



ГУМЕРОВА Гузель Ильдаровна

**МЕТОД КОНТРОЛЯ ПОЛИГАЛОГЕНИРОВАННЫХ
ДИБЕНЗО-*n*-ДИОКСИНОВ И РОДСТВЕННЫХ ИМ СОЕДИНЕНИЙ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОСЕНСОРОВ НА ОСНОВЕ
УГЛЕРОДИСТЫХ МАТЕРИАЛОВ**

05.11.13 – Приборы и методы контроля природной среды, веществ, материалов
и изделий

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени кандидата
технических наук

Казань-2014

Работа выполнена в ФГБОУ ВПО «Казанский национальный
исследовательский технический университет им. А.Н. Туполева – КАИ» на
кафедре «Общая химия и экология»

Научный руководитель: Гоголь Эллина Владимировна
кандидат химических наук,
ФГБОУ ВПО «Казанский национальный
исследовательский технический университет
им. А.Н. Туполева – КАИ», доцент кафедры
«Общая химия и экология»

Официальные оппоненты: Васильев Андрей Витальевич
доктор технических наук, профессор,
ФГБОУ ВПО «Голыяттинский государственный
университет», заместитель ректора – директор
Института химии и инженерной экологии

Будникова Юлия Германовна
доктор химических наук, ФГБУН «Институт
органической и физической химии
им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра
РАН», зав. лабораторией электрохимического
синтеза

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение
Республики Башкортостан «Управление
государственного аналитического контроля»
(ГБУ РБ УГАК), г. Уфа

Защита состоится 16 мая 2014 г. в 14 часов 30 минут на заседании
Диссертационного совета Д 212.082.01 в ФГБОУ ВПО «Казанский
государственный энергетический университет» по адресу: 420066, г. Казань, ул.
Красносельская, 51, зал заседаний Ученого совета, тел./факс (843)562-43-30.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные печатью организации,
просим направлять по адресу: 420066, г. Казань, ул. Красносельская, 51, КГЭУ,
ученому секретарю диссертационного совета Д 212.082.01.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Казанского
государственного энергетического университета.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2014 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета, д.ф.-м.н.



Калимуллин Рустем Ирекович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Полигалогенированные дибензо-*n*-диоксины (ПХДД) и родственные им соединения (полихлорированные дибензофураны (ПХДФ), полиароматические углеводороды (ПАУ)) – одни из самых опасных ксенобиотиков: обладая мутагенными и канцерогенными свойствами, они становятся причиной изменений функционирования и существования экологических систем. В связи с этим необходим постоянный контроль содержания подобных соединений в природной среде.

В основе количественного контроля ПХДД/ПХДФ и ПАУ лежат гибридные методы физико-химического анализа – сочетание хроматографии и масс-спектрометрии. Такое сочетание обеспечивает высокую чувствительность, является способом подтверждения идентичности соединений, но имеет ряд ограничений для целей массового анализа: низкую производительность, невозможность определения некоторых диоксиноподобных соединений, высокую стоимость анализа, зависимость пробоподготовки от происхождения проб объектов природной среды, их компонентного состава и параметров оборудования. Кроме того, среди проблем контроля объектов природной среды есть такие, решить которые затруднительно даже с помощью вышеуказанных методов: аварийные поступления загрязнений от предприятий, арбитражная практика, когда подтвердить аналитическую информацию, полученную методами ГХ/МС или ВЭЖХ/МС, необходимо результатами, полученными совершенно иным методом контроля (электрохимическим, биохимическим и пр.).

В этой связи разработка ферментных методов определения полигалогенированных дибензо-*n*-диоксинов и родственных им соединений является актуальной.

Настоящая работа посвящена усовершенствованию метода качественного и количественного определения ПХДД/ПХДФ. Автором предложен биохимический метод, который может комбинироваться с методами ГХ/МС или ВЭЖХ/МС, либо использоваться для экспресс-анализа. Он основан на каталитических свойствах монооксигеназных ферментных систем цитохромов P450. В его основе лежит биохимическая реакция, в ходе которой ПХДД/ПХДФ разрушаются под действием закрепленной на электрохимическом модифицированном нафтионом стеклоуглеродном датчике изоформы фермента цитохрома P4501A1. В процессе каталитической дегградации диоксинов (ПХДД) образуется фенол, концентрация которого измеряется методом инверсионной вольтамперометрии и прямо пропорциональна концентрации диоксинов в исходной смеси. Предложенный метод не требует сложной пробоподготовки и дает возможность во много раз упростить и удешевить контроль диоксинов в объектах природной среды.

Объектом исследования является усовершенствование метода и аппаратных средств контроля полигалогенированных дибензо-*n*-диоксинов и родственных им соединений в природной среде.

Предметом исследования является методическое обеспечение и приборная реализация метода биохимического контроля полигалогенированных дибензо-*n*-диоксинов и родственных им соединений.

Цель работы: разработка и реализация метода контроля полигалогенированных дибензо-*n*-диоксинов и родственных им соединений с использованием биосенсоров на основе углеродистых материалов.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи:**

– изучить токсические свойства полигалогенированных дибензо-*n*-диоксинов и родственных им соединений, механизм их образования и трансформации в объектах природной среды и методы аналитического контроля;

– подобрать фермент, участвующий в процессе биохимического разложения полигалогенированных дибензо-*n*-диоксинов и родственных им соединений в объектах природной среды;

– обосновать выбор материала для изготовления биосенсора;

– разработать способ иммобилизации (закрепления) фермента на поверхности биосенсора;

– усовершенствовать метод электрохимического измерения массовых концентраций фенола;

– обосновать метод определения диоксинов в объектах природной среды путем их биохимического разложения до фенолов;

– усовершенствовать систему обработки сигналов биосенсора посредством виртуально-ориентированной среды (виртуального вольтамперометрического анализатора).

Методы исследования. Исследование базируется на электро- и биохимических методах контроля объектов природной среды, методах биотестирования, методах планирования эксперимента, методах графического программирования, методах математической статистики.

Новые научные результаты.

1. Получены модельные растворы полигалогенированных дибензо-*n*-диоксинов на основе механизма образования их из прекурсоров и трансформации данных соединений в объектах природной среды.

2. Выбран фермент применительно к условиям изготовления биосенсора для контроля полигалогенированных дибензо-*n*-диоксинов.

3. Разработан способ иммобилизации цитохрома Р450 на стеклоуглеродном электроде.

4. Усовершенствована методика измерения концентраций фенола методом инверсионной вольтамперометрии.

5. Создана система обработки сигналов биосенсора с иммобилизованным цитохромом Р450 посредством виртуального вольтамперометрического анализатора.

Практическую значимость работы составляют:

1. Разработанный биосенсор позволяет количественно определить полигалогенированные дибензо-*n*-диоксины на основании концентрации фенола, образующегося в ходе их ферментативной дегградации.

2. Результаты исследований способов иммобилизации ферментов позволили предложить способ закрепления цитохрома Р450 на модифицированной нафионом поверхности стеклоуглеродного электрода.

3. Усовершенствована методика вольтамперометрического измерения концентраций фенола, что привело к более точным и воспроизводимым результатам.

4. Создание системы сбора и управления данными электрохимической ячейки в виртуально-графической среде LabVIEW позволяет уменьшить предел определяемых концентраций и дает возможность проводить экспресс – анализы в составе передвижной лаборатории.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Для комбинированного или предварительного экспресс-контроля полигалогенированных дибензо-*n*-диоксинов и родственных им соединений в объектах природной среды предложено использование биосенсора, предполагающего сочетание физико-химического датчика (сенсора) и биообъекта (фермента).

2. Обоснован выбор фермента и материала электрода применительно к условиям изготовления биосенсора для контроля полигалогенированных дибензо-*n*-диоксинов.

3. Разработан способ иммобилизации цитохрома P450 на стеклоуглеродном электроде, модифицированном ионообменным полимером нафтионом.

4. Предложено усовершенствование вольтамперометрической методики измерения концентраций фенола путем изменения процедуры электрохимических измерений.

5. Предложена система обработки сигналов биосенсора с иммобилизованным цитохромом P450 посредством виртуального вольтамперометрического анализатора, обеспечивающая высокую скорость передачи, регистрации и обработки данных электрохимической ячейки с программным вычитанием фонового тока.

Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов

диссертационной работы обеспечивается совпадением полученных в работе результатов с результатами известных теоретических и численно-модельных исследований других авторов, а также совпадением найденных результатов с известными из литературы данными по влиянию изоформы цитохрома P4501A1 на полигалогенированные дибензо-*n*-диоксины и родственные им соединения и подтверждением теории экспериментом. Достоверность также подтверждается использованием апробированных математических методов и оценок, использованных при проведении эксперимента, обработке и анализе регистрируемых данных.

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались и обсуждались на следующих международных научных конференциях: XVI – XX «Туполевские чтения», 2008 – 2012, КНИТУ-КАИ, Казань; VII Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2009», МарГУ, Йошкар-Ола, 2009; Международный научно-технический конгресс «Экология и безопасность жизнедеятельности промышленно-транспортных комплексов» ELPIT-2009, ТГУ, Тольятти, 2009; I Международная научно-практическая конференция «Экологическая безопасность и устойчивое развитие территорий», Чебоксары, 2011; III Международный экологический конгресс (V Международная научно-техническая конференция, научный симпозиум «Экологический мониторинг промышленно-транспортных комплексов») «ELPIT 2011. Экология и опасность жизнедеятельности промышленно-транспортных комплексов» ТГУ, Тольятти, 2011; II Международная заочная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы науки», Тамбов, 2011.

Реализация результатов работы.

Результаты исследований по созданию биосенсоров используются при выполнении лабораторных работ по курсу «Методы и приборы контроля окружающей среды», исследования по механизмам биотрансформации и токсического действия ксенобиотиков на живые организмы используются при чтении курса «Экологическая химия», принципы конструирования измерительных приборов на базе виртуально-ориентированной среды графического программирования используются в курсе «Разработка и проектирование приборов и техники контроля объектов окружающей среды» основной образовательной программы подготовки бакалавров и магистров техники и технологии направления 280700 «Техносферная безопасность» на кафедре «Общей химии и экологии» КНИТУ-КАИ им. А.Н. Туполева, о чем имеются соответствующие акты.

Публикации. Основное содержание диссертации изложено в 12 научных публикациях, включая 3 статьи в ведущих научных изданиях, входящих в перечень ВАК, 8 материалов докладов международных конференций, 1 материал доклада на всероссийской конференции.

Личный вклад автора. Результаты, представленные в диссертации и публикациях, получены при непосредственном участии автора работы. Автором лично осуществлены анализ литературных источников, выбор объектов исследования с учетом их специфики, проведение экспериментальных исследований, разработка основных блоков усовершенствуемого вольтамперметра, интерпретация и анализ полученных результатов.

Соответствие диссертации научной специальности.

Диссертация соответствует специальности 05.11.13 – Приборы и методы контроля природной среды, веществ, материалов и изделий.

Разработка биосенсора для количественного определения диоксинов и способа иммобилизации изоформы фермента цитохрома P4501A1 соответствует п. 1 «Научное обоснование новых и усовершенствование существующих методов аналитического и неразрушающего контроля природной среды, веществ, материалов и изделий» и п. 4. «Разработка методического, технического, приборного и информационного обеспечения для локальных, региональных и глобальных систем экологического мониторинга природных и техногенных объектов» Паспорта специальности.

Разработка системы обработки сигнала биосенсора с иммобилизованным цитохромом P4501A1 посредством виртуального вольтамперметрического анализатора, созданного в среде графического программирования, соответствует п. 6 «Разработка алгоритмического и программно-технического обеспечения процессов обработки информативных сигналов и представление результатов в приборах и средствах контроля, автоматизация приборов контроля» Паспорта специальности.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения и списка использованных источников, включающего 165 наименований. Работа изложена на 144 страницах машинописного текста, включая 43 рисунка и 22 таблицы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертационной работы, сформулированы ее цель и задачи, указана научная новизна и практическая ценность, приведены основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе рассмотрены полигалогенированные дибензо-*n*-диоксины как объект исследования, описаны их основные физические и химические свойства, токсичность, пути поступления в окружающую среду и существующие методы определения.

Из-за необходимости определения ультраследовых количеств и неоднородного сложного состава проб, контроль содержания диоксинов в объектах окружающей среды является одним из самых трудоемких методов анализа химических веществ. Основными методами анализа проб объектов природной среды на содержание диоксинов являются гибридные физико-химические инструментальные методы: предварительное хроматографическое разделение компонентов смеси с идентификацией разделенных соединений на масс-спектрометре (Х/МС).

Среди проблем контроля объектов природной среды есть такие, решить которые затруднительно даже с помощью основных гибридных методов Х/МС: контроль залповых сбросов или выбросов предприятий, формирование стоимости земельного фонда на основе данных экологического контроля, страхование рисков загрязнения природной среды, арбитражная практика. Аналитическую информацию, полученную одним из методов, в данном случае требуется подтверждать результатами, полученными совершенно иным методом контроля (сочетания спектральных и электрохимических, хроматографических и биологических и пр. методов или различных их комбинаций).

В качестве методов, которые могут использоваться для такой комбинации или предварительного экспресс-анализа проб объектов природной среды, предположительно содержащих ксенобиотики, автором рассмотрены иммуноферментные и биологические методы. Они предполагают сочетание физико-химического датчика (сенсора) и биообъекта. Подобное сочетание называют биосенсором.

Биосенсоры на основе ферментов наиболее просты в изготовлении и эксплуатации и имеют перспективы широкого применения. Недостатком их является то, что фермент часто денатурирует (изменяет структуру своего белка) под действием химических реагентов, используемых при обработке проб. Решение этой проблемы лежит в области модификации либо структуры самого белка, либо поверхности датчика.

Вторая глава диссертации посвящена конструированию биосенсора для контроля диоксинов и выбору компонентов для его реализации.

Токсический (мутагенный и канцерогенный) эффекты на живые организмы оказывают не сами ПХДД и родственные им соединения, а продукты их биохимической активации, катализируемой изоформой фермента цитохрома P4501A1. При этом происходит их дегалогенирование, расщепление цикла и образование фенольных производных. При этом концентрация диоксинов прямо пропорциональна концентрации образующегося фенола, измерение которого предложено проводить электрохимическим методом анализа.

Исходя из свойств материалов, возможных для использования при конструировании электрода, был выбран стеклоуглерод.

Приведены основные характеристики материалов, с помощью которых модифицируют электроды, и на основании изученных свойств выбран нафийон (Nafion), благодаря его низкому удельному электрическому сопротивлению, хорошей адгезии к материалам электродов, стабильности, механической прочности, гидрофильности и наличию гидрофобных полостей для включения органических молекул и катионов.

Описаны методы иммобилизации фермента и проведена апробация различных способов иммобилизации изоформы цитохрома P4501A1 на поверхности стеклоуглеродного электрода.

Во избежание проблем, возникающих при различных способах иммобилизации, нами была разработана модифицированная методика, сочетающая приемы, использованные при изготовлении накладных мембран и описанные для одноразовых биосенсоров на основе планарных электродов. Она состоит в том, что иммобилизация раствора фермента в буфере производится на химически модифицированную полимером поверхность электрода с закреплением фермента вакуумированием в парах 3% глутарового альдегида, что позволяет сохранить высокую ферментативную активность и снизить расход фермента. В качестве полимера использовалась перфторированная ионообменная мембрана нафийон. Такой подход позволил получить сверхтонкие пленки, сохраняющие высокую активность и не создающие высокого сопротивления переносу реагентов. Кроме того, подобные тонкие пленки не отслаиваются с нафийонового слоя и не вызывают подтекания электролита к поверхности сенсора.

На рисунках 1 и 2 представлена зависимость отклика биосенсора от условий нанесения нафийонного покрытия – объема раствора полимера и его концентрации. Как видно, при увеличении толщины покровного слоя (увеличении объема раствора) (рис. 1) либо его концентрации (рис. 2) на рабочей поверхности электрода происходит снижение величины регистрируемого тока. Очевидно, это связано с диффузионным ограничением массопереноса продукта реакции, образующегося в ферментной пленке, к электроду. Оптимальное количество нафийона, не вызывающее изменений в токе окисления фенола, но сохраняющее стабилизирующее действие на сенсор, соответствует 2 мкл 0.05 % раствора на электроде.

Соблюдение единообразия при конструировании серии биосенсоров по предлагаемой методике позволяют получать хорошую воспроизводимость результатов и стабильность отклика при их многократном использовании (рис. 3).

Таким образом, аналитические характеристики и операционные свойства биосенсоров на основе стеклоуглеродных электродов, модифицированных нафийоном, с иммобилизованной на нем изоформой фермента цитохрома P4501A1 позволяют предложить данный тип биосенсоров для испытаний с модельными растворами диоксиноподобных соединений и пробами реальных объектов окружающей среды. Биосенсоры показали хорошую воспроизводимость как фонового тока, так и отклика на низкие концентрации диоксинов в пределах 10^{-9} – 10^{-12} М.

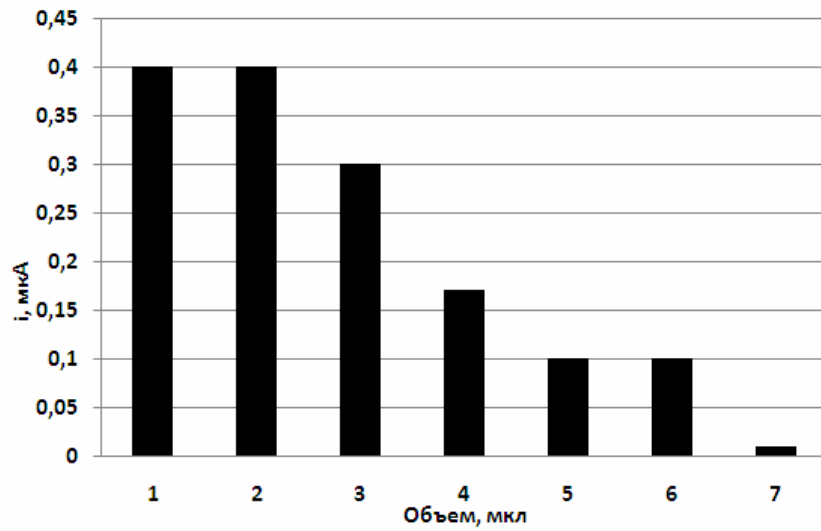


Рисунок 1. Влияние количества нафина на отклик биосенсора

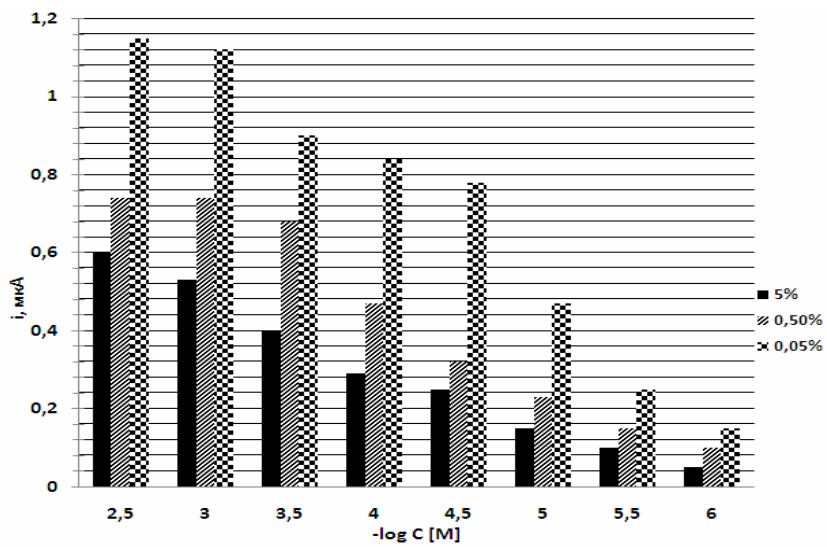


Рисунок 2. Влияние концентрации нафина на отклик биосенсора

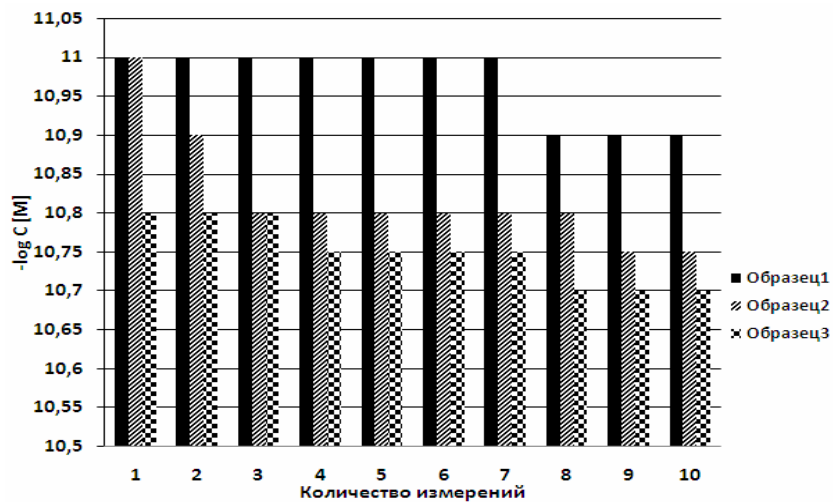


Рисунок 3. Имобилизация фермента вакуумированием в парах глутарового альдегида

В третьей главе описано проведение экспериментов по качественному и количественному определению диоксиноподобных соединений в модельных растворах, имитирующих реальное содержание диоксинов в объектах окружающей среды.

Исходя из того, что фенол является прекурсором образования диоксинов, на первом этапе эксперимента были подготовлены 3 модельные пробы:

1. Из дистиллированной воды, солей (CuCl_2 , FeCl_3) и фенола была подготовлена модельная проба № 1, имитирующая фоновое содержание фенола в Куйбышевском водохранилище (концентрация 0,01 мг/л);

2. Модельная проба № 2, имитирующая обеззараживание питьевой воды хлорированием при водоподготовке, готовилась путем обработки пробы № 1 газообразным хлором, полученным в результате электролиза NaCl ;

3. Модельная проба № 3 была получена путем добавления в пробу № 1 раствора NaOCl , в качестве которого использовался хозяйственный отбеливатель, и обработана УФ лампой, что интенсифицировало образование диоксиноподобных соединений, особенно в присутствии ионов железа (Fe^{3+}) и меди (Cu^{2+}) в качестве катализатора.

Именно проба № 3 имитировала условия, создаваемые при смешении бытовых стоков с природными водами в летний период. Скрининговый анализ на содержание диоксинов в растворе проводился посредством добавления в пробу индикатора на основе азотистых соединений. При содержании в пробе диоксинов раствор окрашивался в желтый цвет.

На втором этапе эксперимента проводилось биотестирование (биологический метод контроля) подготовленных модельных проб для подтверждения отсутствия острой токсичности диоксиноподобных соединений и невозможность их определения скрининг – анализом на живых системах.

Биотестирование проводили на инфузориях-туфельках *Paramecium caudatum* и дафниях *Ceriodaphnia affinis*. Результаты биотестирования показали, что пробы, содержащие диоксины, являются малоопасными (4 класс опасности), а пробы, содержащие фенол – высокоопасными (2 класс опасности). Следовательно, для ксенобиотиков типа диоксина, которые не обладают острой токсичностью, а являются канцерогенами и мутагенами, данный метод контроля не информативен. Опасными, соединения такого типа, становятся только при попадании в организм и вступлении в метаболизм под действием ферментов.

На третьем этапе эксперимента проводилась отработка методики определения фенола с использованием разработанного биосенсора методом инверсионной вольтамперометрии.

Усовершенствована методика определения фенола в воде по МУ 08-47/189. При проведении ряда анализов по усовершенствованной методике была установлена хорошая воспроизводимость и повторяемость результатов (рис. 4). Минимальная определенная концентрация фенола – 10^{-9} М.

На четвертом этапе эксперимента предлагаемой методикой проводился анализ модельных проб диоксинов с использованием в качестве рабочего электрода сконструированного биосенсора. Проведение измерения массовых концентраций диоксинов в пробах воды проводилось по методу добавок.

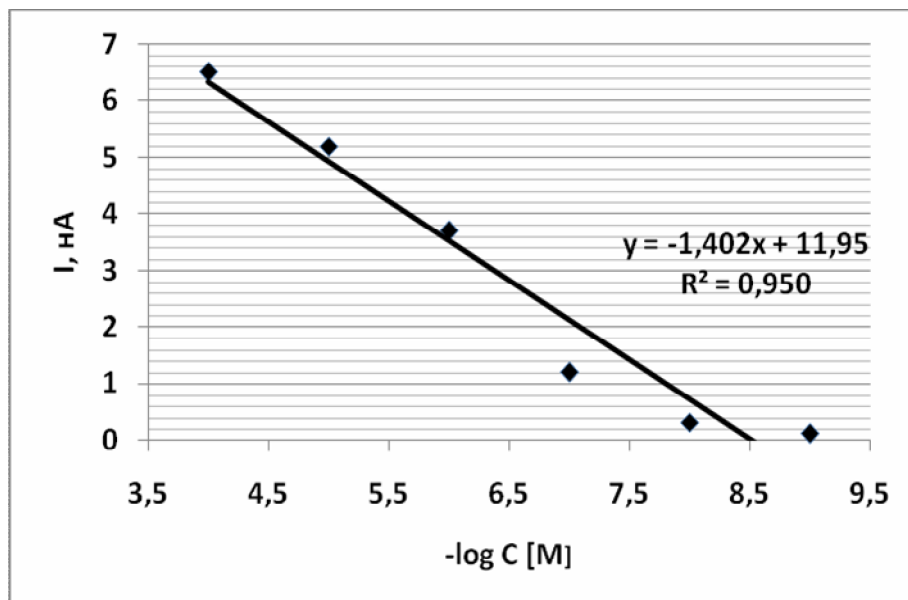


Рисунок 4. Зависимость силы тока от концентрации фенола

Для сравнительного анализа готовились 2 серии модельных растворов диоксинов:

1. Путем аликвотного разбавления ГСО 7852-2000 смеси растворов ПХДД в диапазоне концентраций $10^{-6} - 10^{-12}$ М.

2. Исходя из того, что для образования одной молекулы диоксина необходимо 2 молекулы фенола, была подготовлена модельная серия растворов, имитирующая образование диоксинов в объектах окружающей среды.

Измеряли рабочий сигнал биосенсора для модельных концентраций диоксина в диапазоне $10^{-6} - 10^{-14}$ М. Амперометрический отклик биосенсора с иммобилизованными ферментами изоформы цитохрома P4501A1 в присутствии диоксиноподобных ксенобиотиков основан на регистрации анодного тока окисления фенола, образующегося в результате ферментативной деградации диоксинов.

Ток окисления регистрировался при фиксированном потенциале (0,6 В). Максимальное отклонение тока от фонового было измерено как отклик биосенсора. Зависимость I ($\lg C_{\text{фенола}}$) можно аппроксимировать прямой: $y = ax + b$. Установлено, что все пики окисления являются аналитическими сигналами. Все результаты эксперимента были обработаны, построена зависимость определяемого тока от концентрации фенола, образовавшегося при биodeградации диоксинов, полученных различными способами, указанными выше (рис. 5). Концентрация фенола была измерена в диапазоне $10^{-3} - 10^{-7}$ М, что соответствует изначальной концентрации диоксина в смеси в диапазоне $10^{-6} - 10^{-14}$ М.

Зависимости силы тока от $\lg C_{\text{фенола}}$ в интервалах концентраций от 10^{-3} до 10^{-5} М и от 10^{-5} до 10^{-7} М различаются. Отличие зависимости от линейной при более низких концентрациях может быть связано с адсорбцией ионов электролита стенками ячейки либо конкурентной адсорбцией ОН⁻ пленкой нафiona на электроде. Тем не менее, точность аппроксимации в области малых концентраций остается удовлетворительной.

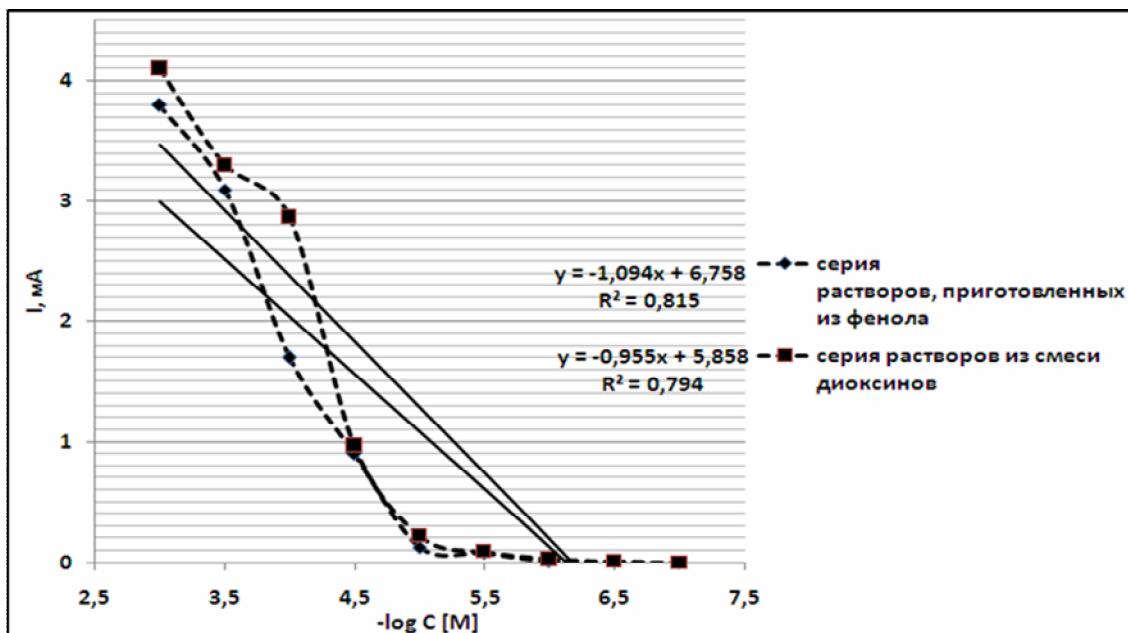


Рисунок 5. График зависимости определяемого тока от концентрации фенола, полученного при биодegradации двух серий модельных растворов диоксинов

Четвертая глава посвящена усовершенствованию прибора электрохимического контроля – вольтамперометрического анализатора с использованием в качестве основного регистрирующего устройства платы для ввода/вывода данных Advantech-1710L и измерительной платы для усиления сигнала. При этом в качестве регистратора и преобразователя информации предлагается использовать ординарный персональный компьютер и виртуально-ориентированную среду графического программирования LabVIEW.

Функциональная схема усовершенствованного вольтамперметра показана на рисунке 6. Электрохимическая ячейка в усовершенствуемом приборе подсоединена к измерительной плате (ИП), предназначенной для усиления и измерения сигнала, идущего на плату Advantech-1710L, а от нее на виртуальный вольтамперметр, созданный в среде графического программирования LabVIEW. Через интерфейс виртуального вольтамперметра задаются параметры анализа, поступающие через плату Advantech-1710L на микроконтроллер ИП, который задает линейно изменяющееся поляризующее напряжение с определенной скоростью развертки и подает сигнал в цифровом виде на источник поляризующего напряжения. Далее сигнал подается на электроды в электрохимической ячейке, где под действием приложенного потенциала начинает происходить электрохимическая реакция, сопровождающаяся переносом электронов.

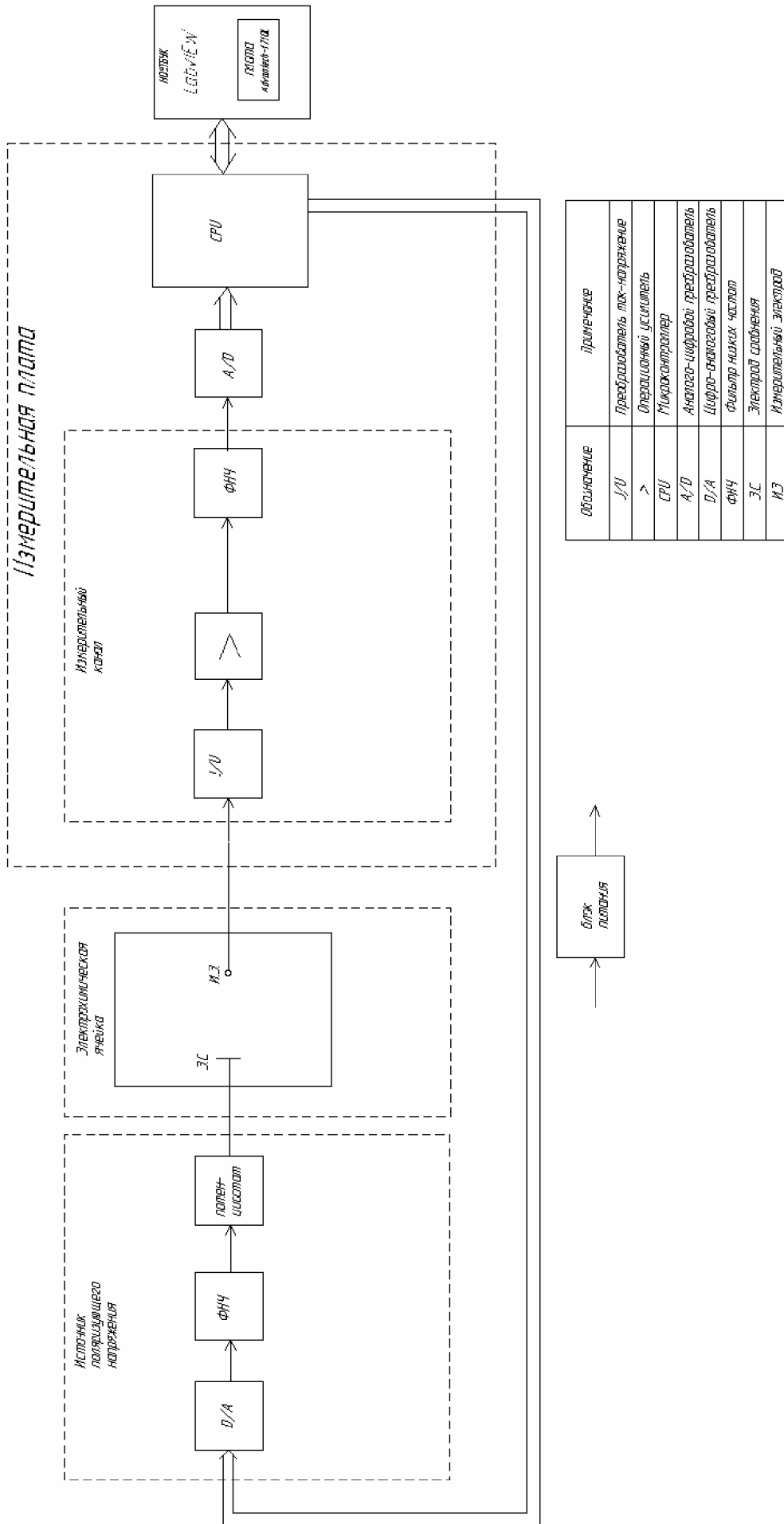


Рисунок 6. Функциональная схема виртуального вольтметра

Сигнал-отклик, получаемый в результате потенциостатического воздействия на ячейку, в виде тока индикаторного электрода преобразуется в пропорциональное току напряжение, которое поступает на усилитель ИП и ФНЧ, который выполняет определенные виды селекции информативной составляющей сигнала. При этом измерение малых токов в ИП выполняется таким образом, что при уменьшении сигнала-отклика последовательно подключаются два дополнительных усилителя, установленных после ДАЗ (преобразователя тока в напряжение). Первый из них (DD3) включается при снижении силы тока до 10^{-9} А, а второй (DD4) – до 10^{-12} А.

Отфильтрованный сигнал поступает на аналогово-цифровой преобразователь (АЦП). Сигнал в цифровом виде, соответствующий определенному информационному параметру сигнала, поступает на микроконтроллер. Это устройство синхронизирует преобразование сигнала с поляризирующим воздействием. После этого через выходы ИП сигнал поступает на плату Advantech-1710L и отображается в виде вольтамперограммы на графическом индикаторе программы LabVIEW, где также происходит автоматический расчет концентрации определяемого вещества по измеренному току.

ВВА получает команды от блок-схемы, которая является иллюстрированным алгоритмом действий и исходным текстом ВВА (рис. 7).

Далее производилась отладка прибора на реальных пробах с использованием предлагаемого биосенсора в качестве индикаторного электрода. В результате были получены вольтамперные пики, характеристики которых сравнивались с полученными ранее на существующем вольтамперметрическом комплексе СТА-1. Программа записывает в память оригинальный вид вольтамперной зависимости, а на экран выводится амплитуда полезного тока для удобства визуальной фиксации.

Был проведен анализ сходимости результатов, полученных на усовершенствованном вольтамперметре и существующем вольтамперметрическом комплексе СТА-1 (рис. 8). В качестве объекта исследования в данном эксперименте были взяты серия модельных проб диоксиноподобных соединений, приготовленных из их прекурсора – фенола.

Таким образом, применение современных технологий позволило создать более современную компоновку вольтамперметрического анализатора с большим, чем у существующих приборов, диапазоном определяемых концентраций, что дает возможность использовать его не только в лаборатории стационарно, но и для экспресс-анализов в составе передвижной лаборатории.

Завершающей стадией исследования являлось сличение погрешностей результатов измерений, полученных на усовершенствованном вольтамперметре (поверяемый прибор) и существующем вольтамперметрическом комплексе СТА-1 (образцовый прибор). При непосредственном сличении относительных погрешностей измерений на поверяемом и образцовом приборах были выявлены отклонения не более чем на 0,4%.

В заключении сформулированы основные результаты диссертационной работы.

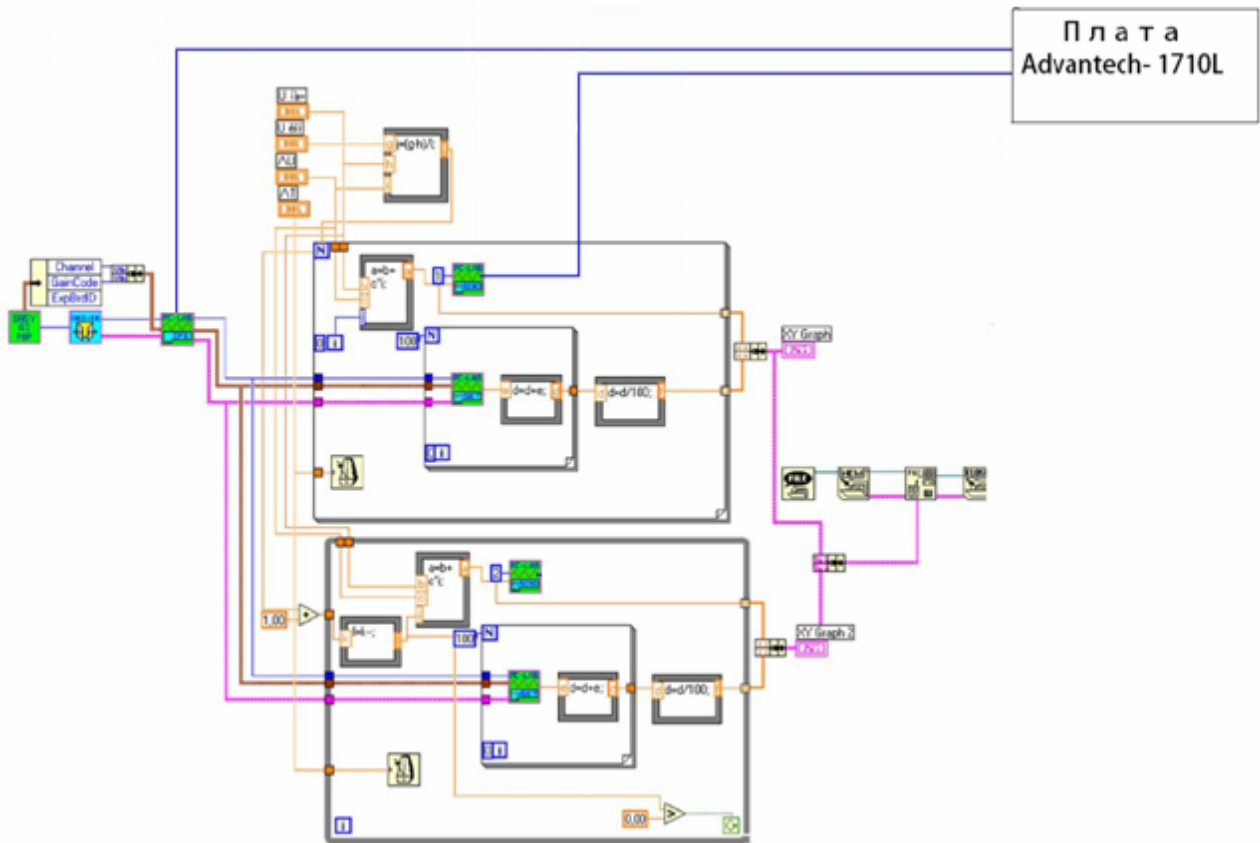


Рисунок 7. Блок – диаграмма обработки сигнала виртуальным вольтамперметром, созданным в среде графического программирования LabVIEW

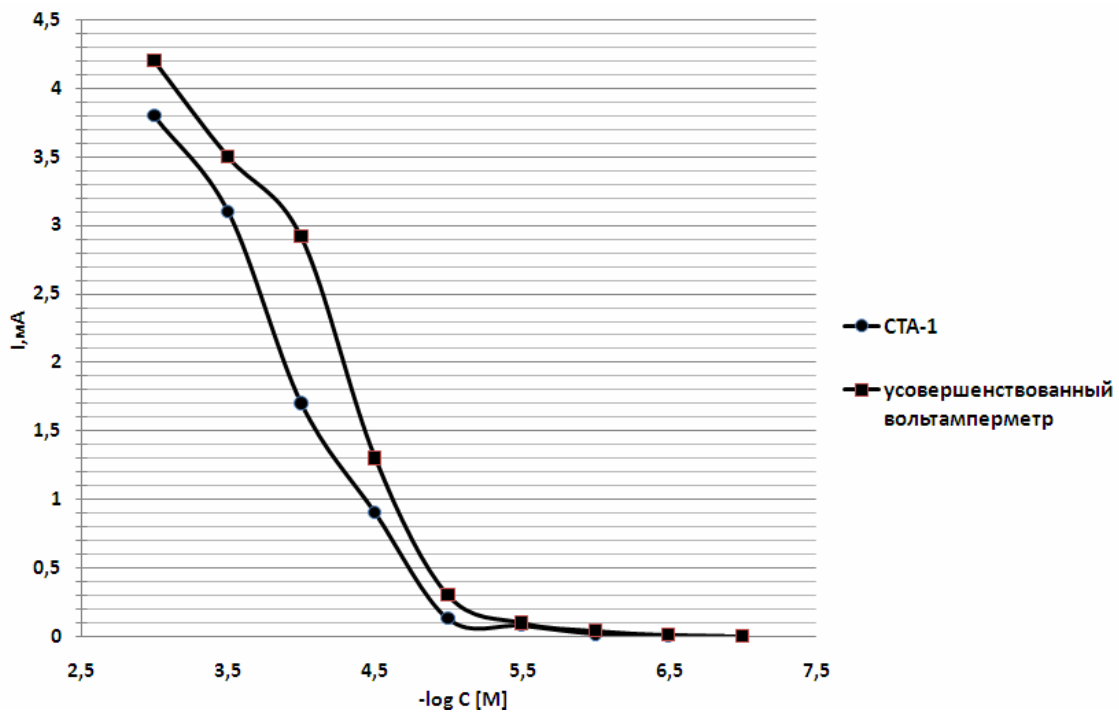


Рисунок 8. Регистрируемые токи при проведении экспериментального определения диоксиноподобных соединений на вольтамперметре СТА-1 и усовершенствованном вольтамперметре

Основные результаты работы.

1. Анализ литературных данных показал, что для количественного определения диоксинов необходимо комбинирование существующих методов контроля с биохимическими методами.

2. Изучение ферментных систем организма, участвующих в биотрансформации ксенобиотиков, позволило предложить изоформу фермента цитохрома P4501A1 в качестве биообъекта разрабатываемого биосенсора.

3. Выбран стеклоуглеродный электрод в качестве основы разрабатываемого биосенсора, благодаря разнообразию его электрохимических и механических свойств, легкости включения дополнительных компонентов и стабильности работы в широкой области потенциалов и в вакууме.

4. Разработан способ иммобилизации фермента (изоформы цитохрома P4501A1) на поверхность стеклоуглеродного датчика, модифицированной ионообменным полимером нафиемом, вакуумированием в парах глутарового альдегида и сконструирован электрохимический биосенсор для определения диоксинов в объектах природной среды, основанный на регистрации продукта их ферментативной деградации – фенола.

5. Усовершенствована методика электрохимического определения массовых концентраций фенола в водных растворах, позволяющая отказаться от неполярных органических растворителей и продувки электрохимической ячейки во время анализа инертным газом, что позволило снизить погрешности анализа, уменьшить фоновый ток и упростить ход определения.

6. Впервые методом инверсионной вольтамперометрии с использованием разработанного биосенсора в качестве индикаторного электрода экспериментально определены концентрации диоксинов в диапазоне 10^{-6} – 10^{-14} моль/л.

7. Усовершенствована система обработки сигнала биосенсора и создан виртуальный вольтамперометрический анализатор на основе среды графического программирования LabVIEW, встраиваемой в ПК платы для ввода/вывода данных Advantech-1710L и измерительной платы для усиления и обработки сигнала биосенсора. Это позволило увеличить диапазон определяемых концентраций до 10^{-12} моль/л, обеспечить высокую скорость передачи, регистрации и обработки данных электрохимической ячейки и создать более современную компоновку вольтамперометрического анализатора, что дает возможность использовать его не только в лаборатории стационарно, но и для экспресс-анализов в составе передвижной лаборатории.

Основные результаты работы изложены в следующих публикациях

1. Гоголь Э.В., Глебов А.Н., Гумерова Г.И. Вольтамперометрический анализатор для определения содержания фенола в пробах воздуха рабочей зоны // Вестник КГТУ им. А.Н. Туполева. – 2009. – № 2. – С. 54-56.

2. Гоголь Э.В., Тунакова Ю.А., Гумерова Г.И., Исхакова М.Н., Богданова Д.А. Экспресс-анализ в экохимии. // Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – Т.16. – № 1. – С. 163-167.

3. Гумерова Г.И., Галиева А.Т., Гоголь Э.В. Методика определения диоксиноподобных токсикантов // Вестник КГТУ им. А.Н. Туполева. – 2013. – № 1. – С. 125-130.

4. Гумерова Г.И., Гоголь Э.В. Микрочувствительный биосенсор для мониторинга объектов окружающей среды // XVI Туполевские чтения: Международная молодежная научная конференция, 28-29 мая 2008 года: Труды конференции. Том II. – Казань: Изд-во Казан. гос. техн. ун-та, 2008. – С. 171-173.

5. Гумерова Г.И., Николаев Т.А. Использование углеродсодержащих материалов в вольтамперометрии для определения загрязнителей окружающей среды // XVII Туполевские чтения. Международная молодежная научная конференция, 26-28 мая 2009 г: Труды конференции. Том II. – Казань: Изд-во Казан. гос. техн. ун-та, 2009. – С. 50-51.

6. Гоголь Э.В., Гумерова Г.И., Галиева А.Т. Ферментсодержащий сенсор на основе углеродистых материалов для мониторинга загрязнителей окружающей среды // XVIII Туполевские чтения: Международная молодежная научная конференция, 26-28 мая 2010 года: Материалы конференции. Том III. – Казань: Изд-во Казан. гос. техн. ун-та, 2010. – С. 161-163.

7. Гоголь Э.В., Гумерова Г.И., Ханнанова А.Р. Способы определения полигалогенированных диоксинов, дибензофуранов и бифенилов в объектах окружающей среды // XIX Туполевские чтения: Международная молодежная научная конференция, 24-26 мая 2011 года: Материалы конференции. – Казань: Изд-во Казан. гос. техн. ун-та, 2011. – С. 186-189.

8. Гоголь Э.В., Гумерова Г.И., Галиева А.Т., Глебов А.Н. Ферментсодержащие сенсоры для мониторинга следовых количеств органических токсикантов // Экологическая безопасность и устойчивое развитие территорий: Сборник научных статей I Международной научно-практической конференции / Под ред. А.В. Димитриева, Е.А. Синичкина. – Чебоксары: Новое время, 2011. – С. 131-132.

9. Гоголь Э.В., Гумерова Г.И., Галиева А.Т., Ханнанова А.Р. Электрохимический сенсор для обнаружения стойких органических загрязнителей в объектах окружающей среды // ELPIT 2011. Экология и опасность жизнедеятельности промышленно-транспортных комплексов: сборник трудов III Международного экологического конгресса (V Международной научно-технической конференции), научный симпозиум «Экологический мониторинг промышленно-транспортных комплексов», 21-25 сентября 2011 года, Тольятти- Самара, Россия. Т. 4. – Тольятти: ТГУ, 2011. – С. 87-91.

10. Гоголь Э.В., Гумерова Г.И., Ханнанова А.Р. Проблемы детектирования ПХДД/ПХДФ в объектах окружающей среды // II Международная заочная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы науки»: Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции, 27 сентября 2011 г. – Тамбов: Изд-во ТРОО «Бизнес-Наука-Общество», 2011. – С. 42.

11. Гоголь Э.В., Гумерова Г.И. Модернизация методов определения диоксиноподобных экотоксикантов. // XX Туполевские чтения: Международная

молодёжная научная конференция, 22-24 мая 2012 года: Материалы конференции. – Казань: Изд-во: КНИТУ-КАИ, 2012. – С. 235-238.

12. Гумерова Г.И., Гущина А.Л., Богданова Д.А. Высокочувствительные ферментные электроды для контроля фенола в объектах окружающей среды // XX Туполевские чтения: Международная молодёжная научная конференция, 22-24 мая 2012 года: Материалы конференции. – Казань: Изд-во: КНИТУ-КАИ, 2012. – С. 240-241.

Подписано к печати 28.02.2014 г.

Формат 60x84/16

Гарнитура «Times» Бумага офсетная

Физ. печ. л. 1,0 Усл. печ. л. 0,93

Тираж 100 экз. Заказ № Г13

Копи-центр КНИТУ-КАИ. 420111, Казань, ул. К. Маркса, 10