

На правах рукописи



Зяблов Александр Николаевич

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ  
ПЬЕЗОЭЛЕКТРИЧЕСКИМИ СЕНСОРАМИ НА ОСНОВЕ  
МОЛЕКУЛЯРНО-ИМПРИНТИРОВАННЫХ ПОЛИМЕРОВ**

Специальность 02.00.02 – Аналитическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора химических наук

Воронеж – 2014 г.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Воронежский государственный университет»

Научный консультант доктор химических наук, профессор

**Селеменев Владимир Федорович**

Официальные оппоненты:

**Штыков Сергей Николаевич** – доктор химических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Национальный исследовательский Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», кафедра аналитической химии и химической экологии, профессор

**Яшин Яков Иванович** – доктор химических наук, профессор, ООО «Интерлаб», отдел исследований и разработок, руководитель

**Платонов Игорь Артемьевич** – доктор технических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный аэрокосмический университет имени академика С.П. Королева (Национальный исследовательский университет)», кафедра химии, заведующий

Ведущая организация Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Защита состоится 4 февраля 2014 г. в 14.00 часов в ауд. 439 на заседании диссертационного совета Д 212.038.19 по химическим наукам при Воронежском государственном университете по адресу: 394006, г. Воронеж, Университетская пл., 1, ВГУ, химический факультет.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Воронежского государственного университета и на сайте <http://www.science.vsu.ru>

Автореферат разослан «\_\_\_» ноября 2014 г.

Ученый секретарь диссертационного совета



Н.В. Столповская

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Актуальность работы.**

Сенсорные системы, позволяющие проводить экспресс - измерения непосредственно на месте события, существенно дополняют классические аналитические методы. К настоящему времени накоплен обширный экспериментальный материал по созданию пьезосенсоров и мультисенсорных систем на их основе для детектирования неорганических газов и органических легколетучих токсикантов. Для определения аналитов в жидких средах наибольшее применение получили электрохимические сенсоры, а также биосенсоры для определения микроорганизмов, высоко- и низкомолекулярных соединений. Несмотря на то, что по своим техническим и экономическим характеристикам одними из перспективных для анализа компонентов в жидких средах являются пьезоэлектрические сенсоры, их разработке по-прежнему уделяется незначительное внимание. Это связано с рядом причин. Прежде всего, пьезоэлектрические сенсоры рассматриваются как кварцевые микровесы, для которых изменение резонансной частоты пьезокварца линейно зависит от приложенной массы. Если при эксплуатации пьезокварцевых сенсоров в газовой фазе эта зависимость сохраняется, то при работе в жидкости наблюдаются отклонения от линейности, поскольку на сенсор могут оказывать влияние свойства растворов (плотность, вязкость, диэлектрическая проницаемость, электропроводность). Поэтому для развития и унифицирования метода пьезокварцевого микровзвешивания необходимо рассмотреть принцип функционирования пьезокварцевых сенсоров в жидкостях.

Другой причиной является недостаточная селективность сенсоров. Для ее устранения пьезоэлектрические сенсоры модифицируют различными материалами. Одними из перспективных являются молекулярно-импринтированные полимеры (МИПы), или полимеры с молекулярными отпечатками (ПМО) способные распознавать в многокомпонентном растворе молекулы, которые использовались в качестве молекулярных шаблонов при синтезе ПМО.

Использование селективных сенсоров позволяет решать различные практические задачи. Особый интерес представляет анализ физиологически активных веществ (ФАВ), в частности аминокислот, высокая биологическая значимость которых обуславливает их широкое применение в пищевой промышленности, сельском хозяйстве, фармакологии, медицине.

Успешное осуществление процессов получения аминокислот в значительной степени зависит от оперативности и точности их определения на различных стадиях производства. В настоящее время для определения аминокислотного состава технических растворов применяются хроматографические методы, использование которых не всегда обеспечивает своевременность контроля процесса, поэтому для организации

промышленного производства аминокислот актуальным является разработка экспрессных методов анализа на основе селективных пьезоэлектрических сенсоров.

Работа выполнена в соответствии с координационными планами НИР РАН по проблеме «Хроматография»; НИР Научного Совета по адсорбции и хроматографии РАН «Изучение механизма межмолекулярных взаимодействий и закономерностей удерживания» (Тема №215.6.2 на 2000–2004 гг.) и «Разработка теоретических представлений о равновесии, кинетике и динамике процессов в сорбционных системах» (Тема 32.15.6.1.X.64 на 2006–2009 гг.); ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 г.: Государственный контракт №П846 с 25.05.2010 по 23.10.2012 по теме «Исследование структуры и свойств супрамолекулярных систем на основе квантово-химических расчетов» и Соглашение №14.В37.21.0804 от 31.08.2012. Шифр заявки «2012-1.2.1-12-000-1003-036» по теме «Концепция разделения, выделения и концентрирования физиологически активных веществ с использованием полимерных и наноструктурированных композитных материалов».

**Цель работы.** Развитие теоретических и методологических подходов к созданию высокочувствительных и селективных пьезоэлектрических сенсоров на основе молекулярно-импринтированных полимеров для определения аминокислот в жидких средах.

**Задачи работы:**

1. Установить механизм формирования аналитического сигнала в системе «пьезоэлектрический сенсор – МИП – анализируемая среда» и обосновать возможность использования модифицированного пьезоэлектрического сенсора для определения аминокислот в жидкостях.
2. Исследовать физико-химические свойства растворов аминокислот методами вискозиметрии, денситометрии, кондуктометрии, диэлькометрии, ультраакустики, квантово-химического моделирования и установить влияние вязкости, плотности, рН, температуры и состава растворов на величину аналитического сигнала пьезоэлектрических сенсоров.
3. Изучить условия получения молекулярно-импринтированных полимеров на основе коллоксилина и частично имидизированной полиамидокислоты для применения в качестве селективных покрытий пьезоэлектрических сенсоров при определении аминокислот в водных растворах.
4. Разработать способы селективного определения индивидуальных аминокислот в модельных растворах, лекарственных препаратах и пищевых продуктах пьезоэлектрическими сенсорами на основе МИПов и оценить их метрологические характеристики.

### **Научная новизна.**

1. Обоснован механизм функционирования пьезокварцевого сенсора в жидкости, как электрохимической системы чувствительной к акустической нагрузке, для определения веществ с молекулярной массой <500 Да в результате прямого взаимодействия с распознающим слоем на основе молекулярно-импринтированных полимеров.
2. Изучено влияние температуры на степень имидизации, морфологию и адгезию к поверхности электрода сенсора молекулярно-импринтированных аминокислотами (глицином, валином, лейцином, изолейцином, метионином и глутаминовой кислотой) полимеров. Методами термогравиметрии и пьезокварцевого микровзвешивания подтвержден двухстадийный характер процесса формирования пленки молекулярно-импринтированного полимера на поверхности сенсора. С применением ИК- и хромато-масс-спектрометрии, квантово-химического моделирования установлена структура МИП и показано, что взаимодействия фрагментов полимеров с аминокислотами происходят через гидрато-разделенную пару.
3. Показана возможность применения МИП в качестве распознающих покрытий пьезоэлектрических сенсоров для селективного определения аминокислот в модельных растворах. Установлено, что сенсоры на основе МИП позволяют осуществлять высокоселективное определение аминокислот-шаблонов в присутствии соединений родственной структуры. Импринтинг фактор МИП на основе частично имидизированной полиамидокислоты изменяется в диапазоне 4,1 – 11,6, а на основе коллоксилина в диапазоне 2,6 – 7,8 по отношению к изученным аминокислотам.
4. Разработан комплекс способов определения индивидуальных аминокислот в статических и динамических условиях с помощью пьезоэлектрических МИП-сенсоров на основе коллоксилина и частично имидизированной полиамидокислоты в лекарственных препаратах и культуральных жидкостях (предел обнаружения аминокислот составляет  $10^{-6}$  моль/дм<sup>3</sup>, а предел количественного определения  $10^{-5}$  моль/дм<sup>3</sup>).

### **Практическая значимость.**

1. Предложены молекулярно-импринтированные аминокислотами полимеры на основе коллоксилина и частично имидизированной полиамидокислоты в качестве селективных слоев пьезоэлектрических сенсоров, позволяющие осуществлять молекулярное распознавание и определение аналитов в присутствии соединений родственной структуры, показывающие высокую стойкость при эксплуатации в жидкости и практически постоянные значения аналитического сигнала не менее чем в 28 циклах измерений. (Пат. 102264 РФ, МПК(51) G01N27/12. - № 2010142819/28; Заяв. 19.10.2010; Опубл. 20.02.2011, Бюл. №5).

2. Пьезоэлектрические МИП-сенсоры апробированы при определении глицина, валина, лейцина, изолейцина, метионина, глутаминовой кислоты в лекарственных препаратах и культуральных жидкостях без предварительной пробоподготовки. Оценена правильность и воспроизводимость результатов определения с помощью пьезоэлектрических МИП-сенсоров. (Пат. 111674 РФ, МПК(51) G01N30/64. - №2011133804/28, Заяв. 11.08.2011; Оpubл. 20.12.2011.).
3. Предложена разностная схема измерения аналитического сигнала индикаторного МИП-сенсора относительно сенсора сравнения, позволяющая улучшить соотношение сигнал-шум. Применение разработанной схемы способствует существенному увеличению линейной взаимосвязи между аналитическим сигналом и концентрацией определяемых аминокислот ( $R^2=99\%$  и выше).

**Методический аспект.** Результаты исследования отражены в лекционных курсах: «Сенсорные методы анализа в экологии» и «Физико-химические методы анализа органических веществ» для студентов очной формы обучения химического факультета Воронежского государственного университета. В выполнении отдельных направлений диссертационной работы принимали участие аспиранты, магистранты и студенты кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета: Жиброва Ю.А., Балканова А.А., Байдичева О.В., Анохина Е.П., Локтева И.А., Максимов М.С., Говорухин С.И., Ковалева Н.В., Голядкина Г.А.

**Положения выносимые на защиту.**

1. Теоретические аспекты применения пьезокварцевого сенсора в системе «сенсор – селективное покрытие – анализируемая среда», рассматривающие сенсор как электрохимическую систему чувствительную к акустической нагрузке и учитывающие влияние физико-химических свойств растворов аминокислот.
2. Способы получения молекулярно-импринтированных полимеров на поверхности пьезосенсоров и установление их структуры методами ИК-, хромато-масс-спектрометрии и квантово-химического моделирования.
3. Оценка способности полученных полимеров распознавать молекулу-шаблон. Установление влияния вязкости, плотности, рН, температуры и состава растворов на величину аналитического сигнала пьезоэлектрических сенсоров.
4. Комплекс способов определения аминокислот в модельных водных растворах, лекарственных препаратах и культуральных жидкостях в статических и динамических условиях с использованием пьезоэлектрических сенсоров на основе молекулярно-импринтированных полимеров.

**Апробация работы.** Основные положения и результаты диссертационной работы доложены на следующих конференциях, симпозиумах и конгрессах.

**Международных:** International Workshop «Scanning probe microscopy» (Nizhny Novgorod, Russia, 2003, 2004); International Congress on Analytical Sciences (Moscow, Russia, 2006); International Symposium on Olfaction and Electronic Noses (St. Petersburg, Russia, 2007); XIII конференция «Физико-химические основы ионообменных процессов. Иониты» (Воронеж, 2011).

**Всероссийских:** Конференция «Актуальные проблемы аналитической химии» (Москва, 2002); XI конференция по теплофизическим свойствам веществ (С-Петербург, 2005); II, III конференции «Аналитика России» (Краснодар, 2007, 2009); симпозиум «Хроматография и хромато-масс-спектрометрия». (Москва, 2008); VII конференция «Теория и практика хроматографии. Хроматография и нанотехнологии» (Самара, 2009); Съезд аналитиков России (Москва, 2010); конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» (Краснодар, 2010); симпозиум «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар, 2011); XX конференция «Структура и динамика молекулярных систем» (Йошкар-Ола, 2013).

**Личный вклад автора.** Результаты, полученные в соавторстве и отраженные в диссертации, заключаются в теоретическом обосновании и постановке проблемы, разработке общих алгоритмов и подходов к исследованию закономерностей пьезосенсорного определения веществ в жидкостях, в систематизации и анализе собственных и литературных данных. Все экспериментальные работы выполнены автором или под его руководством.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 47 работ, среди которых 27 статей в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 2 монографии, 3 патента и 15 тезисов докладов.

**Структура и объем работы.** Диссертация состоит из введения, шести глав и выводов; изложена на 371 странице, включает 71 таблицу, 81 рисунок, список литературы из 551 источника и приложение.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**В первой главе** представлен анализ и обобщение литературы по применению немодифицированных и модифицированных пьезоэлектрических сенсоров в определении органических веществ в жидких средах. Особое внимание уделено перспективным селективным материалам – молекулярно-импринтированными полимерам. Показано, что определение физиологически активных веществ (аминокислот) в растворах является актуальной задачей. На основании анализа отечественной и зарубежной литературы сформулированы цель и задачи настоящей работы.

**Во второй главе** рассмотрены объекты исследования (глицин (Gly);  $\alpha$ -аланин (a-Ala);  $\beta$ -аланин (b-Ala); валин (Val); лейцин (Leu); изолейцин (Ile); серин (Ser); аспарагиновая кислота (Asp); глутаминовая кислота (Glu); лизин

(Lys); метионин (Met); фенилаланин (Phe); гистидин (His)) и их свойства. Представлены способы синтеза молекулярно-импринтированных полимеров, а также свойства полимеров сравнения: коллоксилина (К) и частично имидизированной полиамидокислоты (ЧИПАК).

Исследования свойств жидких фаз проведены методами: вискозиметрии, денситометрии, кондуктометрии, диэлькометрии, ИК-спектроскопии, бумажной хроматографии и капиллярного электрофореза. Для подтверждения структуры, состава полученных полимеров и исследования свойств твердых фаз использованы методы ИК-спектроскопии, хромато-масс-спектрометрии, элементного анализа, сканирующей силовой микроскопии, электронной микроскопии, изопиестирования, квантово-химического моделирования. Приведены схемы аппаратуры для определения аминокислот в водных растворах пьезоэлектрическими сенсорами в статических и динамических условиях.

**В третьей главе** представлена модель, описывающая работу пьезокварцевых сенсоров в жидкостях. Показано, что детектирование веществ в жидкостях можно проводить двумя способами: **а)** когда анализируемый раствор наносится микрошприцем на электрод пьезоэлектрического сенсора, закрепленного горизонтально, частота колебаний сенсора уменьшается с увеличением объема пробы; **б)** если пьезосенсор погружается в раствор вертикально (при этом одна из его сторон должна быть закрыта влагонепроницаемым капсулем), объем анализируемого раствора не влияет на величину аналитического сигнала.

Для установления механизма функционирования пьезоэлектрического сенсора в жидкостях представлялось актуальным рассмотрение взаимодействий в системах «сенсор – анализируемая среда» и «сенсор – селективное покрытие – анализируемая среда».

Пьезоэлектрический сенсор представляет собой пьезокварцевый резонатор, при включении в электрическую цепь он совершает механические колебания сдвига по толщине, приводящие к распространению звуковой волны. При этом пьезорезонатор способен изменять свои параметры (добротность, частоту) при изменениях акустического комплексного сопротивления  $Z_a$  среды (акустический импеданс), которое имеет комплексный вид

$$Z_a = \operatorname{Re}Z_a + j \operatorname{Im}Z_a ; \quad j = \sqrt{-1}$$

где  $\operatorname{Re}Z_a$  – действительная часть или активное акустическое сопротивление;  $\operatorname{Im}Z_a$  – мнимая часть, или реактивное акустическое сопротивление.

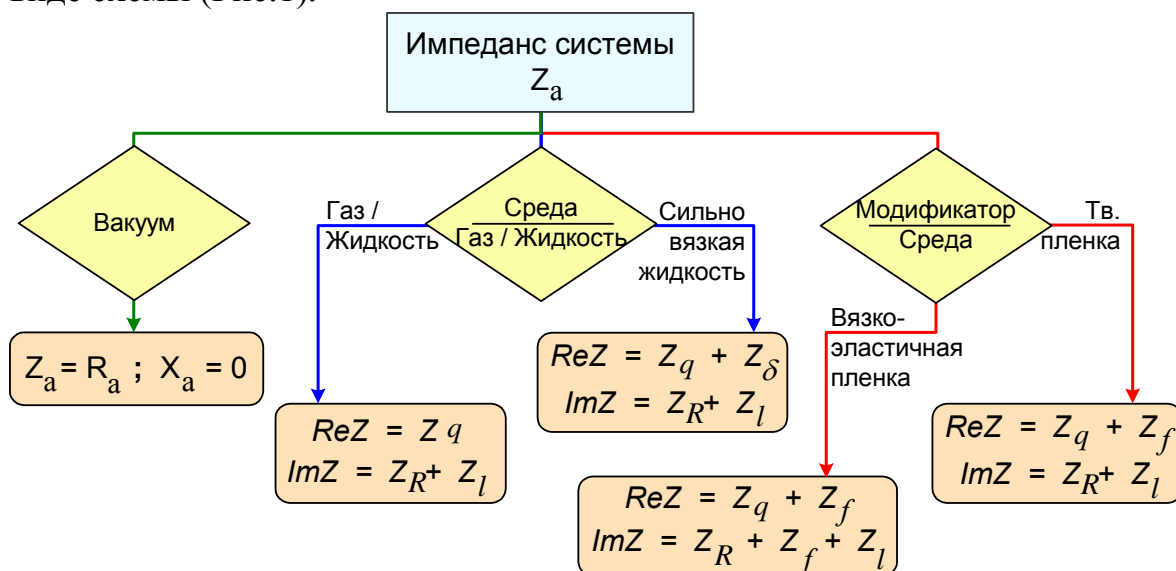
Действительная часть  $\operatorname{Re}Z_a$  комплексного сопротивления связана с диссипацией энергии в резонаторе и с затратами энергии на излучение звука, поэтому ее можно представить как импеданс кварца  $Z_q$ . Мнимая часть  $\operatorname{Im}Z_a$  обусловлена реакцией сил инерции (масс) или сил упругости, т.е. характеризует сопротивление излучению, связана с диссипацией энергии в



среде и, следовательно, ее можно записать как сумму комплексного сопротивления излучению  $Z_R$  и импеданса среды  $Z_{\text{medium}}$  (для жидкостей –  $Z_{\text{liquid}}$ ).

Если пьезоэлектрический сенсор имеет селективный слой, то возможны два случая: а) селективная пленка, закрепленная на поверхности электрода сенсора, движется одновременно с ним (не деформируясь), тогда ее следует рассматривать как неотъемлемую часть электродов сенсора, а приращение толщины необходимо учитывать при оценке импеданса резонатора; б) когда селективное покрытие вязко-эластичное, то при колебании резонатора частицы пленки смещаются параллельно поверхности электрода не одновременно с плоскостью сдвига, а запаздывая относительно нее. Такой эффект обусловлен наличием у материала упругости и массы и характеризуется импедансом пленки  $Z_f$ . В этом случае мнимая часть  $\text{Im}Z_a$  представляет собой сумму импедансов пленки  $Z_f$  и жидкости  $Z_l$ .

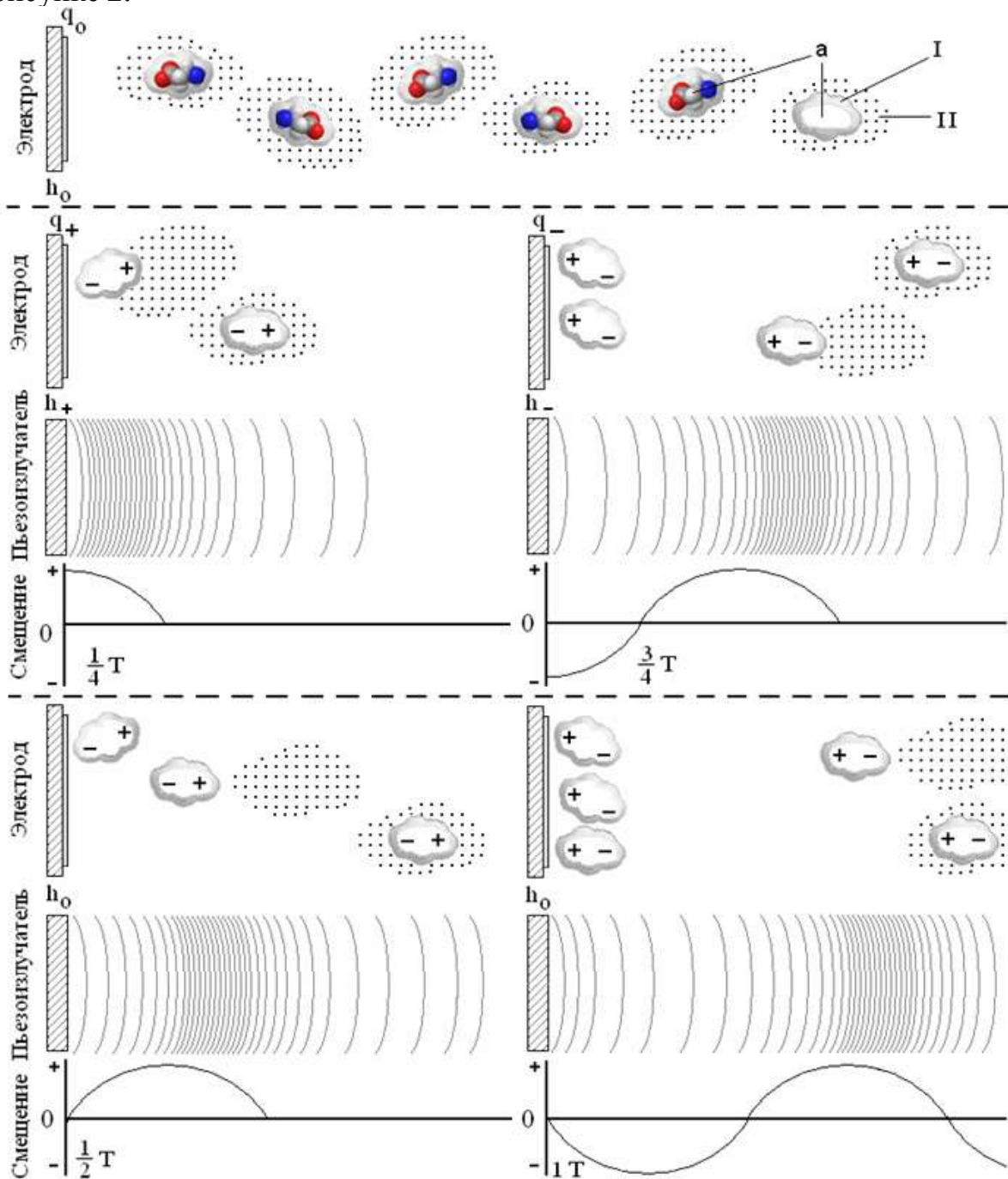
Таким образом, импеданс систем «сенсор – анализируемая среда» и «сенсор – селективное покрытие – анализируемая среда» можно представить в виде схемы (Рис.1).



**Рис. 1.** Импеданс систем «пьезосенсор – среда» и «пьезосенсор – селективное покрытие – среда»

Принцип функционирования пьезоэлектрического сенсора заключается в следующем. При включении в электрическую цепь пьезокварцевого резонатора в течение первой четверти периода происходит заряд емкости пьезоэлемента (электрическая поляризация электродов). На границе раздела фаз «пьезокварцевый резонатор – жидкость» образуется двойной электрический слой. В это время пьезоэлемент работает в режиме обратного пьезоэффекта, т.е. совершает механические колебания. Кроме того, находясь в контакте с жидкостью, пьезокварцевый резонатор приводит к движению некоторый объем окружающей его среды, что оказывается эквивалентным утяжелению пьезорезонатора дополнительной, осциллирующей с ним

присоединенной массой (соколеблющейся массой). Схема функционирования пьезоэлектрического сенсора в жидкости представлена на рисунке 2.



**Рис. 2.** Схема функционирования пьезосенсора в растворе  
 а – молекула; I – первичная гидратная оболочка; II – вторичная гидратная оболочка; h – толщина пьезоэлемента; q – заряд электрода пьезоэлемента

Деформация пьезоэлемента приводит к возникновению звуковой волны, при распространении которой частицы среды совершают колебательное движение около своего положения равновесия. Одновременно с этим появление двойного электрического слоя приводит к тому, что электронные

облака молекул в растворе поляризуются и молекулы приобретают дополнительный дипольный момент.

Полная ориентация невозможна из-за сторонних сил и теплового движения. Но колебания каждого диполя изменяется так, что положение равновесия смещается в направлении к электроду.

Во вторую четверть периода пьезоэлемент действует в режиме прямого пьезоэффекта. Когда внешнее напряжение начинает уменьшаться (начало второй четверти периода) и пока не станет равным нулю (в конце второй четверти периода), пьезоэлемент разряжается, отдавая накопленную им в течение первой четверти периода энергию во внешнюю электрическую цепь. Это явление усиливается, поскольку под влиянием электрических и Ван-дер-ваальсовых сил ионы адсорбируются в плотной части двойного электрического слоя. Рост концентрации вещества вблизи сенсора приводит к увеличению нагрузки на сенсор (увеличение присоединенной массы), ограничивающей частично или полностью деформацию пьезоэлемента, и, следовательно, ток в цепи уменьшается или полностью прекращается.

Следующий полупериод явления повторяется, только направление тока в цепи пьезоэлемента оказывается противоположным, при этом происходит переориентация молекул вещества, т.е. молекулы поворачиваются, ориентируясь вдоль направления электрического поля. Поскольку в процессе работы пьезокварцевый резонатор перезаряжается, то на его поверхности происходит как адсорбция ионов из раствора, так и их десорбция в раствор.

Таким образом, на основании представленного механизма целесообразно пьезокварцевый сенсор считать электрохимической системой чувствительной к акустической нагрузке, эквивалентной приложенной массе.

**В четвертой главе** на основании экспериментальных значений плотности и вязкости рассчитаны коэффициенты вязкости ( $B$ ), кажущиеся молярные объемы ( $\varphi$ ), энергии активации вязкого течения. Установлено, что в водных растворах аминокислот преобладает стабилизирующее воздействие гидрофобного радикала над разрушающим влиянием на структурные ассоциаты воды гидрофильной биполярной группировки. В ряду Gly <  $\alpha$ -Ala < Val < Ile < Leu величина энергии активации увеличивается, что свидетельствует о росте структурной упорядоченности растворов от глицина к изолейцину.

Для более полного описания поведения аминокислот в водных растворах были рассчитаны их коэффициенты диффузии (Табл. 1) по уравнению Отмера и Текера:

$$D = \frac{14}{V^{0.6} \eta^{1.1}} \cdot 10^{-5},$$

где  $V$  – мольный объем растворенного вещества, рассчитанный по долям Ле Ба;  $\eta$  – динамическая вязкость, мПа·с.

Согласно представленным в таблице 1 данным, коэффициент диффузии уменьшается с увеличением мольного объема аминокислот.

**Таблица 1.** Коэффициенты диффузии аминокислот в водных растворах при 298К

Аминокислота	D, см <sup>2</sup> /с	Аминокислота	D, см <sup>2</sup> /с	Аминокислота	D, см <sup>2</sup> /с
Gly	0,95 · 10 <sup>-5</sup>	α-Ala	0,81 · 10 <sup>-5</sup>	Leu	0,59 · 10 <sup>-5</sup>
Val	0,64 · 10 <sup>-5</sup>	β-Ala	0,97 · 10 <sup>-5</sup>	Ile	0,59 · 10 <sup>-5</sup>

В растворах аминокислот центры положительных и отрицательных электрических зарядов не совпадают, и даже при отсутствии электрического поля они обладают постоянным дипольным моментом. Диэлектрическая проницаемость водных растворов глицина, аланина, валина и изолейцина возрастает с ростом концентрации (от 0,01 до 0,1 моль/дм<sup>3</sup>) и уменьшаются с ростом температуры (от 293 до 303 К). Электрическое поле упорядочивает диполи отдельных молекул, стремясь ориентировать их в направлении поля.

На основании экспериментальных значений установлено, что скорость ультразвука в водных растворах аминокислот увеличивается в ряду Gly < α-Ala < Val < Leu < Ile. По данным ультразвуковых измерений рассчитана адиабатическая сжимаемость водных растворов аминокислот (Табл. 2), концентрационная зависимость которой носит убывающий характер, что обусловлено гидрофобной гидратацией бокового радикала и электрострикцией растворителя вблизи заряженных групп аминокислоты.

**Таблица 2.** Коэффициенты адиабатической сжимаемости ( $\beta \cdot 10^{10}$ , см<sup>2</sup>/дин) растворов аминокислот при 298К

C, моль/дм <sup>3</sup>	Gly	α - Ala	Val	Leu	Ile
0,010	44,93	44,92	44,91	44,88	44,87
0,025	44,87	44,85	44,82	44,73	44,73
0,050	44,74	44,70	44,57	44,44	44,39
0,100	44,48	44,43	43,51	43,26	42,95

По экспериментальным данным электрического сопротивления растворов аминокислот: глицина, α-аланина, валина и изолейцина были рассчитаны молярные электропроводности (подвижности) аминокислот в растворе в диапазоне температур от 293 до 303 К. Увеличение концентрации аминокислоты приводит к уменьшению подвижности как катионов, так и анионов аминокислот, что происходит вследствие увеличения вязкости раствора и электростатического взаимодействия между ионами (Табл.3).

**Таблица 3.** Предельные подвижности анионов и катионов аминокислот в растворах при бесконечном разбавлении  $\lambda^0$ , Ом<sup>-1</sup>см<sup>2</sup> моль<sup>-1</sup>

T, К	Gly <sup>-</sup>	Ala <sup>-</sup>	Val <sup>-</sup>	Ile <sup>-</sup>	Gly <sup>+</sup>	Ala <sup>+</sup>	Val <sup>+</sup>	Ile <sup>+</sup>
293	94,44	78,66	64,04	35,96	96,88	93,43	89,81	81,51
298	108,86	93,59	77,05	49,74	121,81	112,56	106	101,54
303	131,35	109,49	89,15	60,84	143,43	127,76	123,54	111,19

Одним из определяющих факторов в электропроводности является энергия активации. Полученные значения энергии активации электропроводности  $E_A$  водных растворов аминокислот приведены в таблице 4.

**Таблица 4.** Энергии активации электропроводности ( $E_A$ ) водных растворов аминокислот в различных ионных формах

Амино-кислота	$E_A$ , кДж/моль	Амино-кислота	$E_A$ , кДж/моль	Амино-кислота	$E_A$ , кДж/моль	Амино-кислота	$E_A$ , кДж/моль
Gly <sup>-</sup>	24,33	$\alpha$ -Ala <sup>-</sup>	24,41	Val <sup>-</sup>	24,43	Pe <sup>-</sup>	38,86
Gly <sup>+</sup>	28,99	$\alpha$ -Ala <sup>+</sup>	23,12	Val <sup>+</sup>	23,54	Pe <sup>+</sup>	22,97

Высокие значения  $E_A$  растворов аминокислот свидетельствуют о том, что в водных растворах при миграции ионов аминокислот требуется энергия не только для образования вакансий и разрыва водородных связей, но и для перезарядки цвиттер-иона аминокислот.

Таким образом, на основании проведенных исследований было установлено, что в ряду Gly <  $\alpha$ -Ala < Val < Leu < Pe увеличиваются межмолекулярные взаимодействия в растворах аминокислот, приводящие к снижению частоты колебаний пьезоэлектрического сенсора.

**В пятой главе** представлены результаты изучения свойств полимеров на основе полиаминокислоты и нитрата целлюлозы, а также полученные на их основе полимеры с молекулярными отпечатками аминокислот.

#### **Синтез молекулярно-импринтированных полимеров**

Методом нековалентного импринтинга было получено два вида молекулярно-импринтированных полимеров (МИП) или полимеров с молекулярными отпечатками (ПМО). Один на основе полиаминокислоты (ПАК), другой на основе нитрата целлюлозы – коллоксилина. В качестве шаблонов использовали аминокислоты. В идентичных условиях, но в отсутствие шаблонов были синтезированы полимеры сравнения (ПС).

Полиаминокислота является перспективным материалом для создания мембран, обладающих высокой селективностью, термостойкостью, механической прочностью. Изменяя температуру синтеза, можно получить различные типы ПАК мембран с различной степенью имидизации.

В работе были синтезированы частично имидизированные ПАК полимеры (ЧИПАК) двухступенчатой термической обработкой раствора диангида 1,2,4,5-бензол-тетракарбоновой кислоты и ди(4-амино-) фенилового эфира при температурах 353К и 453К (степень имидизации 93%). При создании МИП-сенсоров термоимидизацию раствора ПАК с аминокислотой проводили непосредственно на поверхности электродов сенсоров. Толщина полученных покрытий, по данным эллипсометрии, составляла 1–1,2 мкм.

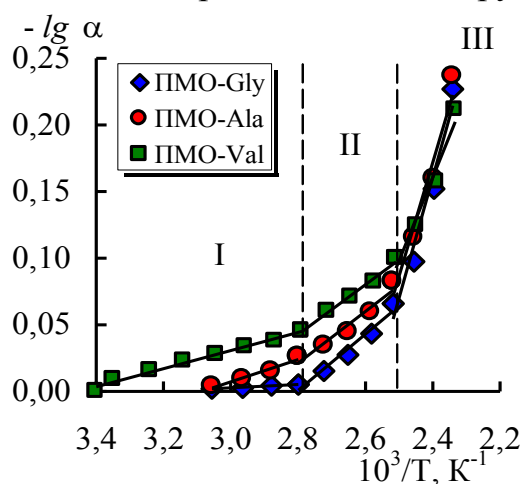
Методом термического анализа исследованы процессы термической имидизации полимеров на основе ПАК. Для установления количества десорбированного растворителя использовали зависимость степени превращения ( $-\lg \alpha$ ) от величины, обратной температуре ( $1/T$ ).

На первой стадии синтеза от 298 до 353 К из полимера удаляется свободная вода. На второй стадии (353 – 450 К) проходит внутримолекулярная дегидратация с образованием имидных циклов. Кроме

того, на этой стадии образуется твердая пленка, которая затем подвергается высокотемпературной дегидроциклизации при 453 К.

В ходе эксперимента установлено, что зависимости  $-\lg \alpha$  от  $(1/T)$  состоят из трех линейных участков (Рис.3), что свидетельствует о ступенчатом выделении растворителя из полимера. На I и II ступенях параллельно проходят процессы испарения растворителя, а также удаления из полимера воды, образовавшейся в результате реакции имидизации. На третьей ступени проходит процесс отщепления воды с образованием имидных связей, а также удаление остатков растворителя из продукта.

Установлено, что для полимера на основе ПАК с различными отпечатками аминокислот дегидратация на I и II ступени протекает несимметрично. Поскольку из рассмотренных аминокислот валин наиболее гидратирован (числа гидратации в водных растворах: Gly=2,18,  $\alpha$ -Ala=2,59, Val=3,40), то, следовательно, полимер с шаблоном-валином содержит больше молекул воды разной степени связанности. Поэтому процесс дегидратации из ПМО-Val начинается раньше, чем для других полимеров (Рис.3).

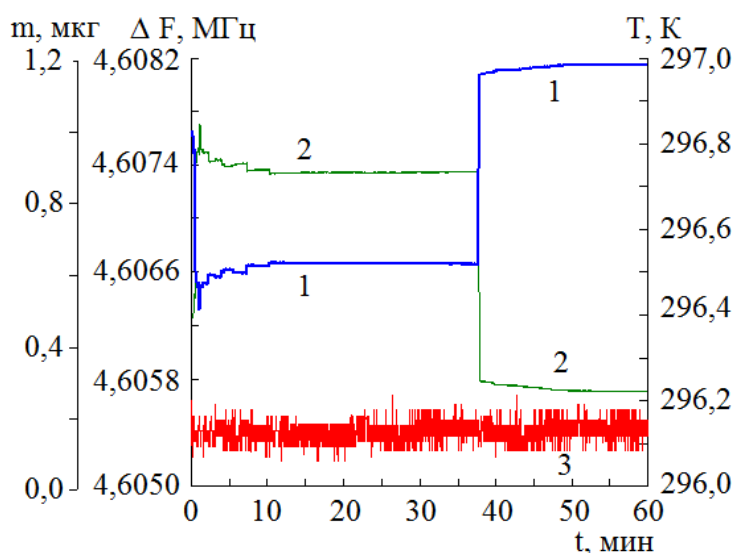


**Рис.3.** Зависимости степени превращения  $-\lg \alpha$  от величины, обратной температуре для полимеров на основе ЧИПАК

Методом ИК-спектроскопии были исследованы образцы ПС и ПМО, полученные при температуре 453 К. Установлено, что после термообработки в спектрах появляются минимумы  $3180 \text{ см}^{-1}$  относящиеся к валентным колебаниям связей N–H и  $2474 \text{ см}^{-1}$  соответствующие колебаниям ассоциированных COOH-групп.

Кроме того, термообработка приводит к гидрофобизации полимера, о чем свидетельствует отсутствие непрерывного поглощения в области  $3400\text{--}3000 \text{ см}^{-1}$ . Этому способствует процесс образования имидогруппировок ( $1494 \text{ см}^{-1}$  –валентные колебания  $>\text{CO}$  в имидах;  $1366 \text{ см}^{-1}$  –валентные колебания полиимидов).

В отличие от ЧИПАК синтез коллоксилина проходит при 293–298 К. Зафиксировано уменьшение частоты колебаний пьезоэлектрического сенсора в процессе образования пленки коллоксилина на поверхности электрода (Рис.4), что свидетельствует, казалось бы, об увеличении массы полимера! Однако это не так. Раствор коллоксилина – коллодий – представляет собой вязкую, легко испаряющуюся жидкость. По мере испарения растворителя вязкость коллодия возрастает и образуется вязко-эластичное покрытие, которое при колебании пьезокварца сдвига по толщине оказывает тормозящее действие, что приводит к понижению собственной частоты сенсора по сравнению с его частотой при колебаниях на воздухе.



**Рис. 4.** Хроночастотаграмма коллоксилина на поверхности пьезоэлектрического сенсора при температуре 296 К

1 – изменение частоты колебаний сенсора во времени;  
 2 – изменение массы коллоксилина на поверхности сенсора;  
 3 – изменение температуры

Дальнейшее испарение растворителя приводит к увеличению доли внутри- и межмолекулярных водородных связей, что делает фрагменты макромолекул более «жесткими», т.е. образуется пленка коллоксилина. Последующий рост частоты колебаний сенсора свидетельствует об уменьшении массы полимера обусловленным удалением слабосвязанных молекул растворителя с поверхности пленки.

На микроскопе JSM-6380 с приставкой для элементного анализа INCA Energy-250 исследованы полимеры: полиамидокислота и коллоксилин (ПС); полимеры с шаблоном-глицином до удаления аминокислоты (П+Gly) и МИП с отпечатками глицина (МИП-Gly) (Табл.5). Установлено, что остаточное содержание шаблона-глицина в матрице составляет 5–7 %.

**Таблица 5.** Процентное содержание элементов в полученных полимерах

Элемент	Полиамидокислота			Коллоксилин		
	ПС	П+Gly	МИП-Gly	ПС	П+Gly	МИП-Gly
С	55,58	57,33	55,68	3,21	3,84	3,24
N	21,85	22,47	21,89	2,94	3,62	2,96
O	21,42	28,73	21,47	3,52	14,30	3,50

Методом сканирующей силовой микроскопии (ССМ) исследована морфология поверхностей пленок МИП и их полимеров сравнения. Установлено, что полимер на основе ЧИПАК обладает более однородной поверхностью с незначительным количеством глобул, чем коллоксилин. В процессе синтеза МИП происходит перестройка структуры полимеров.

Поскольку модифицированные сенсоры используются для определений аналитов в водных средах, актуальным являлось исследование морфологии поверхностей МИП в жидкости. Результаты обработки ССМ-изображений приведены в таблице 6. Как показано, удаление шаблона из полимеров приводит к уменьшению количества мезо- и макропор и увеличению количества микропор. Полимер с молекулярным отпечатком глицина содержит большее количество пор, чем полимер сравнения. Таким образом, можно ожидать, что синтезированные материалы будут обладать высокой



специфичностью по отношению к молекулам шаблона или близких к нему по строению соединений.

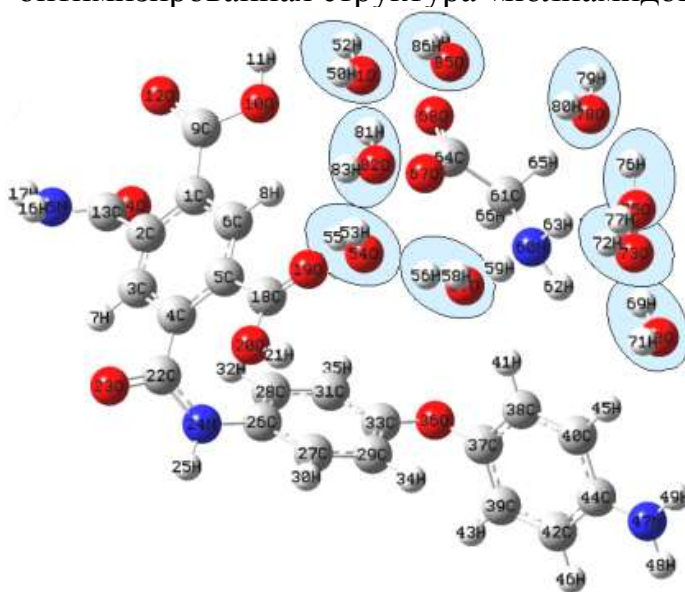
**Таблица 6.** Содержание пор (%) в исследованных полимерах

Поры r, нм	ПС на воздухе		ПС в воде		П+Gly на воздухе		П+Gly в воде		МИП-Gly* на воздухе		
	n, %	S <sub>r</sub> , %	n, %	S <sub>r</sub> , %	n, %	S <sub>r</sub> , %	n, %	S <sub>r</sub> , %	n, %	S <sub>r</sub> , %	
<i>Полимеры на основе полиамидокислоты</i>											
ультра-	1	8,3	3,7	0,8	19,9	6,2	4,1	5,9	5,2	3,6	6,9
микро-	10	73,1	2,6	74,1	1,4	88,9	1,3	77,2	1,5	87,2	2,1
мезо-	25	16,1	7,5	22,3	5,3	4,7	10,8	20,8	5,8	8,1	8,4
макро-	50	2,5	10,6	4,6	4,6	0,6	10,2	–	–	1,0	6,0
<i>Полимеры на основе коллоксилина</i>											
ультра-	1	3,0	7,0	6,3	4,8	3,8	8,5	7,5	2,0	4,1	8,8
микро-	10	83,0	3,2	90,2	3,3	77,1	2,5	92,0	3,0	86,1	3,0
мезо-	25	11,4	3,6	4,3	8,1	18,4	5,4	8,9	4,0	8,9	9,0
макро-	50	2,6	9,8	0,4	13,3	3,2	9,9	0,0	5,0	1,0	10,0

\* МИП-Gly – молекулярно-импринтированный полимер после 24 ч пребывания в воде.

### Квантово-химическое моделирование комплексов полимеров с аминокислотами

Для оценки структуры молекулярно-импринтированных полимеров проводили моделирование комплексов аминокислоты с функциональным мономером, используя теорию функциональной плотности с гибридным функционалом B3LYP в базисе 6-31G(d, p). Полученные структурные и энергетические характеристики позволяют судить о специфичности и прочности данных комплексов, а также о возможных свойствах полученных полимеров с молекулярным отпечатком. На рисунке 5 представлена оптимизированная структура «полиамидокислота – вода – глицин».



**Рис. 5.** Оптимизированная структура комплекса мономера полиамидокислоты с глицином и с молекулами воды

На первом этапе проводилась оптимизация выбранных функциональных мономеров с целью определения структурных характеристик, используемых в дальнейшем для сравнения с полученными данными в комплексах. На следующем этапе моделирования исследовались

комплексы мономеров полиамидокислоты и коллоксилина с молекулами аминокислот (глицин, аланин, валин).



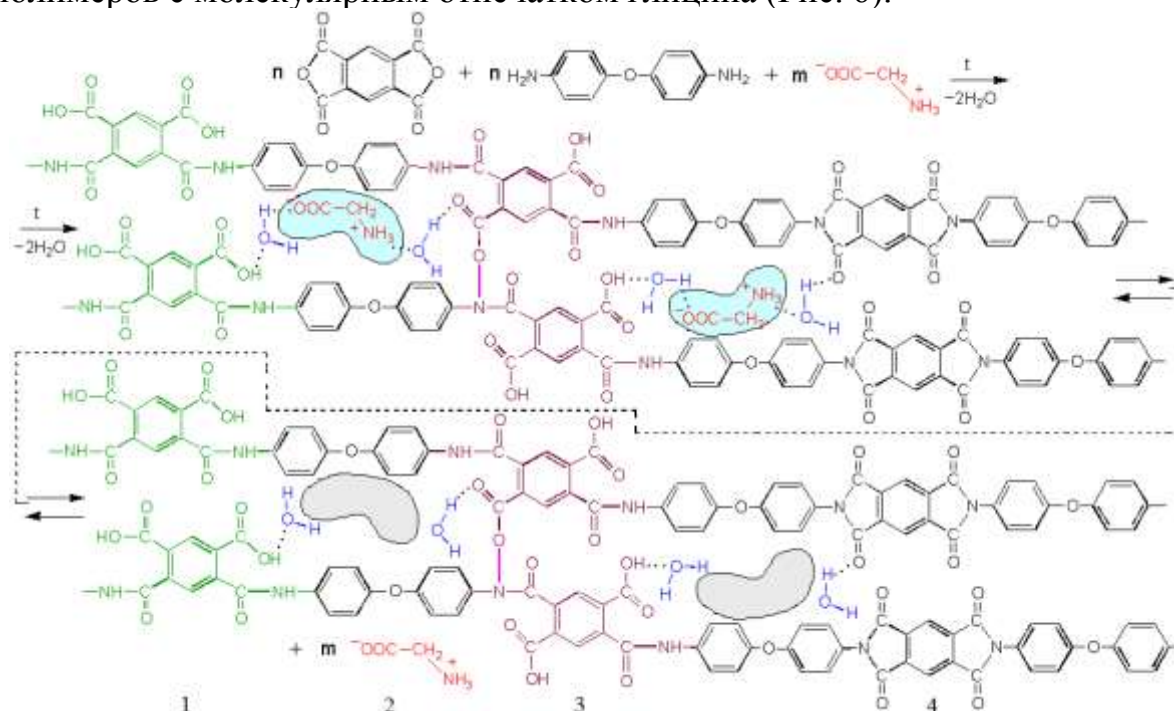
По результатам моделирования установлено, что взаимодействия мономера ПАК с аминокислотой происходят посредством молекул воды, соответствующие межзатомные расстояния предполагают образование Н-связей между молекулами воды и полимером с аминокислотой. Для подтверждения рассчитанных структур были использованы методы ИК-спектроскопии и хромато-масс-спектрометрии.

На основании проведенных расчетов установлено, что энергии взаимодействий аминокислот с мономером полиаминокислоты значительно больше, чем с коллоксилином, что свидетельствует о более сильных и специфичных межмолекулярных взаимодействиях ПАК с аминокислотами по сравнению с взаимодействиями с коллоксилином (Табл. 7).

**Таблица 7.** Энергия взаимодействия ( $-\Delta E$  кДж/моль) функциональных мономеров с аминокислотами

Аминокислота	Полиаминокислота		Коллоксилин	
	П + АК	П + АК + (H <sub>2</sub> O) <sub>10</sub>	П + АК	П + АК + (H <sub>2</sub> O) <sub>10</sub>
Gly	52,52	84,41	-0,25	55,12
$\alpha$ -Ala	61,74	82,80	6,30	55,94
Pe	68,08	47,49	5,76	50,36

В соответствии с проведенными расчетами и имеющимися литературными данными были построены примерные структуры продуктов – полимеров с молекулярным отпечатком глицина (Рис. 6).

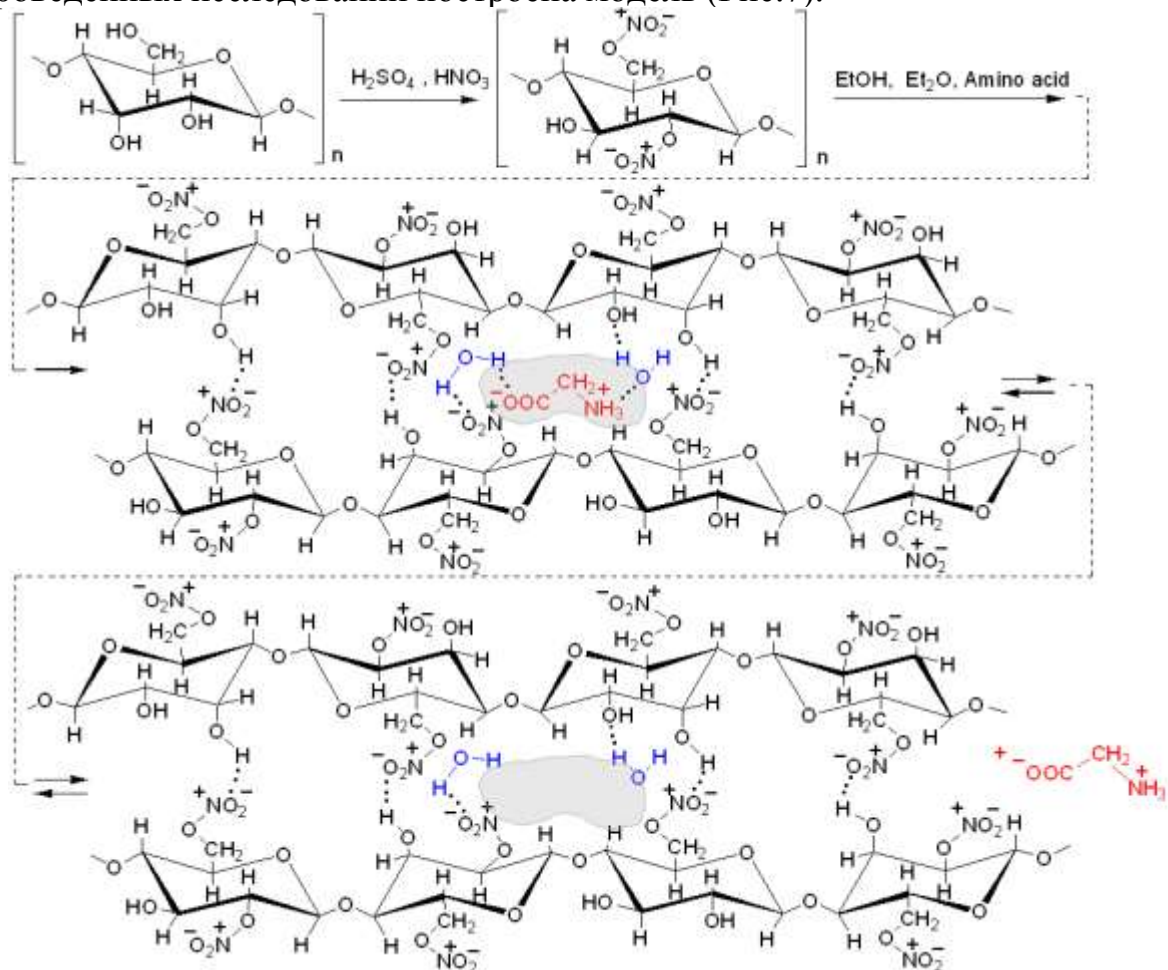


**Рис. 6.** Схема синтеза полимера с молекулярными отпечатками глицина на основе диангирида 1,2,4,5-бензолтетракарбоновой кислоты и ди(4-амино)фенилового эфира

Структурные звенья: 1 – 1,3 – диамидные; 2 – гидратированные молекулы-шаблоны; 3 – 1,4 – диамидные с межцепными связями; 4 – полиимид

Аналогичные квантово-химические расчеты были проведены для комплексов динитроцеллюлозы (коллоксилина) с молекулами аминокислот (глицин, аланин и валин) в свободном и гидратированном состоянии.

При расчете в качестве начальной структуры комплекса коллоксилина с гидратированной аминокислотой построена структура, в которой функциональные группы динитроцеллюлозы взаимодействуют непосредственно с функциональными группами молекулы аминокислоты. В результате оптимизации получена структура, в которой функциональные группы исследованных систем разделены молекулами воды. На основании проведенных исследований построена модель (Рис.7).



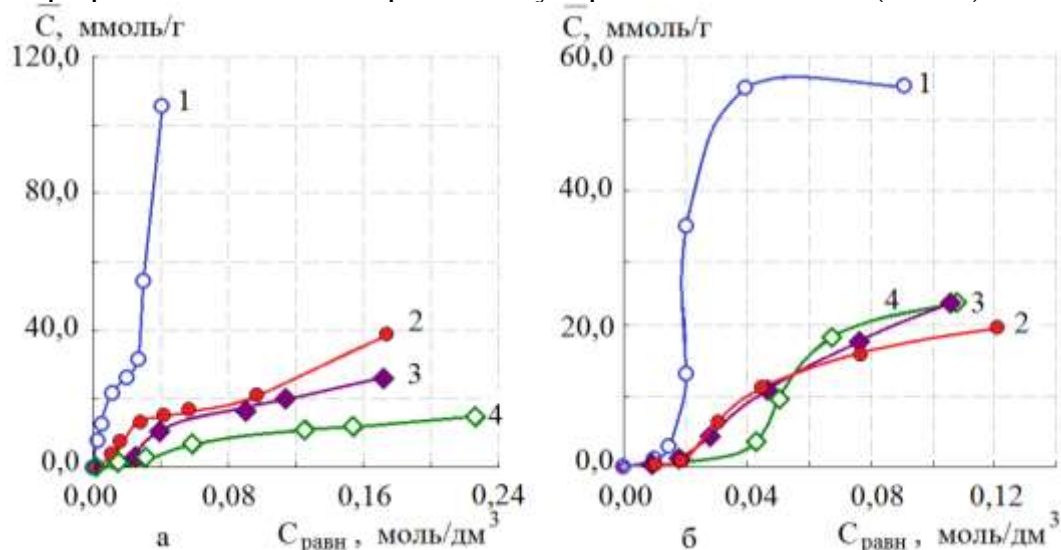
**Рис. 7.** Схема синтеза полимера на основе коллоксилина с молекулярными отпечатками глицина

### Свойства полимеров с молекулярными отпечатками аминокислот

Методом изопиестирования исследована сорбция паров воды полимерами сравнения и полимерами с молекулярными отпечатками глицина в диапазоне относительного давления водяного пара ( $p/p_0$ ) от 0,110 до 0,980. При  $p/p_0 = 0,980$  полимер с молекулярным отпечатком на основе коллоксилина сорбирует  $31,7 \pm 0,2$  ммоль  $H_2O$  на 1,00 г сорбента, а частично имидизированная полиамидокислота  $14,4 \pm 0,3$  ммоль воды. Так как при термической имидизации происходит образование сильно сшитой

структуры, обладающей механической прочностью и препятствующей свободному набуханию полимера, то полимеры на основе ПАК содержат меньше молекул воды, чем полимеры на основе коллоксилина.

Для оценки способности синтезированных полимеров распознавать молекулу-шаблон(глицин) и их избирательности (по отношению к валину) сравнивали изотермы сорбции аминокислот на соответствующих парах полимер сравнения – полимер с молекулярным отпечатком (Рис.8).



**Рис.8.** Изотермы сорбции аминокислот полимерами

а – полимеры на основе ЧИПАК; б – на основе коллоксилина

1 – изотерма сорбции глицина полимером с МИП-Gly; 2 – изотерма сорбции глицина полимером сравнения; 3 – изотерма сорбции валина полимером сравнения; 4 – изотерма сорбции валина полимером с МИП-Gly.

Анализ изотерм показал, что они соответствуют полимолекулярной адсорбции. Образование монослоя завершается на первом крутом участке изотермы сорбции глицина (Рис.8 а1). На этом участке происходит заполнение пространства микропор адсорбируемыми молекулами.

На втором участке завершается связывание гидратных молекул и завершение их адсорбции в микропорах. Дальнейшая адсорбция происходит в области мезопор. На третьем участке изотермы сорбции кривая круто поднимается вверх. Молекулы сорбируются без изменения физико-химических свойств.

Начальные вогнутые участки изотерм (Рис.8 а2 и а3; Рис. 8 б) характерны для систем адсорбент–адсорбат, когда взаимодействие для молекул аминокислоты с полимером меньше межмолекулярного взаимодействия молекул аминокислоты, вызванного проявлением водородных связей. Дальнейший ход изотерм свидетельствует о полимолекулярной адсорбции преимущественно в мезо- и микропорах. Изотерма 4 на рисунке 8а характерна для адсорбентов, на которых сорбция происходит в микропорах.

При оценке сорбционных свойств полученных полимеров сравнивали не только степени извлечения, но и импринтинг факторы (IF) (Табл. 8).

**Таблица 8.** Величины равновесных концентраций ( $\bar{C}$ , ммоль/г), степень извлечения ( $R$ ,%), импринтинг фактор ( $IF$ ) и коэффициенты распределения ( $D$ ) глицина для полимеров, полученных на основе ЧИПАК и коллоксилина

Сорбент	$\bar{C}$ , ммоль/г	$Sr$ , %	$R$ , %	$D$	$IF$
(ПС <sub>ЧИПАК</sub> ) + Gly	38,8±0,1	0,3	30,9±0,2	22,1±0,1	
(МИП <sub>ЧИПАК</sub> )-Gly + Gly	104,7±0,2	0,2	83,5±0,5	252,2±0,1	11,6
(ПС <sub>ЧИПАК</sub> ) + Val	19,7±0,2	0,8	46,6±0,3	17,4±0,2	
(МИП <sub>ЧИПАК</sub> )-Gly + Val	11,7±0,2	1,5	27,7±0,2	8,2±0,2	0,4
(ПС <sub>К</sub> ) + Gly	10,9±0,2	1,6	48,4±0,4	23,3±0,3	
(МИП <sub>К</sub> )-Gly + Gly	34,9±0,3	0,8	77,5±0,2	173,5±0,3	7,8
(ПС <sub>К</sub> ) + Val	11,0±0,4	2,6	49,7±0,4	25,1±0,3	
(МИП <sub>К</sub> )-Gly + Val	9,9±0,2	1,3	44,2±0,2	19,4±0,2	0,8

Из сравнения экспериментальных данных (Табл. 8) видно, что значения коэффициентов распределения для полимера с молекулярным отпечатком глицина, синтезированного на основе частично имидизированной полиаминокислоты (МИП<sub>ЧИПАК</sub>)-Gly, почти на порядок выше, чем для его полимера сравнения (ПС<sub>ЧИПАК</sub>). В то же время для (МИП<sub>ЧИПАК</sub>)-Gly и полимера сравнения (ПС<sub>ЧИПАК</sub>), сорбирующих валин, значения коэффициентов распределения имеют близкие значения. Для МИП на основе коллоксилина также значения коэффициентов распределения выше, чем для коллоксилина (ПС).

Таким образом, МИП-Gly обоих типов полимеров способны к молекулярному распознаванию глицина, в присутствии которого они были получены ((МИП<sub>ЧИПАК</sub>)-Gly ( $R$ , 83,5%,  $IF$ =11,6); (МИП<sub>К</sub>)-Gly ( $R$ , 77,5%,  $IF$ =7,8), но не способны к распознаванию валина.

Сравнивая полимеры двух типов, следует отметить, что значения степеней извлечения и импринтинг факторы для МИП на основе частично имидизированной полиаминокислоты выше, чем для МИП на основе коллоксилина. Следовательно, полимер с молекулярным отпечатком на основе частично имидизированной полиаминокислоты обладает большей эффективностью к молекулярному распознаванию, чем МИП на основе коллоксилина.

**В шестой главе** представлены аналитические характеристики способов определения аминокислот в модельных растворах и лекарственных препаратах немодифицированными пьезоэлектрическими сенсорами и сенсорами, модифицированными МИП.

#### **Определение аминокислот в модельных растворах немодифицированным пьезоэлектрическим сенсором**

Определение веществ в жидкостях пьезоэлектрическими сенсорами можно проводить двумя способами: погружением сенсора в анализируемый раствор и нанесением аналита на поверхность электрода сенсора.

Первым способом определяли содержание аминокислот глицина,  $\alpha$ -

аланина, валина, лейцина и изолейцина в водных растворах при температуре  $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ . Объем пробы составлял 4–5 мл. Во втором способе водные растворы аминокислот наносили микрошприцем  $V=10$  мкл на поверхность электрода пьезосенсора. Установлено, что изменение температуры в диапазоне  $20\text{--}30^\circ\text{C}$  не влияет на стабильность работы кварцевого резонатора, поэтому измерения проводили без термостатирования. Во всех случаях наблюдаются линейные градуировочные графики с высокими коэффициентами детерминации ( $R^2 > 95\%$ ). Экспериментально определенный предел обнаружения составил  $10^{-6}$  моль/дм<sup>3</sup>.

Для оценки степени различия между разбросами серий данных, полученных от сенсора при погружении в анализируемый раствор и при нанесении раствора на сенсор, использовали  $F$ -тест (Табл. 9).

**Таблица 9.** Сравнительная характеристика способов определения аминокислот в водных растворах ( $P = 0,95$ ,  $\nu_1 = 3$ ,  $\nu_2 = 5$ ,  $F = 5,41$ )

$C_{\text{ср}}$ , моль/дм <sup>3</sup>	$Sr$ , %	$C_{\text{ср}}$ , моль/дм <sup>3</sup>	$Sr$ , %	$F$
При погружении сенсора в раствор		При нанесении раствора на сенсор		
$0,10 \pm 0,02$	7	$0,10 \pm 0,01$	5	1,4
$0,010 \pm 0,001$	5	$0,010 \pm 0,001$	5	1,3
$0,0010 \pm 0,0002$	6	$0,0011 \pm 0,0002$	4	1,9

Как видно из таблицы 9, рассчитанные значения  $F$  меньше табличного, следовательно, значимое различие в воспроизводимости двух способов определения аминокислот отсутствует. При выборе оптимальных условий функционирования пьезоэлектрических сенсоров без чувствительного покрытия для определения аминокислот в водных растворах проводили оценку селективности определения аналитов по коэффициентам перекрестного реагирования ( $PP$ , %). В качестве эталона выбран глицин как самая маленькая среди определяемых аминокислот, значение  $PP$  принято равным 100 (Табл. 10).

**Таблица 10.** Коэффициенты перекрестного реагирования немодифицированного сенсора по отношению к аминокислотам

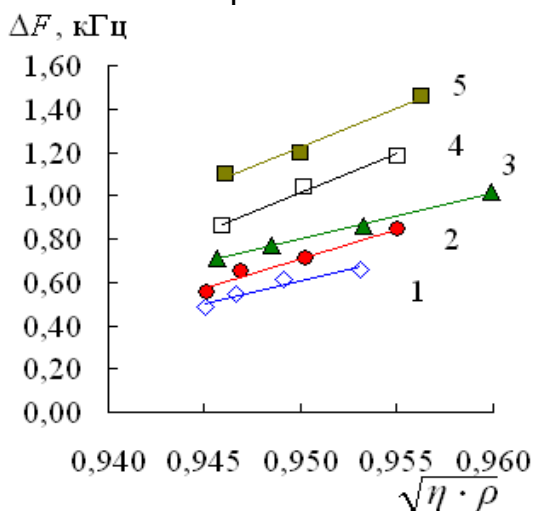
Аналит	$M_r$	$PP$ , %	Аналит	$M_r$	$PP$ , %
Глицин	75,07	100,0	Аспарагиновая кислота	133,10	124,3
$\alpha$ -Аланин	89,10	146,9	Лизин	146,19	195,7
Серин	105,10	155,5	Глутаминовая кислота	147,13	96,6
Валин	117,16	214,1	Метионин	149,21	98,0
Лейцин	131,20	340,9	Гистидин	155,20	100,0
Изолейцин	131,20	313,8	Фенилаланин	165,20	54,7

На основании анализа  $PP$  установлено, что если бы пьезоэлектрический сенсор был «масс-чувствительным» при контакте с жидкостью, то с ростом молярной массы коэффициенты перекрестного реагирования увеличивались бы, как в ряду моноаминомонокарбоновых кислот (Ala, Val, Leu, Ile). Однако этой корреляции не наблюдается для аминокислот с ароматической, гетероциклической структурой и дополнительной гидрофильной группой.



Наличие гидрофобного радикала в структуре аминокислоты вблизи тетраэдрически связанных молекул воды приводит к упрочнению структуры растворителя, при этом подвижность аминокислот уменьшается. Дополнительная гидрофильная группа способствует разрушению более или менее упорядоченной структуры воды, в результате чего возрастает число мономерных молекул, которые легче присоединяются к молекулам растворенного вещества, тем самым увеличивается радиус первичной гидратной оболочки и уменьшается подвижность и, следовательно, уменьшается реакция среды на сенсор. Таким образом, пьезоэлектрический сенсор чувствителен к воздействию, оказываемому анализируемым раствором. Полученные результаты позволяют предположить возможность определения аминокислот в парных смесях водных растворов, что актуально при разработке мультисенсорных систем.

При проведении анализа в жидкой фазе необходимо учитывать одновременное действие многих факторов: вязкость и плотность анализируемого раствора, pH среды, температура раствора и др. Установлена тесная корреляция между частотой колебаний пьезоэлектрического сенсора и вязкостью и плотностью растворов аминокислот (Рис.9). Однако использование уравнения Kanazawa и Gordon ограничено возможностью точного измерения вязкости и плотности сильно разбавленных растворов.

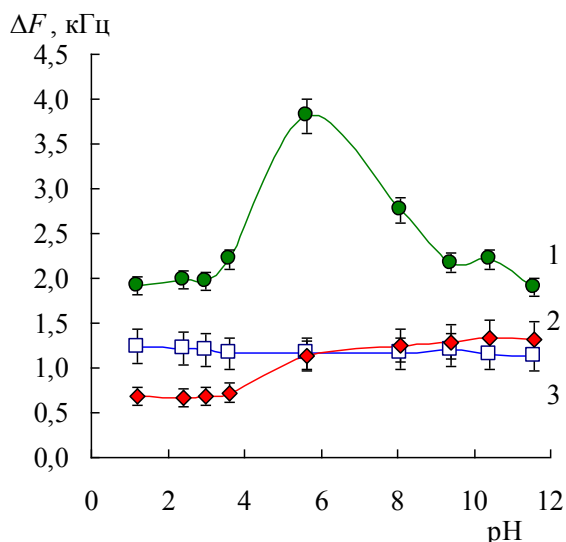


**Рис. 9.** Зависимость аналитического сигнала сенсора от вязкости и плотности растворов аминокислот  
1 – глицина; 2 – аланина; 3 – валина;  
4 – изолейцина; 5 – лейцина

Проведена оценка влияния pH раствора на аналитический сигнал немодифицированного сенсора и сенсоров, модифицированных ПС и МИП-Gly (Рис.10). Установлено, что для МИП характерны высокие значения

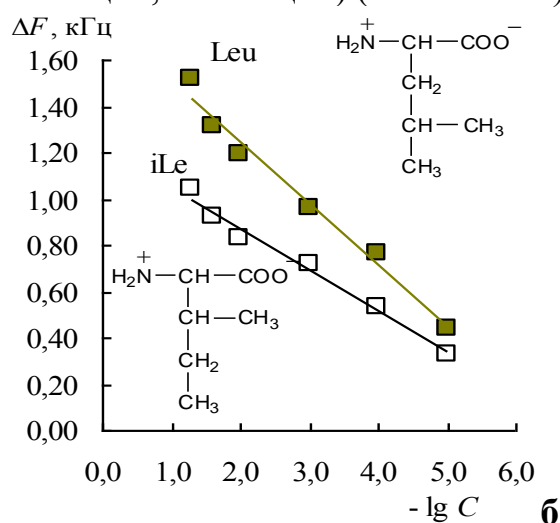
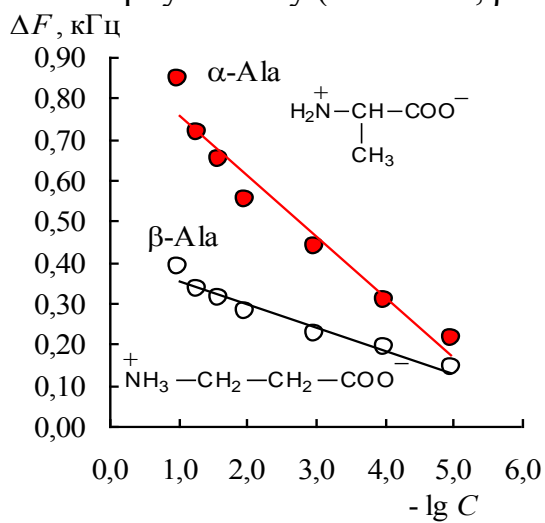
частоты колебаний сенсора при pH 4,5–6,7, поскольку при синтезе МИП шаблон аминокислоты вводили в биполярной форме.

Для оценки влияния температуры на аналитический сигнал была собрана установка, состоящая из: термостата, терморегистратора ТРМ-202М, пьезосенсора, помещенного в термостат. Установлено, что в диапазоне температур (20 – 35°C) частота колебаний пьезоэлектрического сенсора не меняется, при этих температурах проходит детектирование аналита в газовой и жидкой фазе. Далее с ростом температуры частота линейно возрастает, как только температура становится постоянной, частота колебаний пьезоэлектрического сенсора перестает изменяться. После выключения нагрева частота возвращается к исходному значению.



**Рис. 10.** График зависимости аналитического сигнала пьезосенсора от рН раствора  
1 – для сенсора с МИП;  
2 – для немодифицированного сенсора;  
3 – для сенсора с ПС.

Для подтверждения предположения о том, что пьезорезонатор является акустическим сенсором, а не гравиметрическим, были проанализированы водные растворы аминокислот, отличающиеся строением бокового радикала, но имеющие одинаковую молярную массу ( $\alpha$ -аланин,  $\beta$ -аланин и лейцин, изолейцин) (Рис. 11 а и б).



**Рис. 11.** Зависимость разностной частоты колебаний пьезосенсора от ( $-\lg C$ ) растворов аминокислот: (а)  $\alpha$ -аланина и  $\beta$ -аланина; (б) лейцина и изолейцина

Установлено, что в растворах веществ с одинаковой молярной массой, но разным химическим строением частота колебаний пьезокристалла различна. На сигнал сенсора влияют вязкость и плотность растворов. Поэтому при рассмотрении механизма работы сенсора необходимо учитывать эти физико-химические свойства растворов.

### Определение аминокислот в модельных растворах, модифицированными пьезоэлектрическими сенсорами

Определение глицина в модельных бинарных смесях с аланином и валином проводили пьезоэлектрическими сенсорами, модифицированными молекулярно-импринтированными глицином полимерами: МИП<sub>ЧИПАК</sub>-Gly – синтезированный на основе частично имидизированной полиаминокислоты и МИП<sub>НЦ</sub>-Gly – на основе нитрата целлюлозы (коллоксилина).

Для пьезоэлектрического сенсора, модифицированного МИП<sub>ЧИПАК</sub>-Gly, градуировочный график описывается уравнением прямой вида

$\Delta F = - (0,20 \pm 0,02) \cdot C + (1,27 \pm 0,05)$ ,  $R^2 = 0,99$ . Для сенсора с МИП<sub>НЦ</sub>-Gly графику соответствует уравнение  $\Delta F = - (0,04 \pm 0,03) \cdot C + (0,39 \pm 0,07)$ ,  $R^2 = 0,98$ . Некоторые метрологические характеристики определения глицина в водных растворах модифицированными сенсорами представлены в таблице 11.

**Таблица 11.** Метрологические характеристики определения глицина в водных растворах пьезоэлектрическими сенсорами, модифицированными МИП-Gly

Сенсор	Аналит	Коэфф. чувствит. $S$ , Гц/моль·дм <sup>-3</sup>	$C_{\min}$ , М	Диапазон определяемых концентраций, моль/дм <sup>3</sup>	$S_r$ , %
МИП <sub>ЧИПАК</sub> -Gly	Gly	189	$1 \cdot 10^{-6}$	$3 - 1 \cdot 10^{-5}$	4,5
МИП <sub>НЦ</sub> -Gly	Gly	103	$7 \cdot 10^{-6}$	$3 - 1 \cdot 10^{-5}$	7,6

Для оценки способности распознавать аналит и эффективности определения сравнивали величины коэффициентов селективности ( $k$ ) и значения импринтинг-фактора ( $IF$ ) (Табл. 12).

**Таблица 12.** Импринтинг-фактор ( $IF$ ), коэффициент селективности ( $k$ ), коэффициенты перекрестного реагирования ( $IP$ , %) пьезоэлектрических сенсоров на основе МИП-Gly

Аналиты	Gly	$\alpha$ -Ala	Val	Gly	$\alpha$ -Ala	Val
	МИП <sub>ЧИПАК</sub> -Gly			МИП <sub>НЦ</sub> -Gly		
$IF$	7,9	1,2	1,4	4,4	1,8	1,3
$k$	1,0	0,08	0,08	1,0	0,16	0,23
$IP$ , %	100,0	6,7	6,5	100,0	10,5	13,2

Установлено, что величина импринтинг-фактора для аланина и валина существенно ниже соответствующих величин для глицина. Кроме того, высокую избирательность модифицированного сенсора к глицину в присутствии других аминокислот характеризуют низкие величины коэффициентов селективности для  $\alpha$ -Ala и Val. Величины  $IF$  и метрологические характеристики определения аминокислот для сенсоров, модифицированных молекулярно-импринтированными валином, лейцином, изолейцином, глутаминовой кислотой и метионином полимеров, представлены в таблице 13.

**Таблица 13.** Метрологические характеристики определения аминокислот в водных растворах пьезосенсорами, модифицированными МИП<sub>ЧИПАК</sub>

Аналит	$C_{\min}$ , моль/дм <sup>3</sup>	Диапазон определяемых концентраций, моль/дм <sup>3</sup>	$S_r$ , %	$IF$
Сенсор с МИП <sub>ЧИПАК</sub> - Val				
Val	$1 \cdot 10^{-6}$	$0,1 - 2 \cdot 10^{-5}$	5,6	4,5
Сенсор с МИП <sub>ЧИПАК</sub> - Leu				
Leu	$1 \cdot 10^{-6}$	$0,1 - 1 \cdot 10^{-5}$	4,8	8,6
Сенсор с МИП <sub>ЧИПАК</sub> - Ile				
Ile	$1 \cdot 10^{-6}$	$0,05 - 1 \cdot 10^{-5}$	5,9	9,0
Сенсор с МИП <sub>ЧИПАК</sub> - Glu				
Glu	$9 \cdot 10^{-6}$	$0,01 - 2 \cdot 10^{-5}$	4,3	4,1
Сенсор с МИП <sub>ЧИПАК</sub> - Met				
Met	$8 \cdot 10^{-6}$	$0,03 - 1 \cdot 10^{-5}$	8,5	4,8



## Определение аминокислот пьезоэлектрическими сенсорами в лекарственных препаратах и продуктах для питания спортсменов

Апробированы методики определения аминокислот в лекарственных препаратах «Глицин», «Глутаминовая кислота», «Метионин», а также в препарате для питания спортсменов «ВСАА». Использовали сенсоры, модифицированные полимерами с молекулярными отпечатками аминокислот: глицина, глутаминовой кислоты, метионина, валина, лейцина и изолейцина.

Во всех случаях наблюдаются линейные градуировочные графики с высокими коэффициентами детерминации ( $R^2 > 95\%$ ). Экспериментально определенный предел обнаружения составил  $10^{-6}$  моль/дм<sup>3</sup>. Диапазон определяемых концентраций от 3 до  $10^{-5}$  моль/дм<sup>3</sup> в зависимости от растворимости аминокислоты. Проверку правильности определения аминокислот в лекарственных препаратах с помощью модифицированных пьезоэлектрических сенсоров выполняли методом «введено – найдено» (Табл.14). Сравнение результатов определения аминокислот пьезосенсором, капиллярным электрофорезом и бумажной хроматографией показало, что разность не превышала 15 %.

**Таблица 14.** Определение аминокислот в водных растворах с пьезоэлектрическими сенсорами, модифицированными МИП методом «введено–найдено»

Аналит	C, моль/дм <sup>3</sup>		Sr, %	Аналит	C, моль/дм <sup>3</sup>		Sr, %	
	Введено	Найдено			Введено	Найдено		
Сенсор с МИП <sub>ЧИПАК</sub> – Gly				Сенсор с МИП <sub>ЧИПАК</sub> – Val				
Gly	0,1	0,105±0,005	5,7	Val	0,1	0,10±0,02	6,5	
	0,01	0,0094±0,004	8,1		0,01	0,011±0,002	2,2	
«Глицин»	0,1	0,11±0,02	6,1		0,001	0,0010±0,0003	7,7	
Сенсор с МИП <sub>ЧИПАК</sub> – Glu				Сенсор с МИП <sub>ЧИПАК</sub> – Leu				
Glu	0,01	0,010±0,001	2,4	Leu	0,1	0,10±0,01	5,6	
	0,001	0,0010±0,0002	5,6		0,01	0,009±0,002	8,3	
«Глутаминовая кислота»	0,01	0,010±0,002	3,6		0,001	0,0011±0,0001	9,4	
Сенсор с МИП <sub>ЧИПАК</sub> – Met				Сенсор с МИП <sub>ЧИПАК</sub> – Ile				
Met	0,03	0,033±0,004	6,0	Ile	0,05	0,05±0,002	4,4	
	0,01	0,010±0,005	4,3		0,01	0,008±0,003	4,3	
«Метионин кормовой»	0,01	0,011±0,002	7,7	«ВСАА»	Val	0,05	0,049±0,006	1,7
«Метионин»	0,01	0,010±0,001	5,4		Leu	0,1	0,095±0,004	5,0
					Ile	0,05	0,046±0,005	8,4

Установлено, что модифицированные сенсоры наиболее чувствительны к той аминокислоте, которая была шаблоном при получении селективного покрытия и не чувствительны к вспомогательным веществам, входящим в состав препарата.

### **Разностный способ определения аминокислот в водных растворах**

Для уменьшения ошибки в расчетах и сокращения времени измерения был разработан разностный генератор. Устройство имеет два сенсора: один для холостой пробы, другой для анализируемого раствора. Объем аликвоты – 10 мкл. Оценку принципиальной возможности определения аминокислот разностным способом проводили на модельных растворах глицина, аланина и валина. Для построения градуировочных графиков готовили стандартные растворы с концентрациями  $0,1 - 10^{-6}$  моль/дм<sup>3</sup>. Экспериментально определенный предел обнаружения составил  $10^{-6}$  моль/дм<sup>3</sup>.

Также разностным способом проведено определение глицина сенсорами с МИП. Для этого индикаторный и сенсор сравнения модифицировали ПМО отпечатком глицина. Градуировочный график описывается уравнением прямой вида  $\Delta F = -(0,46 \pm 0,07) \cdot C + (4,12 \pm 0,25)$ ,  $R^2 = 0,99$ . Коэффициент чувствительности  $191 \text{ Гц} / \text{моль} \cdot \text{дм}^{-3}$ .

### **Определение аминокислот в динамическом режиме**

Проведено определение валина пьезоэлектрическим сенсором в водных растворах после ионообменного разделения его в смеси с лейцином. Показано, что сенсор, модифицированный полимером с молекулярным отпечатком валина, позволяет определять валин в течение всего ионообменного разделения. Уравнение градуировочного графика для валина имеет следующий вид:  $\Delta F = -0,0021 \cdot c + 0,0393$ ,  $R^2 = 0,986$ . Предел обнаружения валина составил  $10^{-6}$  моль/дм<sup>3</sup>.

Проведено определение валина в модельной смеси, содержащей валин и глутаминовую кислоту в проточно-инжекционном режиме сенсором, модифицированным полимером с молекулярным отпечатком валина. Уравнение градуировочного графика для валина имеет следующий вид  $\Delta F = -0,014 \cdot C + 0,14$ ,  $R^2 = 0,99$ . Предел обнаружения валина составил  $10^{-6}$  моль/дм<sup>3</sup>. Проверку правильности определения аминокислот с помощью пьезорезонансного сенсора выполняли методом «введено – найдено». Показано, что применение модифицированного сенсора позволило провести анализ в присутствии сопутствующих компонентов без их предварительного разделения.

## **ВЫВОДЫ**

1. Установлен механизм функционирования пьезоэлектрических сенсоров в системе «сенсор – МИП – анализируемая среда», учитывающий свойства анализируемой пробы, полимерного материала и взаимосвязь между ними и рассматривающий пьезоэлектрический сенсор как электрохимическую систему чувствительную к акустической нагрузке, для определения веществ с молекулярной массой  $< 500$  Да в жидкости в результате прямого взаимодействия с распознающим слоем.

2. На основании данных, полученных методами вискозиметрии, денситометрии, кондуктометрии, диэлькометрии, ультразвуки и квантово-химического моделирования, установлено, что боковые R-группы аминокислот упрочняют структуру растворителя, оказывая стабилизирующее воздействие на ближайшие молекулы воды, уменьшая подвижности аминокислот и величины аналитического сигнала пьезоэлектрического сенсора. Показано, что различные значения аналитического сигнала сенсора для изомеров аминокислот ( $\alpha$ -аланин и  $\beta$ -аланин, лейцин и изолейцин) связаны с существенным отличием вязкости и плотности их водных растворов. Оценка влияния pH раствора аминокислоты на сигнал пьезоэлектрических сенсоров показала, что наибольшая величина аналитического отклика достигается при определении нейтральных аминокислот в диапазоне pH 4,5 – 6,7.

3. Показано, что формирование распознающего слоя на основе МИП на поверхности электрода пьезоэлектрического сенсора проходит в две стадии, при этом для полимеров на основе частично имидизированной полиамидокислоты на первой стадии при относительно низких температурах параллельно протекают процессы межцепной и внутрицепной дегидратации, на второй стадии проходит процесс отщепления прочносвязанных молекул воды с образованием имидных связей и пленки полимера на поверхности электрода сенсора. Для полимеров на основе коллоксилина на первой стадии по мере испарения растворителя образуется вязко-эластичное покрытие, на второй стадии при дальнейшем удалении растворителя увеличивается доля внутри- и межмолекулярных водородных связей, что делает фрагменты макромолекул более «жесткими» и приводит к образованию пленки коллоксилина. Квантово-химические расчеты с использованием теории функционала плотности с гибридным функционалом B3LYP в базисе 6-31G(d, p) показали, что энергии взаимодействий комплексов полиамидокислоты значительно больше, чем комплексов с коллоксилином, что свидетельствует о более сильных и специфичных межмолекулярных взаимодействиях полиамидокислоты с аминокислотами по сравнению с взаимодействиями с коллоксилином.

На основе данных ИК-, хромато-масс-спектрографии и квантово-химического моделирования комплексов «полимер – аминокислота» предложена химическая структура молекулярно-импринтированных полимеров. Установлено, что МИП на основе частично имидизированной полиамидокислоты и коллоксилина способны к молекулярному распознаванию в присутствии соединений родственной структуры (аминокислот), используемых при синтезе в качестве шаблонов. Показано, что МИПы на основе частично имидизированной полиамидокислоты обладают большей эффективностью к молекулярному распознаванию ( $IF$  4,1 – 11,6), чем полимеры на основе коллоксилина ( $IF$  2,6 – 7,8).

4. Предложен комплекс способов определения аминокислот с помощью МИП-сенсоров в модельных растворах и лекарственных препаратах «Глицин», «Глутаминовая кислота», «Метионин», в препарате для питания спортсменов «ВСАА» в статических и динамических условиях. Градуировочные графики линейны в широком интервале определяемых содержаний ( $3 - 1 \cdot 10^{-5}$  моль/дм<sup>3</sup> в зависимости от растворимости аминокислоты,  $R^2 > 95\%$ ), предел обнаружения аминокислот составляет  $10^{-6}$  моль/дм<sup>3</sup>.

Разработана разностная схема измерения аналитического сигнала индикаторного МИП-сенсора относительно сенсора сравнения, позволяющая повысить экспрессность и чувствительность определения аминокислот в жидкостях.

#### Основное содержание диссертации изложено в работах

1. Калач А. В. Введение в сенсорный анализ / А. В. Калач, **А. Н. Зяблов**, В. Ф. Селеменев. – Воронеж : Научная книга, 2007. – 164 с.
2. Калач А. В. Сенсоры в анализе газов и жидкостей / А. В. Калач, **А. Н. Зяблов**, В. Ф. Селеменев. – Воронеж : ЛИО, 2011. – 240 с.
3. **Зяблов А. Н.** Определение глицина и глицил-глицина в водных и спиртовых растворах с применением пьезорезонансного сенсора / А. Н. Зяблов, А. В. Калач, В. Ф. Селеменев // Журнал аналитической химии. – 2006. – Т.61, №12. – С.1313 – 1316.
4. **Зяблов А. Н.** Пьезорезонатор как детектор  $\alpha$ - и  $\beta$ -аланина в водных растворах / **А. Н. Зяблов**, А. В. Калач, В. Ф. Селеменев, Ю. А. Жиброва // Журнал аналитической химии. – 2009. – Т.64, № 9. – С.988 – 990.
5. **Зяблов А. Н.** Определение глицина в водных растворах пьезосенсором, модифицированным полимером с молекулярным отпечатком / **А. Н. Зяблов**, А. В. Калач, Ю. А. Жиброва, В. Ф. Селеменев, О. В. Дьяконова // Журнал аналитической химии. – 2010. – Т.65, №1. – С.93 – 95.
6. **Зяблов А. Н.** Детектирование валина модифицированным пьезосенсором при ионообменном выделении / **А. Н. Зяблов**, Н. В. Ковалева, Ю. А. Жиброва, О. П. Красникова, В. Ф. Селеменев // Журнал аналитической химии. – 2013. – Т.68, № 4. – С.331 – 333.
7. Селеменев В. Ф. Определение глицина и глицил-глицина в водных и спиртовых растворах с использованием акустического сенсора / В. Ф. Селеменев, **А. Н. Зяблов**, А. В. Калач // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2007. – Т.73, № 7. – С. 17 – 20.
8. **Зяблов А. Н.** Детектирование аминокислот в препарате «ВСАА» пьезокварцевыми сенсорами, модифицированными полимерами с молекулярными отпечатками / **А. Н. Зяблов**, Т. С. Моничева, В. Ф. Селеменев // Аналитика и контроль. – 2012. – Т. 16, № 4. – С. 406 – 409.
9. Локтева И. А. Определение аминокислот в водных растворах по изменению частоты колебаний пьезосенсора / И. А. Локтева, **А. Н. Зяблов**,

- А. В. Калач, В. Ф. Селеменев // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2006. – Т. 5, № 4. – С.933 – 935.
10. **Зяблов А. Н.** Локальный анализ аминокислот методом зондовой микроскопии с нанометровым пространственным разрешением / **А. Н. Зяблов**, Т. В. Елисеева, А. В. Калач, В. Ф. Селеменев // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2006. – Т. 5, № 4. – С. 936 – 938.
  11. **Зяблов А. Н.** Гидратация нейтральных аминокислот в разных ионных формах / **А. Н. Зяблов**, Т. В. Елисеева, В. Ф. Селеменев, Н. Н. Самойлова // Журнал физической химии. – 2001. – Т. 75, № 3. – С. 545 – 548.
  12. **Зяблов А. Н.** Кажущиеся молярные объемы и реологические свойства аминокислот в водных растворах / **А. Н. Зяблов**, Т. В. Елисеева, В. Ф. Селеменев // Журнал физической химии. – 2003. – Т. 77, № 12. – С. 2175– 2177.
  13. **Зяблов А. Н.** Энергии активации вязкого течения и коэффициенты диффузии дипептидов и аминокислот в водных растворах / **А. Н. Зяблов**, О. В. Байдичева, А. В. Калач, В. Ф. Селеменев // Журнал физической химии. – 2008. – Т. 82, № 2. – С. 384 – 386.
  14. **Зяблов А. Н.** Сканирующая туннельная микроскопия в исследовании структуры молекулы лизина / **А. Н. Зяблов**, Д. С. Долгих, Т. В. Елисеева, В. Ф. Селеменев, Л. А. Битюцкая, И. С. Суворцев // Журнал структурной химии. – 2001. – Т. 42, № 3. – С. 601 – 604.
  15. Мишина А. А. Моделирование полимеров с молекулярными отпечатками глицина на основе полиамидокислоты и коллоксилина / А. А. Мишина, **А. Н. Зяблов**, В. Ф. Селеменев // Известия Вузов. Серия : химия и химическая технология. – 2010. – Т. 53, Вып. 4. – С. 20 – 24.
  16. **Зяблов А. Н.** Состояние поверхности частично и полностью имидизированных мембран на основе полиамидокислоты / **А. Н. Зяблов**, О. В. Дьяконова, В. В. Котов, Т. В. Елисеева, В. Ф. Селеменев // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2004. – Т. 3, Вып. 4. – С. 244 – 248.
  17. Дьяконова О. В. Исследование состояния поверхности мембран на основе полиамидокислоты / О. В. Дьяконова, **А. Н. Зяблов**, В. В. Котов, Т. В. Елисеева, В. Ф. Селеменев, В. В. Фролова // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2005. – Т. 4, Вып. 6. – С. 824 – 831.
  18. **Зяблов А. Н.** Анализ морфологии поверхности модифицированного пьезокварцевого резонатора / **А. Н. Зяблов**, А. В. Калач, М. С. Максимов, В. Ф. Селеменев, Ю. А. Жиброва // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2006. – Т. 6, Вып. 5. – С. 869 – 874.
  19. **Зяблов А. Н.** Анализ поверхности пьезокварцевого резонатора методом сканирующей зондовой микроскопии / **А. Н. Зяблов** // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2006. – Т. 6, Вып. 6. – С. 1419 – 1423.
  20. Дьяконова О. В. Особенности структуры полиамидокислотных мембран в зависимости от температуры синтеза / О. В. Дьяконова, С. А. Соколова,

- А. Н. Зяблов**, Ю. А. Жиброва // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2007. – Т.7, Вып.5. – С.873 – 877.
21. **Зяблов А. Н.** Анализ морфологии поверхности молекулярно-импринтированных полимеров / **А. Н. Зяблов** // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т.8, Вып.1. – С.172 – 175.
  22. Жиброва Ю. А. Полимеры с молекулярными отпечатками для пьезокварцевых сенсоров. Сообщение 1. Анализ лекарственных препаратов, содержащих глицин / Ю. А. Жиброва, **А. Н. Зяблов**, Н. А. Щеглова, О. П. Красникова, В. Ф. Селеменев // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т.8, Вып.4. – С.686 – 688.
  23. Жиброва Ю. А. Полимеры с молекулярными отпечатками для пьезокварцевых сенсоров. Сообщение 2. Анализ морфологии поверхности пленки коллоксилина / Ю. А. Жиброва, **А. Н. Зяблов**, В. Ф. Селеменев, О. В. Дьяконова, С. А. Соколова // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т.8, Вып.5. – С.853 – 857.
  24. Дьяконова О. В. Исследование состояния поверхности мембранных материалов методом сканирующей зондовой микроскопии / О. В. Дьяконова, С. А. Соколова, **А. Н. Зяблов**, Ю. А. Жиброва // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т.8, Вып.5. – С.863 – 868.
  25. **Зяблов А. Н.** Моделирование структуры и стабильности комплексов глицина с полимером на основе полиамидокислоты / **А. Н. Зяблов**, А. А. Мишина, Ю. А. Жиброва, В. Ф. Селеменев // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т.8, Вып.6. – С.1002 – 1007.
  26. Соколова С. А. Особенности структуры ионообменных полиамидокислотных мембран, синтезированных при различных температурах / С. А. Соколова, О. В. Дьяконова, **А. Н. Зяблов** // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2009. – Т.9, Вып.6. – С. 1002 – 1007.
  27. Семилетова Е. С. Термогравиметрический анализ полимеров с молекулярным отпечатком валина / Е. С. Семилетова, **А. Н. Зяблов**, О. В. Дьяконова, С. А. Соколова, В. Ф. Селеменев // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2012. – Т.12, Вып.5. – С.734 – 738.
  28. **Зяблов А. Н.** Импедансная модель функционирования пьезокварцевого сенсора в системе «сенсор–селективное покрытие–жидкая фаза» / **А. Н. Зяблов**, В. Ф. Селеменев // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2013. – Т.13, Вып.5. – С. 695 – 703.
  29. Дьяконова О. В. Структурные характеристики поверхностей мембранных материалов различной химической природы по данным сканирующей зондовой микроскопии / О. В. Дьяконова, С. А. Соколова, **А. Н. Зяблов** // Вестник Воронежского аграрного университета. -2011, Вып. 4(31).-С.55-58.
  30. Пат. 2282185 Российская Федерация, МПК G01N 31/00 G01N 27/00 C07C 229/08. Способ определения глицина в водных растворах / Калач А. В., Шульгин В. А., Селеменев В. Ф., Ситников А. И., **Зяблов А. Н.** : заявитель и патентообладатель Воронежская государственная технологическая

- академия.– №2005121883/04 ; заявл. 11.07.2005 ; опубл. 20.08.2006, Бюл. №23. - 5 с.
31. Пат. 102264 Российская Федерация, МПК(51) G01N27/12. Пьезосенсор на основе полимеров с молекулярным отпечатком аминокислот / **Зяблов А.Н.**, Никитская Л. М., Жиброва Ю. А., Калач А. В., Селеменев В. Ф. : заявитель и патентообладатель Воронежский госуниверситет. – № 2010142819/28 ; заявл. 19.10.2010 ; опубл. 20.02.2011, Бюл. №5. – 9 с.
32. Пат. 111674 Российская Федерация, МПК(51) G01N30/64. Установка для определения аминокислот после ионообменного разделения технологических растворов / **Зяблов А. Н.**, Калач А. В., Жиброва Ю. А., Говорухин С. И., Селеменев В. Ф., Чиканов В. Н. : заявитель и патентообладатель Воронежский госуниверситет. – №2011133804/28 ; заявл. 11.08.2011 ; опубл. 20.12.2011, Бюл. № 35. – 9 с.
33. **Зяблов А. Н.** Локальный анализ аминокислот методом зондовой микроскопии с нанометровым пространственным разрешением / **А. Н. Зяблов**, Т. В. Елисеева, В. Ф. Селеменев // Тезисы докладов Всероссийской конференции «Актуальные проблемы аналитической химии». – Москва, 2002. – Т. 1. – С.65 – 66.
34. **Zyablov A. N.** Investigations of amino acids structure by scanning force microscopy / **A. N. Zyablov**, V. F. Selemenev, S. G. Behovich // Abstract of International Workshop «Scanning probe microscopy-2003». – Nizhny Novgorod, 2003. – P. 303 – 304.
35. Study of ultrafiltration polyimide membranes surface by the method of scanning probe microscopy / **A. N. Zyablov**, O. V. Dyakonova, V. V. Kotov, T. V. Elisseeva, V. F. Selemenev // Abstract of International Workshop «Scanning probe microscopy-2004». – Nizhny Novgorod, 2004. – P.184 – 186.
36. Байдичева О.В. Исследование физико-химических свойств водных растворов дипептидов и аминокислот / О.В. Байдичева, **А. Н. Зяблов**, В.Ф. Селеменев // Материалы XI Всероссийской конференции по теплофизическим свойствам веществ. – С-Петербург, 2005. – Т.1. – С. 135
37. Application of a method scanning force microscopy for research of a squalan thin layers put on a piezoresonator / A. V. Kalach, **A. N. Zyablov**, V. F. Selemenev, Yu. A. Zhibrova // Abstract of International Congress on Analytical Sciences ICAS-2006. – Moscow. – P. 649 – 650.
38. Piezosensor analysis of  $\alpha$ - and  $\beta$ -alanine water solutions / I. A. Lokteva, A. V. Kalach, **A. N. Zyablov**, V. F. Selemenev // Abstract of International Symposium on Olfaction and Electronic Noses. – St. Petersburg, 2007. – P. 97 – 98.
39. Анализ растворов аминокислот пьезосенсором, модифицированным молекулярно-импринтированным полимером / **А. Н. Зяблов**, Ю. А. Жиброва, А. В. Калач, И. А. Локтева, О. В. Дьяконова, В. Ф. Селеменев, А. А. Гоглева // Материалы II Всероссийской конференции с международным участием «Аналитика России». -Краснодар, 2007. -С.256.

40. Анализ полимеров с молекулярными отпечатками методом сканирующей зондовой микроскопии / Ю. А. Жиброва, О. П. Красникова, **А. Н. Зяблов**, В. Ф. Селеменев // Тезисы докладов Всероссийского симпозиума «Хроматография и хромато-масс-спектрометрия». Москва, 2008. – С.163.
41. Элементный анализ полимеров с молекулярными отпечатками / **А. Н. Зяблов**, А. А. Мишина, А. А. Балканова, А. В. Калач, В. Ф. Селеменев // Материалы III Всероссийской конференции с международным участием «Аналитика России». – Краснодар, 2009. – С. 341.
42. Квантово-химическое моделирование полимеров с молекулярными отпечатками / А. А. Мишина, А. А. Балканова, Л. М. Никитская, **А. Н. Зяблов**, В. Ф. Селеменев // Тезисы докладов Всероссийской конференции «Теория и практика хроматографии. Хроматография и нанотехнологии». – Самара, 2009. – С. 146.
43. Детектирование аминокислот в технологических растворах пьезокварцевым сенсором / **А. Н. Зяблов**, Ю. А. Жиброва, С. Г. Говорухин, А. В. Калач, В. Ф. Селеменев, С. А. Хальзова // Тезисы докладов Съезда аналитиков России и школы молодых ученых «Аналитическая химия - новые методы и возможности». -Москва, 2010. -С.127.
44. Анализ морфологии поверхности полимеров с молекулярными отпечатками глицина методом сканирующей силовой микроскопии / **А. Н. Зяблов**, С. Г. Говорухин, Ю. А. Жиброва, В. Ф. Селеменев, С. А. Хальзова // Материалы Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез». – Краснодар, 2010. –С. 185.
45. Определение аминокислот пьезосенсором после ионообменного разделения / С. И. Говорухин, **А. Н. Зяблов**, А. В. Калач, В. Ф. Селеменев, Л. В. Володина // Материалы Всероссийского симпозиума «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии». – Краснодар, 2011. – С.40.
46. Проточно-инжекционное детектирование аминокислот модифицированным пьезокварцевым сенсором / С. И. Говорухин, **А. Н. Зяблов**, Н. В. Ковалева, В. Ф. Селеменев, Нгуен Ань Тьен // Материалы XIII Международной конференции «Физико-химические основы ионообменных и хроматографических процессов (ИОНИТЫ-2011)». – Воронеж, 2011. – С. 258 – 260.
47. Синтез, морфология поверхности и свойства полиимида с молекулярными отпечатками глицина / О. В. Дуванова, С. А. Соколова, О. В. Дьяконова, **А. Н. Зяблов** // Тезисы докладов и сообщений XX Всероссийской конференции «Структура и динамика молекулярных систем» и 11-й Международной школы молодых ученых «Синтез, структура и динамика молекулярных систем» (Яльчик-2013). Йошкар-Ола – Уфа – Казань – Москва, Йошкар-Ола ПГТУ. – 2013. – С. 115.

**Работы 3 – 29 опубликованы в изданиях, входящих в Перечень ВАК**