

Голографические сенсоры для диагностики компонентов растворов

А.В.Крайский, В.А.Постников, Т.Т.Султанов, А.В.Хамидулин

Исследованы свойства голографических сенсоров двух типов, матрица которых представляет собой трехмерную полимерную сетку сополимеров акриламида, акриловой кислоты (чувствительны к кислотности среды и присутствию ионов двухвалентных металлов) и аминокислоты (чувствительны к глюкозе). Обнаружено, что с изменением ионного состава раствора наряду с изменением расстояния между слоями изменяется дифракционная эффективность голограмм. В переходных процессах обнаружены изменение формы спектральных линий, связываемое с неоднородностью чувствительного слоя, и немонотонный ход изменения толщины эмульсии и дифракционной эффективности сенсоров глюкозы, средний голографический отклик которых в области физиологических концентраций глюкозы в модельных растворах достигает $40 \text{ нм}/(\text{ммоль} \cdot \text{л}^{-1})$. Показана возможность применения разработанных голографических сенсоров для визуального и приборного определения кислотности среды, содержания спирта, ионной силы, солей двухвалентных металлов и качества воды, в том числе питьевой.

Ключевые слова: голографические сенсоры, диагностика растворов, глюкоза, тяжелые металлы.

В настоящее время в мире проявляется достаточно устойчивый интерес к оптическим сенсорам, используемым для определения значительных концентраций специфических компонентов растворов и их параметров. Достоинство этих сенсоров состоит в том, что они позволяют достаточно просто определять концентрации и аппаратно, и визуально. К таким сенсорам относятся голографические сенсоры [1] и сенсоры на фотонных кристаллах [2]. Показаны возможности их использования для определения концентраций протонов (кислотности раствора), ионов тяжелых металлов [3, 4], глюкозы в крови [5, 6] и в других биологических жидкостях [7], наличия спор бактерий [8].

Голографические сенсоры [1] представляются весьма перспективными вследствие их высокой чувствительности, простоты использования, достаточно высокой точности и широкого спектра возможных применений. В настоящее время они относятся к элементам со средней чувствительностью: от десятков до тысяч $\text{мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$ в зависимости от типа анализируемого компонента и от конструкции и состава матрицы сенсора. Такой диапазон чувствительности требуется, например, при измерении концентрации глюкозы в крови и в других биологических жидкостях.

Голографические сенсоры представляют собой матрицу на основе полимерного гидрогеля, в которую наноразмерные твердотельные зерна внедрены так, что кон-

центрация их периодически изменяется в пространстве, а среднее расстояние между зернами много меньше длины волны видимого света. Такая структура при освещении ее белым светом при не слишком большой дифракционной эффективности (ДЭ) голограммы (когда пропускание мало отличается от единицы) отражает узкополосное излучение, длина волны которого внутри среды при нормальном падении света на структуру равна удвоенному периоду слоев. В матрицу встраиваются специальные вещества, вызывающие под действием тестируемого компонента (ТК) раствора изменение набухания гидрогеля. Это приводит к изменению периода структуры и, следовательно, длины волны отраженного излучения, контролируя которое с помощью спектрального прибора или даже визуально можно судить о концентрации ТК (ионов металлов, глюкозы, величины кислотности и т.п.).

Основной целью нашей работы на данном этапе является разработка сенсоров для определения концентрации глюкозы в крови – дешевых и простых в обращении тестовых пластинок многократного применения. Кроме того, предполагается возможность создания датчиков для контроля условий транспортировки и хранения вакцин, сывороток, ферментных препаратов, продуктов питания, а также простых тестовых систем для бытовых целей. Изучение механизмов изменения голографического отклика, как мы полагаем, позволит осуществлять тонкую настройку сенсора для конкретных условий работы.

Для получения голограмм мы использовали обычный фотографический процесс, и при экспонировании фотоэмульсии в тестируемом растворе излучением He-Ne-лазера по схеме во встречных пучках получали нанозерна металлического серебра [1, 9–12] с таким периодом слоев, что пики отраженного излучения лежали в рабочей области спектрометра. Нами исследовался ряд матриц различного состава и конструкции. Матрицы на основе сополимеров акриламида с ионогенными сомономерами

А.В.Крайский, Т.Т.Султанов. Физический институт им. П.Н.Лебедева РАН, Россия, 119991 Москва, Ленинский просп., 53; e-mail: kraiski@sci.lebedev.ru

В.А.Постников, А.В.Хамидулин. Научно-исследовательский институт физико-химической медицины Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию, Россия, 119992 Москва, ул. Малая Пироговская, 1а; e-mail: vladpostnikov@mail.ru

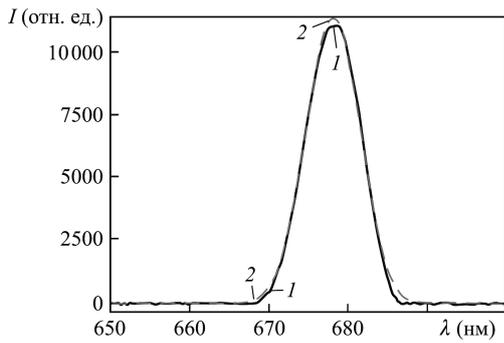


Рис.1. Экспериментальная чувствительность спектра отражения слоя сенсора (1) и его аппроксимация гауссовым контуром с шириной 8 нм (2).

чувствительны к кислотности раствора pH и к ионной силе, а на основе аминифенилборной кислоты – к глюкозе. В работе представлены результаты исследования основных свойств этих сенсоров.

На рис.1 показан характерный спектр отражения чувствительного слоя сенсора. Для идеального слоя с резкими границами форма спектра отражения должна описываться функцией $(\sin x/x)^2$. У нас же спектр довольно хорошо аппроксимируется гауссовой функцией. Это свидетельствует о неидеальности расположения слоев зерен серебра.

Следует сказать, что зерна металлического серебра в голограмме находятся в очень сложном окружении, в состав которого входят молекулы и ионы раствора, элементы гидрогелевой матрицы. При изменении состава раствора происходит перераспределение состава ионов раствора и структуры самой матрицы. В результате изменяется так называемый отклик сенсора, т.е. средняя длина волны отраженного излучения, и, вследствие изме-

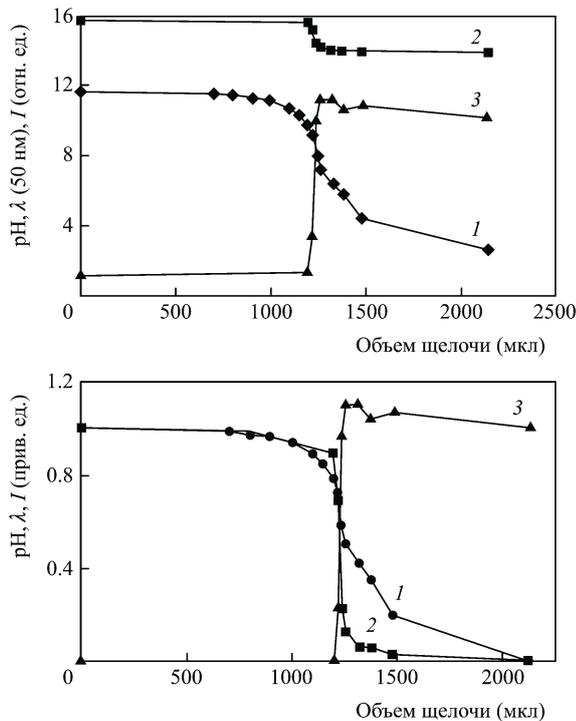


Рис.2. Зависимости кислотности (измеряется в растворе) (1), длины волны (2) и интенсивности (3) излучения, отраженного от находящегося в растворе соляной кислоты сенсора при его титровании щелочью NaOH (а), а также так называемые приведенные (см. текст) зависимости (б).

нения дифракционной эффективности голограммы, его интенсивность. На рис.2,а показан отклик сенсора, помещенного в раствор соляной кислоты при титровании его щелочью NaOH (кислотность раствора регистрировалась обычным pH-метром). При титровании резкое изменение длины волны отраженного излучения и ДЭ происходит в точке резкого изменения кислотности раствора. При этом ДЭ изменялась практически на порядок. Это означает, что при изменении ионного состава кроме набухания гидрогеля происходит сильное изменение светорассеивающих свойств голографического слоя. Этот факт до наших работ [9 – 12] не был известен. На рис.2,б представлены зависимости рис.2,а, приведенные к одному масштабу с помощью следующего алгоритма. Для какой-либо зависимости $F(m)$ для граничных значений аргумента m (в случае рис.2 – объема добавленного раствора щелочи) определялись максимальное из этих значений ($A = \max(F(0), F(m_{\max}))$) и минимальное ($B = \min(F(0), F(m_{\max}))$). Далее зависимость $F(m)$ преобразовывалась в зависимость $f(m)$ следующим образом: $f(m) = (F(m) - B)/(A - B)$. Из рис.2,б видно, что все особенности кривой титрования отражаются в оптических характеристиках, т.е. по ним можно осуществлять контроль кислотности. Обращает на себя внимание тот факт, что при изменении количества добавленной щелочи знак изменения ДЭ противоположен знаку изменения длины волны.

На рис.3 показаны отклики сенсоров на ионы металлов в широком диапазоне их концентраций: $10^{-7} - 10^{-1}$ моль/л. Они явно разделяются на три группы. Наиболее чувствителен сенсор к ионам Pb^{2+} и Co^{3+} (от 10^{-5} моль/л). К ионам Mn^{2+} и Sr^{2+} чувствительность на два порядка меньше. Обращает на себя внимание особенность ионов щелочных металлов Na^+ и K^+ . Чувствительность к ним на порядок меньше, чем к Pb^{2+} , причем, в отличие от ионов других металлов, вначале идет разбухание (увеличение длины волны), а затем сжатие (уменьшение длины волны) гидрогеля.

Таким образом, сенсор может служить индикатором присутствия ионов металлов в воде. На рис.4,а приведены спектры отражения сенсора, помещенного в раствор соли свинца в дистиллированной воде ($\lambda = 542$ нм) с концентрацией 5×10^{-3} моль/л, и минеральной воды, содержащей соли кальция с концентрацией 3×10^{-3} моль/л (585.4 нм). Сенсоры могут применяться многократно при условии их регенерации, для чего они отмываются, напри-

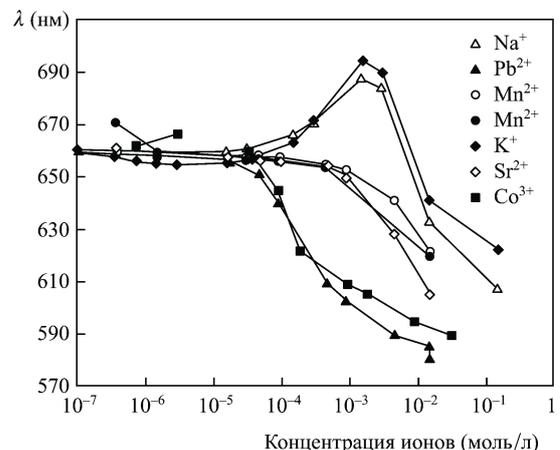


Рис.3. Отклики сенсоров на ионы ряда металлов.

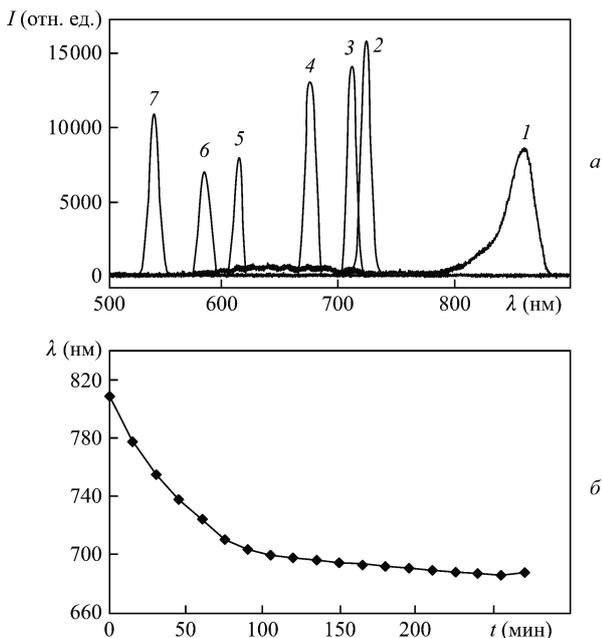


Рис.4. Отклик сенсора на присутствие ионов металлов в воде, приведены спектры отражения (1 – дистиллированная вода после переноса в нее сенсора из раствора цитрата, $\lambda = 860$ нм; 2 – дистиллированная вода (стационарное состояние), $\lambda = 724$ нм; 3 – водопроводная вода после фильтра «Аквафор», $\lambda = 711.7$ нм; 4 – водопроводная вода после фильтра «Барьер», $\lambda = 676.3$ нм; 5 – холодная водопроводная вода, $\lambda = 615.2$ нм; 6 – минеральная вода, содержащая ионы Ca^{2+} с концентрацией 3×10^{-3} моль \cdot л $^{-1}$, $\lambda = 585.4$ нм; 7 – раствор соли свинца в дистиллированной воде с концентрацией ионов $\text{Pb}^{2+} 5 \times 10^{-3}$ моль \cdot л $^{-1}$, $\lambda = 542$ нм) (а) и типичная картина смещения положения максимума отклика сенсора, находящегося в дистиллированной воде, к стационарному состоянию после регенерации (б).

мер, в цитрате натрия и затем в дистиллированной воде. При этом происходит быстрый переход отклика сенсора в ИК область ($\lambda = 860$ нм), а затем его медленный переход к стационарному состоянию (735 нм). На рис.4,б показана типичная картина кинетики положения максимума отклика в этом случае. Для водопроводной воды положение стационарного отклика ближе к его положению для минеральной воды ($\lambda = 615.2$ нм), что мы связываем с наличием в водопроводной воде солей металлов. Максимумы линий отражения этой же воды после фильтрации бытовыми фильтрами расположены на $\lambda = 685$ нм (фильтр «Барьер») и $\lambda = 716$ нм (фильтр «Аквафор»).

На рис.5 показано изменение во времени формы линии в спектре отраженного света при переносе сенсора на

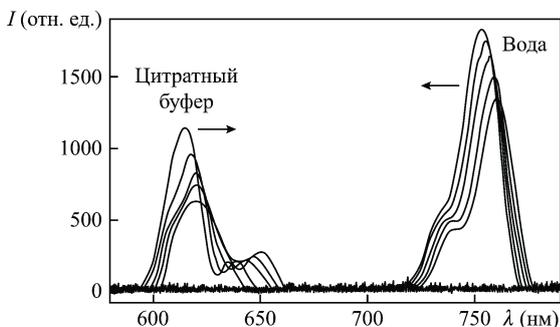


Рис.5. Изменение формы линии в спектре отраженного света при переносе сенсора из цитратного буфера в дистиллированную воду (справа) и обратно (слева). Шаг по времени 0.5 с. Стрелки указывают направления смещения максимума линии во времени в каждой группе линий.

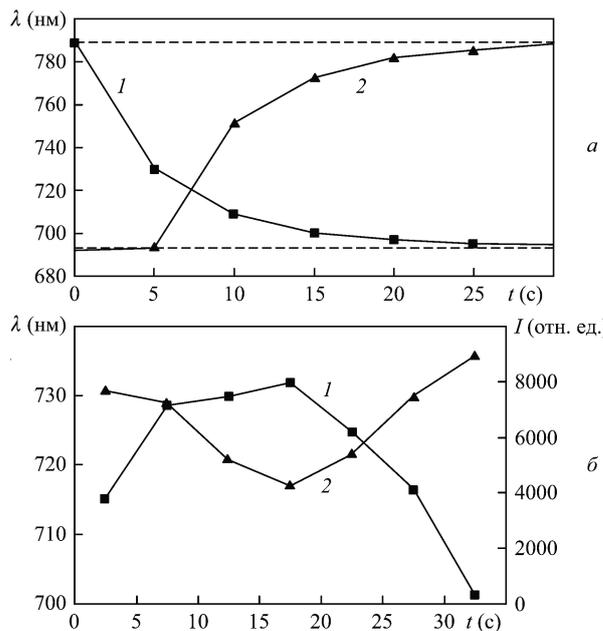


Рис.6. Положения максимума линии в спектре отражения при переносе сенсора на основе аминифенилборной кислоты из щелочи в кислоту (сжатие, 1) и наоборот (разбухание, 2) (а) и положение максимума линии в спектре отражения (1) и ее интенсивность (2) при переносе сенсора из цитратного буфера в дистиллированную воду (б).

основе аминифенилборной кислоты из цитратного буфера в дистиллированную воду и обратно. Изменение это обратимо. Сложная форма линии свидетельствует о неоднородном распределении расстояния между слоями серебра по глубине. Хорошо видно падение ДЭ по мере набухания слоя.

На рис.6,а представлена кинетика изменения положения максимума линии в спектре отражения другого образца сенсора на основе аминифенилборной кислоты после замены в кювете раствора щелочи раствором кислоты и наоборот (переходные процессы). Длина волны измерялась в процессе изменения набухания и перехода его в стационарное состояние. Набухание при этом изменяется монотонно и примерно экспоненциально. На рис.6,б показана кинетика изменения положения максимума линии в спектре отражения в переходном процессе при замене цитратного буфера дистиллированной водой. Начальное состояние этого сенсора не было стационарным. Изменения во времени длины волны линии и интенсивности немонотонны, причем знаки изменений противоположны. По всей видимости, эта немонотонность связана со сложным характером изменения ионного состава раствора внутри эмульсии. Понимание сущности обнаруженного нами факта требует дополнительных исследований.

Для подстройки сенсора под определенные рабочие условия необходимо подбирать параметры матрицы. Это можно делать посредством изменения конструкции матрицы и подбором сомономеров и их концентрации. На рис.7 показаны кривые отклика положения максимума в зависимости от кислотности раствора для матриц различного состава. Видно, что свойствами отклика сенсора можно управлять в довольно широких пределах.

В результате детальных исследований свойств сенсоров была проведена оптимизация откликов различных сенсоров на глюкозу. Их концентрационные зависимости показаны на рис.8,а. Видно, что чувствительность изменяется от 4.3 до 32 нм/(ммоль \cdot л $^{-1}$).

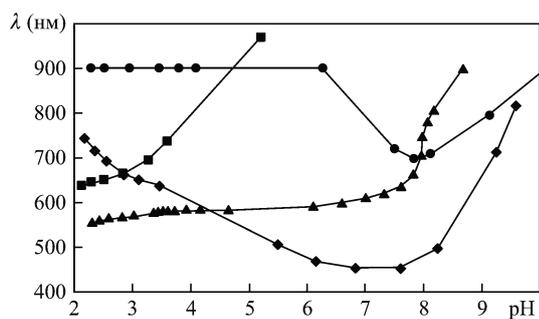


Рис.7. Зависимости положений максимума от кислотности раствора для матриц различного состава.

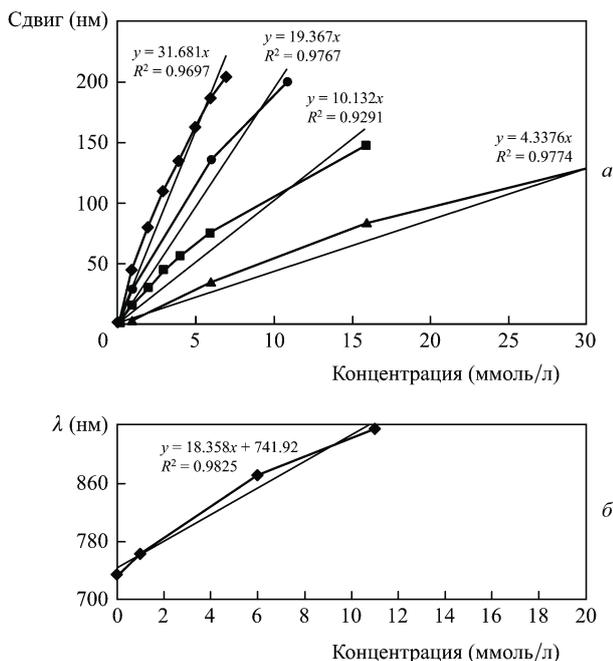


Рис.8. Зависимости сдвига положения максимума линии в спектре отражения от концентрации глюкозы для различных сенсоров (а) и зависимость положения максимума линии в спектре отражения в физиологической области концентраций глюкозы для сенсора со средней чувствительностью 18.4 нм/(ммоль · л⁻¹) (б). Прямые линии – результаты аппроксимации экспериментальных кривых пропорциональными функциями с указанием их уравнений и коэффициентов детерминации R².

На рис.8,б представлена концентрационная зависимость положения максимума линии в спектре отражения в физиологической области концентраций глюкозы для сенсора со средней чувствительностью 18.4 нм/(ммоль · л⁻¹). Видно, что практически все отклики расположены в ИК области, а это делает невозможным визуальный контроль. Переход в видимую область осуществить достаточно просто, записав голограмму в синем свете, например с помощью излучения гелий-кадмиевого лазера (λ = 446 нм). Для сохранения тех же сдвигов линий при переходе к длине волны ~ 450 нм вблизи нулевой концентрации надо повысить чувствительность сенсора до 30 нм/(ммоль · л⁻¹), что соответствует последнему полученному нами типу сенсоров. При этом максимум линии в спектре отражения для области концентраций 0–10 ммоль · л⁻¹ будет лежать между 450 и 650 нм (см. табл.1).

На рис.9 показаны отклики сенсоров для двух типов матриц при изменении концентрации раствора этилового спирта в воде. На рис.9,а представлены линии в спектре

Табл.1. Параметры отклика сенсора для физиологических концентраций глюкозы.

Концентрация глюкозы (ммоль/л)	Положение максимума линии при чувствительности 18.4 нм/(ммоль · л ⁻¹) (нм)	Отстройка максимума линии от его положения при нулевой концентрации (нм)	Положение максимума линии при чувствительности 30.0 нм/(ммоль · л ⁻¹) (нм)
0	733.1	0	450
1	761.5	28.4	478.4
5	869	135.9	585.9
10	933.5	200.4	650.4

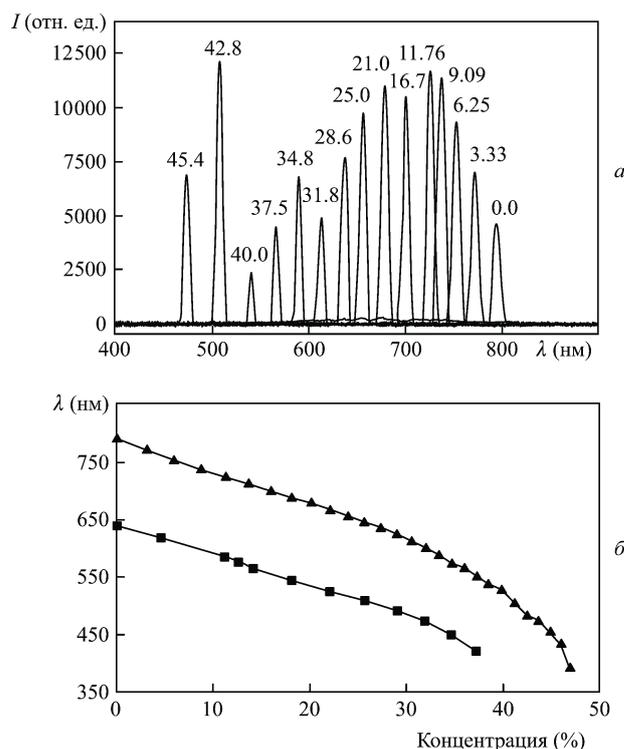


Рис.9. Спектры отражения сенсоров на основе акриловой кислоты при различных концентрациях спиртового раствора (цифры у пика – концентрация спирта в %) (а), а также положения максимумов линий в спектре отражения для сенсоров на основе акриловой кислоты (верхняя кривая) и аминофенилборной кислоты (нижняя кривая) (б).

отражения сенсора на основе акриловой кислоты при различных концентрациях спирта в водном растворе, а на рис.9,б – положения максимумов линий в зависимости от концентрации спирта для этого сенсора и сенсора на основе аминофенилборной кислоты. Положения максимумов линии в спектре отражения при нулевой концентрации зависят как от свойств матрицы сенсора, так и от условий записи голограмм и могут контролироваться изменяться в некоторых пределах. Характер концентрационной зависимости в спиртовом растворе иной, нежели при титровании, поскольку в этом случае уменьшение набухания связано, видимо, с простым обезвоживанием раствора внутри матрицы без участия процессов ионизации.

Таким образом, нами разработана методика создания голографических сенсоров различных типов. Обнаружено, что при изменении ионного состава раствора изменяется не только расстояние между слоями нанозерен серебра, но и дифракционная эффективность голограмм. В переходных процессах обнаружены изменения формы линий в спектрах отражения, связываемые с неоднородностью чувствительного слоя, и немонотонный ход изме-

нения толщины эмульсии и дифракционной эффективности. Подбран состав компонентов гидрогелевой среды для систем, потенциально пригодных в качестве основы сенсоров глюкозы. Спектрографическая оценка отклика в различных буферных системах показала, что максимальный средний голографический отклик в области физиологических концентраций глюкозы ($1-20 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$) в расчете на $1 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$ глюкозы в модельных растворах достигает в этих сенсорах $40 \text{ нм}/(\text{ммоль} \cdot \text{л}^{-1})$. Показана возможность применения голографических датчиков для визуального и приборного определения кислотности среды, содержания спирта, ионной силы, солей двухвалентных металлов, а также качества воды, в том числе питьевой.

Работа поддержана грантом Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине».

1. Marshall A.J., Lowe Ch.R., et al. *J. Phys. Condens. Matter.*, **18**, 619 (2006); Lowe Ch.R., Millington R.B., Bluth J., Mayes J.E., Patent USA № 5989923, data publ. 1999-11-23.
2. Alexeev V.L., Das S., Finegold D.N., Asher S.A. *Clinical Chem.*, **50** (12), 2353 (2004).
3. Marshall A.J., Young D.S., Kabilan S., Hussain A., Blyth J., Lowe Ch.R. *Anal. Chim. Acta*, **527**, 13 (2004).
4. Madrigal-Gonzalez B.M., Christie G., Davidson C.A.B., Blyth J., Lowe Ch.R. *Anal. Chim. Acta*, **528**, 219 (2005).
5. Kabilan S., Marshall A.J., Sartain F.K., Mei-Ching Lee, Hussain A., Xiaoping Yang, Blyth J., Karangu N., James K., Zeng J., Smith D., Domschke A., Lowe Ch.R. *Biosensors and Bioelectronics*, **20**, 1602 (2005).
6. Horgan A.M., Marshall A.J., Key S.J., Dean K.E.S., Creasy C.D., Kabilan S. *Biosensors and Bioelectronics*, **21**, 1838 (2006).
7. Xiaoping Yang, Xiaohan Pan, Blyth J., Lowe Ch.R. *Biosensors and Bioelectronics*, **23** (6), 899 (2008).
8. Bhatta D., Christie G., Madrigal-Gonzalez B., Blyth J., Lowe C.R. *Biosensors and Bioelectronics*, **23**, 520 (2007).
9. Postnikov V.A., Kraiskii A.V., Sultanov T.T., Tikhonov V.E. *Proc. XVIII International School-Seminar «Spectroscopy of Molecules and Crystals»* (Beregove, Crimea, Ukraine, 2007, p. 261).
10. Крайский А.В., Постников В.А., Султанов Т.Т., Тихонов В.Е. *Тез. докл. конф. «Фундаментальные науки – медицине»* (Москва, 2007, с. 79).
11. Крайский А.В., Постников В.А., Султанов Т.Т., Тихонов В.Е. *Альманах клинической медицины*, **17** (2), 108 (2008).
12. Крайский А.В., Постников В.А., Денискин В.В., Султанов Т.Т., Тихонов В.Е., Хамидулин А.В. В сб. *Труды Междунар. конф. «Преобразование энергии света при фотосинтезе»* (Пушино, 2008, с. 221).