

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАБОТЫ БИОСЕНСОРА С ФЕРМЕНТПОЛИМЕРНЫМ ПОКРЫТИЕМ

Н.В. Лакина, В.Ю. Долуда, М.Г. Сульман, А.И. Сидоров, В.Г. Матвеева

Тверской государственный технический университет, Тверь, Россия

В последние десятилетия биосенсирование зарекомендовало себя как инновационный аналитический метод сразу в нескольких научных областях: как в области окружающей среды, так и во многих биомедицинских приложениях. Биосенсор представляет собой устройство безреагентного анализа соединений. Высокая специфичность ферментов позволяет количественно определять индивидуальное вещество либо группу родственных веществ в сложных биологических смесях.

Измерения электрохимического отклика проводили с использованием импульсного потенциостата-гальваностата "Р-40Х". Электрохимические измерения выполнены в 0.1 М фосфатном буфере с pH 6.2–8.4, деаэрированном аргоном. D-глюкозоселективный электрод был приготовлен путем последовательной пропитки графитового электрода растворами поливинилпирролидона (ПВП), хитозана (Chit), глутаровым диальдегидом (GA) и растворами окислительно-восстановительных ферментов (глюкооксидазы и пероксидазы) GOx/HRP. Исследуемый образец ферментполимерной композиции обозначили в работе ПВП/Chit /GA/HRP/GOx. Полученные хроноамперограммы, представлены на рисунке для концентраций анализируемого вещества D-глюкозы от 50 до 500 мкМ (каждая точка на оси абсцисс соответствует увеличению количества D-глюкозы на 50 мкМ), в присутствии Chit/GA (красная кривая: 50 мкМ, Chit/GA синяя кривая: 100 мкМ Chit/GA, зеленая кривая: 150 мкМ Chit/GA) и в отсутствие Chit/GA (черная линия).

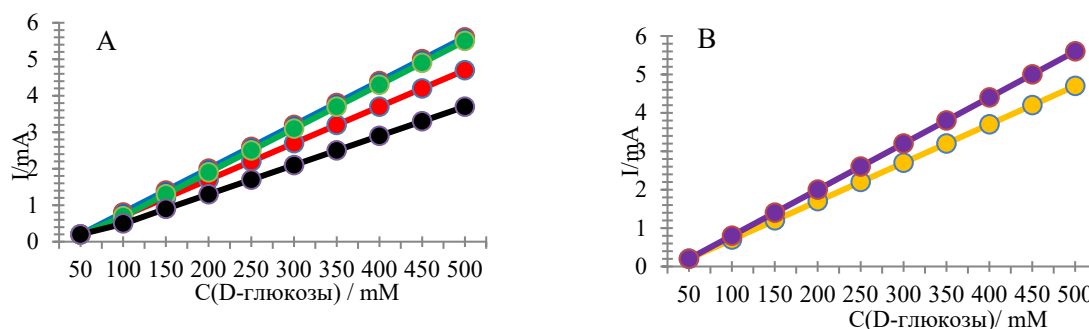


Рисунок. Зависимость амперометрического отклика от концентрации D-глюкозы

Следует подчеркнуть, что для сшитых пленок наблюдались стабильные устойчивые токи при каждом добавлении D-глюкозы (рисунок А), чего нельзя сказать о несшитых пленках (рисунок В). Более того, как видно из калибровочных графиков простых электродов ПВП/Chit/GA/GOx/HRP, модификация Chit/GA также увеличивала чувствительность электродов (рисунок В, фиолетовая линия). По-видимому, ковалентное сшивание GOx/HRP с цепями Chit/GA улучшает стабильность фиксации GOx/HRP без негативного влияния на подвижность субстрата внутри иммобилизационного слоя. Сравнение калибровочных графиков для трех концентраций Chit/GA показало умеренную концентрационную зависимость для аллостерической активации GOx/HRP, причем максимальная стимуляция достигается при концентрации эффектора 100 мМ, что соответствует 400-кратному молекулярному избытку молекул Chit/GA в растворе электролита над единицами GOx/HRP на электроде.

Репрезентативные амперометрические записи в присутствии (рисунок А, красные, синие и зеленые линии прямых) и в отсутствие (черная линия прямой) модифицирующих сшивающих агентов Chit/GA показали стабильный сенсорный ответ на D-глюкозу, даже при ее высоких концентрациях.