖ. Для этого отбирают 1–10 мкл ИСЖ с помощью многоигольчатого массива под отрицательным давлением.

Импедансная спектроскопия. Спектроскопия импеданса (также известная как диэлектрическая или радиоволновая спектроскопия) измеряет диэлектрические свойства ткани. Через ткань пропускают небольшой переменный ток, и импеданс регистрируют как функцию частоты. Глюкоза косвенно измеряется ее зависимым от концентрации взаимодействием с эритроцитами. Преимущество этого заключается в предоставлении информации о глюкозе в сосудистом отделе. Однако колебания температуры, потоотделение и движение являются источниками ошибок, и метод требует калибровки.

4.6.3. Инвазивные датчики глюкозы

Подкожные датчики игольчатого типа. Глюкозу можно определить с помощью ферментных электродов. Ферментные электроды используют ферменты, которые катализируют реакции восстановления-окисления и при этом, принимают или отдают электроны. Это движение электронов можно использовать для получения зависящего от концентрации тока или напряжения, которые можно измерить с помощью электродов. Глюкозооксидаза (GOx) производит перекись водорода, которая прямо пропорциональна концентрации глюкозы. Пероксид можно измерить амперометрически при потенциале примерно 0,7 В с использованием платинового электрода. GOx специфичен для глюкозы, но может использовать альтернативные источники окисления молекулярному кислороду. Использование в реакции альтернативных доноров электронов позволяет ей быть независимой от локальных концентраций кислорода, и эти альтернативы известны как медиаторы. Впервые это было описано с использованием

ферроцена. Еще одним преимуществом медиаторов является то, что они могут быть регенерированы при потенциалах. Например, в системе непрерывного мониторинга глюкозы используется подкожный амперометрический ферментный электрод игольчатого типа на основе ГОх. Из-за значительного дрейфа датчика требуется калибровка четыре раза в день. Постулируется, что дрейф сенсора частично связан с белковым и клеточным покрытием сенсора, переменным напряжением кислорода в тканях, тканевыми помехами и реакцией раны на сенсор, который изменяет локальный кровоток. Чувствительность сенсора остается низкой после его эксплантации, но улучшается после многократного промывания.

В системах микродиализа используется тонкое полое микродиализное волокно, помещаемое под кожу. Волокно перфузируется изотонической жидкостью из резервуара *ex vivo*, и глюкоза свободно диффундирует в волокно, откуда она перекачивается к электрохимическому сенсору на основе ГОх. Датчик *ex vivo*, что позволяет избежать проблем с загрязнением белками и клетками. Следовательно, требуется только одна калибровка в день, а дрейф датчика меньше, чем у системы CGMS. В клинических испытаниях точность датчика приемлема. Системы микродиализа имеют присущую физическую задержку для подачи диализата к датчику и использования большей мощности. Им также требуется раствор перфузата, что делает устройства больше. Концентрация глюкозы в диализате зависит от степени равновесия с ИСЖ. Это равновесие изменчиво и может зависеть от факторов, связанных с мембраной, анализом и окружающей тканью. Со временем физические и химические свойства мембраны могут измениться, как и характеристики ткани, такие как давление, объем, температура и гидратация. Скорость потока и состав перфузата могут влиять на концентрацию глюкозы и жестко регулируются устройством. Следовательно, в то время как датчик относительно защищен от загрязнения клеточными и белковыми компонентами, это значительно влияет на восстановление диализирующего раствора и глюкозы, что делает необходимой регулярную калибровку в системах микродиализа. Новый микродиализный подход к мониторингу глюкозы использует вискозиметрический анализ интерстициальной жидкости через систему микродиализа. Глюкоза свободно диффундирует в подкожное микродиализное волокно из ИСФ и вытесняет декстран из КонА. Это приводит к зависимому от концентрации снижению вязкости микродиализного волокна. Датчик микродиализа показал большую точность, чем датчик игольчатого типа, но имел дополнительное отставание в 7 минут, измеренное с помощью подбора комбинированной кривой.

В настоящее время не все обсуждаемые способы и методы достигли стадии тестирования на людях, а экспериментальные методы различаются, поэтому трудно провести прямое сравнение. Тем не менее, большинство проверенных на сегодняшний день методов показывают приемлемую точность. Из обсуждаемых методов обнаружения наибольшие перспективы в достижении цели создания идеального датчика глюкозы демонстрируют спектроскопия NIR, оптическая когерентная томография, фотоакустическая спектроскопия и флуоресценция. Однако ни одно из производимых в настоящее время устройств не соответствует критериям идеального датчика, а чувствительный компонент системы с замкнутым контуром остается целью исследований в области технологии мониторинга диабета.

Многие технологии находятся в стадии разработки для определения уровня глюкозы с конечной целью внедрения замкнутой системы доставки инсулина, обеспечивающей гликемический контроль в недиабетическом диапазоне у пациентов с диабетом 1 типа. Хотя некоторые технологии коммерчески доступны, ни одна из них не подходит для реализации автономной замкнутой системы. Система Medtronic Paradigm передает данные датчика глюкозы на совместимую инсулиновую систему. Несмотря на связывание компонентов, он по-прежнему зависит от внешнего воздействия на базальную и постпрандиальную регуляцию уровня глюкозы. Важным компонентом замкнутой системы является алгоритм управления. Это необходимо для воспроизведения базального и постпрандиального ответов В-клеток поджелудочной железы, чтобы обеспечить доставку соответствующего инсулина. Недавно была разработана кремниевая В-клетка, поведение которой моделируется электрическим поведением В-клетки поджелудочной железы. Выходной сигнал кремниевых В-элементов демонстрирует взрывное поведение, подобное наблюдаемому в В-ячейках, а также демонстрирует низкое энергопотребление, что делает его идеальным в качестве имплантируемого или носимого устройства. Взрывное поведение может быть связано с инфузией инсулина и воспроизводит физиологическое высвобождение инсулина при различных концентрациях глюкозы.

Чтобы сенсоры глюкозы работали в физиологических условиях, необходимо учитывать его биосовместимость. Обрастание белком и клеточными компонентами в тканях, наряду с воспалительными реакциями на инородные тела, может резко сократить срок службы имплантируемых датчиков, и в настоящее время ведется работа по решению этой проблемы. Ангиогенные слои на сенсорах стимулируют новое капиллярное образование вокруг датчика, улучшают кровоток над окном датчика и уменьшают обрастание макрофагами. Было показано, что этот подход увеличивает продолжительность жизни подкожных имплантируемых датчиков. Идеальный

датчик для глюкозы остается недостижимым, но существует значительный прогресс. Поскольку диабет продолжает становиться все более распространенным, и потребность в улучшенных технологиях очевидна, и замкнутая система доставки инсулина остается целью, реализуя определение уровня глюкозы в режиме реального времени в приемлемом для пациента дизайн.

4.7. Датчики для обнаружения ртути в воде

Термин «химическое загрязнение» используется, когда химические вещества присутствуют там, где их быть не должно, или когда их концентрация превышает национальные или международные нормативные стандарты. Примерами химических загрязнителей являются пестициды, соли, токсины, лекарства и металлы. Они проникают в воду, предназначенную для питья и контактного отдыха, определяемую как «рекреационная деятельность, сопряженная со значительным риском проглатывания воды, включая переход детей вброд, плавание, катание на водных лыжах, дайвинг и серфинг». Присутствие загрязнителя может привести к воздействию, которое отразится на здоровье населения. Однако риски от химического загрязнения могут быть меньше, чем от микробиологических опасностей. Тем не менее, для безопасности водопользователей важно иметь возможность измерить компонент и убедиться, что он находится в пределах нормативного порога. При оценке риска от конкретного химического загрязнителя вероятность воздействия так же важна, как и тип рекреационной деятельности и пути воздействия. В конечном счете, принимая во внимание загрязнение металлами, их химическая форма может существенно влиять на их растворимость и абсорбцию, и это следует учитывать при оценке любых потенциальных рисков воздействия.

Воздействие ртути (Hg) вызывает беспокойство у населения в целом и рыболовов-любителей, поскольку соединения ртути могут накапливаться в водных растениях и рыбах. Ртуть существует в трех формах, которые имеют различные свойства и токсичность: элементарная или металлическая ртуть (Hg⁰), неорганические соединения ртути (ртуть, Hg²⁺ и ионы ртути, Hg¹⁺) и органические соединения ртути. Элементарная ртуть часто используется в зубной амальгаме и выбрасывается в воздух при сжигании ископаемого топлива. Он также используется в некоторых промышленных процессах. Таким образом, люди могут подвергаться воздействию элементарной ртути при вдыхании воздуха, содержащего пары элементарной ртути. Очень высокие концентрации паров ртути могут быстро вызвать серьезное повреждение легких. При низких концентрациях паров в течение длительного времени могут возникать неврологические расстройства, проблемы с памятью, кожная

сыпь и нарушения работы почек. Более того, в организме элементарная ртуть может превращаться в неорганическую ртуть. Неорганические соединения ртути образуются, когда она соединяется с другими элементами, такими как сера или кислород. Соли ртути встречаются в природе, но также образуются в некоторых промышленных процессах и при производстве, например, косметических кремов для кожи. При попадании внутрь неорганическая ртуть может сильно раздражать и разъедать пищеварительную систему. При повторном употреблении в пищу или нанесении на кожу в течение длительного периода времени неорганическая ртуть может вызывать неврологические расстройства, кожную сыпь и почечную недостаточность. Органические соединения ртути образуются при соединении ртути с углеродом. В частности, важным процессом в воде является метилирование неорганической ртути, происходящее как в пресной, так и в морской воде. Некоторые микроорганизмы (например, *Pseudomonas spp.* или анаэробные бактерии) в воде и почве могут преобразовывать элементарную и неорганическую ртуть в органические соединения ртути (например, метилртуть, MeHg), которые накапливаются в пищевой цепи вследствие быстрой диффузии в водной биоте. Люди могут подвергаться воздействию MeHg при употреблении в пищу зараженной рыбы или моллюсков. Употребление большого количества метилртути с течением времени может вызвать повреждение нервной системы. Более того, он может проходить через плаценту, вызывая аномалии развития и детский церебральный паралич у детей, рожденных женщинами, отравившимися во время беременности.

Токсичность ртути в значительной степени зависит от ее химической формы, и в целом ее концентрация в воде низкая. Точнее, как для потребления напитков, так и для контактного отдыха допустимое значение составляет 1 г/л общей ртути. Более низкие значения, 0,02–0,01 г/л, вместо этого относятся к воде для бесконтактного отдыха (т. е. водные рекреационные занятия, включая рыбалку, коммерческое и рекреационное катание на лодках, не связанные со значительным риском проглатывания). Для определения ртути в низких концентрациях использовались различные аналитические методы. Широко используются спектрометрические методы, такие как атомно-абсорбционная спектрофотометрия с холодным паром (CV-AAS), атомно-эмиссионная пламенная спектрометрия (AEF) или методы с индуктивно-связанной плазмой, такие как оптическая эмиссионная спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой (ICP-OES), атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой (ICP-AES), масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ICP-MS) и атомно-флуоресцентная спектроскопия холодного пара (CV-AFS). ICP-MS, в частности, имеет преимущество низких пределов обнаружения и широкого диапазона линейности при определении

ртути. Однако для всех этих методов этап подготовки образца очень важен и может занимать много времени. На самом деле, из-за летучести ртути при подготовке проб необходимо соблюдать осторожность, чтобы не допустить ее потери до анализа. Наконец, этап подготовки проб (либо предварительное концентрирование, либо разделение), по-видимому, необходим для улучшения количественного определения очень низких концентраций содержания ртути в биологических пробах и пробах окружающей среды.

Для определения состава и анализа следов ртути использование нехроматографических методов имеет ряд преимуществ с точки зрения скорости анализа и дешевизны. В любом случае для полного определения ртути как в биологических пробах, так и в объектах окружающей среды больше подходят хроматографические методы. По этой причине комбинированные методы, такие как газовая хроматография-спектрометрия (газовая хроматография в сочетании с атомно-флуоресцентной спектрометрией, GC-AFS) и высокоэффективная жидкостная хроматография-спектрометрия (высокоэффективная жидкостная хроматография-атомно-абсорбционная спектрометрия, ВЭЖХ-АС), высокоэффективная жидкостная хроматография с использованием оптической эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ВЭЖХ-ИСП-ОЭС) получили широкое развитие. Однако большинство этих методов имеют некоторые ограничения в плане громоздких инструментов, используемых объемов реагентов, стоимости и времени, необходимого для анализа. Более того, они, как правило, несовместимы с рутинными измерениями на месте. В течение последних нескольких лет наблюдается растущий интерес к разработке альтернативных стратегий обнаружения, способных преодолеть внутренние ограничения упомянутых выше аналитических методов. Было предпринято много попыток миниатюризации аналитического оборудования для проведения анализа неорганической ртути на месте в реальных пробах воды. В связи с этим перспективны сенсоры на основе электрохимических методов, оптических методов с использованием колориметрии, флуориметрии и поверхностно-усиленного комбинационного рассеяния (SERS) благодаря их высокой чувствительности и селективности, малому времени анализа, экономичности и миниатюризации. Однако эти методы по-прежнему имеют некоторые особенности, ограничивающие их практическое использование, такие как невозможность различения различных видов ртути и перекрестная чувствительность к ионам других металлов. По этим причинам необходимы более простые и быстрые процедуры, достаточно чувствительные, чтобы заменить все вышеупомянутые методы.

Совсем недавно определение ртути с помощью биосенсоров привлекло широкое внимание из-за недорогих и простых в использовании свойств. Биосенсор использует биоактивное соединение (фермент, антитело, микроорганизм, растительные клетки, водоросли, грибы, простейшие и т. д.), которое может специфически распознавать интересующие виды. Однако и эти методы могут иметь некоторые недостатки. Основным недостатком биосенсоров на основе ферментов является то, что ингибирование ферментативной реакции ртутью идет неспецифично, что приводит к плохой селективности. Следовательно, различные ионы тяжелых металлов могут вызывать перекрестную чувствительность. Более того, биосенсоры на основе антител имеют некоторые ограничения из-за условий реакции, таких как температура, pH и ионная сила, которые могут влиять на активность антител.

Цельноклеточные биосенсоры основаны на биосенсорных клетках, таких как микроорганизмы, которые могут быть природными или рекомбинантными. Использование цельных клеток имеет много преимуществ. Целые клетки легче культивировать по отношению к ферментам. Следовательно, биосенсоры на основе цельных клеток обычно дешевле, чем биосенсоры на основе ферментов. Более того, благодаря специфическим метаболическим путям, используемым в микроорганизмах, микробные сенсоры обладают потенциалом для более селективного анализа в отношении ферментативных реакций. По сравнению с биосенсорами на основе антител биосенсоры на основе цельных клеток демонстрируют более высокую устойчивость к условиям окружающей среды (например, значительным изменениям pH, температуры или ионной силы). Наконец, пробоподготовка или предварительное концентрирование обычно не требуются.

Получены новые варианты датчиков для потенциально высокопроизводительного обнаружения Hg^{2+} в воде, которые основаны на биолюминесцентном веществе *Escherichia coli* Hg^{2+} , встроенном в однофотонный чувствительный кремниевый фотоумножитель малого размера (SiPM), как оптический детектор. Цельноклеточные биосенсоры являются результатом мощного сочетания подходов синтетической биологии и микроинженерии, что является замечательным шагом на пути к будущему совершенствованию мониторинга окружающей среды. Клетки, чувствительные к Hg^{2+} в водном образце, продуцируют люциферазу высокоспецифичным образом. Разработали инновационную стратегию наблюдения за химическими рисками при обнаружении компонент ртути в воде. Высокая чувствительность таких биосенсоров обеспечивается при использовании оптических современных приборов для обнаружения хемилюминесценции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Датчики (сенсоры) занимают все более важное место в жизни и производственной деятельности человеческой цивилизации 21 века. Поэтому теоретический материал и контрольные тесты, изложенные в рамках данного учебного пособия и касающиеся материалов, свойств, технологии модификации, получения и основ применения сенсоров, будут весьма полезны и интересны с точки зрения обогащения как общего, так и профессионального кругозора учащихся. Развитие современной науки и техники предлагают появление и модернизацию имеющихся объектов, развитие новых направлений использования. Самостоятельная работа учащихся по дальнейшему изучению этого предмета путем работы со специальной литературой позволит создать глубокую базу знаний и навыков выпускнику вуза.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. П.С. Сабуров. Учебное пособие по дисциплине «Датчики и системы автоматики». – Владимирский государственный университет. Владимир. 2016
2. Волова, Т. Г. Материалы для медицины, клеточной и тканевой инженерии [Электронный ресурс] : электрон. учеб. пособие / Т. Г. Волова, Е. И. Шишацкая, П. В. Миронов. – Электрон. дан. (6 Мб). – Красноярск : ИПК СФУ, 2009.
3. Шерстобитова А.С. Датчики физических величин. – СПб: Университет ИТМО, 2017. – 57 с.
4. Осовская И.И., Горбачев С.А. Полимеры в биотехнологии и биоинженерии / ВШТЭ СПбГУПТД. СПб., 2019.- 70 с.
5. Современные проблемы нанотехнологий : учебное пособие. Часть 2 (курс лекций) / Б. М. Синельников, С. Э. Хорошилова, В. А. Тарала, Л. С. Лунин, И. А. Сысоев, Л. А. Кашарина. – Ставрополь : СевКавГТУ, 2012. – 200 с.
6. Биосенсорные устройства: Курс лекций / А.П. Кудряшов – Минск: БГУ, 2003. – 113 с. ISBN 985-445-898-9
7. С.С. Алхасов, Л.П. Милешко, А.С. Хлебинская. Принцип функционирования и основные сферы использования ионоселективных полевых транзисторов. Интернет-журнал "Технологии техносферной безопасности" (<http://ipb.mos.ru/ttb>) Выпуск № 5 (57), 2014 г.

8. Химически чувствительный полевой транзистор. В.М. Корсунский, И.Д. Войтович. Интеллектуальные сенсоры. Электронная книга. Учебный курс. 2010. https://intuit.ru/goods_store/ebooks/8484 от 07 11. 2022 ISBN: 978-5-9963-0124-9.
9. Юревич Е. И. Сенсорные системы в робототехнике : учеб. пособие / Е. И. Юревич. — СПб. : Изд-во Политехн. ун-та, 2013. — 100 с.
10. Датчики для измерений при производстве электрической и тепловой энергии: учебное пособие / ВШТЭ СПбГУПТД. СПб., 2019. – 89 с.: ил. 64. – ISBN 978-5-91646-188-6.
11. Экспресс-анализ в экохимии / Э. В. Гоголь, Г. И. Гумерова, Ю. А. Тунакова, М. Н. Исхакова, Д. А. Богданова // Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – Т. 16. – № 1. – С. 163-166.
12. Козицина Алиса Николаевна . Электрохимические сенсорные системы на основе органических и неорганических наноразмерных модификаторов для бесферментного определения клинически значимых соединений 02.00.02 – Аналитическая химия. ДИССЕРТАЦИЯ на соискание ученой степени доктора химических наук . Уральский федеральный университет. Екатеринбург – 2018.
13. Биосенсоры на основе регистрации матрицы проводимости мультиконтактных полупроводниковых наноструктур / Э.Ю. Даниловский , Н.Т. Баграев , А.Л. Чернев , Д.С. Гец , Л.Е. Клячкин , А.М. Маляренко // Физика и техника полупроводников. — 2014. – Т. 48. – В. 11. – С. 1549- 1554.
14. М. Г. Фомкина, С. Ж. Ибадуллаева. Разработка биодатчика мочевины с применением полимерных технологий для анализов крови и мочи. – Научное приборостроение. – 2018. – Т. 28. – № 3. – С. 36–43.
15. Майер, С. А. Плазмоника. Теория и приложения. – Москва, Ижевск: R&C Dynamics, 2011. – 292 с.
16. Maier, S. Scientific highlights. Imperial college of London, 2011. – Режим доступа: https://www.youtube.com/watch?v=nevf6v2MCvQ&ab_channel=ImperialCollegeLondon
17. Т.А. Вартанян. «Основы физики металлических наноструктур». Учебное пособие, курс лекций. – СПб: НИУ ИТМО, 2013. – 133 с.
18. Егоров А.А., Егоров М.А., Царева Ю.И. Химические сенсоры: классификация, принципы работы, области применения. Физико-химическая кинетика в газовой динамике. Режим доступа: www.chemphys.edu.ru/pdf/2008-01-14-001.pdf.
19. Сотников Д. В., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. Детекция межмолекулярных взаимодействий, основанная на регистрации

- поверхностного плазмонного резонанса // Успехи биологической химии, – 2015. – Т. 55. – С. 391–349201.
20. Optical Biosensors: Today and Tomorrow. Frances S. Ligler And Chris Rowe Taitt Center for Bio/Molecular Science & Engineering US Naval Research Laboratory Washington DC, USA Amsterdam. – 2nd Edition, , published 2008. ISBN: 978-0-444-53125-4.
 21. Биосенсорные системы в медицине: экспертный обзор / Аксенова Е. И., Камынина Н. Н., Маклакова Ю. А.– М.: ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ», 2020. – 20 с.
 22. Компанец О. Н., Портативные оптические биосенсоры для определения биологически активных и токсичных соединений, КОНФЕРЕНЦИИ И СИМПОЗИУМЫ. УФН, 2004, том 174, номер 6, 686– 690 DOI: <https://doi.org/10.3367/UFNr.0174.200406k.0686>.
 23. Two-dimensional biosensor arrays based on surface plasmon resonance phase imaging / C. L. Wong, H. P. Ho, T. T. Yu et al. // Applied Optics. – 2017. – V. 46. – No. 12. – P. 2325- 2332.
 24. Diffraction microgratings as a novel optical biosensing platform / T. V. Baikova, P. A. Danilov, S. A. Gonchukov et al. // Laser Physics Letters. – 2016.
 25. Kambhampati, D. Protein Microarray Technology. – Oxford: Wiley-Blackwell, 2004. – 276 p.
 26. Comparison between different strategies of covalent attachment of DNA to glass surfaces to build DNA microarrays / N. Zammateo, L. Jeanmart, S. Hamels, S. Courtois, P. Louette, L. Hevesi, and J. Remacle // Anal. Biochem. – 2000. – V. 280. – P. 143–150.
 27. Ulman, A. Formation and structure of self-assembled monolayers // Chem. Rev. – 1996. – V. 96. – P. 1533–1554.
 28. Принципы создания биодатчиков на основе жидких кристаллов нуклеиновых кислот / Евдокимов Ю.М., Скуридин С.Г., Сялянов В.И. и др. // Биофизика. – 1990. – Т. 35. – № 5. – С. 731–738.
 29. Евдокимов Ю.М., Скуридин С.Г., Чернуха Б.А. Биодатчики на основе жидкокристаллических дисперсий двухцепочечных нуклеиновых кислот // Биотехнология. – 1992. – В. 5. – С.103-109.
 30. Евдокимов Ю.М., Скуридин С.Г., Чернуха Б.А., Михайлов Е.Л., Компанец О.Н., Романов С.Н., Колосов В В. "Способ определения в анализируемой жидкости биологически активного вещества и устройство для его осуществления", Патент РФ № 2107280 (1998), Приоритет от 15.11.1996; Патент США US 6,246, 470 B1 (2001), Приоритет от 14.11.1997/

31. Janata, J. Centennial retrospective on chemical sensors / J. Janata // *Anal. chem.* – 2001. – V. 73. – No. 5. – P. 151A – 153A.
32. Будников, Г. К. Основы современного электрохимического анализа / Г. К. Будников, В. Н. Майстренко, М. Р. Вяселев. – М.: Мир: Бином ЛЗ, 2003. – 592 с.
33. Дзядевич, С. В. Биосенсоры на основе ионоселективных полевых транзисторов: теория, технология, практика // *Биополимеры и клетка.* – 2004. – Т. 20. – № 1–2. – С. 7–16.
34. Чехлова, Т. К. Волноводные датчики концентраций веществ в газовых смесях и жидкостях / Т.К. Чехлова, А.Г. Тимакин, К.А. Попов // *Приборы и техника эксперимента.* – 2002. – Т. 45. – С. 145–148.
35. Study of the integrated-optical concentration sensor for gaseous substances / A.A. Egorov, M.A. Egorov, Yu.I. Tsareva, T.K. Chekhlova // *Laser Physics.* – 2007. – V. 17. – P. 50-53.
36. Кулябина, Е. Ю. Лихеноиндикационный мониторинг качества воздушной среды Нижегородской области / Е.Ю. Кулябина, М.В. Сидоренко // *Известия Самарского научного центра РАН. Биология и Экология.* – 2002. – Т. 4. – С. 216–222.
37. Штыков, С. Н. Наноматериалы и нанотехнологии в химических и биохимических сенсорах: возможности и области применения / С. Н. Штыков, Т. Ю. Русанова // *Российский химический.* – 2008. – Т. 52. – № 2. – С. 92-100.
38. Detection of individual gas molecules adsorbed on graphene / F. Schedin, A. K. Geim, S. V. Morozov, E. W. Hill, P. Blake, M. I. Katsnelson, K. S. Novoselov // *Nature Mater.* – 2007. – V. 6. – P. 652 – 655.
39. Activity-Based Sensing for Chemistry-Enabled Biology: Illuminating Principles, Probes, and Prospects for Boronate Reagents for Studying Hydrogen Peroxide / M.S. Messina, G. Quargnali, C.J. Chang // *ACS, Bio and Med Chem Au.* – 2022. – V. 2. – No. 6. – P. 548–564. <https://doi.org/10.1021/acsbiochemau.2c00052>.
40. Selective, Cell-Permeable Optical Probe for Hydrogen Peroxide in Living Cells / M. C. Y. Chang, A. Pralle, E. Y. Isacoff, C. J. A. Chang // *Journal of the American Chemical Society.* – 2004. V. 126. – No. 47. – P. 15392–15393.
41. Saxon, E. Recent Advances in Hydrogen Peroxide Responsive Organoborons for Biological and Biomedical Applications / E. Saxon, X. Peng // *ChemBioChem.* – 2021. – V. 23. – I. 3. – P. e202100366.
42. Iovan, D. A. Inorganic Chemistry Approaches to Activity-Based Sensing: From Metal Sensors to Bioorthogonal Metal Chemistry / D. A. Iovan, S. Jia, C. J. Chang // *Inorg. Chem.* – 2019. – V. 58. – No. 20. – P. 13546–13560.

43. Reaction-Based Fluorescent Probes for the Detection and Imaging of Reactive Oxygen, Nitrogen, and Sulfur Species / L. Wu, A.C. Sedgwick, X. Sun, S.D. Bull, X.-P. He, T. D. James // *Accounts of Chemical Research*. – 2019. – V. 52. – I. 9. – P. 2582–2597.
44. Albers, A. E. A FRET-Based Approach to Ratiometric Fluorescence Detection of Hydrogen Peroxide. / A. E. Albers, V. S. Okreglak, C. J. Chang // *Journal of the American Chemical Society*. – 2006. – V. 128. – I. 30. – P. 9640–9641.
45. Novel Design Method of Ratiometric Fluorescent Probes Based on Fluorescence Resonance Energy Transfer Switching by Spectral Overlap Integral / H. Takakusa, K. Kikuchi, Y. Urano, H. Kojima, T. A. Nagano // *Chemistry-A European Journal*. – 2003. – V. 9. – I. 7. – P. 1479–1485.
46. An ICT-Based Approach to Ratiometric Fluorescence Imaging of Hydrogen Peroxide Produced in Living Cells. / D. Srikun, E. W. Miller, D. W. Domaille, C. J. Chang // *J. Am. Chem. Soc.* – 2008. – V. 130. – I. 14. – P. 4596–4597.
47. A Two-Photon Fluorescent Probe for Ratiometric Imaging of Hydrogen Peroxide in Live / C. Chung, D. Srikun, C. S. Lim, C. J. Chang, B. R. Cho // *Tissue. Chem. Commun.* – 2011. V. 47. – I. 34. – P. 9618.
48. A Ratiometric Fluorescent Hydrogen Peroxide Chemosensor Manipulated by an ICT-Activated FRET Mechanism and Its Bioimaging Application in Living Cells and Zebrafish. / K. Xu, L. He, X. Yang, Y. Yang, W. Lin // *Analyst*. – 2018. – V. 143. – I. 15. – P. 3555–3559/
49. Development of a Ratiometric Two-Photon Fluorescent Probe for Imaging of Hydrogen Peroxide in Ischemic Brain Injury / B. Zhai, W. Hu, R. Hao, W. Ni, Z. Liu // *Analyst*. – 2019. – V. 144. – I. 20. – P. 5965– 5970.
50. A Novel Pyrimidine Based Deep-Red Fluorogenic Probe for Detecting Hydrogen Peroxide in Parkinson's Disease Models / X. Qiu, C. Xin, W. Qin, Z. Li, D. Zhang, G. Zhang, B. Peng, X. Han, C. Yu, L. Li, W. Huang // *Talanta*. – 2019. – V. 199. – P. 628–633.
51. Importance of Metal Biotransformation in Cell Response to Metallic Nanoparticles: A Transcriptomic Meta-analysis Study / A. Balfourier, A.-P. Marty, F. Gazeau // *ACS Nanoscience. Au.* – 2023. – V. 3. – I. 1. – P. 45-57. <https://doi.org/10.1021/acsnanoscienceau.2c00035>.
52. Non-invasive measurement of blood glucose concentrations by analysing Fourier transform infra-red absorbance spectra through oral mucosa / K. Kajiwara, T. Uemara, H. Kishikawa, K. Nishida, Y. Hashiguchi, M. Uehara et al. // *Medical & Biological Engineering & Computing*. – 1993. – V. 31. – P. S17–S22.

ПРИМЕРЫ ТЕСТОВ ДЛЯ ПРОВЕРКИ ОСВОЕНИЯ МАТЕРИАЛА ПОСОБИЯ

1. Основные характеристики датчиков

Вариант 1

1. Что не является выходным сигналом генераторных датчиков:
 - a. Заряд
 - b. Сопротивление
 - c. Напряжение

2. Датчики прямого действия:
 - a. преобразуют внешнее воздействие непосредственно в электрический сигнал
 - b. осуществляют несколько преобразований энергии на выходе, прежде чем получить электрический сигнал
 - c. конвертируют полученный тип энергии в другой, затем преобразуя его непосредственно в электрический сигнал

3. Нуждается ли пассивный датчик в дополнительном источнике энергии?
 - a. Нуждается
 - b. Не нуждается
 - c. Может работать как с дополнительным источником энергии, так и без него

4. Какая величина показывает все возможные отклонения от передаточной функции?
 - a. Точность
 - b. Динамический диапазон внешних воздействий
 - c. Диапазон выходных значений

5. Выходной импеданс относится к:
 - a. Статистическим характеристикам
 - b. Динамическим характеристикам
 - c. Факторам окружающей среды

6. Мертвая зона – это:
- a. Нечувствительность датчика в определенном диапазоне входных сигналов
 - b. Нечувствительность датчика в определенном диапазоне выходных сигналов
 - c. Нечувствительность датчика к определенному типу входных сигналов
7. Что относится к динамическим характеристикам датчика?
- a. Мертвое время
 - b. Выходной импеданс
 - c. Время разогрева
8. Какой фактор окружающей среды описывает изменения рабочих характеристик датчика в течение минут/часов/дней?
- a. Долгосрочная стабильность
 - b. Краткосрочная стабильность
 - c. Надежность
9. Что из перечисленного является фактором окружающей среды?
- a. Условия хранения
 - b. Мертвая зона
 - c. Частотные характеристики
10. Что используют для определения статистической ошибки типа А?
- d. Все данные, полученные в предыдущих измерениях
 - e. Спецификации, выданные производителем
 - f. Статистические методы определения ошибок

Вариант 2

1. Сенсорика это - ...
- А) один из видов медитационных упражнений
 - Б) наука о восприятии духовного мира
 - В) наука о датчиках
2. Сигнал измерительной информации датчика вырабатывается в форме:
- А) удобной для передачи, дальнейшего преобразования и хранения
 - Б) поддающейся непосредственному восприятию наблюдателя
 - В) всегда в той же, что и форма входного сигнала датчика

3. Что из перечисленного является выходным сигналом датчика?
- А) электрический сигнал
 - Б) высокочастотный шум
 - В) вибрация
4. Как называется датчик, не нуждающийся в дополнительном источнике энергии и в ответ на изменение воздействия на его выходе всегда появляется электрический сигнал?
- А) активный
 - Б) пассивный
 - В) датчик-модулятор
5. В зависимости от выбора точки отсчета датчики можно разделить на ...
- А) абсолютные и относительные
 - Б) генераторные и параметрические
 - В) составные датчики и датчики прямого действия
6. Выберите правильное утверждение
Данная функция является степенной, если ...
- А) Передаточная функция устанавливает взаимосвязь между выходным электрическим сигналом датчика S и внешним воздействием s : $S=f(s)$.
 - Б) для определения статистической ошибки типа A используют все данные, полученные в предыдущих измерениях
7. Погрешность датчиков не может быть представлена в ...
- А) непосредственно в единицах измеряемой величины
 - Б) в единицах выходного сигнала
 - В) в виде суммы значения, вычисленного по выходному сигналу датчика, и реального значения входного сигнала.
8. К статическим характеристикам датчиков не относится ...
- А) гистерезис
 - Б) сигнал возбуждения
 - В) время разогрева
9. К факторам окружающей среды, влияющим на характеристики датчика, не относится ...
- А) калибровка, проводимая пользователем датчика
 - Б) температура окружающей среды
 - В) условия хранения

10. Какие данные не могут учитываться при вычислении статистических ошибок?

- А) данные, полученные в прошлых измерениях и в процессе калибровки
- Б) вид передаточной функции, используемой в датчике
- В) выданные производителем спецификации

2. Химические сенсоры

Вариант1

I. В химических сенсорах, построенных на физических принципах:

- 1) измеряется физический параметр, например коэффициент отражения или поглощения света
- 2) физический, биологический и химический параметры измеряются обязательно
- 3) аналитический сигнал обусловлен химическим взаимодействием определяемого компонента с чувствительным слоем, который выполняет функцию преобразователя.

II. К основным характеристикам химического сенсора НЕ относят:

- 1) точность
- 2) чувствительность
- 3) клеточную линию, на основе которой он сделан

III. По характеру отклика химический сенсор может быть:

- 1) электрохимическим
- 2) гравиметрическим
- 3) цитометрическим

IV. Фотолюминесценция может возникать при возбуждении вещества:

- 1) гамма-излучением
- 2) инфракрасным излучением
- 3) ультразвуком

V. Селективность ЭХ сенсора определяется:

- 1) направлением вектора напряжённости его магнитного поля
- 2) материалом электрода
- 3) исключительно концентрацией протонов водорода во внешней среде

VI. Срок воспроизводимой работы сенсора, ограниченный деградацией рецепторного слоя, называется:

- 1) временем жизни
- 2) временем регенерации
- 3) периодом полураспада

VII. Одна из частей ионоселективного полевого транзистора – это

- 1) активная среда, например, кристалл рубина
- 2) сверхпроводник с преобладанием дырок над электронами
- 3) полупроводник p-типа

VIII. Оптоволоконный волновод обычно состоит из

- 1) большого количества микроскопических линз Френеля
- 2) сердцевины и окружающих ее слоёв - оптических изоляторов или оболочек, имеющих более низкий показатель преломления
- 3) реагентсодержащей фазы

IX. При падении потока света на границу раздела двух сред часть его излучения всегда:

- 1) отражается обратно
- 2) приобретает эллиптическую поляризацию
- 3) изменяет длину волны

X. Принцип действия амперометрических ЭХС: многие вещества окисляются или восстанавливаются при определенном

- 1) потенциале, который характерен именно для данного вещества.
- 2) диапазоне длин волн, включая инфракрасный
- 3) значении температуры

Вариант 2

1. Для чего используются химические сенсоры?

- а) для определения наличия микроорганизмов в растворе;
- б) для получения информации о присутствии особых веществ или ионов в данной равновесной среде;
- в) в качестве функционального элемента в сенсорных экранах мобильных устройств.

2. Укажите правильную последовательность элементов в химическом сенсоре:

а) трансдьюсер → рецепторный слой → вычислительный блок;

б) химически чувствительный слой → электронный преобразователь;

в) химически чувствительный слой → преобразователь сигнала → электронный блок.

3. Что такое трансдьюсер?

а) элемент, преобразующий энергию, которая возникает в ходе реакции селективного слоя с определяемым компонентом, в электрический или световой сигнал;

б) элемент, вступающий в непосредственный контакт с анализируемым веществом и формирующий селективный отклик на определяемый компонент;

в) система сбора и обработки данных, служащая для усиления и анализа сигнала и отображения результатов.

4. В каком ряду верно указаны характеристики химического сенсора? Напишите к какому типу характеристик относится ряд

а) время жизни, время когерентности, время отклика;

б) время регенерации, время жизни,

в) время жизни, время отклика, время регенерации. временные

5. Что такое потенциометрия?

а) метод ЭХ анализа, основанный на измерении количества электричества, израсходованного на восстановление или окисление определяемого вещества при электролизе его раствора;

б) метод ЭХ анализа, основанный на исследовании зависимости тока поляризации от напряжения, прикладываемого к электрохимической ячейке, когда электрический потенциал рабочего электрода значительно отличается от равновесного (методы – полярография, амперометрия и др.);

в) метод определения различных физико-химических величин, основанный на измерении электродвижущих сил обратимых гальванических элементов. Исследуется зависимость равновесного потенциала электрода от активности концентраций определяемого иона, описываемая уравнением Нернста.

6. Органические полупроводники являются примером следующего типа химических сенсоров:

а) электрохимические;

б) электрические.

в) магнитные;

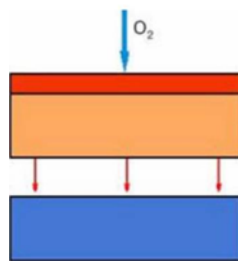
7. Принцип абсорбции, использующийся в оптических химических сенсорах, основывается на:

- а) законе Снеллиуса;
- б) объединенном законе Бугера-Ламберта-Бэра;
- в) законе Малюса.

8. Аналитического сигнал в оптических сенсорах обусловлен:

- а) параметрами интенсивности поглощения, отражения или люминесценции света;
- б) химическим взаимодействием определяемого компонента с чувствительным слоем, который выполняет функцию преобразователя;
- в) возникновением электрического сигнала при взаимодействии определяемого компонента с чувствительным слоем.

9. Расположите в правильном порядке составляющие в схеме работы необратимого волоконно-оптического сенсора на кислород (сверху вниз).



- а) Реагент содержащая фаза → мембрана → детектор;
- б) Мембрана → детектор → Реагент-содержащая фаза;
- в) Мембрана → Реагент-содержащая фаза → детектор.

10. Принцип работы интегрально-оптических химических датчиков абсорбционного типа основан на:

- а) регистрации изменения интенсивности лазерного излучения волноводной моды, проходящей через анализируемую среду на длинах волн, характерных для данного вещества;
- б) регистрации спектров поглощения анализируемого вещества на длинах волн, характерных для контрольного вещества;
- в) определении длины волны, на которой анализируемое вещество полностью поглощает проходящее лазерное излучение с погрешностью 50 %.

3. Биосенсоры

Вариант 1

1. Как называются устройства, основанные на использовании теплового эффекта ферментативной реакции и состоящие из двух колонок (измерительной и контрольной), заполненных носителем с иммобилизованным ферментом и снаряженных термисторами?

1. Ферментные (безреагентные) электроды
2. Хемилюминесцентные датчики
3. Ферментные микрокалориметрические датчики

2. Для определения каких соединений используют микроорганизмы вида *Azotobacter Vinelaudit*?

1. для определения нитратов
2. для определения уксусной кислоты
3. для определения глутамина

3. Что является распознающим элементом в клеточных биосенсорах?

1. живые ткани организма
2. органоиды клетки
3. непосредственно клетки

4. Что НЕ может являться основой для иммобилизации клеток в клеточных биосенсорах?

1. желатин, агар-агар, каррагенан
2. синтетические полимерные гели
3. вода

5. Какой тип химической реакции протекает в биосенсорах аффинного типа?

1. замещения
2. соединения
3. обмена

6. На чем основан принцип работы биочипов с иммобилизованной ДНК?

1. Точное соответствие между прямой и комплементарной ДНК по правилу Уотсона - Крика
2. Зависимость тока, протекающего через электрохимическую ячейку при контролируемом расходе анализируемого газа подающего на катод, от концентрации кислорода

3. Проникновение внутрь клетки аналита, вызывающего синтез легко детектируемого определенного белка

7. На чем основана GeneChip-технология создания ДНК-чипов методом фотолитографии

1. Белки, находящиеся на стенках ядра
2. Высокоплотные чипы, содержащие ДНК-последовательности
3. Сложномолекулярные чипы, содержащие матричные РНК

8. Что не входит в область применения ДНК-микрочипов?

1. Идентификация мутаций в генах, связанных с различными заболеваниями
2. Измерение различий в синтезе белков отдельными типами клеток
3. Наблюдение за активностью генов

9. Принцип работы каких биосенсоров основан на детектировании оптических параметров?

1. Вольтамперометрические биосенсоры
2. Радары
3. Люминесцентные биосенсоры

10. ДНК - биочип - это:

1. Матрица с нанесенными молекулами белков, нуклеиновых кислот, биомакромолекул или биоструктур для одновременного проведения большого числа анализов в одном образце
2. Устройства, которые позволяют получать информацию за фактическое и настоящее время о присутствии особых веществ или ионов в данной равновесной среде
3. Наноразмерные устройства, которые измеряют физические величины и преобразуют их в сигналы, которые могут быть обнаружены и проанализированы

Вариант 2

1. Биосенсор включает в себя 3 сегмента. В каком порядке через них идет сигнал от детектируемого вещества?

- A. Биоселектирующая мембрана, преобразователь, усилитель
- B. Усилитель, преобразователь, биоселектирующая мембрана
- C. Усилитель, биоселектирующая мембрана, преобразователь

2. Что может выступать в качестве трансдьюсера (преобразователя) в биосенсорах?

- A. Гравитационные датчики
- B. Гироскопы
- C. Акселерометры

3. Что может выступать в качестве биоселектора?

- A. Рецепторы
- B. Полисахариды
- C. Жирные кислоты

4. С какой целью НЕ могут применяться ДНК-микрочипы?

- A. Идентификация мутаций в генах, связанных с различными заболеваниями
- B. Диагностики инфекционных заболеваний и определения наиболее эффективного метода терапии
- C. Оценка экспрессии генов с целью выявления мишеней для новых лекарственных препаратов

5. Что лежит в основе метода лишеноиндикации?

- A. Индивидуальная реакция различных видов бактерий к действию загрязнителей атмосферы
- B. Индивидуальная реакция различных видов лишайников к действию загрязнителей атмосферы
- C. Индивидуальная реакция различных видов простейших к действию загрязнителей атмосферы

6. Принцип работы биосенсоров с использованием техники LAPS (СПС) состоит в

- A. Управлении параметрами полупроводника внешним электрическим полем
- B. Изменении сопротивления электрода при попадании в детектор различных веществ
- C. Изменении коэффициента преломления света при связывании веществ с проточной стороной сенсора

7. Каким металлом покрывают стеклянную пластину в чипах, работающих на принципе поверхностного плазмонного резонанса?

- A. Оксид кремния
- B. Золотом
- C. Оксид титана и цинка

8. Как модифицируют ДНК-пробу, вносимую в ДНК-чип для последующего обнаружения на ДНК-микрочипе? (исправлено)
- А. Её помечают флуоресцентной меткой
 - В. Её концы помечают специальными «служебными» последовательностями ДНК
 - С. Её помечают специальным сигнальным белком
9. Какое правило/принцип лежит в основе в принципа работы всех типов биочипов с иммобилизованной ДНК?
- А. Принцип аллель-специфической гибридизации
 - В. Правило Уотсона-Крика
 - С. Правило «криоиммобилизации»
10. Какой из перечисленных методов используют при создании ДНК-чипов? (исправлено)
- А. Термогравометрия
 - В. Метод фотолинтографии
 - С. Эллипсометрия

Вариант 3

1. Биосенсоры – это аналитические устройства, использующие ... материалы для получения информации об определенных молекулах (качественные и количественные характеристики) в виде электрического сигнала.
- а) физические
 - б) химические
 - в) биологические
2. В качестве биокон компонента сенсоров могут применять:
- а) ферменты, антитела, антигены, микроорганизмы, биологические мембраны, рецепторы, нуклеиновые кислоты, живые клетки
 - б) только ферменты
 - в) только антитела
3. Что делает трансдюсер?
- а) трансформирует электрический сигнал в концентрационный
 - б) разбавляет биокон компонент
 - в) трансформирует концентрационный сигнал в электрический

4. Устройства основанные на использовании теплового эффекта ферментативной реакции это

- а) ферментные микрокалориметрические датчики
- б) ферментные (безреагентные) электроды
- в) хеми - и билюминесцентные датчики

5. При измерении на ферментных электродах в амперометрическом режиме измеряется сила тока через поверхность электрода. Сила тока в данном случае отражает:

- а) концентрацию реагирующих веществ
- б) скорость реакции
- в) концентрацию фермента

6. Каким металлом покрывают стеклянную пластину в чипах, работающих на принципе поверхностного плазмонного резонанса? (исправлено)

- а) Оксид кремния
- б) Золотом
- в) Оксид титана и цинка

7. В чём принцип работы клеточного сенсора?

- а) при проникновении внутрь клетки аналит вызывает синтез легко детектируемого определенного белка
- б) при проникновении внутрь клетки аналит разлагается
- в) аналит разрушает клетки

8. Как расшифровывается техника LAPS?

- а) light- addressable potentiometric sensor
- б) светоадресуемые потенциометрические сенсоры
- в) оба варианта подходят

9. Продолжи предложение. ДНК - микрочип - это...

- а) электронное устройство, содержащее биологические молекулы.
- б) пластина с нанесенными молекулами антител бактерий, которая вживляется под кожу для дальнейшего качественного анализа концентрации патогенов (96 штаммов) в крови. Ее извлечение происходит через двое суток, так как именно этот промежуток времени необходим для получения достоверных сведений.
- в) Электронное устройство, производящее качественный и количественный анализ молекул ДНК.

10. Каков принцип работы белкового микрочипа?

а) Молекулы-зонды, обычно помеченные флуоресцентным красителем, добавляются в матрицу. Любая реакция между зондом и иммобилизованным белком испускает флуоресцентный сигнал, который считывается лазерным сканером.

б) На поверхности микрочипа созданы условия для проведения биуретовой реакции. В случае наличия белков в растворе раствор приобретает желтый цвет.

в) Белки разной природы и молекулярной массы проводят электричество с разной скоростью, поэтому, пропуская электричество через микрочип с анализируемыми белками, мы можем установить их качественный состав.

4. Наносенсоры

Вариант 1

1. Нанообъектами считаются те, что имеют размер хотя бы в одном из трёх измерений в следующем интервале:

- a. 0-1нм
- b. 1-100нм
- c. 100-1000нм

2. Квантовые точки – это:

- a. нанокристаллы неорганических полупроводниковых материалов диаметром 1–12 нм
- b. явление, при котором квантовые состояния двух или большего числа объектов оказываются взаимозависимыми.
- c. фундаментальная частица, квант электромагнитного излучения (в узком смысле — света) в виде поперечных электромагнитных волн и переносчик электромагнитного взаимодействия.

3. Графен - это:

- a. двумерная аллотропная модификация углерода, образованная слоем атомов углерода толщиной в один атом.
- b. кубическая аллотропная форма углерода
- c. продукты объемной полимеризации сферических углеродных молекул фуллеренов C₆₀ и C₇₀ при давлении более 90 тысяч атмосфер и температуре более 300 °С

4. В чем проблема использования пленок Ленгмюра – Блоджетт в химических и биосенсорах?
- Невысокая стабильность пленок
 - Медленная диффузия молекул аналита в объем пленки
 - Малое время отклика сенсоров
5. К способам изготовления наносенсоров НЕ относят:
- полиионную сборку
 - молекулярную самосборку
 - Молекулярную спайку
6. Каким образом получают пленки Ленгмюра – Блоджетт?
- Это самоорганизованные структуры
 - Переносом мономолекулярных слоев дифильных органических молекул с поверхности жидкой субфазы на твердую подложку
 - Методом полиионного наслаивания
7. На чём основан принцип работы графенового датчика?
- Изменение электрической проводимости слоя при адсорбции на нем молекул из-за изменения концентрации носителей заряда.
 - Регистрация изменения интенсивности лазерного излучения волноводной моды
 - Изменение оптического поглощения слоя при адсорбции на нем молекул
8. Выберите верное утверждение:
- Чем больше размер нанокристалла, образующего квантовую точку, тем шире энергетическая щель между дискретными уровнями энергии квантовой точки и тем короче длина волны флуоресценции.
 - Чем меньше размер нанокристалла, образующего квантовую точку, тем уже энергетическая щель между дискретными уровнями энергии квантовой точки и тем длиннее длина волны флуоресценции.
 - Чем меньше размер нанокристалла, образующего квантовую точку, тем шире энергетическая щель между дискретными уровнями энергии квантовой точки и тем короче длина волны флуоресценции.
9. Большая площадь поверхности углеродных нанотрубок обеспечивает:
- эффективную адсорбцию многих веществ
 - широкий диапазон электрических свойств
 - высокая прочность и хорошая деформационная упругость

10. Отметьте наиболее точное определение наносенсоров:

а. Наносенсоры - это наноразмерные устройства, которые измеряют физические величины и преобразуют их в сигналы, которые могут быть обнаружены и проанализированы.

б. Наносенсоры - это аналитические устройства, использующие биологические материалы для получения информации об определенных молекулах (качественные и количественные характеристики) в виде электрического сигнала.

с. Наносенсоры - это устройства, которые позволяют получать информацию за фактическое и настоящее время о присутствии особых веществ или ионов в данной равновесной среде

Вариант 2

1. Исследованием объектов какого размера, хотя бы в одном из трёх измерений, занимается наноматериаловедение

А) 1-100мкм

Б) 1-100нм

В) 1-1000нм

2. Каким методом можно получить сенсорную нанопленку.

А) Электроспиннинг

Б) Методом полиионного наслаивания

В) Фотолитография

3. Каким образом получают пленки Ленгмюра – Блоджетт?

А) Это самоорганизованные структуры

Б) Переносом мономолекулярных слоев дифильных органических молекул с поверхности жидкой субфазы на твердую подложку

В) Методом полиионного наслаивания

4. Двумерной аллотропной модификацией углерода называют

А) Графит

Б) Графен

В) Фуллерен

5. Какой из объектов не относится к нанообъектам?

- А) Квантовые точки
- Б) Раствор полимеров
- В) Углеродные нанотрубки

6. Наночастицы какого металла используют для сенсоров на эффекте ППР

- А) Na
- Б) Ag
- В) Fe

7. В квантовых точках движение носителей заряда ограничивается по

- А) Одной координате
- Б) Трем координатам
- В) Двум координатам

8. Какое вещество является сырьём для производства графена

- А) Метан
- Б) Карбид кремния
- В) Сероуглерод

9. Основная проблема использования квантовых точек для практического применения

- А) Невозможность реализации потенциального барьера нужной высоты
- Б) Агломерация и нестабильность
- В) Широкая полоса возбуждения

10. Выберите верное утверждение:

- А). Чем больше размер нанокристалла, образующего квантовую точку, тем шире энергетическая щель между дискретными уровнями энергии квантовой точки и тем короче длина волны флуоресценции.
- Б). Чем меньше размер нанокристалла, образующего квантовую точку, тем уже энергетическая щель между дискретными уровнями энергии квантовой точки и тем длинее длина волны флуоресценции.
- В). Чем меньше размер нанокристалла, образующего квантовую точку, тем шире энергетическая щель между дискретными уровнями энергии квантовой точки и тем короче длина волны флуоресценции.

МАСТЕР-КЛАСС

Создание полимерного нанокомпозита - основы оптического сенсора

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Мониторинг загрязнений окружающей среды соединениями тяжелых металлов является одним из главных трендов современной науки и техник. Ионы тяжелых металлов являются хорошо известными биоаккумулятивными и высокотоксичными, и загрязнение ими окружающей среды представляет риск для здоровья человека. Имеется много методов определения токсичных примесей в воде, однако большинство из них требует применения сложного лабораторного оборудования и не является экспресс-методами. Из современных методов обнаружения ионов тяжелых металлов используют атомно-абсорбционную спектрометрию с пламенным атомизатором, рентгеновскую флуоресцентную спектроскопию и индуктивно-связанную плазмомассспектрометрию. Эти методы могут давать сверхчувствительные аналитические результаты, но это дорогостоящее оборудование, требуются сложные и длительные методы измерения и оператора высокого уровня. Существует настоятельная необходимость проведения экспресс-мониторинга загрязнений. Экспресс-подход можно реализовать только при использовании эффектов, характеризующих величину накопленной примеси по изменению некоторых физических параметров (оптические, проводимость и др.), которые можно определять в реальном времени мобильными приборами. Оптические прозрачные сенсоры тяжелых металлов для экспресс-диагностики являются трендом развития современных систем мониторинга.

Разработка оптических сенсоров тяжелых металлов основывается на избирательной сорбции ионов металла на хромофорах, введенных в гидрофильную объемную матрицу. Адсорбция ионов тяжелых металлов в объеме материала приводит к значительному изменению спектра оптического поглощения или люминесценции хромофора, а большой объем матрицы со значительной сорбционной способностью позволяет проводить измерение малых содержаний токсичных ионов в воде. С учетом возможности накопления измеряемых ионов в объеме материала чувствительность метода может достигать 10^{-6} моль на литр, что позволяет в перспективе создавать высокочувствительные малогабаритные сенсоры для экспресс-диагностики загрязнений воды на уровне ниже ПДК. Физический процесс адсорбции тяжелых металлов на хромофорах, приводящий к изменению их оптических параметров, состоит в образовании комплексов различного типа. При адсорбции иона тяжелого металла в материале в результате искажения электронных оболочек молекул хромофоров возможны значительные сдвиги максимума поглощения хромофора, что может быть положен в основу метода

экспресс-диагностики их содержания в воде. Основные проблемы состоят в способе иммобилизации хромофор в гидрофильном материале, в управление процессом сорбции / десорбции ионов тяжелых металлов, регенерации сенсора после цикла измерения для многократного использования.

В настоящее время используются различные материалы и технологии для создания оптических сенсоров тяжелых металлов, основанных на накоплении ионов в полимерной матрице и последующем анализе. Ионообменные волокнистые полимерные сорбенты давно применяются для концентрирования и разделения элементов, однако, они имеют низкую избирательность. Их общий недостаток – из-за того, что форма сорбента в виде гранул, поэтому он может использоваться только в хроматографических методах анализа.

Более перспективны прозрачные оптические химические сенсоры на основе полимеров. В прозрачной матрице иммобилизованы хромофоры, что позволяет визуально наблюдать изменение окраски в зависимости от сорбции того или иного иона тяжелого металла. Они изготавливаются на основе полимеров, на поверхности которых закреплены чувствительные молекулы – комплексообразователи с избирательной сорбцией измеряемых ионов или это объемные сенсоры. Основная проблема создания таких сенсоров касается способа иммобилизации хромофор. Наилучшей является иммобилизация молекулы путем ковалентного связывания с материалом матрицы.

В объемных полимерных сенсорах на основе желатина или гидрогеля преодолена сложность, связанная с трудностями процедуры ковалентной иммобилизации активных молекул. Сама матрица есть средство иммобилизации реагентов. Возможен оптический сенсор тяжелых металлов на основе хромофора, иммобилизованного на частицах неорганического вещества. глины и показывающего значительный сдвиг спектра поглощения при адсорбции тяжелого металла. Для детектирования используется обычная спектрофотометрия, диффузное отражение, визуальная колориметрия. Сенсорная система характеризуется высокой чувствительностью, избирательностью, но недостатком является медленная и неполная регенерация в водной среде. Преимущество системы оптических сенсоров есть прямое считывание колориметрических характеристик, пересчитываемых в концентрацию определяемых ионов.

Задание. В отчете не надо переписывать готовую теоретическую часть. Следует написать самостоятельно составленный отчет на тему «Комплексообразование красителей с ионами тяжелых металлов».

Цель работы

В данной учебной работе предлагается:

- создание нанокompозитной основы сорбирующей системы оптического сенсора и исследование сорбционных свойств.
- исследование процессов комплексообразования красителей и тяжелых металлов.

Материал основы сенсора состоит из хромофора – элемента, обеспечивающего изменение оптических параметров в результате сорбции тяжелого металла, при этом хромофор предлагается поместить на поверхности оксидных наночастиц (ZnO , или SiO_2), обеспечивающих иммобилизацию хромофора в объеме гидрофильной полимерной матрицы, что обеспечивает проницаемость и накопление материалов из водной среды.

Задачи

1. Исследование методом спектроскопии процесса комплексообразования в растворе красителя с ионами тяжелых металлов.
2. Создать полимерный материал, который составляет основу оптического сенсора (нанокompозит) на базе синтетического и природного полимеров (ПВС и желатин) с наночастицами оксидов (ZnO или SiO_2) и с красителем (хромофор)
3. Исследование специфические взаимодействия хромофор с ионами тяжелых металлов в полимерной матрице (ИК спектроскопия).
4. Исследование сорбционных свойств пленок нанокompозитов в воде и в растворе соли тяжелых металлов

Используемые материалы

1. Красители
2. Наночастицы (SiO_2 или ZnO)
3. Полимерная матрица (поливиниловый спирт или желатин)
4. Соли тяжелых металлов (конкретно)

Используемое оборудование

1. Весы аналитические (марка, фирма)
2. Магнитная мешалка (марка, фирма)
3. Спектрофотометр (марка, фирма)

Последовательность выполнения работы

Часть 1. Исследование процесса комплексообразования красителя с ионами тяжелых металлов в растворе.

В таблице 1 представлены варианты для выбора красителей и солей металлов

Таблица 1.

Краситель / λ_{\max}	Ионы металлов / λ_{\max}	
Родамин Ж / 530 nm	Медь, кобальт, никель, свинец	
Метиленовый синий	Медь, кобальт, никель, свинец	
Метиловый оранжевый / 460 nm	Медь, кобальт, никель, свинец	
Эозин / 510 nm	Медь, кобальт, никель, свинец	

1. Исследование растворов красителей.

Приготовить водные растворы красителей (хромофора) – объем 25 или 50 мл воды, концентрации 10^{-3} моль/л, 10^{-4} моль/л, $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л, 10^{-5} моль/л, 10^{-6} моль/л. Сделать расчеты веса красителя для получения раствора концентрации 10^{-3} моль/л. Остальные растворы готовить методом разбавления.

Записать УФ спектры растворов красителя.

Определить концентрацию красителя такую, чтобы оптическая плотность была в пределах (0- 1.5).

2. Растворы тяжелых металлов.

Приготовить водные растворы (20 мл) соли тяжелых металлов концентрации 10^{-1} моль /л, 10^{-2} моль /л, $5 \cdot 10^{-3}$ моль /л, 10^{-3} моль /л, 10^{-4} моль /л (если будет необходимо). Сделать расчеты для получения раствора концентрации 10^{-1} моль/л, остальные растворы готовить методом разбавления.

Записать УФ спектры растворов солей.

3. Исследование комплексообразования красителя и ионов тяжелых металлов в воде.

Сделать расчеты количеств веществ и приготовить водные растворы, учитывая , что :

- концентрация соли тяжелых металлов (10^{-1} моль/л) и концентрация красителя такая, чтобы оптическая плотность была в пределах (0- 1.5) моль/л или 10^{-4} моль /л

- концентрация соли тяжелых металлов (10^{-2} моль/л) и концентрация красителя такая, чтобы оптическая плотность была в пределах (0- 1.5)
- концентрация соли тяжелых металлов ($5 \cdot 10^{-2}$ моль/л) и концентрация красителя такая, чтобы оптическая плотность была в пределах (0- 1.5)

4. Записать спектры растворов соль+ краситель.

5. Заполнить таблицу 2. Указать в таблице значения длин волн, при которых наблюдаются максимумы спектров растворов красителя , соли, смеси краситель+ соль

Таблица 2

Краситель λ_{\max} получены/ λ_{\max} литературные данные	Ионы металлов λ_{\max} получены/ λ_{\max} литературные данные	Краситель+ соль
<i>Родамин Ж / 530 нм</i>	<i>Хлорид меди</i>	<i>Родамин Ж+ Хлорид меди</i>

- сравнить максимумы поглощения красителя и соли металла с литературными данными (найти данные в справочниках, статьях ...)
- сделать рисунки со спектрами растворов красителя (рис. 1 – для всех концентраций), соли (рисунок 2 - все концентрации), рисунок 3 – для смеси краситель+ соль , дополнив спектрами только красителя и только соли. Рисунок 3 - смеси сделать в двух видах: Рис. 3а - для всей области исследования и Рис. 3б - для наиболее характеристических областей (в области пиков поглощения растворов).
- выводы. Определить влияние соли металла на спектр красителя.

Часть 3. Исследование сорбции (влагопоглощения) пленки нанокompозитов

3.1 Приготовление раствора нанокompозита и раствора чистого ПВС в воде.

Для этого рассчитать вес полимера, необходимого для получения пленки толщиной 100–200 мкм на площади равной площади заливочной формы (чашка Петри). 100 мкм = 0,01 см !!!!!

Рассчитать вес наночастиц и красителя из таблицы 3, концентрации взять по указанию.

Таблица 3

№ п/п	Вес сухого полимера ПВС	Наночастицы, ZnO или SiO ₂ [вес %] от веса полимера	Краситель [моль/л] от веса полимера
1	Расчетная величина	0.05	$1 \cdot 10^{-3}$
2	Расчетная величина	0,01	$5 \cdot 10^{-4}$
3	Расчетная величина	0.05	$5 \cdot 10^{-4}$
4	Расчетная величина	0,01	$1 \cdot 10^{-3}$

- приготовление раствора нанокompозита: при температуре 90-95 °С растворить полимер в воде, добавить оксид, потом добавить краситель.
- вылить раствор нанокompозита в чашку Петри, закрыть фильтром.
- приготовить раствор только полимера, вылить раствор в чашку Петри, закрыть фильтром.
- снять полученные пленки с формы. Измерить толщину пленок. Далее использовать пленки для исследования влияния состава композита на свойства пленок.

Исследование сорбционной способности нанокompозита для воды и раствора соли проводится методом гравиметрии

3.2 Исследование сорбции нанокompозита в воде.

- Вырезать 3 куска пленки нанокompозита .
- Взвесить пленки.
- В стакане с водой поместить 3 кусочка пленок нанокompозита. Выдержать (20 мин, 40 мин и далее до насыщения.). После каждого временного этапа выдерживания достать пленку, высушить, взвесить. Составить таблицу 5. Рассчитать сорбционную способность нанокompозита для воды.

Формула расчета сорбционной способности пленок :

$$K\% = [(M_{\text{конеч}} - M_{\text{начал}}) / M_{\text{начал}}] * 100\% \quad (7)$$

или $K = M \text{ пленки} / M_{\text{сорбир воды}}$

3.3. Исследование сорбции нанокompозита раствора соли

- В стакане с раствором соли тяжелых металлов (концентрация 10^{-1} моль/л и 10^{-2} моль/л) поместить по 3 кусочка пленок нанокompозита. Выдержать в растворе (20 мин, 40 мин и до насыщения).

После каждого временного этапа выдерживания – достать пленку, высушить, взвесить. Составить таблицу 5. Рассчитать сорбционную способность нанокompозита для раствора тяжелых металлов по формуле 7. Сделать выводы.

Таблица 5

№ кусочка пленки	вода			Соль металла, концентрация1			Соль металла, концентрация2		
	Масса до, г	Масса после, г	Сорбция %	Масса до, г	Масса после, г	Сорбция %	Масса до, г	Масса после, г	Сорбция %
1									
2									
3									
Среднее значение сорбции									

Часть 4. Исследование комплексообразования краситель- металл в нанокompозите методом спектроскопии

Вырезать по 2 куску пленки нанокompозита. Записать спектры этих 2х кусочков пленок нанокompозита.

В стакан с раствором соли тяжелых металлов (концентрация 10^{-1} моль/л и 10^{-2} моль/л) поместить кусочки пленок нанокompозита с красителем и выдержать в растворе 40 мин. После выдерживания – достать пленку, высушить и записать спектр.

Построить спектры поглощения системы краситель – тяжелый металл в полимерной матрице. Выделить наиболее характерные области изменения спектров (пики поглощения) и построить более детальные спектры (в области пиков).

Заполнить таблицу 6. Указать в таблице значения длин волн, при которых наблюдаются максимумы спектров растворов красителя, соли, смеси краситель+ соль. Сравнить с растворами. Оценить изменения спектров и сделать выводы о влиянии тяжелых металлов на спектр красителя в полимерной матрице.

Таблица 6

Краситель λ_{\max} получены/ λ_{\max} литературные данные	Ионы_металлов λ_{\max} получены/ λ_{\max} литературные данные	Нанокомпозит

Требования к оформлению отчета:

Отчет составлять по описанию порядка проведения лабораторной работы.

- 1) В отчете не надо переписывать имеющуюся теоретическую часть. Следует написать самостоятельно составленный материал на тему «Комплексообразование красителей с ионами тяжелых металлов».
- 2) Указать цель, задачи, перечислить все использованные материалы (обязательно указать структурную формулу красителя), перечислить все использованные приборы (фирма, марка).
- 3) Представить описание выполнения экспериментов, указав расчеты количеств веществ и методик приготовления, таблицы свойств, спектры растворов и нанокомпозита, результаты сорбции. Описать полученные результаты. Сделать выводы.
- 4) Указать использованные литературные источники при написании теоретической части.

Бурункова Юлия Эдуардовна
Самуйлова Евгения Олеговна

Сенсорные системы и материалы

Учебное пособие

В авторской редакции

Редакционно-издательский отдел Университета ИТМО

Зав. РИО

Н.Ф. Гусарова

Подписано к печати

Заказ №

Тираж

Отпечатано на ризографе

Редакционно-издательский отдел
Университета ИТМО
197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49, литер А