

УДК 543.4

ПОДХОДЫ К ПОВЫШЕНИЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТВЕРДОФАЗНЫХ ОПТИЧЕСКИХ БИОСЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА

П.В. Родионов, И.А. Веселова, М.Е. Павлова, Е.А. Алиева, Т.Н. Шеховцова

(кафедра аналитической химии; e-mail: pv_rodionov@mail.ru)

Показано, что повышение чувствительности определения фенольных соединений с использованием оптических биосенсоров на основе хитозана возможно путем варьирования условий сорбции продуктов ферментативного окисления аналитов. Для этого в рамках моделей Ленгмюра и Фрейндлиха рассмотрены изотермы сорбции продуктов окисления фенолов хитозановой пленкой; определены количественные характеристики сорбционного процесса: величины предельной сорбции, константы сорбции, свободной энергии Гиббса и др.

Ключевые слова: твердофазный оптический биосенсор, хитозан, сорбция, фенольные соединения.

Одно из актуальных направлений современной аналитической химии – создание твердофазных оптических сенсоров, аналитический сигнал которых формируется и измеряется не в растворе, а непосредственно в чувствительном слое на поверхности подложки. Описанный подход позволяет анализировать непрозрачные и мутные среды, а также объекты на основе сложных матриц без их дополнительной пробоподготовки, что существенно упрощает анализ и уменьшает погрешность результатов измерений. В современной научной литературе приведены единичные примеры оптических сенсоров подобной конструкции. Так, ранее для определения ряда простейших изомерных дифенолов, катехоламинов и флавоноидов нами был разработан оптический биосенсор на основе природного полимера хитозана [1–4], действие которого основано на последовательном протекании двух процессов:

- 1) ферментативное окисление фенольного соединения с образованием соответствующего хинона;
- 2) химическое или физическое взаимодействие продукта окисления с хитозаном.

Проведение индикаторной реакции с использованием предложенных сенсоров сопровождалось увеличением поглощения (спектрофотометрический сенсор, рис. 1, а) или уменьшением интенсивности флуоресценции (флуоресцентный сенсор, рис. 1, б) их чувствительного слоя пропорционально концентрации фенольного соединения. Разработанные сен-

соры позволяли определять фенолы на уровне концентраций 10^{-7} – 10^{-4} М, а также отличались высокой стабильностью и воспроизводимостью результатов измерений.

Следует отметить, что при создании сенсоров подобной конструкции мало внимания уделяется изучению процессов сорбции, протекающих на границе раздела фаз раствор–поверхность. В свою очередь, именно эти процессы являются скоростью-лимитирующими в работе сенсоров, и понимание механизма сорбции может существенно улучшать, а также регулировать аналитические характеристики разрабатываемых устройств (селективность и чувствительность определения, диапазон определяемого содержания).

Цель данной работы – оптимизация условий сорбции продуктов окисления фенольных соединений хитозановой пленкой, а также оценка возможности повышения за счет этого чувствительности определения фенолов с использованием оптических биосенсоров на основе хитозана.

Экспериментальная часть

Исходные вещества

В работе использовали твердые препараты пероксидазы из корней хрена (К.Ф. 1.11.1.7, «Sigma», США). Растворы фермента готовили растворением навески твердого препарата в 50 мМ фосфатном буферном растворе (рН 6,5). Точную концентра-

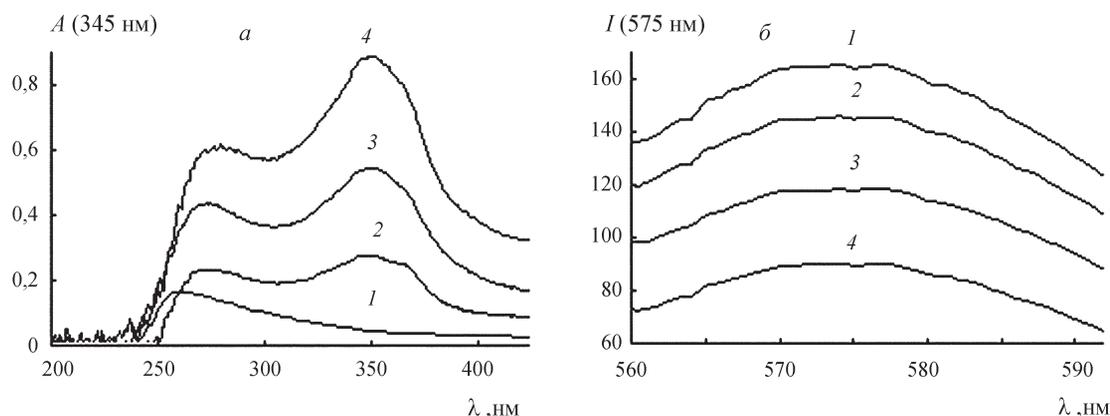


Рис. 1. Спектры поглощения (а) и флуоресценции (б) чувствительного слоя спектрофотометрического и флуоресцентного биосенсоров на основе хитозана соответственно после выдерживания в реакционной системе при разных концентрациях ПК, мкм: а – 0 (1), 10 (2), 25 (3), 50 (4); б – 0 (1), 1 (2), 3 (3), 5 (4)

цию устанавливали спектрофотометрически ($\epsilon_{403} = 9,4 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, $l = 1 \text{ cm}$ [5]). Твердый препарат и растворы фермента хранили в холодильнике при -18°C и $+4^\circ\text{C}$ соответственно. Применяли 1,7 М раствор пероксида водорода («Merck», Германия). Точную концентрацию раствора устанавливали спектрофотометрически ($\epsilon_{230} = 72,7 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, $l = 1 \text{ cm}$ [6]). Растворы с меньшим содержанием пероксида водорода готовили ежедневно разбавлением исходного раствора водой. Фосфатные буферные растворы (концентрация 50 мМ, рН в зависимости от эксперимента) готовили смешением 50 мМ водных растворов гидро- и дигидрофосфата аммония («Merck», Германия).

Применяли органические растворители – уксусную кислоту, этанол («Химмед», Россия). В работе использовали хитозан марки «low molecular weight» («Sigma», США). Раствор хитозана (1 об.%) готовили растворением точной навески в разбавленной уксусной кислоте (0,5 об.%). В качестве флуоресцентной метки применяли родамина Б изотиоцианат (РБИТЦ, «Sigma», США); его раствор готовили растворением рассчитанного количества твердого препарата в этаноле.

Рабочие 10 мМ растворы пирокатехина и гидрохинона (ПК и ГХ) производства фирмы «Sigma» (США) готовили ежедневно растворением их точных навесок в воде в посуде из темного стекла. Менее концентрированные растворы готовили разбавлением исходных растворов водой. Для приготовления всех водных растворов использовали деионизованную воду с удельным сопротивлением не менее 18,2 МОм, очищенную на установке «Milipore» (Франция).

Посуда и аппаратура

Использовали градуированные стеклянные пробирки и мерные колбы с притертыми пробками, предварительно очищенные концентрированной азотной кислотой с последующей стерилизацией в сушильном шкафу («AB UTENOS», Латвия) при температуре 120°C в течение 15 мин. Для отбора малых объемов растворов использовали микропипетки «Biohit» (Финляндия) и «Eppendorf» (Германия). Измерение рН буферных растворов проводили на рН-милливольтметре «Эконикс-эксперт» (Россия). Препараты взвешивали на аналитических весах «OHAUS» (Швейцария). Для проведения диализа использовали диализные мешки 1215-10 ТЗ («Биолот», Россия) с диаметром пор 12–14 кДа. Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре «UV-mini 1240» («Shimadzu», Япония), а спектры флуоресценции – на спектрофлуориметре «RFPC-5301» («Shimadzu», Япония). Измерения в растворе проводили в кварцевой микрокювете (объем 600 мкл, $l = 1 \text{ cm}$). В качестве подложки при создании оптических сенсоров использовали предметные стекла фирмы «Menzel» (Германия). Отражающей поверхностью служило зеркало толщиной 3 мм фирмы «Стеклополимер» (Россия). Реакционные растворы термостатировали в термостате «U 10» (Германия).

Методика проведения эксперимента

Для приготовления меченого хитозана смешивали необходимое количество растворов хитозана и метки РБИТЦ, полученную смесь оставляли на сутки в темном месте и далее диализовали при перемешивании

в течение суток, меняя воду каждые 2–3 ч [7]. Диализный мешок предварительно вымачивали в течение суток в деионизованной воде. Точную концентрацию метки устанавливали спектрофотометрически ($\epsilon_{550} = 10,3 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ [8]).

Чувствительный слой сенсора формировали по следующей методике: горизонтально расположенную стеклянную пластинку (38×14 мм) покрывали необходимым количеством смеси хитозана и пероксидазы и высушивали на воздухе при комнатной температуре (рис. 2). После испарения жидкости пластинки помещали в закрытую коробку с влажным воздухом и хранили при 4°C в темном месте.

Для проведения индикаторной реакции с использованием оптического сенсора в стеклянную кювету вводили необходимое количество растворов фосфатного буфера, фенольного соединения и пероксида водорода, затем перемешивали. Сенсор погружали в реакционную смесь, выдерживали в ней необходимое время, извлекали из раствора и высушивали на воздухе при комнатной температуре (рис. 3). В качестве оптимальных были выбраны условия для проведения

индикаторной реакции, приведенные в работах [1–4] (табл. 1).

Спектры поглощения регистрировали относительно чистой стеклянной пластинки, закрепляя сенсор на фронтальной поверхности кюветного отделения спектрофотометра (рис. 4, а). При регистрации спектров флуоресценции сенсор устанавливали в кюветном отделении флуориметра перед отражающей поверхностью (зеркалом) под углом 75° относительно возбуждающего излучения (рис. 4, б). Перед повторным использованием стеклянные пластинки вымачивали в мыльном растворе, механически очищали и промывали деионизованной водой и этанолом.

Реакцию ферментативного окисления фенольного соединения в отсутствие хитозана проводили по методике, аналогичной описанной выше, дополнительно вводя в стеклянную кювету необходимое количество фермента. В качестве аналитического сигнала использовали величину поглощения реакционной смеси при длине волны, соответствующей продукту окисления фенольного соединения.

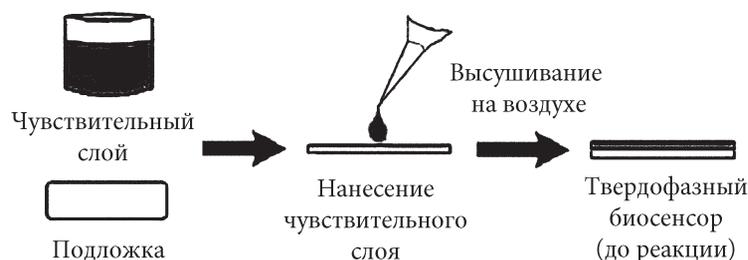


Рис. 2. Формирование чувствительного слоя оптического биосенсора

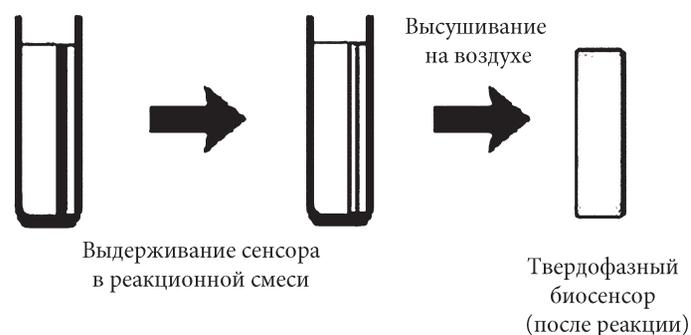


Рис. 3. Проведение индикаторной реакции с использованием твердофазного оптического биосенсора

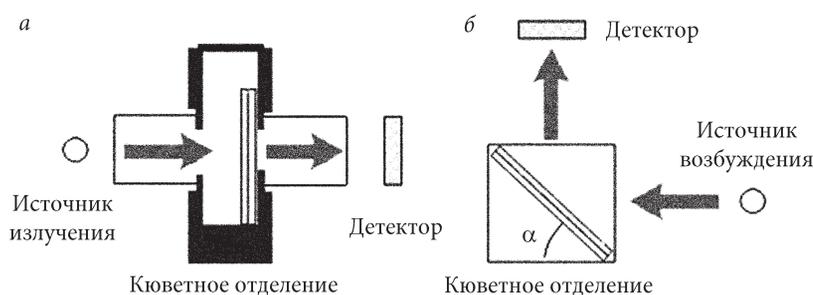


Рис. 4. Схема регистрации спектров поглощения (а) и флуоресценции (б) с помощью твердофазных оптических биосенсоров

Т а б л и ц а 1

Оптимальные условия работы оптических биосенсоров на основе хитозана

Параметр	Спектрофотометрический сенсор	Флуоресцентный сенсор
c (ПХ), нМ	10	10
c (H_2O_2), мкМ	500	100
50 мМ фосфатный буферный раствор	pH 6,5	pH 7,5
Время реакции	24 ч	10 мин
$T, ^\circ C$	25	25
Состав матрицы для иммобилизации пероксидазы	m (хитозан) = 0,4 мг/см ² 0,5%-я уксусная кислота	m (хитозан) = 0,4 мг/см ² , m (РБИТЦ) = 25 нг/см ² 0,5%-я уксусная кислота
$V_{\text{смеси}}$ (хитозан–пероксидаза)	200 мкл	200 мкл
Аналитическая длина волны	$\lambda_{\text{поглощения}} = 350$ нм	$\lambda_{\text{возбуждения}} = 550$ нм, $\lambda_{\text{испускания}} = 575$ нм
Спектральная ширина щелей, нм	5	5

Результаты и их обсуждение

Влияние температуры на величину аналитического сигнала

Изменение температуры и объема реакционной системы – два основных подхода к повышению эффективности сорбции в описанных индикаторных системах и как следствие к повышению чувствительности анализа с использованием твердофазных оптических сенсоров предложенной конструкции. Нами установлено, что отклик чувствительного слоя спектрофотометрического сенсора увеличивается примерно на 40% при повышении температуры в диапазоне 20–40°C. Однако поддержание повышенной температуры в течение длительного времени (оптимальные усло-

вия работы спектрофотометрического сенсора 24 ч) представлялось технологически неудобным. В то же время отклик чувствительного слоя флуоресцентного сенсора при повышении температуры уменьшался примерно на 20% (рис. 5). Следовательно, варьирование температуры не позволило существенно повысить чувствительность определения и было признано нецелесообразным.

При изучении сорбции в модельных системах [9] для упрощения задачи принято выделять два крайних варианта, при которых сорбция обусловлена физическими (физическая сорбция) и химическими (химическая сорбция) взаимодействиями. Однако четкое различие этих явлений проявляется крайне редко. Известно, что химическая сорбция возрастает при повы-

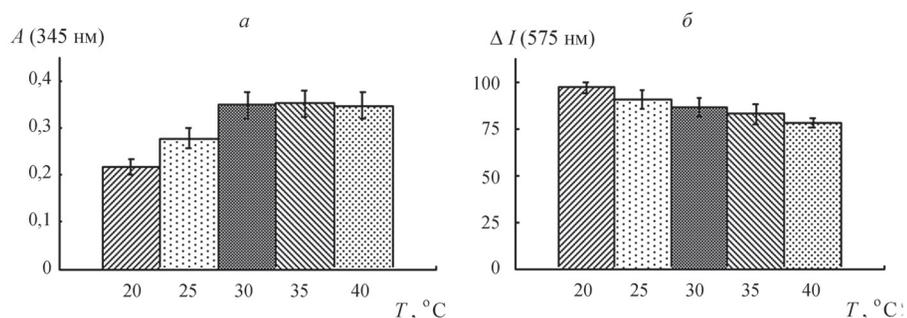


Рис. 5. Влияние температуры на величину поглощения (а) и интенсивность флуоресценции (б) чувствительного слоя спектрофотометрического и флуоресцентного биосенсоров; V (реакционной системы) = 5 мл; а – $c(\text{ГХ}) = 100$ мкМ, $t = 4$ ч; б – $c(\text{ПК}) = 5$ мкМ, $t = 10$ мин

шении температуры, а физическая – при ее понижении. Таким образом, полученные данные подтверждают сделанные нами ранее [1–4] предположения о том, что формирование откликов чувствительного слоя спектрофотометрического и флуоресцентного сенсоров происходит в результате преимущественно химических и физических взаимодействий соответственно (рис. 6).

Влияние объема реакционной системы на величину аналитического сигнала

Как уже говорилось ранее, один из способов повышения эффективности сорбции заключается в изменении объема реакционной системы (при постоянной концентрации сорбируемого соединения). Объем пробы варьировали в диапазоне 3–25 мл. Установлено, что увеличение объема сопровождалось повышением отклика чувствительного слоя в случае спектрофотометрического сенсора и его уменьшением в случае флуоресцентного сенсора (рис. 7). Для объяснения полученных результатов требовалось количественно оценить степень извлечения фенольных соединений хитозановой пленкой. Для этого были предварительно построены градуировочные графики, связывающие концентрацию фенольного соединения в растворе в отсутствие хитозана и величину поглощения при длине волны, соответствующей продукту его ферментативного окисления. Тангенс угла наклона градуировочной зависимости и концентрацию фенольного соединения в равновесном растворе определяли по формулам:

$$A_{\text{нач}} = \text{tg} \alpha c_{\text{нач}},$$

$$A_{\text{кон}} = \text{tg} \alpha c_{\text{кон}},$$

где $A_{\text{нач}}$ и $A_{\text{кон}}$ – оптическая плотность раствора при проведении реакции ферментативного окисления со-

ответственно в отсутствие и в присутствии хитозана; $\text{tg} \alpha$ – тангенс угла наклона кинетической кривой; $c_{\text{нач}}$ и $c_{\text{кон}}$ – концентрация фенольного соединения до и после сорбции соответственно, мМ. Степень извлечения рассчитывали по формуле:

$$R = \frac{c_{\text{нач}} - c_{\text{кон}}}{c} \cdot 100,$$

где R – степень извлечения, %.

В качестве модельных соединений использовали ПК и ГХ. При условиях, выбранных в качестве оптимальных для работы спектрофотометрического и флуоресцентного сенсоров, хорошо разрешенные максимумы на спектрах поглощения имели только продукты окисления ГХ (490 нм) и ПК (390 нм) соответственно. Следовательно, в случае спектрофотометрического сенсора не представлялось возможным корректно оценить степень извлечения ПК, а в случае флуоресцентного – ГХ. По этой причине, говоря далее про сорбционные характеристики хитозановых пленок по отношению к ГХ, мы будем подразумевать сорбцию при условиях, оптимальных для работы спектрофотометрического сенсора. Аналогично в случае ПК будет подразумеваться сорбция при условиях, оптимальных для работы флуоресцентного сенсора.

Установлено, что степень извлечения ГХ возрастает, а ПК уменьшается при увеличении объема реакционной системы (рис. 8), причем зависимость степени извлечения от концентрации фенольного соединения выходит на плато. Последнее, по-видимому, связано с насыщением хитозановой пленки продуктом окисления фенольного соединения при его высокой концентрации. Таким образом, было показано, что рост степени извлечения приводит к увеличению поглощения (эффективности тушения флуоресценции) и как следствие к повыше-

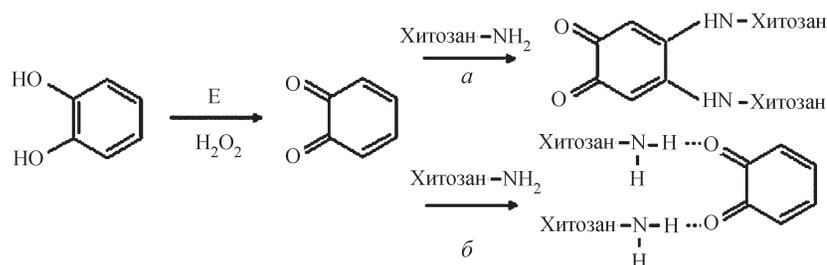


Рис. 6. Предполагаемая схема химической (а) и физической (б) сорбции хитозановой пленкой продуктов окисления фенольных соединений на примере ПК

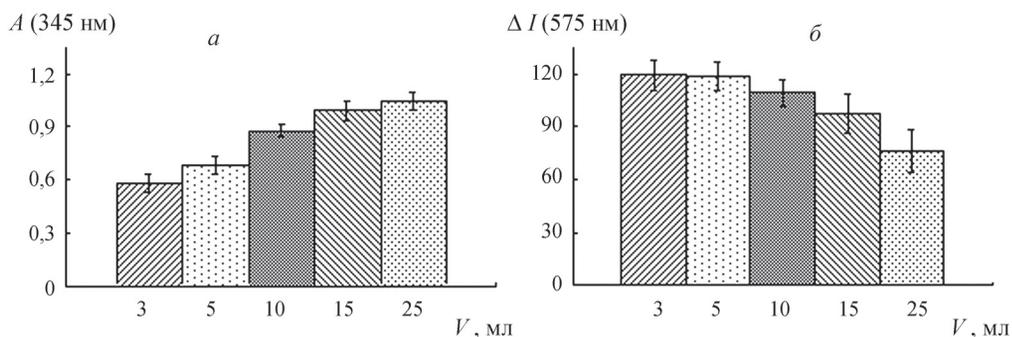


Рис. 7. Зависимость величины поглощения (а) и интенсивности флуоресценции (б) чувствительного слоя спектрофотометрического и флуоресцентного биосенсоров от объема реакционной системы; оптимальные условия; а – с(ГХ) = 100 мкМ; б – с(ПК) = 10 мкМ

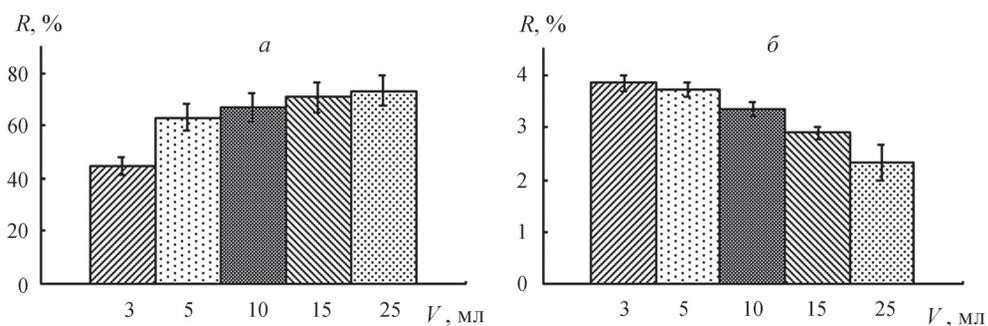


Рис. 8. Зависимость степени извлечения продуктов окисления ГХ (а) и ПК (б) от объема реакционной системы при условиях, оптимальных для работы спектрофотометрического и флуоресцентного биосенсоров соответственно; с(фенол) = 100 мкМ

нию отклика чувствительного слоя сенсора. Разный характер зависимости степени извлечения от объема пробы в случае разных сенсоров можно объяснить, анализируя механизм формирования аналитического сигнала на твердой поверхности. Индикаторные реакции с использованием оптических сенсоров двух типов проводились в схожих условиях, существенное отличие заключалось только во времени выдерживания сенсора в реакционной системе: 10 мин при

флуоресцентном и 24 ч при спектрофотометрическом детектировании. Аналитический сигнал формируется в результате последовательного протекания нескольких процессов, одним из которых является диффузия фенольного соединения к поверхности сенсора. По-видимому, при большом объеме пробы возникают диффузионные затруднения, вклад которых существенно уменьшается при увеличении времени реакции.

Построение изотерм сорбции и оценка сорбционных параметров

Для подтверждения предложенных гипотез на основании данных, полученных при оценке степени извлечения фенольных соединений хитозановой пленкой, были построены изотермы сорбции ГХ и ПК. Расчет сорбции проводили по формуле:

$$\Gamma = \frac{(c_{\text{нач}} - c_{\text{ост}}) \cdot V}{m},$$

где Γ – величина удельной сорбции, ммоль/г; m – масса хитозана, г; V – объем раствора, из которого проходила сорбция, мл.

Изотермы сорбции ГХ и ПК приведены на рис. 9. Они линейны в области малых концентраций и имеют вид кривых с насыщением. На основании их общего вида изотермы были отнесены к L-классу (класс Ленгмюра) [9]. Для оценки сорбционных параметров полученные изотермы были линеаризованы в рамках моделей Ленгмюра и Фрейндлиха

$$\Gamma = \Gamma_m \frac{K \cdot c}{1 + K \cdot c},$$

$$\frac{c}{\Gamma} = \frac{1}{\Gamma_m K} + \frac{c}{\Gamma_m},$$

где Γ_m – величина предельной сорбции, ммоль/г; c – равновесная концентрация адсорбата, мм; K – константа адсорбции, л/ммоль,

$$\Gamma = kc^n,$$

$$\lg \Gamma = n \lg c + \lg k,$$

где k – коэффициент пропорциональности, n – показатель степени.

Значения стандартной энергии Гиббса рассчитывали по формуле:

$$\Delta G_{298}^0 = RT \ln K,$$

где ΔG_{298}^0 – стандартная энергия Гиббса, Дж/моль; R – универсальная газовая постоянная, Дж/(моль·К); T – абсолютная температура, К. Из уравнений линейных зависимостей были рассчитаны значения величин предельной сорбции Γ_m , констант сорбции K и свободной энергии Гиббса ΔG_{298}^0 (для изотерм Ленгмюра), а также коэффициента пропорциональности k и показателя степени n (для изотерм Фрейндлиха). Количественные характеристики сорбционного процесса приведены в табл. 2, 3.

Известно, что величины предельной сорбции и констант сорбции характеризуют соответственно способность сорбента сорбировать и сорбата сорбироваться. Установлено, что для обеих индикаторных систем предельная сорбция возрастает при увеличении объема реакционной смеси. При этом константа сорбции повышается при увеличении объема в случае ГХ и уменьшается в случае ПК. Известно, что поскольку вещество концентрируется в поверхностном слое самопроизвольно, процесс сорбции характеризуется отрицательным значением энергии Гиббса ($\Delta G^0 < 0$). Оказалось, что в случае ГХ это значение повышается, а в случае ПК уменьшается по модулю с увеличением объема. Полученные данные говорят о том, что при увеличении объема пробы эффективность сорбции возрастает при оптимальных условиях работы спектрофотометрического сенсора и уменьшается при оптимальных условиях работы флуоресцентного сенсора. Рассчитанные коэффициенты корреляции оказались выше для изотерм, описанных уравнением Фрейндлиха, следовательно, именно это

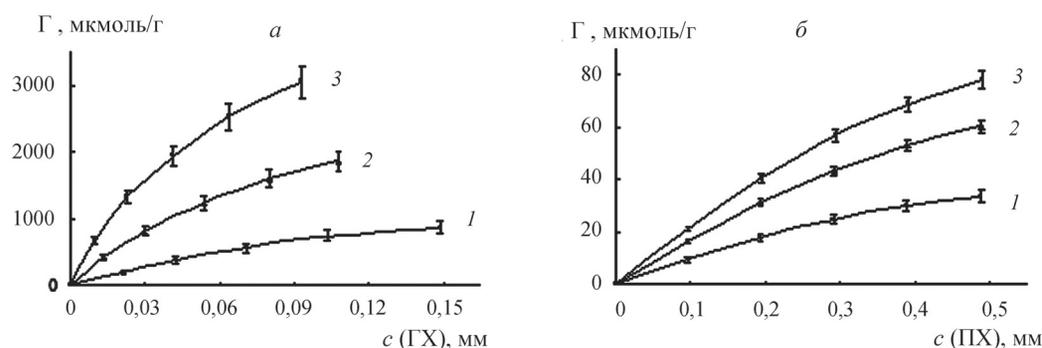


Рис. 9. Изотермы сорбции продуктов окисления ГХ (а) и ПК (б) хитозановой пленкой при условиях, оптимальных для работы спектрофотометрического и флуоресцентного оптического биосенсоров и при разных объемах реакционной системы: 5 (1), 10 (2), 15 мл (3)

Т а б л и ц а 2

Количественные характеристики сорбции фенольных соединений при условиях, оптимальных для работы спектрофотометрического и флуоресцентного биосенсора ($n = 4, R = 0,95$)

V , мл	Параметры изотермы Ленгмюра			Параметры изотермы Фрейндлиха			
	Γ_m , ммоль/г	K , л/ммоль	ΔG_{298}^0 , Дж/моль	r^2	n	k	r^2
спектрофотометрический биосенсор (модельное соединение ГХ)							
3	$0,69 \pm 0,05$	$3,6 \pm 0,3$	-3139 ± 251	0,948	$0,79 \pm 0,06$	$0,23 \pm 0,02$	0,984
5	$1,9 \pm 0,2$	$5,6 \pm 0,4$	-4238 ± 339	0,966	$0,77 \pm 0,06$	$0,84 \pm 0,07$	0,983
10	$3,8 \pm 0,3$	$9,5 \pm 0,8$	-5503 ± 440	0,987	$0,71 \pm 0,06$	$1,3 \pm 0,1$	0,996
15	$5,1 \pm 0,4$	$15,4 \pm 1,2$	-6686 ± 525	0,996	$0,66 \pm 0,05$	$1,5 \pm 0,1$	0,994
25	$6,5 \pm 0,5$	$24,6 \pm 2,0$	-7833 ± 627	0,994	$0,58 \pm 0,05$	$1,5 \pm 0,1$	0,995
флуоресцентный биосенсор (модельное соединение ПК)							
3	$(0,47 \pm 0,02) \cdot 10^{-1}$	$1,45 \pm 0,06$	-924 ± 37	0,974	$(76 \pm 3) \cdot 10^{-2}$	$(6,8 \pm 0,3) \cdot 10^{-2}$	0,989
5	$(0,79 \pm 0,03) \cdot 10^{-1}$	$1,40 \pm 0,06$	-825 ± 33	0,964	$(77 \pm 3) \cdot 10^{-2}$	$(12,5 \pm 0,5) \cdot 10^{-2}$	0,984
10	$(1,72 \pm 0,07) \cdot 10^{-1}$	$1,09 \pm 0,04$	-223 ± 9	0,984	$(81 \pm 4) \cdot 10^{-2}$	$(29 \pm 1) \cdot 10^{-2}$	0,995
15	$(2,3 \pm 0,1) \cdot 10^{-1}$	$1,05 \pm 0,04$	-115 ± 5	0,992	$(81 \pm 4) \cdot 10^{-2}$	$(38 \pm 1) \cdot 10^{-2}$	0,997
25	$(3,9 \pm 0,1) \cdot 10^{-1}$	$1,04 \pm 0,04$	-97 ± 4	0,991	$(81 \pm 4) \cdot 10^{-2}$	$(47 \pm 2) \cdot 10^{-2}$	0,996

Т а б л и ц а 3

Метрологические характеристики определения ПК с использованием оптических биосенсоров на основе хитозана при разных объемах реакционной системы

V, мл	Спектрофотометрический биосенсор		Флуоресцентный биосенсор	
	диапазон линейности, мкМ	предел обнаружения, мкМ	диапазон линейности, мкМ	предел обнаружения, мкМ
3	10,0–200,0	9,0	0,5–5,0	0,10
5	10,0–200,0	7,0	0,5–5,0	0,10
10	5,0–75,0	4,0	0,5–5,0	0,10
15	2,5–50,0	2,5	1,0–7,5	0,15
25	2,5–25,0	1,5	1,0–10,0	0,20

уравнение более точно описывает процесс сорбции в исследуемых системах.

Метрологические характеристики оптических биосенсоров

Были построены градуировочные зависимости для определения ПК в оптимальных условиях работы обоих сенсоров при разных объемах реакционной системы. Как видно из данных, представленных в табл. 3, в случае спектрофотометрического сенсора увеличение объема пробы сопровождалось повышением чувствительности определения ПК, однако приводило к сужению диапазона линейности. Очевидно, это связано с тем, что при увеличении объема реакционной системы насыщение хитозановой пленки продуктом окисления фенольного соединения наступает при меньшей концентрации последнего, поскольку масса хитозана, наносимого на поверхность подложки, а следовательно, и количество реакционно-способных аминогрупп в системе остается постоянным независимо от объема пробы. В случае определения ПК с помощью флуоресцентного сенсора аналогичная закономерность наблюдалась при уменьшении объема реакционной системы, что, по-видимому, является результатом диффузионных затруднений при сокращении времени реакции.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 12-03-00249-а) и Министерства образования и науки РФ (соглашения № 8425 и № 8448 от 31.08.2012).

Таим образом, оценка термодинамических параметров процесса сорбции фенольных соединений хитозановой пленкой показала, что варьирование объема реакционной системы позволяет контролировать эффективность сорбции и регулировать аналитические характеристики определения аналитов, а именно, диапазоны их определяемых концентраций и пределы обнаружения, с использованием спектрофотометрического и флуоресцентного биосенсоров в зависимости от конкретной задачи анализа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Олейник Л.И., Веселова И.А., Родионов П.В., Будаев И.А., Шеховцова Т.Н. // Зав. лаб. Диагностика материалов. 2011. **77**. С. 23.
2. Malinina L.I., Rodionov P.V., Veselova I.A., Shekhovtsova T.N. // Adv. In Chitin Sciences. 2011. **11**. P. 309.
3. Veselova I.A., Malinina L.I., Rodionov P.V., Shekhovtsova T.N. // Talanta. 2012. **102**. P. 101.
4. Rodionov P., Veselova I., Shekhovtsova T. // Euroanalysis, 16th European conference on analytical chemistry «Challenges in modern analytical chemistry». 2011. **1**. P.155.
5. Shannon L.M., Kay E., Lew J.Y. // J. Biol. Chem. 1966. **249**. P. 2166.
6. Gaspar S., Popescu I.C., Gazaryan I.G., Bautista A.G., Sakharov I.Y., Mattiasson B., Csoregi B. // Electrochem. Acta. 2000. **46**. P. 255.
7. Tallury P., Kar S., Bamrungsap S., Huang Y.F., Tan W., Santra S. // Chem. Commun. 2009. **17**. P. 2347.
8. Ma O., Lavertu M., Sun J., Nguyen S., Buschmann M.D., Winnik F.M., Hoemann C.D. // Carbohydr. Polym. 2008. **72**. P. 616.
9. Еремин В.В., Каргов С.И., Успенская И.А. Основы физической химии. М., 2005.

Поступила в редакцию 25.02.13

APPROACHES TO INCREASE THE SENSITIVITY OF THE DETERMINATION OF PHENOLIC COMPOUNDS USING THE SOLID-PHASE OPTICAL BIOSENSORS BASED ON CHITOSAN

P.V. Rodionov, I.A. Veselova, M.E. Pavlova, E.A. Alieva, T.N. Shekhovtsova

(Division of Analytical Chemistry)

It has been shown that varying the conditions of sorption of the products of phenolic compounds oxidation allows increasing the sensitivity of phenols determination using the chitosan-based optical biosensors. The isotherms of sorption of the phenolic compounds oxidation products into chitosan were described by Langmuir and Freundlich types of equations. The following sorption characteristics were determined: maximum sorption capacity, Langmuir isotherm constant, Gibbs free energy and others.

Key words: solid-phase optical biosensor, chitosan, sorption, phenolic compounds.

Сведения об авторах: *Родионов Павел Валерьевич* – аспирант кафедры аналитической химии химического факультета МГУ (pv_godionov@mail.ru); *Веселова Ирина Анатольевна* – доцент кафедры аналитической химии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (irina.veselova@mail.ru), *Павлова Марина Евгеньевна* – студентка химического факультета МГУ (pavlova-marina-evg@mail.ru), *Алиева Елена Альбертовна* – студентка химического факультета МГУ (alieva192@mail.ru), *Шеховцова Татьяна Николаевна* – профессор химического факультета МГУ, докт. хим. наук (tnshekh@yandex.ru).