

УДК 544+543.553+546.39

АМПЕРОМЕТРИЧНІ ХЕМОСЕНСОРИ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ІОНІВ АМОНІЮ

Н. Є. Стасюк, Г. З. Гайда, М. В. Гончар, Є. П. Ковальчук*

Методом електрохімічної полімеризації на поверхні електродів синтезовано полімерні плівки поліаніліну, поліпіролу та купрум (I) оксиду. Сформовано чутливий елемент амперометричних хімічних сенсорів для визначення іонів амонію в розчині. Методом циклічної вольтамперометрії досліджено електрохімічну активність сконструйованих сенсорів.

Ключові слова: електропровідні полімери, поліанілін, поліпірол, амперометричний сенсор, іони амонію.

Серед матеріалів, які найчастіше використовують у сенсориці, першість належить полімерам [1]. Електричні і оптичні властивості електропровідних полімерів (ЕП), а також їх унікальна властивість ефективно переносити електрони до поверхні електрода, разом із можливістю інкорпорації ферментів у полімерній матриці під час електрохімічної полімеризації, роблять їх привабливими матеріалами для створення різноманітних сенсорних пристроїв [2]. Так, на основі ЕП створено біосенсорні системи для визначення глюкози [3], креатинину [4], лактату [5], карбаміду [6] та ін.

В останні роки велика увага приділяється використанню каталітично активних оксидів в якості електропровідних матеріалів при створенні хімічних сенсорів. Відома велика група сенсорів на основі SnO_2 , ZnO , TiO_2 , Ga_2O_3 та WO_3 , однак ці оксиди застосовують як сенсорні платформи для газоподібних речовин [7, 8]. Для визначення розчинених компонентів в рідинах, зокрема, кисню чи гідроген пероксиду, поверхні електродів модифікують оксидами металів (Ag , Pt , Pd , Ru , Ir , Cu і Rh), які каталізують електрохімічну реакцію [9, 10]. Використання купрум (I) оксиду (Cu_2O) як сенсорної платформи на визначення іонів амонію є перспективним при створенні біосенсора на глюкозу [11, 12].

Метою нашої роботи було дослідження впливу модифікації поверхні платиного, графітового та мідного електродів плівками поліаніліну (ПАНі), поліпіролу (ПП) та Cu_2O на чутливість їх до іонів амонію для вибору найбільш ефективного медіатора електронного перенесення.

Експериментальна частина

Під час досліджень використовували анілін – марки “SIGMA-ALDRICH” (чистота 95 %), пірол – марки “SIGMA-ALDRICH” (чистота 97 %), *p*-толуен сульфорова кислота – марки “SIGMA-ALDRICH” (чистота 95 %). Кваліфікація хімічних реактивів вітчизняного виробництва – “ч.д.а.” та “х.ч.”.

Амперометричні хемосенсори конструювали на базі стандартного амперометричного потенціостату за використання трьохелектродної сенсорної конфігурації: хлорсрібний $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}$ (3 М) електрод – електрод порівняння, як допоміжний – стержневий Pt електрод (діаметр 1 мм). Застосовували різні типи робочих електродів: на основі графітового стержня (RW001, діаметр 3.05 мм, Ringsdorff Werke, Бонн, ФРН), поміщеного в скляну трубку і герметично залитого епоксидним клеєм; Pt електроду (ALS Co., Токіо, Японія) діаметром 3.03 мм та Cu стержня (тип RW001, діаметр 3.03 мм). Перед безпосереднім використанням робочу поверхню графітових електродів полірували на наждачному папері. Pt електроди полірували на полірувальній тканині, використовуючи алюміній оксидної пасту (Лесо, ФРН) з різним діаметром частинок (1.0, 0.5 та 0.3 мм). Відполіровані електроди відмивали водою в ультразвуковій лазні 10-15 хв.

Амперометричні дослідження проводили за допомогою потенціостату CHI 1200A (J Cambridge Scientific, Bury Port, Англія), з'єданого з персональним комп'ютером для реєстрації та обробки результатів.

* Інститут біології клітини НАНУ, Львів

Усі досліді проводились у чотирьох-шести повторах. Для кожної вибірки показників визначали середнє арифметичне значення (M), стандартну похибку середнього (m) та середнє арифметичне відхилення (σ). Для розроблених аналітичних методів розраховували коефіцієнт варіації ($C_v, \%$). Розрахунок статистичних показників і побудову графіків проводили за допомогою програми OriginPro 8,5. Лінеаризацію графіків проводили за рівнянням регресії $Y = A + B \cdot X$ (A і B – параметри рівняння), розраховували коефіцієнт кореляції R та рівень достовірності зв'язку r (для події $R = 0$). Вказані параметри та статистичні показники наведені в рисунках.

Електроосажену плівку Cu_2O на поверхні Cu електроду отримували за реакцією відновлення Cu^{2+} із лужного розчину $Cu(II)$ лактату. Перед початком роботи 45 г $CuSO_4$ розчиняли в 75 мл 88 % розчину лактатної кислоти для формування перехідного комплексу $Cu(II)$ лактату [12]. До отриманого розчину вносили невеликими порціями 5 М $NaOH$ для підтримання сталого рН розчину 9. Отриману суміш нагрівали до температури 65 °С. Електроосадження плівки Cu_2O здійснювали у потенціодинамічному режимі із розгорткою потенціалу в діапазоні від -1.0 до $+0.7$ В з швидкістю 50 мВ/с [11].

Синтез поліпірольної (ПП) плівки на поверхні графітового (С) електроду проводили в потенціостатичному режимі при сталому потенціалі $+0.8$ В протягом 3 хв. із розчину, що містив 0.1 М пірол та 0.1 М п-толуен сульфонову кислоту [13].

Після електроосадження описаних медіаторів, робочі електроди поміщали на 5-7 хв. у 30 мМ К, Na-фосфатний буфер (ФБ), рН 7.5 для відмивання неосаженої частини медіатора.

Амоній-селективна мембрана Pt електроду формувалась в два етапи: нанесенням 5 мкл 5 % Нафіону (сульфованого політетрафторидетилену) на поверхню Pt електроду та, після його висихання, електроосадженням поліаніліну (ПАНі) із 0.2 М розчину аніліну у 0.5 М HCl , попередньо дегазованого аргонном. Процедуру електроосадження здійснювали в діапазоні напруг від -200 мВ до $+1100$ мВ, із швидкістю розгортки потенціалу 50 мВ/с. Для усунення мономерів аніліну після електроосадження електрод занурювали у дистильовану воду та прикладали постійний потенціал -0.3 В протягом 30 хв.

Результати дослідження та обговорення

Для дослідження ефективності роботи медіаторів (ПАНі, ПП та електрохімічно осажденного Cu_2O) по перенесенню електронів до поверхні робочих електродів було використано метод циклічної вольтамперометрії (ЦВА), де порівнювали профілі ЦВА у відсутності іонів амонію та при внесенні їх в систему (рис. 1Б, 2А, 3Б).

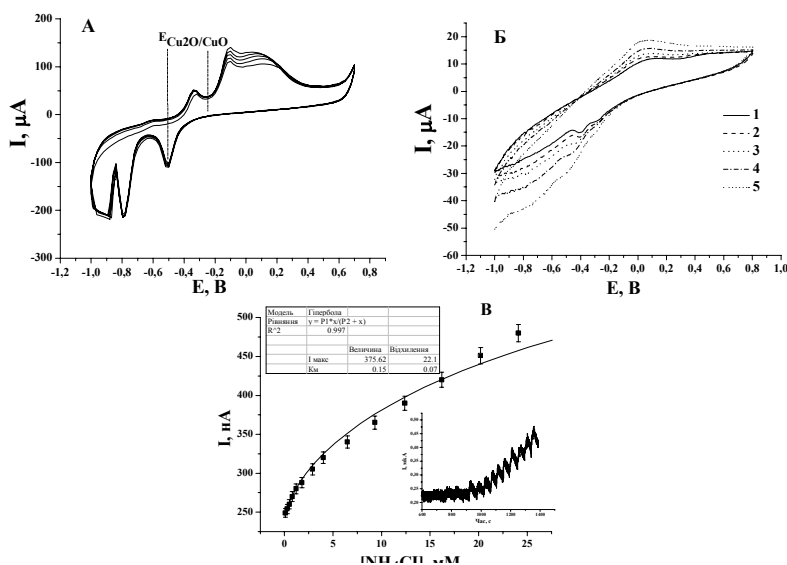


Рис. 1. Характеристика Cu_2O/Cu електроду: (А) – ЦВА процесу електроосадження Cu_2O . Умови: 5 циклів осаження із швидкістю сканування 50 мВ/с; (Б) – ЦВА у відсутності (1) та в присутності 0.1 мМ (2), 0.8 мМ (3), 1 мМ (4) та 8 мМ (5) NH_4Cl ; (В) – Градувальний графік залежності сили струму від концентрації іонів амонію та хроноамперограма (вставлена) при оптимальному потенціалі $+150$ мВ.

1. Електрохімічна поведінка реакції окиснення/відновлення іонів амонію на Cu_2O модифікованому Cu електроді ($\text{Cu}_2\text{O}/\text{Cu}$). Нещодавно стало відомо [11], що електрохімічно осаджений Cu_2O проявляє каталітичні властивості у реакціях окиснення/відновлення. На рис. 1 А наведено ЦВА електроосадженого Cu_2O на поверхні мідного електроду. На вольтамперограмі присутній пік у катодній (+0.1 В) області та два піки у анодній області (– 0.45 В та – 0.05 В). Пік в катодній області при потенціалі +0.1 В відповідає перетворенню Cu^{1+} до Cu^0 , тоді як анодний пік (– 0.45 В) відповідає переходу Cu^{1+} до Cu^{2+} [11, 12]. При внесенні зростаючих концентрацій NH_4Cl (рис. 1 Б) на циклічній вольтамперограмі спостерігається пік відновлення в діапазоні напруг від –0.1 до –0.6 В та пік окиснення в межах від 0 до +0.3 В.

Відклик на ЦВА (рис. 1 Б) вказує на можливість використання каталітично активного Cu_2O у створенні ефективної електрохімічної системи для визначення іонів амонію в широкому діапазоні напруг (+0.3 В до – 0.6 В).

Деякі фізико-хімічні характеристики створеного хемосенсора досліджено хроноамперометрично (рис. 1 В). Як видно з рис. 1 Б, величина рівноважного струму на Cu електроді, модифікованому плівкою Cu_2O , при внесенні NH_4Cl зростає із 10 мкА до 17 мкА, тоді як контрольний Cu електрод у цих умовах не дає відклику (рис. 5). Аналіз градувального графіку (див. рис. 1 В) засвідчує, що порогова чутливість сенсора є досить високою – $3.03 \pm 0.13 \text{ нА}/(\text{мМ}\cdot\text{мм}^2)$. Позитивна константа Міхаеліса-Ментен, визначена за градувальним графіком, дорівнює $0.15 \pm 0.07 \text{ мМ}$. Нижня межа визначення іонів амонію хемосенсором становить $9.5 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, час відклику на аналіт – 10 с. Лінійний діапазон концентрацій знаходиться в межах від 0.5 до 7.5 мМ NH_4Cl .

2. Створення електрохімічно активної системи на основі електропровідного поліпіролу (ПП).

Для вивчення ефективності перенесення електронів через посередництво електроосадженої плівки ПП, було проведено циклічне вольтамперометричне дослідження в широкому діапазоні напруг від –0.9 до +0.6 В при внесенні зростаючих концентрацій NH_4Cl (рис. 2 А). На отриманій вольтамперограмі (рис. 2 А) спостерігається збільшення величини рівноважного струму ПП-модифікованого C електроду на доданий NH_4Cl . Виходячи із наведених даних ЦВА, встановлено оптимальний робочий потенціал (+ 250 мВ), якому відповідає пік окиснення ПП.

На рис. 2 Б наведено градувальний графік та хроноамперограму (вставлено). Максимальний струм відклику на 2.9 мМ аналіт становить $2640 \pm 179 \text{ нА}$. Аналіз градувального графіку показує, що порогова чутливість сенсора є достатньо високою – $7.85 \pm 0.25 \text{ нА}\cdot\text{мм}^{-1}\cdot\text{мм}^{-2}$. Позитивна константа Міхаеліса-Ментен, визначена із даних градувального графіку, становить $0.76 \pm 0.1 \text{ мМ}$. Нижня межа визначення сенсором іонів амонію становить $1.5 \cdot 10^{-6} \text{ М}$, із часом відклику на аналіт - 10 с. Лінійний діапазон концентрацій NH_4Cl знаходиться в межах від 0.01 до 0,75 мМ.

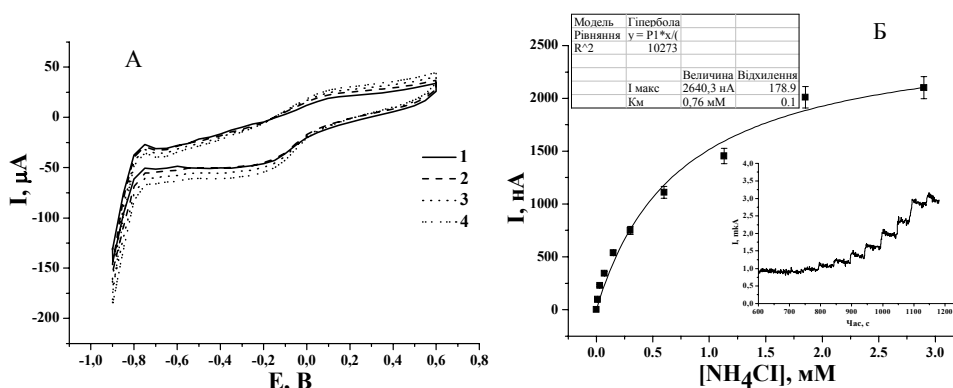


Рис. 2. Характеристика ПП/С електроду (А) – ЦВА у відсутності (1) та в присутності 0.01 мМ (2), 0.03 мМ (3) та 0.07 мМ (4) NH_4Cl ; (Б) – Градувальний графік залежності сили струму від концентрації іонів амонію та хроноамперограма (вставлена) при оптимальному потенціалі +250 мВ (Умови: проти $\text{Ag}/\text{AgCl}/3\text{М KCl}$, 22 °С, у 30 мМ боратному буфері, pH 8.8).

Раніше було повідомлено про конструювання хемосенсора на іони амонію за використання ПП з наступними характеристиками: чутливість $40 \pm 20 \text{ мкА}\cdot\text{мм}^{-1}\cdot\text{см}^{-2}$, межа визначення $5 \cdot 10^{-6} \text{ М}$ [14]. Запропонований нами хемосенсор за використання ПП демонструє деякі переваги, а

само: 50-кратне збільшення чутливості та 3.3-кратне зниження межі визначення, у порівнянні із відомим сенсором [14].

Циклічна вольтамперограма, яка відображає зміну електрохімічної активності модифікованого електрода при додаванні в електрохімічну комірку NH_4Cl , відображає (рис. 2 А) зростання величини анодного струму окиснення NH_4^+ із одночасним зсувом його в катодну область. Відомо, що інтенсивне окиснення NH_4^+ на ПП-модифікованому С електроді починається при +0.05 В [5]. Можливість конструювання хемосенсорів за умов невисокого окиснювального потенціалу відкриває перспективу застосування таких електродів для визначення вмісту іонів амонію в біологічних об'єктах.

3. *Хемосенсор на основі електропровідного поліаніліну (ПАНі).* Для конструювання чутливого до іонів амонію хемосенсора на ПАНі платформі використано Нафіон - як компенсатор негативного заряду, що виникає в процесі анодної полімеризації ПАНі [15, 16].

Плівку ПАНі електроосаджували на поверхню Pt електрода із попередньо адсорбованим Нафіоном. Оптимальну кількість циклів (11) було обрано експериментально. Морфологію електроосадженої плівки ПАНі на поверхні Pt електрода досліджували методами атомно-силової мікроскопії (АСМ), на приладі Solver P47-PRO (NT - MDT) та сканувальної електронної мікроскопії (СЕМ), на СЕМ-мікроаналізаторі РЕММА-102-02 р [17].

Спектральні характеристики утвореного ПАНі досліджували на спектрофотометрії Шімадзу UV-1650 РС. Для цього яскраво-зелену плівку ПАНі, попередньо сформовану за оптимальних умов електроосадження, розчиняли у 1 мл диметилформаміду та знімали електронний спектр поглинання у діапазоні 350 – 750 нм (рис. 3). Максимум поглинання при 640 нм свідчить про утворення емеральдинової солі ПАНі [18].

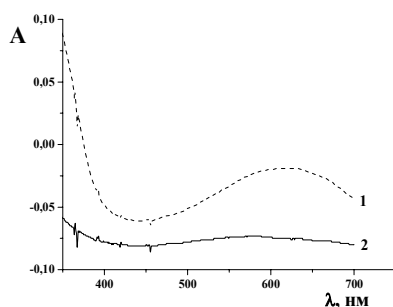


Рис. 3. Електронний спектр поглинання ПАНі (1) та вихідного розчину аніліну (2).

Характеристику процесу електроосадження плівки ПАНі на поверхні Нафіон/Pt електрода наведено на рис. 4 А. Із профілю ЦВА (рис. 4 А) видно, що відбувається поступове збільшення редокс-піків із кожним наступним циклом електроосадження. Таке явище свідчить, що утворений полімер є електроактивним. Електроліз підкисленого водного розчину аніліну спричиняє появу на поверхні аноду забарвленого у зелений колір полімерного шару. Вважають, що вихід полімеру є прямо пропорційним кількості електрики, що пройшла через розчин, і регулювати товщину шару можна за допомогою кулонометричних вимірювань [19]. Для того, щоб розрахувати поверхневу концентрацію ПАНі ($\Gamma_{\text{ПАНі}}^*$), утвореного на поверхні Pt електрода, використовують рівняння Брауна-Енсона [20]:

$$I_p = \frac{n^2 \cdot F^2 \cdot \Gamma_{\text{ПАНі}}^* \cdot A}{4RT} \cdot \nu \quad (1)$$

де: I_p - струм максимуму (А); n – кількість перенесених електронів ($n=2$), F – число Фарадея (96486 Кл/моль); $\Gamma_{\text{ПАНі}}^*$ - поверхнева концентрація ПАНі (моль·см⁻²); A – площа поверхні електрода (0.0785 см²); ν – швидкість розгортки потенціалу (В·с⁻¹); R – універсальна газова константа (8.314 Дж·моль⁻¹·К⁻¹); T – абсолютна температура системи (298 К).

На ЦВА, одержаній в процесі електроосадження ПАНі (рис. 4 А), спостерігається три окисно-відновних максимуми, які відповідають різним ступеням окиснення ПАНі. Оскільки значення струму катодного максимуму А (I_a) є близьким до 0.15 мкА (див. рис. 4 А), то обчислена поверхнева концентрація плівки ПАНі становить $1.13 \cdot 10^{-11}$ моль·см⁻².

Для вивчення ефективності перенесення електронів на поверхню Pt електрода через посередництво ПАНі плівки було проведено циклічне вольтамперометричне дослідження. На вольт-

амперограмі (рис. 4 Б) видно чітку відмінність між кривою, отриманою без NH_4Cl (1) та після внесення NH_4Cl до концентрацій 0.1 мМ (2), 0.2 мМ, 0.7 мМ та 3.5 мМ (3). На ЦВА при потенціалі -200 мВ спостерігається максимальний пік відновлення при збільшенні концентрації іонів амонію. Тому даний потенціал було вибрано робочим для подальших хроноамперометричних досліджень. На рис. 4 В зображено градууювальний графік та хроноамперограму (вставлено). Максимальний струм відклику на 3.25 мМ аналіт є 2250 нА. Для сконструйованого хемосенсора досліджено основні аналітичні характеристики, зокрема, встановлено чутливість ($159 \pm 1.2 \text{ нА} \cdot \text{мМ}^{-1} \cdot \text{мм}^{-2}$) та нижню межу визначення іонів амонію ($5.35 \cdot 10^{-6} \text{ М}$).

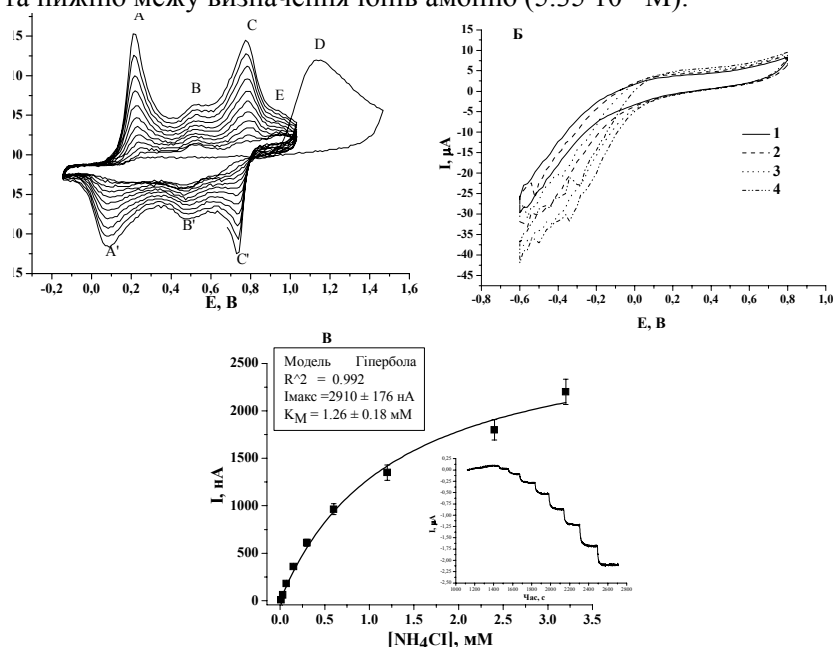


Рис. 4. Характеристика ПАНі/Pt електроду (А) – ЦВА процесу електроосадження ПАНі; (Б) – ЦВА у відсутності (1) та в присутності 0.01 мМ (2), 0.03 (3) та 0.07 мМ (4) NH_4Cl ; (В) – Градууювальний графік залежності сили струму від концентрації іонів амонію та хроноамперограма (вставлена) при оптимальному потенціалі -200 мВ. Умови: проти $\text{Ag}/\text{AgCl}/3\text{M KCl}$, 22 °С, у 30 мМ фосфатному буфері, рН 7.5.

Порівняння хроноамперограм для трьох типів сенсорних систем, запропонованих та досліджених нами (рис. 1 В, 2Б, 4В - вставлені), дозволило нам узагальнити результати досліджень (рис. 5). Як видно із рис. 5, максимальний відклик на аналіт досягається при використанні ПП та ПАНі в якості медіаторів електронного перенесення.

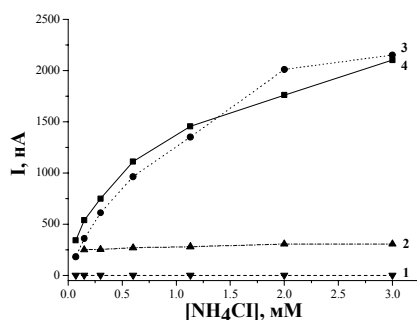


Рис. 5. Градууювальні графіки залежності сили струму від концентрації іонів амонію для трьох типів електродів: 1) контрольний експеримент з Cu , Pt та C електродами; 2) $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Cu}$ (потенціал +0.15 В); 3) ПП/С (потенціал +0.25 В); 4) ПАНі/Pt (потенціал -0.2 В).

Порівняння основних аналітичних характеристик (чутливість, позірна K_M , нижня межа визначення) розроблених сенсорних систем показало, що найефективнішим із запропонованих хемосенсорів для визначення іонів амонію є поліпірол.

Література / References

1. Karakus E., Pekyardimci S., Esmâ K. Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol. 2005. V. 33, No. 3. P. 329-341.
2. Rao P.S., Subrahmanya S., Sathyanarayana D.N. Synth. Metals. 2002. V.128. P. 311-316.
3. Setti L., Fraleoni-Morgera A., Ballarin B., Filippini A., Frascaro D., Piana C., Biosens. Bioelectron. 2005. V. 20. P.2019-2026.
4. Shih Y.T., Huang H.J. Anal. Chim. Acta. 1999. V. 392. P.143-150.
5. Chaubey A., Pande K.K., Malhotra B.D. Anal. Sci. 2003. V.19, No. 11. P.1477-1480.
6. Gupta B., Singh S., Mohan S., Prakash R. In-Tech: Biosensors. 2010. P. 93-114.
7. More P.S., Kholam Y.B., Deshpande S.B. Mat. Let. 2003. V.58. P.205-210.
8. Kar S., Pal B.N., Chandhuri S., Chakravorty D. J. Phys. Chem. 2006. V.110. P. 4605-4611.
9. Galatsis K., Li Y.X., Wlodarski W., Comini E., Sberveglieri G., Cantalini C. Santucci S., Passacantando M. Sens. Actuator. B: Chem. 2002. V.83. P.276-280.
10. Nikolova V., Nikolov I., Andreev P., Najdenov V., Vitanov T. J. Appl. Electrochem. 2000. V. 30. P.705-710.
11. Li S., Zheng Y., Qin G.W., Ren Y., Pei W., Zuo L. Talanta. 2011. V.85, No.3. P.1260-1264.
12. Paracchino A., Brauer J.C., Moser J.E., Thimsen E., Graetzel M. J. Phys. Chem. C. 2012. V. 16, No. 13. P.7341-7350.
13. Ahuja T., Mir I.A., Kumar D., Rajesh D. Sens. Actuator. B: Chem. 2008. V.134. P.140-145.
14. Strehlitz B., Grundig B., Kopinke H. Anal. Chim. Acta. 2000. V. 403. P.11-23.
15. Luo Y.C., Do J.S. Biosens. Bioelectron. 2004. V.20, No.1. P. 15-23.
16. Hirai T., Kuwabata S., Yoneyama H., J. Electrochem. Soc. 1988. V.135, No.5. P.1132-1137.
17. Stasyuk N., Smutok O., Gayda G., Gonchar M., Koval'chuk Y. Biosens. Bioelectron. 2012. V.37. P. 46-52.
18. Ma X., Li G., Wang M. Cheng Y., Bai R., Chen H. Chem. Eur. J. 2006. V.12. P.3254-3260.
19. Bard A.J., Faulkner L.R. Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications – New York: J. Wiley and Sons, 2000. – 285 s.
20. Genies E.M., Boyle A., Lapkowski M., Tsintaris C. Synth. Met. 1990. V.36. P.139-182.

Поступила в редакцию 12 июля 2012 г.

Н. Е. Стасюк, Г. З. Гайда, М. В. Гончар, Е. П. Ковальчук. Амперометрический хемосенсор для анализа ионов аммония.

Методом электрохимической полимеризации на поверхности электродов синтезированы полимерные пленки полианилина, полипиррола и купрум (I) оксида. Сформированы чувствительные элементы амперометрических химических сенсоров для определения ионов аммония в растворе. Методом циклической вольтамперометрии исследована электрохимическая активность сконструированных сенсоров.

Ключевые слова: электропроводящие полимеры, полианилин, полипиррол, амперометрический сенсор, ионы аммония.

N. Ye. Stasyuk, G. Z. Gayda, M. V. Gonchar, Ye. P. Koval'chuk. Amperometric chemosensors for ammonium ions detection.

Polymeric tapes of polypyrrole, polyaniline and copper (I) oxide were synthesized on the surface of the electrodes by the method of electrochemical polymerization. The pickoff of amperometric touchcontrol is formed for determination of ammonium ions in solution. Electrochemical activity of constructed chemosensors was explored by cyclic voltamperometry.

Key words: conducting polymers, polyaniline, polypyrrole, amperometric chemosensor, ammonium ions.

Kharkov University Bulletin. 2012. № 1026. Chemical Series. Issue 21 (44).