

УДК 541.138

Ірина ДЕМИДЧУК

ПОЛІПІРОЛ ЯК ПЛАТФОРМА ГЛЮКОЗНОГО СЕНСОРА

*Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Кирила і Мефодія, 6, 79005 Львів, Україна
e-mail: demudchuk@ukr.net*

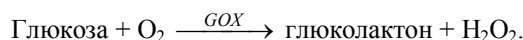
Електрохімічним окисненням піролу на платиновому електроді в потенціодинамічному режимі синтезовано поліпірол. Осаджену поліпірольну плівку використали як платформу при виготовленні глюкозного біосенсора. Досліджено амперометричний відклик біосенсора на додані кількості глюкози.

Ключові слова: біосенсор, глюкозооксидаза, поліпірол, медіатор, амперометрія.

До найбільш перспективних методів визначення глюкози належить біосенсорний. Функціонування ензимного сенсора визначається фізико-хімічними властивостями іммобілізованого ензимного шару. Фізичну іммобілізацію ензимів виконують не безпосередньо на поверхні електрода, а з використанням проміжних шарів, які слугують своєю матрицею чутливого шару сенсорного пристрою [1].

З ензимів типу редоксо-оксидаз вибрали глюкозооксидазу – каталізатор окиснення глюкози, а матрицею для неї – електрохімічно синтезований поліпірол.

Були зроблені спроби поліпшити властивості глюкозооксидазного електрода додаванням у поліпірольну матрицю посередника перенесення електронів (медіатора). Робота досліджуваного глюкозооксидазного електрода ґрунтується на реакції окиснення глюкози киснем повітря, яка каталізується глюкозооксидазою



Кількість глюкози пропорційна до кількості H_2O_2 , який утворюється в ензимній реакції. Визначення пероксиду водню звичайно проводять за величиною струму окиснення



Ензим у цьому разі переходить у відновлений стан, в якому він неактивний. Регенерація окисненої форми ферменту відбувається за участю медіаторів. Як медіатор використали гексаціаноферат калію – $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ [2, 3].

В роботі використовували пірол $\text{C}_4\text{H}_5\text{N}$ (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, 98%), гексаціаноферат калію – ч.д.а. Для приготування розчинів використовували солі: гідрофосфат натрію ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) – ч.д.а, дигідрофосфат калію ($\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) – ч.д.а; D-глюкоза – ч.д.а.

Платинові електроди модифікували плівками електропровідного полімеру (ЕПП), одержаних методом електрохімічного синтезу з водного середовища. Наявність на поверхні електрода плівки ЕПП із макромолекулярною структурою сприяє кращій адсорбції та орієнтації протеїнових молекул ферменту.

Перший етап роботи полягав у створенні матриці-підкладки, яка є основою чутливого шару сенсорного пристрою. Як платформу вибрали поліпірол. Враховували те, що поліпірол біологічно сумісний з багатьма ферментами, зокрема, з глюкозооксидазою. Другою перевагою поліпіролу є його досить висока електропровідність, що важливо у створенні амперометричного біосенсора [4]. Крім того, шляхом електрохімічного окиснення піролу можна одержати поліпірол і одночасно осадити його у вигляді рівномірної плівки. Вибрали потенціодинамічний режим електролізу, який дає змогу синтезувати поліпірол і контролювати його редокс-властивості під час процесу.

Фермент іммобілізували на поверхні модифікованих і немодифікованого платинових електродів шляхом накрапування 10 мкл буферного розчину ($\text{pH} = 7,4$) з концентрацією глюкозооксидази 25 мг/мл, який далі висушували при кімнатній температурі в атмосфері аргону. Для запобігання вимивання адсорбованого ферменту на поверхню сформованого електрода наносили плівку Nafion, шляхом висушування при кімнатній температурі його 1% спиртового розчину.

При хроноамперометричних дослідженнях потенціал робочого електрода підтримували рівним +0,5 В відносно насиченого хлорсрібного електрода порівняння. У фосфатний буферний розчин порціями додавали 0,1 М розчин глюкози.

Якщо ензим наносити на немодифіковану поверхню платинового електрода, то під час тестування його на глюкозу спостерігали струми відклику більші, ніж у випадку модифікованого поліпіролом, але чіткої залежності величини струму від кількості глюкози не отримали (рис. 1).

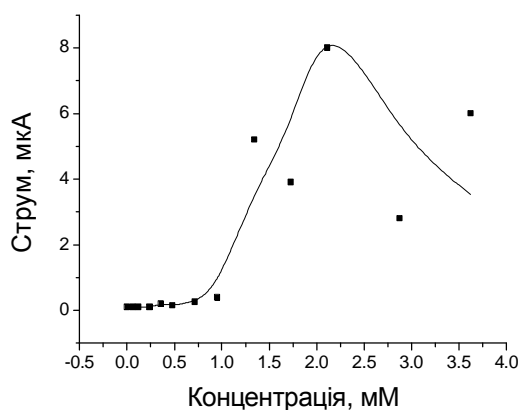


Рис. 1. Залежність струму відклику глюкозного сенсора на платиновій платформі від концентрації глюкози.

В області малих концентрацій величини струму практично не залежать від кількості глюкози. Тому такий ензимний електрод непридатний для визначення глюкози.

На рис. 2 зображено ЦВА платинового електрода у водному розчині піролу на фоні 0,1 М КСІ при скануванні електродного потенціалу в межах від $-0,3$ до $+1,3$ В. На цій ЦВА видно збільшення струму в області потенціалів $0,1 - 0,8$ В з кожним наступним скануванням, що свідчить про нагромадження електроактивної окисленої форми поліпіролу, яка відновлюється при зворотному ході потенціалу. Цей електрод використали для створення ензимного сенсора. Ензимний електрод тестували на вміст глюкози в аналізованому розчині.

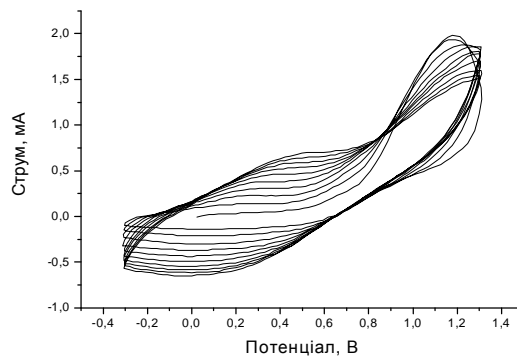


Рис. 2. Циклічна вольтамперограма 0,1 М водного розчину піролу в присутності 0,1 М КСІ на платиновому електроді. Швидкість розгортки потенціалу 50 мВ/с. Кількість циклів розгортки потенціалу – 10.

На рис. 3 показано залежність величини струму відклику на додані кількості глюкози. Калібрувальну криву в координатах амперометричний відклик – концентрація глюкози в аналізованому розчині показано на рис. 4.

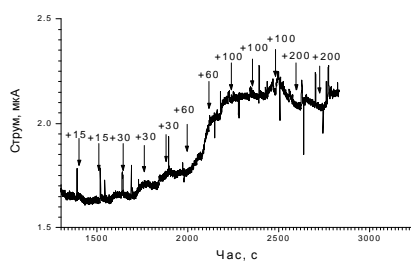


Рис. 3. Амперометричний відклик глюкозного біосенсора на поліпірольній платформі на додані кількості 0,1 М розчину глюкози. Числа над стрілками дорівнюють об'єму доданого розчину глюкози в мкл.

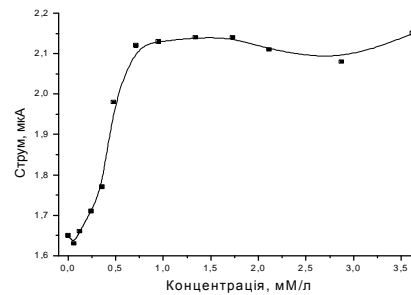


Рис. 4. Залежність струму відклику глюкозного сенсора на поліпірольній платформі від концентрації глюкози.

На отриманій кривій можна виділити дві ділянки. Перша належить до малих концентрацій глюкози від 0 до 1 мМ, друга – до концентрацій глюкози 1,0 – 3,5 мМ. В області малих концентрацій спостерігають лінійну залежність величини

струму відклику від концентрації глюкози. При концентрації понад 1,0 мМ струм відклику досягає насичення, його величина практично не змінюється зі збільшенням концентрації глюкози в аналізованому розчині. Отже, цей сенсор придатний для визначень кількостей глюкози в межах концентрацій від 0 до 1,0 мМ.

На рис. 5 зображено ЦВА платинового електрода в водному розчині 0,1 М піролу + 0,1 М $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$.

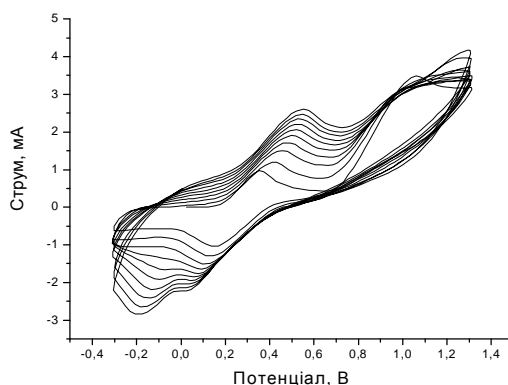


Рис. 5. Циклічна вольтамперограма 0,1 М водного розчину піролу в присутності 0,1 М $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ на платиновому електроді. Швидкість розгортки потенціалу 50 мВ/с. Кількість циклів розгортки потенціалу – 10.

Тут простежуються чітко виражені редокс-піки. Однак сконструйований на цій платформі ензимний електрод виявився нечутливим до глюкози. Очевидно, в цьому випадку накладаються струми окиснення поліпіролу, пероксиду водню, гексаціаноферату калію і виділити струм, який відповідає окисненню пероксиду водню неможливо.

Враховуючи отримані результати, можна зробити висновок, що осаджений при 10-кратному скануванні потенціалу поліпірольний шар може бути використаний як матриця для інкорпорації глюкозооксидази та створення активного шару біосенсора. Сконструйований біосенсор придатний для визначення глюкози при концентрації від 0 до 1,0 мМ. Чутливість біосенсора становить 0,58 мА/М. Кінетичні параметри відповідної ферментативної реакції максимальна сила струму і константа Міхаеліса дорівнюють, відповідно, 1,98 мкА і $1,32 \times 10^{-2}$ ммоль/л.

ЛІТЕРАТУРА

1. Trojanowicz M., Geschke O., Krawczynski vcl Krawczyk T., Camman K. Biosensors based on oxidases immobilized in various conducting polymers // *Sensor and Actuators*. – 1995. – Bd. 28. – P. 191 – 199.
2. Эггинс Б. Химические и биологические сенсоры // М.: Техносфера, 2005.
3. Godet C., Boujtita M., Murr N. E. Direct electron transfer involving a large protein: glucose oxidase // *N. J. Chem.* – 1999. – Vol. 23. – P. 795 – 797.

4. *Ramanaričius A., Ramanavičiene A., Maliuaukas A.* Electrochemical sensors based on conducting polymer – polypyrrole // *Electrochimica Acta.* – 2006. – Vol. 51. – P. 6025 – 6037.

SUMMARY

Iryna Demydchuk

POLYPYRROL AS PLATFORM OF GLUCOSE BIOSENSOR

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

It was applied electrochemical oxidation of pyrrol on platinum electrode for synthesis of polypyrrol in the potentiodynamic mode. Precipitated polypyrrol film was used as platform for designing of glucose biosensor. Amperometric response of the biosensor to glucose was investigated.

Keywords: biosensor, glucose oxidase, polypyrrol, mediator, amperometry.

РЕЗЮМЕ

Ирина ДЕМЫДЧУК

ПОЛІПІРОЛ В КАЧЕСТВЕ ПЛАТФОРМЫ ГЛЮКОЗНОГО СЕНСОРА

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко,
ул. Кирилла и Мефодия, 6, 79005 Львов, Украина*

Електрохімічним окисленням пірола на платиновому електроді в потенціодинамічному режимі синтезовано поліпірол. Осаджена поліпірольова плівка використана в якості платформи при виготовленні глюкозного біосенсора. Вивчено амперометричний відклик біосенсора на додані кількості глюкози.

Ключевые слова: биосенсор, глюкозооксидаза, полипирол, медиатор, амперометрия.

Надійшла 17.01.2011.
Після доопрацювання 12.09.2011.
Прийнята до друку 14.09.2011.