

УДК 577.152.3+543.645.3+543.554

## CREATING A BIOSENSOR BASED ON IMMOBILIZED BUTYRYLCHOLINESTERASE AND PH-SENSITIVE FIELD EFFECT TRANSISTORS FOR L-CARNITINE DETECTION

**O. Zinchenko, L. Shkotova**

*Institute of Molecular Biology and Genetics of NAS of Ukraine*

**A. Kurbatov**

*National University of Food Technologies*

**N. Karbovska**

*National University of Kyiv-Mohyla Academy*

---

**Key words:**

*Biosensor  
L-carnitine  
Inhibitory analysis  
Biologically active  
additives (BAA)*

**Article history:**

Received 12.02.2016  
Received in revised form  
18.03.2016  
Accepted 23.03.2016

**Corresponding author:**

O. Zinchenko  
**E-mail:**  
npnuht@ukr.net

---

**ABSTRACT**

L-carnitine, a vitamin-like substance, which plays a major role in transporting the long chain fatty acids in a human body, is widely used as an additive in sports nutrition (BAA). Due to increasing demand for dietary supplements, fast and accurate method is required, which allows the monitoring of the presence and quantity of active ingredients in supplements. Biosensors for the determination of various substances are an alternative to the classical methods. Potentiometric biosensor based on immobilized butyrylcholinesterase for the quantitative determination of L-carnitine by inhibition analysis was worked out. Optimal conditions of L-carnitine measurement in real samples were developed.

---

## СТВОРЕННЯ БІОСЕНСОРА НА ОСНОВІ ІММОБІЛІЗОВАНОЇ БУТИРИЛХОЛІНЕСТЕРАЗИ І PH-ЧУТЛИВИХ ПОЛЬОВИХ ТРАНЗИСТОРІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ L-КАРНІТИНУ

**О.А. Зінченко, Л.В. Шкотова**

*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України*

**А.Л. Курбатов**

*Національний університет харчових технологій*

**Н.В. Карбовська**

*Національний університет «Києво-Могилянська академія»*

*L-карнітин, вітаміноподібна речовина, яка виконує головну роль у транспорті довголанцюгових жирних кислот в організмі людини, широко використовується як добавка до спортивного харчування (БАД). Беручи до уваги зростаючий попит на БАДи, необхідно розробити швидкі і точні методи для контролю наявності й кількості діючих речовин у добавках. Біосенсорні методи визначення різноманітних речовин набувають усе більшого застосу-*

вання як альтернатива класичним. У статті розроблено потенціометричний біосенсор на основі іммобілізованої бутирилхолінестерази для кількісного визначення L-карнітину шляхом інгібіторного аналізу. Підібрано оптимальні умови визначення L-карнітину в реальних зразках.

**Ключові слова:** біосенсор, L-карнітин, інгібіторний аналіз, біологічно активні добавки (БАД).

**Постановка проблеми.** Сучасний стиль життя потребує від людини величезних витрат енергії та часу, однак людина не отримує необхідну кількість мікронутрієнтів, які суттєво впливають на метаболічні процеси організму. Вирішенням цієї проблеми є використання біологічно активних добавок (БАД).

Окреме місце серед БАДів посідає L-карнітин, який широко використовується як добавка до спортивного харчування. L-карнітин (1-3-гідрокси-4-L-(триметиламоній)масляна кислота), який за хімічною будовою можна розглядати як похідну речовину  $\gamma$ -аміномасляної кислоти, наявний у біологічних системах як у вільному вигляді, так і у формі O-ацильних ефірів, включаючи ацетил-L-карнітин (АЛК) [1].

L-карнітин відіграє головну роль у транспорті довголанцюгових жирних кислот у мітохондріальний матрикс, регулює метаболізм середньоланцюгових ацил-КоА та ацил-КоА з розгалуженим вуглецевим ланцюгом. Разом з тим L-карнітин є одним з основних факторів, що бере участь у синтезі АТФ [2].

Приблизно 25 % добової потреби L-карнітину синтезується в організмі людини з лізину, метіоніну, вітамінів (С, В<sub>3</sub> та В<sub>6</sub>) та заліза. Брак будь-якого з цих метаболітів спричиняє дефіцит цієї речовини. При нестачі L-карнітину знижується здатність клітин синтезувати АТФ — головне джерело енергії клітин, унаслідок чого знижується працездатність, підвищується втомлюваність, послаблюється тонус м'язів, порушуються функції багатьох органів і систем, відбувається затримка розвитку в дітей. Дефіцит L-карнітину виникає через порушення його рівня при таких хворобах, як цукровий діабет, кардіоміопатії [3], цироз печінки [4] й ендокринні розлади. Також дефіцит L-карнітину збільшується з віком і при недоїданні. Виділяють первинний і вторинний дефіцит L-карнітину. Первинний дефіцит карнітину (ПДК) є рідкісним аутосомно-рецесивним захворюванням, обумовленим дефіцитом OСТN2 карнітин-транспортера плазматичної мембрани мітохондрій. Це обмежує засвоєння тканинами L-карнітину, що призводить до зниження накопичення цієї речовини в серці й скелетних м'язах і підсилює виведення L-карнітину нирками [5]. Тканини/органи, що уражаються при ПДК: серцевий м'яз, що призводить до прогресуючої кардіоміопатії; центральна нервова система — до енцефалопатії, викликаной гіпокетоновою гіпоглікемією; скелетні м'язи — до міопатії. Вторинний дефіцит (ВДК) характеризується підвищенням екскреції L-карнітину з сечею у вигляді ацил-карнітину через накопичення органічних кислот [6], а також погане харчування або порушення всмоктування L-карнітину, при гемодіалізі та перитонеальному діалізі, або підвищенням екскреції ацилкарнітину.

Відомо також, що брак L-карнітину спричиняє накопичення ліпідів у цитозолі, особливо в періоди голодування або стресу. L-карнітинвмісні фарма-

цевтичні препарати, включаючи ін'єкції, сиропи, пігулки і капсули, використовуються у терапії первинного і вторинного дефіциту L-карнітину.

Клінічне застосування L-карнітину є досить перспективним при нейронних розладах, таких як хвороба Альцгеймера та печінкова енцефалопатія [7—8]. Харчові добавки L-карнітину можуть полегшити нейропатичний біль [9]. Профілактика захворювань, пов'язаних із дефіцитом L-карнітину, вимагає точного визначення L-карнітину і його ефірів у біологічному матеріалі.

Одним із перших методів визначення L-карнітину була паперова хроматографія, яка надавала можливість провести лише якісний аналіз. Сучасні методи кількісного визначення вільного карнітину і його складних ефірів включають спектрофотометричні або радіоферментні аналізи в різних модифікаціях. Ензиматичні методи, що базуються на реакції утворення ацетил-L-карнітину з L-карнітину за участю ацетил-КоА, широко використовуються для визначення L-карнітину й ацетил-L-карнітину в плазмі, сечі, тканинах. Детекцію проводили за допомогою 5,5'-дитіобіс-2-нітробензоевої кислоти (реактиву Елмана) при 412 нм або тіокінази при 300 нм. Пізніше з метою підвищення чутливості та детекції L-карнітину в пмоль був розроблений радіо-ензиматичний метод з міченим [<sup>14</sup>C]ацетил-КоА.

Більш складні методи визначення L-карнітину та його окремих ефірів вимагають хроматографічного розділення, такого як вискоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), і часто пов'язані з попередньою дериватизацією. Процес аналізу загалом включає такі стадії: твердофазна екстракція, дериватизація, розділення на обернено-фазовій колонці (переважно С18 колонки) та детектування на УФ- або флуоресцентному детекторі [10]. Для спрощення аналізу методом ВЕРХ на сьогодні вже розроблена методика визначення L-карнітину без попередньої дериватизації, що, у свою чергу, виключає використання флуоресцентного детектора [11].

Серед різновидів мас-спектрометрії широкого застосування набув метод рідинної тандемної мас-спектрометрії (LC-MS/MS). Для аналізу L-карнітину і ацилкарнітину використовують методику утворення бутилових ефірів з детекцією LC-MS/MS. Цей метод має такі обмеження: приготування бутилових ефірів частково гідролізує ацилкарнітин, може надавати хибно позитивний результат випробувань через наявність ізобаричних забруднень, структурні ізомери ацилкарнітину не можуть бути виділені. Ці обмеження, як повідомляється, можуть бути усунені завдяки використанню LC/MS. Проте аналіз вимагає твердофазної екстракції карнітину й ацетилкарнітину, дериватизації з пентафторфенацил-трифтор-метансульфонатом, розділення за допомогою ВЕРХ і детекції з використанням іонної пастки. Мас-спектрометрія має такі переваги, як висока чутливість, специфічність і можливість аналізу десятків проб на день, однак потребує дорогого й складного обладнання.

Визначення L-карнітину вищезгаданими класичними методами пов'язане із застосуванням пристроїв високої складності і вартості, попередньою обробкою зразків та обслуговуванням висококваліфікованим персоналом.

Відомо, що L-карнітин незначною мірою інгібує холінестерази. Враховуючи цей факт, актуальною є розробка методу селективного визначення концентрацій L-карнітину шляхом інгібіторного аналізу за допомогою біо-

сенсора на основі іммобілізованої бутирилхолінестерази (БуХЕ) як чутливого елемента та рН-чутливих польових транзисторів (рН-ПТ) як перетворювачів.

**Мета дослідження.** Розробити біосенсор для кількісного визначення L-карнітину. Як сенсори використати потенціометричні перетворювачі на основі рН-чутливих польових транзисторів, як чутливий елемент — фермент бутирилхолінестеразу. Провести апробацію розробленого біосенсора при аналізі БАДів на основі L-карнітину.

**Матеріали і методи.** L-карнітин гідрохлорид, бутирилхолінестераза із сироватки крові коня (БуХЕ) з активністю 7,4 од. акт./мг препарату; субстрат — бутирилхолінхлорид (БуХХл) (усі перераховані препарати виробництва фірми «Sigma-Aldrich Chimie», Німеччина); сироватковий альбумін бика (БСА) фірми «Serva»; 25 % розчин глютарового альдегіду  $\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_4\text{-NaOH}$  фірми «Merck». Дієтична добавка «L-карнітин» фірми «Еліт-Фарм» (Україна); дієтична добавка «Super L-carnitine» виробництва компанії «VitaLIFE sport products» (США).

*Сенсорні елементи на основі рН-чутливих польових транзисторів.* Для отримання високої надійності та стабільності сенсорних елементів була використана р-канальна МОН-технологія на кремнієвих підкладках КЕФ-4,5 <100> з формуванням підзатворного діелектричного шару з термічно окисленої плівки  $\text{SiO}_2$  завтовшки 50 нм та осадженої в реакторі зниженого тиску плівки  $\text{Si}_3\text{N}_4$  завтовшки 50—70 нм. Затвор виконано зигзагоподібним з відношенням довжини до ширини, що дорівнює 100. Це забезпечує достатньо високий коефіцієнт підсилення р-канальних транзисторів. Контакти до стоку й витоку транзисторів сформовані за допомогою протяжних дифузійних шин, вкритих шаром діелектрика, що виведені на край кристалу, де проводиться їх розварювання та герметизація.

У процесі дослідження використані кремнієві чипи, що містили два інтегральних рН-ПТ. Це дозволяє проводити вимірювання в диференційному режимі, коли один з транзисторів використовується як референтний, а на затвор другого наносять чутливу біоселективну мембрану. Це нівелює вплив таких факторів, як коливання температури, рН та іонної сили розчину, світла й електромагнітних ефектів, на результати вимірювань.

Вимірювання відгуку рН-ПТ відбувалося за допомогою схеми підтримання постійної величини струму в каналі транзистора, при цьому вихідний сигнал автоматично відслідковував зміну потенціалу поблизу затвора транзистора. Порогова напруга для всіх рН-ПТ складала близько 2,5 В. Вимірювання проводились за таких умов: струм каналу близько 20 мкА, напруга стік-витік близько 1 В, підкладка під нульовим потенціалом.

Детальний опис топології, дизайну та сенсорної електроніки використаних рН-ПТ елементів наведено в [12].

*Виготовлення біоселективних мембран.* Біоселективну мембрану на основі бутирилхолінестерази формували на поверхні одного з пари рН-ПТ, на другий рН-ПТ наносили референтну мембрану. Для виготовлення чутливої мембрани готували розчин, який містив 1 % кристалічної бутирилхолінестерази та 1 % БСА. Суміш для референтної мембрани містить 2 % БСА у калій-фосфатному буфері. Розчини за допомогою мікропіпетки Eppendorf наносили на чутливі ділянки рН-ПТ. Іммобілізацію ферменту проводили у насичених парах 25 %

розчину ГА. Сенсорний чип з нанесеними мембранами розміщували в ексикаторі з насиченими парами глутарового альдегіду на 15 хв. Потім мембрани висушували впродовж 15—20 хв на повітрі за кімнатної температури. Перед початком роботи мембрани відмивали робочим буферним розчином від незв'язаного ГА. Вимірювання проводили у 5 мМ калій-фосфатному буфері, рН 7,4, за кімнатної температури у відкритих комірках ємністю 3 мл, з інтенсивним перемішуванням магнітною мішалкою. Перед роботою біосенсор витримували в робочому буферному розчині до отримання стабільного вихідного сигналу.

*Методика вимірювання субстратів у модельних розчинах.* Біосенсорні виміри концентрацій субстрату проводили у 5 мМ фосфатному буфері, рН 7,4, за кімнатної температури з використанням занурювальної (з інтенсивним перемішуванням) системи вимірювання. Концентрації субстрату змінювали додаванням стандартних концентрованих вихідних розчинів субстратів. Вимірювання проводили не менше трьох разів. Неспецифічними змінами вихідного сигналу, пов'язаними із коливаннями температури, рН середовища й електричними наводками, нехтували завдяки використанню диференційного режиму вимірювань.

*Методика приготування розчину L-карнітину.* Розчин L-карнітину готували у робочому буфері та доводили рН до 7,4 за допомогою 5 М NaOH.

*Протокол № 1*

Вимірювання концентрацій L-карнітину:

1) сенсор занурювали у 5 мМ буферний розчин і реєстрували вихідний сигнал (базова лінія);

2) отримували відгук на 0,05, 0,1, 0,5, 1, 2, 5 мМ бутирилхолінхлориду за кімнатної температури;

3) будували калібрувальну криву, за якою визначали Км;

4) ще раз отримували відгук при концентрації субстрату, що відповідає Км, який приймали за 100 %;

5) додавали до комірки розчин L-карнітину;

6) отримували відгук. Рівень інгібування X визначали за формулою:

$$X = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \cdot 100\%,$$

де  $A_0$  — первинна активність іммобілізованого ферменту;  $A_1$  — залишкова активність іммобілізованого ферменту після внесення L-карнітину;

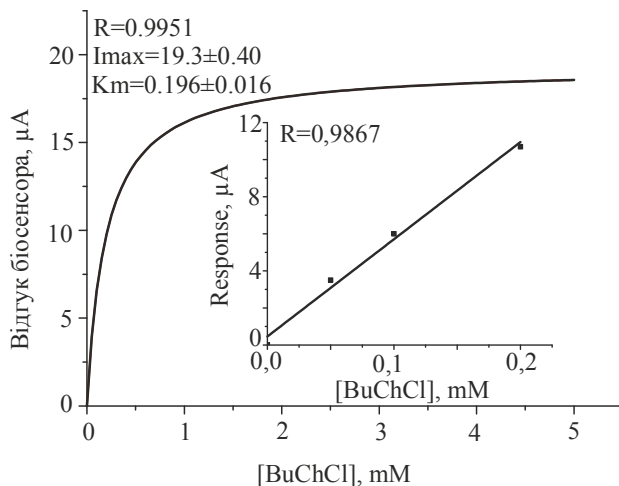
7) відмивали біосенсор до базової лінії.

*Статистична обробка даних, отриманих з використанням біосенсора.* Для статистичної обробки результатів використовували статистичний пакет Origin 8, визначали середнє значення та стандартне відхилення; результати вважалися достовірними при  $p < 0,05$ .

**Результати і обговорення.** В основі роботи потенціометричного біосенсора на основі бутирилхолінестерази для визначення концентрацій L-карнітину лежить ферментативна реакція гідролізу БуХХл. Під час ферментативної реакції БуХЕ розщеплює субстрат БуХХл, при цьому збільшується концентрація протонів у робочій мембрані, відповідно, відбувається зміна рН, яку й можна реєструвати за допомогою рН-ПТ. При внесенні L-карнітину до комірки з біосенсором відбувається інгібування іммобілізованої БуХЕ, що спричиняє

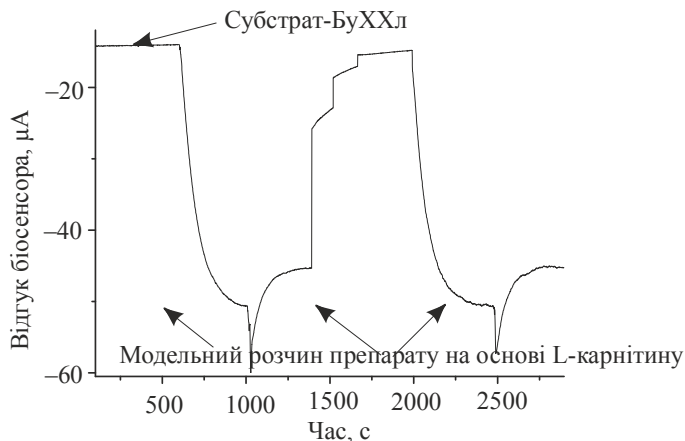
зменшення біосенсорного відгуку пропорційно внесеній кількості L-карнітину. Інгібування L-карнітином має зворотний характер, що надає можливість багаторазового використання біосенсора для визначення цієї речовини.

Визначення концентрацій L-карнітину у модельних зразках проводили за методикою, описаною у протоколі № 1, яка полягає в тому, що спочатку за допомогою бутирилхолінестеразного біосенсора отримували калібрувальну криву на субстрат — БуХХл. При цьому біосенсор демонстрував класичну кінетику ферментативної реакції (рис. 1).



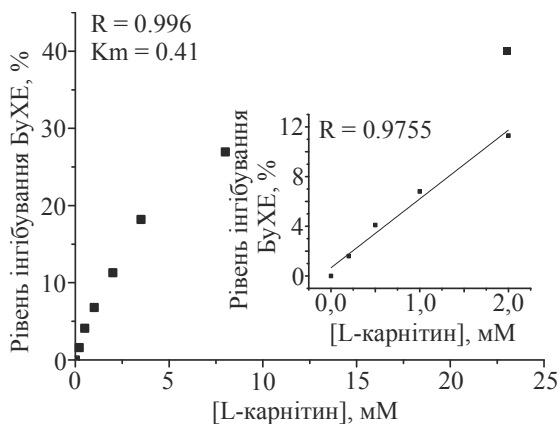
**Рис. 1.** Залежність величини відгуку бутирилхолінестеразного біосенсора від концентрації бутирилхолінхлориду (експеримент проведений у 5 мМ фосфатному буфері, рН 7,4 за кімнатної температури)

За програмою Origin 8 визначали  $K_m$ . Субстрат відповідної концентрації вносили до комірки з біосенсором та отримували відгук, який приймали за 100 %. Після виходу кривої на плато вносили певну кількість модельного розчину L-карнітину (рис. 2).



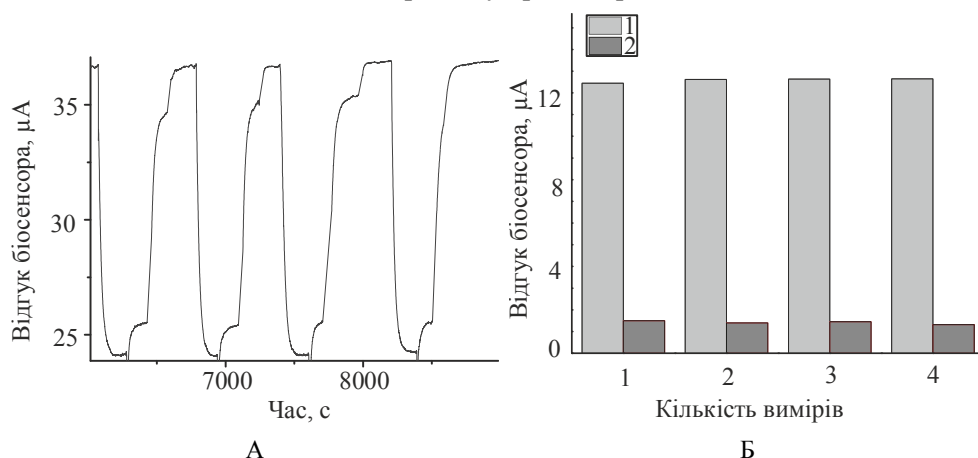
**Рис. 2.** Типові відгуки розробленого біосенсора на внесення бутирилхолінхлориду (субстрату) та L-карнітину (інгібітора).

Спостерігалось інгібування іммобілізованої БуХЕ, що відображалось у падінні відгуку, який приймали за Х. Після цього біосенсор відмивали до базової лінії та повторювали внесення субстрату і чергової порції L-карнітину. Концентрації L-карнітину становили 0,15; 0,2; 0,5; 1; 2; 3,5; 8; 23 мМ. За описаною у протоколі № 1 формулою визначали рівень інгібування та будували калібрувальну криву (рис. 3).



**Рис. 3. Калібрувальна крива інгібування іммобілізованої БуХЕ L-карнітином** (експеримент проведений у 5мМ калій-фосфатному буфері, рН 7,4 за кімнатної температури, концентрація БуХХ — 0,41 мМ ( $K_m$ ))

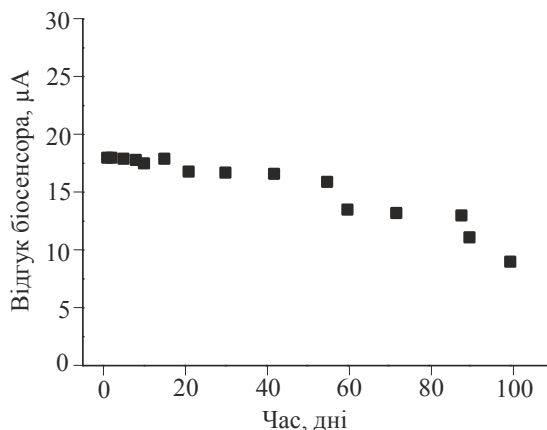
Лінійний діапазон інгібування становить 0,15—2 мМ, максимальний рівень інгібування — 40 % при концентрації L-карнітину в комірці 25 мМ. При визначенні межі чутливості біосенсора в модельному фосфатному буфері встановлено, що найменша концентрація L-карнітину, яка може бути визначена за допомогою розробленого біосенсора, становить 0,15 мМ. Така чутливість є достатньою для визначення L-карнітину при контролі якості БАДів.



**Рис. 4. Реальні відгуки (А) і відтворюваність сигналів (Б) розробленого біосенсора на додавання 0,45 мМ субстрату (1) та 2 мМ L-карнітину** (експеримент проведений у 5 мМ фосфатному буфері, рН 7,4 за кімнатної температури)

Однією з найважливіших характеристик біосенсорів є відтворюваність сигналів і стабільність при зберіганні. Щоб дослідити відтворюваність сигналів, упродовж одного робочого дня з інтервалом 30 хв реєстрували відгуки біосенсора до одних і тих самих концентрацій субстрату (рис. 4 Б1) та L-карнітину (рис. 4 Б2). З рис. 4 видно, що біосенсор характеризувався високою відтворюваністю сигналів на додавання як БуХХл, так і L-карнітину. Відносне стандартне відхилення відгуків не перевищувало 1 %.

Також була вивчена стабільність при зберіганні біосенсора на основі іммобілізованої БуХЕ та рН-ПТ. Результати демонструють незначне падіння активності іммобілізованої БуХЕ, починаючи з 50-ї доби зберігання біосенсора в буферному розчині, рН 7,4 при  $t=4$  °С (рис. 5).



**Рис. 5.** Стабільність при зберіганні біосенсора на основі іммобілізованої БуХЕ і рН-ПТ

Розроблений ферментний біосенсор апробований при аналізі реальних зразків. Були протестовані дієтичні добавки «L-карнітин» фірми «Еліт-Фарм» (Україна) та «Super L-carnitine» виробництва компанії «VitaLIFE sport products», заявлений склад яких 100 мг та 500 мг L-карнітину відповідно. Невідому концентрацію L-креатиніну визначали відповідно до протоколу №1, враховуючи розведення. Результати підтвердили, що заявлений виробниками вміст L-креатиніну підтверджується нашими даними, отриманими біосенсорним методом.

### **Висновки**

У процесі дослідження створений потенціометричний біосенсор на основі іммобілізованої бутирилхолінестерази для кількісного визначення L-карнітину шляхом інгібіторного аналізу. Розроблено протокол вимірювання L-карнітину в модельних розчинах і реальних зразках. Підібрані оптимальні умови підготовки зразків карнітинвмісних препаратів до аналізу.

Протестовані зразки двох препаратів — «Еліт-Фарм» виробництва Дніпропетровськ, Україна, та «Vita LIFE sport products» виробництва США — щодо концентрації L-карнітину. Показана відповідність заявленої кількості L-карнітину показникам, отриманим розробленим біосенсорним методом. Виявлений високий рівень відтворюваності сигналів на внесення субстратів, модельного розчину L-карнітину та на зразки препаратів.



Продемонстровано високу стабільність біосенсора на основі іммобілізованої бутирилхолінестерази при зберіганні (понад 50 діб).

### **Література**

1. *Pettegrew J.W., Levine J., McClure R.J.* Acetyl-L-carnitine physical-chemical, metabolic, and therapeutic properties: relevance for its mode of action in Alzheimer's disease and geriatric depression // *Molecular Psychiatry*. — 2000. — Vol. 5(6). — P. 616—632.
2. *Rebouche C.J.* Kinetics, pharmacokinetics, and regulation of L-carnitine and acetyl-L-carnitine metabolism // *Acad Sci*. — 2004. — Vol. 1033. — P. 30—41.
3. *Palmieri F.* Diseases caused by defects of mitochondrial carriers: a review // *Biochim-BiophysActa*. — 2008. — Vol. 1777. — P. 564—578.
4. *Shores N.J., Keeffe E.B.* Is oral L-acyl-carnitine an effective therapy for hepatic encephalopathy? // *DigDisSci*. — 2008. — Vol. 53. — P. 2330—2333.
5. *Reuter S.E., Faull R.J., Evans A.M.* L-carnitine supplementation in the dialysis population: are Australian patients missing out? // *Nephrology*. — 2008. — Vol. 13. — P. 3—16.
6. *Scaglia F., Longo N.* Primary and secondary alterations of neonatal carnitine metabolism // *Semin Perinatol*. — 1999. — Vol. 23. — P. 152—161.
7. *Dabrowska M., Starek M.* Analytical approaches to determination of carnitine in biological materials, foods and dietary supplements // *Food Chemistry*. — 2014. — Vol. 142. — P. 220—232.
8. *Fu L., Huang M., Chen S.* Primary carnitine deficiency and cardiomyopathy // *Korean Circulation Journal*. — 2013. — Vol. 43, # 12. — P. 785—792.
9. *Flanagan J.L., Simmons P.A.* Role of carnitine in disease // *Nutrition&Metabolism*. — 2010. — Vol. 7. — P. 1—14.
10. *Longo A., Bruno G., Curti S. et al.* Determination of L-carnitine acetyl-L-carnitine and propionyl-L-carnitine in human plasma by high-performance liquid chromatography after pre-column derivatization with 1-aminoanthracene // *J Chromatogr B BiomedAppl*. — 1996. — Vol. 686. — P. 129—39.
11. *Khoshkam R., Afshar M.* Validation of a stability-indicating RP-HPLC method for determination of L-carnitine in tablets // *Hindawi Publishing Corporation*. — 2014. — P. 1—7.
12. *Кукла А.Л.* Многоэлементные сенсорные массивы на основе интегральных кремниевых ионоселективных полевых транзисторов для систем химического мониторинга / А.Л. Кукла, А.С. Павлюченко, Ю.В. Голтвянский, Ю.М. Ширшов // *Оптоэлектроника и полупроводниковая техника*. — 2007. — Вып. 42. — С. 72—79.

## **СОЗДАНИЕ БИОСЕНСОРА НА ОСНОВЕ ИММОБИЛИЗОВАННОЙ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ И PH-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ПОЛЕВЫХ ТРАНЗИСТОРОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ L-КАРНИТИНА**

**Е.А. Зинченко, Л.В. Шкотова**

*Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины*

**А.А. Курбатов**

*Национальный университет пищевых технологий*

**Н.В. Карбовская**

*Национальный университет «Киево-Могилянская академия»*

*L-карнитин, витаминоподобное вещество, которое выполняет главную роль в транспорте длинноцепочечных жирных кислот в организме человека, широко используется в качестве добавки к спортивному питанию (БАД). Принимая во*

внимание растущий спрос на БАДы, необходимо разработать быстрые и точные методы, которые позволят контролировать наличие и количество действующих веществ в добавках. Биосенсорные методы определения различных веществ часто используются в качестве альтернативы классическим методам. В статье разработан потенциометрический биосенсор на основе иммобилизованной бутирилхолинэстеразы для количественного определения L-карнитина путем ингибиторного анализа. Подобраны оптимальные условия для определения L-карнитина в реальных образцах.

**Ключевые слова:** биосенсор, L-карнитин, ингибиторный анализ, биологически активные добавки (БАД).