

ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЛЕКСА ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ УСИЛЕНИЯ АНАЛИТИЧЕСКОГО СИГНАЛА БИОСЕНСОРОВ

Н.В. Лакина, В.Ю. Долуда, Ю.А. Белоусова М.Е. Лакина, А.В. Гавриленко, А.И. Сидоров

ФГБОУ ВО Тверской государственный технический университет университет, Тверь, Россия

При создании ферментативных биосенсоров возникает необходимость изменения поверхности электрода нанесением на нее слоя токопроводящего полимера или неорганического материала физическим, химическим либо электрохимическим способом, называемым модификатором. При этом модификатор придает электроду новые электрокаталитические свойства, за счет которых увеличиваются предел обнаружения, чувствительность, селективность, воспроизводимость результатов и уменьшаются погрешности измерения.

Химически модифицированные электроды с использованием полимерных материалов, тонким слоем нанесенных на поверхность электрода, сочетают в себе ряд преимуществ, таких как минимальный предел обнаружения и погрешности, быстрый отклик, возможность определения аналита в присутствии примесей.

D-глюкозоселективные электроды были приготовлены с различными соотношениями поливинилпирролидона (ПВП), глутарового диальдегида (GA), хитозана (Chit) и GOx/HRP. Оптимальные амперометрические характеристики изучаемых модифицированных электродов были определены с 50 мл электролитического раствора, содержащего 2.3 мг/мл GA, 12.0 мг/мл ПВП и 7.3 мг/мл– GOx/HRP. Отсюда следует, что наиболее благоприятные условия и наибольшее число молекул комплекса ферментов находится в электрохимически активном состоянии.

Для оценки влияния времени иммобилизации (x_1), pH иммобилизации (x_2) и соотношения фермент / носитель (x_3) на активность работы ферментных электродов, использовался трехфакторный и трехуровневый дизайн Бокса-Бенкена и RSM. Схематическое изображение ферментативного глюкозного биосенсора представлено на рис. 1.

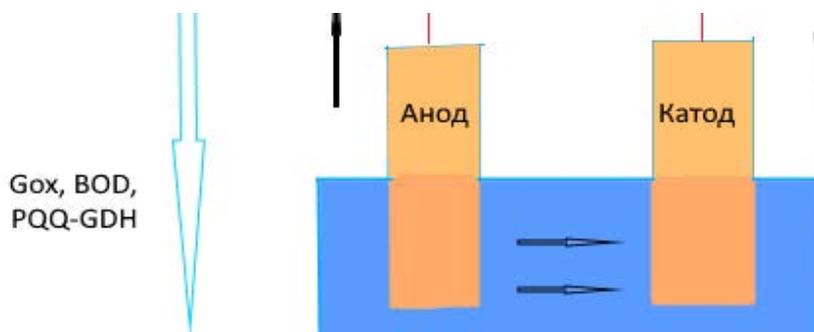


Рисунок 1. Схематическое изображение ферментативного глюкозного биосенсора

По результатам анализа работы электродов, модифицированных биополимерной матрицей, оптимальные условия иммобилизации были найдены при времени реакции 50 мин, pH 5.9 и соотношение фермент/носитель как 1:3. В оптимальных условиях прогнозируемые и экспериментальные активности иммобилизованной GOX/HRP составляли 34.42 ± 1.07 и 33.50 ± 0.92 Ед./г соответственно. Электроды были подготовлены на основе модели регрессии с различной активностью GOX/HRP. Эффект активности GOX/HRP в результате реакции окисления D-глюкозы зависил от плотности тока подаваемого в электрохимическую ячейку с помощью потенциостата Р-40Х. Максимальная мощность 1.87 мВт/см^2 была получена при напряжении ячейки 0.44 В. Результаты демонстрируют, что усиление аналитического сигнала для модифицированных электродов прямо пропорционально активности иммобилизованного комплекса GOX/HRP, поскольку в этом случае реакция окисления глюкозы может протекать более эффективно.