

УДК 547.455.623;602.1:53.082.9

ГЛЮКОЗНИЙ БІОСЕНСОР НА КОМПОЗИТНІЙ ПЛАТФОРМІ ПОЛІАНІЛІН–СРІБЛО

Н. Давиденко, Я. Ковалишин, Б. Остапович

*Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Кирила і Мефодія, 6, 79005 Львів, Україна*

Синтезовано та досліджено композити на основі поліаніліну і модифікованих меркаптоанілінами дрібнодисперсного срібла. Синтезовані композити використано як платформи для конструювання амперометричних глюкозних біосенсорів. Досліджено амперометричний відклик сенсорів на додані кількості глюкози, визначено чутливість і лінійний діапазон відклику біосенсорів, кінетичні параметри ферментативної реакції.

Ключові слова: амперометричний біосенсор, поліанілін, меркаптоанілін, мікрочастинки срібла.

Глюкоза є одним із найголовніших продуктів фотосинтезу і слугує основним джерелом енергії для людського організму. Живі клітини використовують глюкозу одночасно як джерело енергії і як метаболічний інтермедіат у синтезі складніших молекул. Коли рівень глюкози в кровоплинні погано регульований, то можливий розвиток такого захворювання, як цукровий діабет [1]. Величезна кількість наукових досліджень присвячена розробці ефективних методів визначення концентрації глюкози у зразку [2]. Глюкозні електрохімічні сенсори, як найчастіше використовувані біосенсори, інтенсивно вивчають у клінічних дослідженнях, вірогідному аналізі, моніторингу навколишнього середовища, харчовій промисловості [3, 4]. Амперометричні глюкозні біосенсори, на основі глюкозооксидази, мають високу селективність і чутливість завдяки специфічності ензиму [5–7]. Однак глюкозооксидаза на чистій поверхні електродів втрачає свою активність і стабільність [8, 9]. Тому синтез та іммобілізація функціональних матеріалів на поверхні електрода, які полегшують іммобілізацію біомолекул зі збереженням їхньої активності й стабільності, необхідні для дизайну біосенсорів. Для досягнення цієї мети перспективним є використання композитних матеріалів на основі поліаніліну і модифікованих меркаптоанілінами мікрочастинок срібла.

Ми використовували анілін $C_6H_5NH_2$ (х.ч.) виробництва Sigma-Aldrich Chemie GmbH. Для приготування розчинів застосовували: натрію гідрофосфат $Na_2HPO_4 \times 2H_2O$ (ч.д.а.), калію дигідрофосфат $KH_2PO_4 \times 2H_2O$ (ч.д.а.), D-глюкозу (ч.д.а.), хлоридну кислоту HCl (х.ч.).

Платиновий електрод (діаметр – 3 мм) модифікували плівками композитів на основі поліаніліну (ПАН) і мікрочастинок срібла, модифікованих меркаптоанілінами (n-МАН, n = 2, 3, 4): ПАН-4-МАН-Ag, ПАН-3-МАН-Ag, ПАН-2-МАН-Ag, одержаних методом електрохімічного синтезу із водного середовища. Фермент іммобілізували на поверхні плівки додаванням 20 мкл буферного розчину з pH = 8,0 і з

концентрацією глюкозооксидази 25 мг/мл, потім висушували його за кімнатної температури в атмосфері аргону. Для утримання адсорбованого ферменту на поверхню сформованого електрода наносили 10 мкл 1 % спиртового розчину нафіону, який потім висушували за кімнатної температури. Біосенсори досліджували методом хроноамперометрії за допомогою комплексу апаратури для електрохімічних досліджень. Під час хроноамперометричних досліджень потенціал робочого електрода підтримували на рівні +0,60 В відносно насиченого хлорсрібного електрода порівняння. У 50 мМ фосфатний буферний розчин (рН = 8) порціями додавали 0,8 М розчин глюкози.

Полімеризацію аніліну (Ан) за наявності модифікованих МАН мікрочастинок срібла виконували у водному розчині. Відповідні циклічні вольтамперограми (ЦВА) зображені на рис. 1, 3, 5.

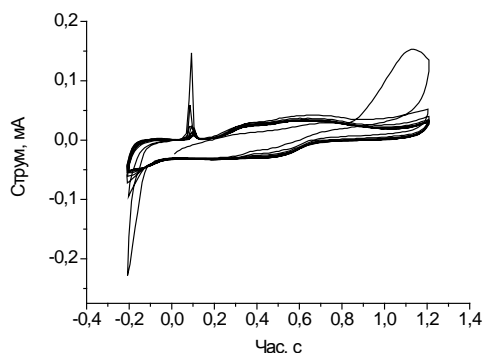


Рис. 1. ЦВА платинового електрода у 0,2 М розчині Ан в 0,5 М НСІ, який містить 4 мг/мл частинок Аg, модифікованих 2-МАН. Швидкість розгортки потенціалу – 50 мВ/с. Електрод порівняння – насичений хлорсрібний. Кількість циклів – 10

Амперометричний відклик модифікованого композитом ПАН-п-МАН-Аg електрода на додані кількості глюкози показано на рис. 2, 4, 6.

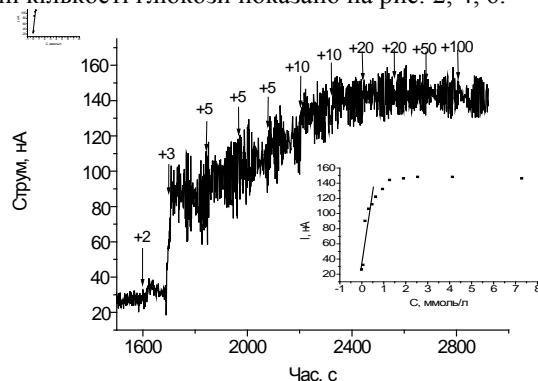


Рис. 2. Амперометричний відклик платинового електрода, модифікованого композитом ПАН-2-МАН-Аg. Числами над стрілками позначено об'єм (мкл) доданого 0,8 М розчину глюкози.

Потенціал робочого електрода – +0,60 В. На вставці – залежність струму відклику від концентрації глюкози

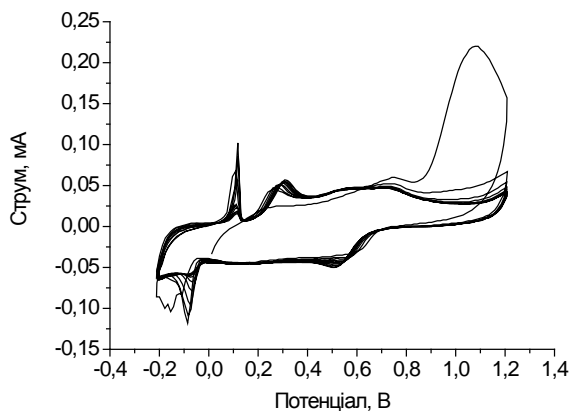


Рис. 3. ЦВА платинового електрода у 0,2 М розчині Аг в 0,5 М НСІ, який містить 4 мг/мл частинок Аг, модифікованих 3-МАН. Позначення ті ж, що й на рис. 1

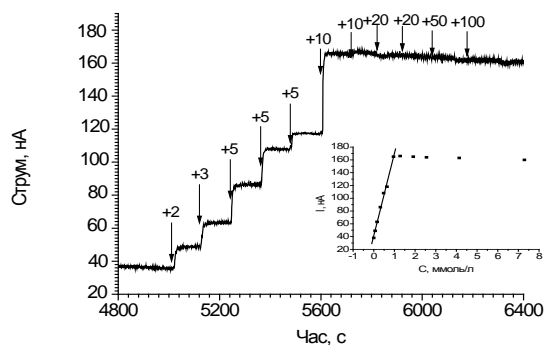


Рис. 4. Амперометричний відклик платинового електрода, модифікованого композитом ПАН-3-МАН-Аг. Позначення ті ж, що й на рис. 1

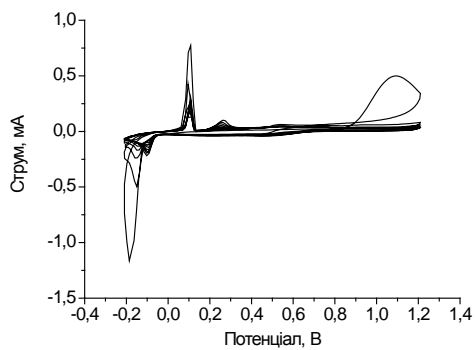


Рис. 5. ЦВА платинового електрода у 0,2 М розчині Аг в 0,5 М НСІ, який містить 4 мг/мл частинок Аг, модифікованих 4-МАН. Позначення ті ж, що й на рис. 1

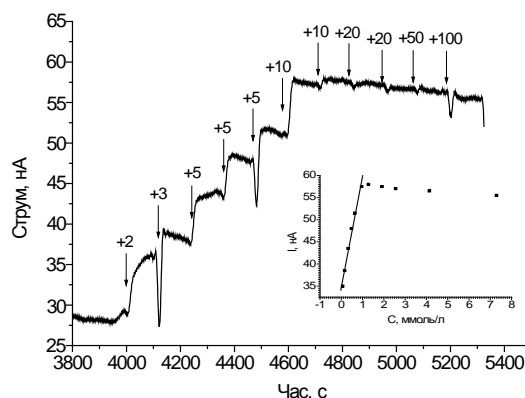


Рис. 6. Амперометричний відклик платинового електрода, модифікованого композитом ПАН-4-МАН-Ag. Позначення ті ж, що й на рис. 1

У всіх випадках на ЦВА спостерігають піки, що відповідають окисненню аніліну та редокс-перетворенням ПАН. Пік окиснення близько 0,1 В і відповідні йому піки відновлення від -0,05 до -0,20 В, що відповідають розчиненню частинок срібла та відновленню його йонів.

Струм розчинення-іонізації срібла є найвищим у випадку частинок срібла, модифікованих 4-МАН, а у випадку 2-МАН та 3-МАН відповідні струми у шість-вісім разів менші. Найімовірнішою причиною цього є менший розмір частинок срібла, модифікованих 4-МАН, у структурі композита, синтезованого електрохімічно, і, відповідно, вищою є електрохімічна активність цих частинок.

Чутливість біосенсорів та кінетичні параметри ферментативної реакції окиснення глюкози наведено в таблиці. Отримані значення чутливостей сумірні з чутливостями глюкозних біосенсорів, описаних у літературних джерелах [5–7], однак лінійний діапазон відклику є меншим.

Властивості сенсорів на композитних платформах

Композит	Лінійний діапазон відклику, ммоль	Чутливість, нА·л/ммоль	Максимальний струм, I_{\max} , нА	Константа Міхаеліса, $K_m \times 10^{-4}$, ммоль/л
ПАН-4-МАН-Ag	0–1	8,4	29,82	0,0456
ПАН-3-МАН-Ag	0–1	72,8	150,22	0,2600
ПАН-2-МАН-Ag	0–0,8	40,7	149,93	0,1160

У ході конструювання платформ для глюкозних біосенсорів найліпші результати отримано у випадку використання модифікованих 3-МАН дрібнодисперсних частинок срібла: найвищі значення чутливості визначення і максимальної швидкості ферментативного процесу. Це свідчить про значне поліпшення взаємодії між платформою біосенсорів та молекулами ензиму – причому збільшується кількість молекул ензиму, які беруть участь в електрохімічному процесі (підтвержене зростанням сили струму (I_{\max})), так і полегшується перенесення заряду

між електродом та активним центром ферменту (підтверджене тим, що чутливість визначення зростає швидше, ніж I_{\max}).

1. *Asif M.H., Ali S.M., Nur O.* et al. Functionalised ZnO-nanorod-based selective electrochemical sensor for intracellular glucose // *Biosens. Bioelectron.* 2010. Vol. 25. P. 2205–2211.
2. *Fang B., Gu A.X., Wang G.F.* et al. Silver oxide nanowalls grown on Cu substrate as an enzymeless glucose sensor // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2009. Vol. 12. P. 2829–2834.
3. *Rakow N.A., Suslick K.S.* A colorimetric sensor array for odour visualization // *Nature.* 2000. Vol. 406. P. 710–714.
4. *Keay R.W., McNeil C.J.* Separation-free electrochemical immunosensor for rapid determination of atrazine // *Biosens. Bioelectron.* 1998. Vol. 13. 963–970.
5. *Lee D., Lee J., Kim J.* et al. Simple fabrication of a highly sensitive and fast glucose biosensor using enzymes immobilized in mesocellular carbon foam // *Adv. Mater.* 2005. Vol. 17. P. 2828–2833.
6. *Luo X.L., Xu J.J., Du Y.* et al. A glucose biosensor based on chitosan-glucose oxidase-gold nanoparticles biocomposite formed by one-step electrodeposition // *Anal. Biochem.* 2004. Vol. 334. P. 284–289.
7. *Zhao W., Xu J.J., Shi C.G.* et al. Multilayer membranes via layer-by-layer deposition of organic polymer protected Prussian blue nanoparticles and glucose oxidase for glucose biosensing // *Langmuir.* 2005. Vol. 21. P. 9630–9634.
8. *Mu C., Zhao Q., Xu D.* et al. Silicon nanotube array/gold electrode for direct electrochemistry of cytochrome c. // *J. Phys. Chem. B.* 2007. Vol. 111. P. 1491–1495.

GLUCOSE BIOSENSOR BASED ON POLYANILINE-SILVER COMPOSITE PLATFORM

N. Davydenko, Ya. Kovalyshyn, B. Ostapovych

*Ivan Franko National University of Lviv,
Kyryla & Mefodia Str., 6, 79005 Lviv, Ukraine*

Composites based on polyaniline and mercaptoaniline modified microdispersed silver have been synthesized and investigated. These composites have been used as platforms for an amperometric glucose biosensor constructing. An amperometric biosensor response for an added glucose quantity has been studied, the sensitivity and the linear range of biosensor response, kinetic parameters of enzymic reaction have been defined.

Key words: amperometric biosensor, polyaniline, mercaptoaniline, silver microparticles.

ГЛЮКОЗНИЙ БИОСЕНСОР НА КОМПОЗИТНОЙ ПЛАТФОРМЕ ПОЛИАНИЛИН–СЕРЕБРО

Н. Давиденко, Я. Ковальшин, Б. Остапович

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко,
ул. Кирилла и Мефодия, 6, 79005 Львов, Украина
e-mail: kovalch@franko.lviv.ua*

Синтезировано и исследовано композиты на основе полианилина и модифицированного меркаптоанилина мелкодисперсного серебра. Синтезированные композиты использовано в качестве платформ при конструировании амперометрических глюкозных биосенсоров. Исследовано амперометрический отклик сенсоров на прибавленное количество глюкозы, определено чувствительность и линейный диапазон отклика биосенсоров, кинетические параметры ферментативной реакции.

Ключевые слова: амперометрический биосенсор, полианилин, меркаптоанилин, микрочастицы серебра.

Стаття надійшла до редколегії 30.10.2012

Прийнята до друку 26.12.2012