
БІОСЕНСОРИ

BIOSENSORS

УДК 543.94+57.088.1

ВПЛИВ ХАРАКТЕРИСТИК СИСТЕМИ ТОНКОПЛІВКОВИЙ ПЕРЕТВОРЮВАЧ – БУФЕРНИЙ РОЗЧИН НА КОНДУКТОМЕТРИЧНИЙ БІОСЕНСОР, СТВОРЕНИЙ НА ЇЇ ОСНОВІ

*М. Й. Мацішин^{1,2}, В. М. Пешикова², В. Г. Мельник³, О. Л. Кукла⁴,
А. В. Мамикін⁴, Л. М. Семеничева³, С. В. Дзядевич^{1,2}, О. П. Солдаткін^{1,2}*

¹Інститут високих технологій Київського національного університету імені Т. Шевченка,
м. Київ, 02003, просп. Глушкова, 4 г, тел. 044-2000328, matsishinnicolas@gmail.com

²Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, 03143, м. Київ,
вул. Заболотного, 150

³Інститут електродинаміки НАН України, 03680, м. Київ, просп. Перемоги, 56

⁴Інститут фізики напівпровідників ім. В.Є. Лашкарьова НАН України, 03028, м. Київ, просп.
Науки, 41

ВПЛИВ ХАРАКТЕРИСТИК СИСТЕМИ ТОНКОПЛІВКОВИЙ ПЕРЕТВОРЮВАЧ – БУФЕРНИЙ РОЗЧИН НА КОНДУКТОМЕТРИЧНИЙ БІОСЕНСОР, СТВОРЕНИЙ НА ЇЇ ОСНОВІ

*М. Й. Мацішин, В. М. Пешикова, В. Г. Мельник, О. Л. Кукла,
А. В. Мамикін, Л. М. Семеничева, С. В. Дзядевич, О. П. Солдаткін*

Анотація. В роботі досліджено характеристики кондуктометричних перетворювачів (чутливість, еквівалентність робочого і референтного каналу, частотна залежність і лінійність відгуку) на основі тонкоплівкових електродів, виготовлених із золота, платини, нікелю, нержавіючої сталі та титан-нікелю. Дослідження проводили в 5 мМ калій-фосфатному буферному розчині, рН 6.5, та розчинах КСІ концентрації 0.1-10 мМ. Підібрано елементарні еквівалентні схеми заміщення на різних частотах та для різних провідностей розчину. Показано, що іммобілізація ферменту відчутно не змінює імпеданс системи перетворювач-розчин. Продемонстровано значний вплив умов роботи перетворювача на його біосенсорні характеристики.

Ключові слова: кондуктометричний перетворювач, біосенсор, тонкоплівкові гребінчасті електроди.

INFLUENCE OF CHARACTERISTICS OF THE SYSTEM THIN FILM TRANSDUCER – BUFFER SOLUTION ON CONDUCTOMETRIC BIOSENSOR FUNCTIONALITY

*N. J. Matsishin, V. N. Pyeshkova, V. G. Melnyk, A. L. Kukla,
A. V. Mamykin, L. N. Semenycheva, S. V. Dzyadevych, A. P. Soldatkin*

Abstract. Characteristics of thin film conductometric transducers (sensitivity, equivalence of work and reference channels, frequency dependence and linearity of sensor response) based on gold, platinum, nickel, stainless steel and titan-nickel have been researched in this work. Measurements were conducted in 5 mM potassium phosphate buffer pH 6.5 and different KCl solutions in concentration range 0.1-10 mM. The bases of equivalent circuits for different frequencies and conductance's of solution have been found. It was shown that enzyme immobilization did not change considerably the real component of conductivity. It was demonstrated that operational conditions of transducer could considerable influence on its biosensory characteristics.

Keywords: conductometric transducer, biosensor, thin film's interdigitated electrodes

ВЛИЯНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК СИСТЕМЫ ТОНКОПЛЕНОЧНЫЙ ПРЕОБРАЗОВАТЕЛЬ – БУФЕРНЫЙ РАСТВОР НА КОНДУКТОМЕТРИЧЕСКИЙ БИОСЕНСОР, СОЗДАНЫЙ НА ЕЕ ОСНОВЕ

*Н. Й. Мацишин, В. Н. Пешкова, В. Г. Мельник, А. Л. Кукла,
А. В. Мамыкин, Л. Н. Семенычева, С. В. Дзядевич, А. П. Солдаткин*

Аннотация. В работе исследованы характеристики кондуктометрических преобразователей (чувствительность, эквивалентность рабочего и референтного канала, частотная зависимость и линейность отклика) на основе тонкопленочных электродов, изготовленных из золота, платины, никеля, нержавеющей стали и титан - никеля. Исследования проводились в 5 мМ калий-фосфатном буферном растворе, рН 6.5, и растворах КСl с концентрацией 0.1-10 мМ. Исследованы элементарные эквивалентные схемы замещения для разных частот и проводимостей раствора. Показано, что иммобилизация фермента существенно не изменяет импеданс системы преобразователь-раствор. Продемонстрировано значительное влияние условий работы преобразователя на его биосенсорные характеристики.

Ключевые слова: кондуктометрический преобразователь, биосенсор, тонкопленочные гребенчатые электроды

Вступ

На сьогоднішній день використання ферментних кондуктометричних біосенсорів є досить дешевим та швидким методом визначення концентрацій речовин в розчинах, що вельми перспективно для вирішення широкого спектру задач в медицині, промисловості та побуті. В кондуктометричних біосенсорних системах застосовуються диференційні методи вимірювання, що реалізуються за допомогою спарених планарних перетворювачів, виготовлених за тонкоплівковою технологією. Вони мають системи металевих електродів із

зустрічно-гребінковою топологією, на які нанесені мембрани: біоселективна (активна) та референтна (пасивна). Такі перетворювачі занурюються у буферний розчин і підключаються до мостової вимірювальної схеми, за допомогою якої створюється вихідний електричний сигнал (відгук), пропорційний різниці електропровідностей розчину поблизу електродних поверхонь відповідно з активною та пасивною мембранами. Така різниця виникає при додаванні в буферний розчин субстрату (аналіту), який після взаємодії із ферментом в біоселективній мембрані перетворюється в

продукт, при цьому змінюється локальна провідність розчину, яка в свою чергу реєструється перетворювачем. Величина отриманого відгуку кількісно відповідає концентрації даного субстрату [1]. Як показали дослідження, точність та відтворюваність відгуку біосенсора відчутно залежить від конструкції чутливих елементів, стану їх поверхні, особливостей перетворення вихідних параметрів чутливих елементів в електричний сигнал, параметрів буферного розчину, характеристик активної та пасивної мембрани [2, 3].

На сьогоднішній день опубліковано значну кількість робіт, присвячених різним типам біосенсорів [4-10], але досить невелика їх частина присвячена кондуктометричним. На даний момент існує ряд публікацій, де досліджено процеси, що протікають в системі перетворювач-розчин [9] та досліджено придатність тих чи інших металів для виготовлення електродів кондуктометричних перетворювачів [2]. Ці роботи свідчать, що перетворювачі схожої геометрії, виготовлені з різних матеріалів, мають відчутно різні характеристики. Це робить задачу вибору оптимального перетворювача для створення біосенсора досить непростою. Вирішення цієї задачі дозволить визначити шляхи покращення характеристик біосенсора, вибору оптимального режиму його роботи та вирішити проблему стандартизації біосенсорних приладів.

Характеристики перетворювачів умовно можна розділити на три наступні групи: параметри конструкції, параметри еквівалентної схеми системи перетворювач – розчин, та вимірювальні параметри. Параметри конструкції - це розміри і будова системи електродів перетворювача, матеріали електродів та підкладки, склад, товщина та конфігурація ізолюючого покриття неактивної поверхні. Наступна група параметрів характеризує еквівалентну електричну схему системи перетворювач – розчин, яка моделює електрохімічні процеси, що відбуваються в розчині. З цими параметрами функціонально пов'язані вихідні інформативні і неінформативні параметри перетворювача. Дослідження цих параметрів важливе для забезпечення коректності перетворень в вимірювальному каналі, зокрема для оцінки впливу побічних неконтрольова-

них факторів на результат вимірювання. Третя група параметрів характеризує робочі умови функціонування кондуктометричних перетворювачів біосенсора – частота та амплітуда тестового сигналу, склад та концентрація буферного розчину, а також наявність на поверхні перетворювача мембрани. Вони безпосередньо впливають на параметри вихідного імпедансу перетворювачів, на крутість, лінійність та стабільність характеристики перетворення.

Основним завданням даної роботи було встановлення взаємозв'язку цих трьох груп параметрів для гребінчастих перетворювачів виготовлених з різних матеріалів. А також визначення які з них найбільш прийнятні для створення біосенсорів.

Експериментальна частина

Схема вимірювальної системи. Вимірювальна система складається з вимірювального приладу, магнітної мішалки та досліджуваного кондуктометричного перетворювача, що занурений у робочу комірку з фосфатним буферним розчином (рис.1). В якості вимірювального приладу використано універсальну багатофункціональну електрохімічну систему VoltaLab 40 (PGZ301 & VoltaMaster4) (Radiometer analytical, Франція). Дослідження імпедансу проводились в діапазоні частот 1-100 кГц, при кімнатній температурі 20-22°C, амплітуда змінного сигналу становила 10 мВ. Таке невелике значення амплітуди дозволяє виключити можливість деградації мембрани під впливом тестового сигналу, та не змінювати в залежності від неї імпеданс системи [1].

Конструкція перетворювача. В роботі було досліджено п'ять типів перетворювачів з гребінчастими металевими електродами на ситалових та на скляних підкладках, які зображено на рис.1,а. Кожен перетворювач складається з двох еквівалентних каналів, правого та лівого (рис.1,б), та має зустрічно-штирьову структуру електродів гребінчастого типу (рис.1,г). Електроди перетворювачів типу А та В виготовлені з золота, типу С, D, E, F – з платини, нікелю, нержавіючої сталі та титан-нікелевого подвійного шару, відповідно. Будова чутливої поверхні перетворювача характеризувалася чотирма основними геометричними параметрами: крок гребінки (H), товщина штиря (L),

сумарна площа поверхні штирів одного з каналів (S), товщина шару металу. Досліджувані типи перетворювачів мали крок зустрічно-штирьової гребінки, близький до подвійної товщини штиря ($H=2L$). Товщина шару металу становила близько 0.15 мкм, крім того, у випадку золотих електродів для кращої адгезії на підкладку був попередньо нанесений підшар хрому товщиною близько 0.03 мкм. Площа гребінчастої системи для кожного з каналів перетворювача та товщина штирів визначалась наступними величинами: $S_A = 1.65 \text{ мм}^2$ та $L_A = 20 \text{ мкм}$, $S_B = 1.5 \text{ мм}^2$ та $L_B = 15 \text{ мкм}$, $S_C = 1.8 \text{ мм}^2$ та $L_C = 10 \text{ мкм}$, $S_{D,E} = 1.9 \text{ мм}^2$ та $L_{D,E} = 50 \text{ мкм}$, $S_F = 1.65 \text{ мм}^2$ та $L_F = 15 \text{ мкм}$. Було досліджено значний набір перетворювачів, як нових, так і бувших у використанні: дванадцять зразків перетворювача типу А, два - типу В, та по вісім - типу С, D, Е та F. Подібна вибірка була необхідна через можливість впливу випадкових факторів (випадкових дефектів перетворювачів та особливостей стану поверхні електродів) для забезпечення отримання статистично значимих результатів. Перед вимірюваннями проводилося очищення поверхні електродів наступним чином: відмокання в дистильованій воді, багатократне промивання в етиловому спирті та подальше відмивання в буферному розчині.

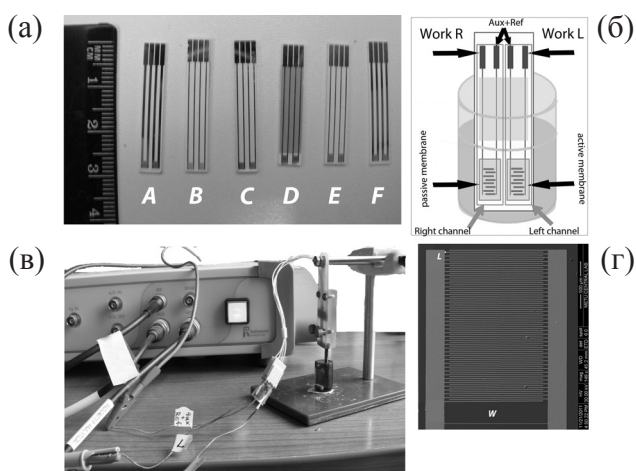


Рис.1. Зовнішній вигляд досліджуваних перетворювачів (а): золоті (А,В); платиновий (С); нікелевий (D); з нержавіючої сталі (Е); титан-нікелевий (F); (б) схема перетворювача, (в) контактний пристрій для підключення перетворювача, (г) знімок з електронного мікроскопа одного з каналів перетворювача типу С

Матеріали. В роботі було використано препарат ліофілізованого ферменту β -глюкозооксидази *Penicillium vitale* (КФ 1.1.3.4.) з активністю 130 од. актив./мг від фірми „Діагностікум” (Львів, Україна), сироватковий альбумін бика (БСА, серія V) і 50 % водний розчин глутарового альдегіду (ГА) фірми «Sigma-Aldrich-Chemie» (Німеччина). В якості буферного розчину було використано 5 мМ калій-фосфатний буферний розчин (KH_2PO_4 - Na_2HPO_4) з рН 6.5.

Імобілізація ферментів. Для створення активної мембрани за основу був взятий метод іммобілізації ферментів за допомогою глутарового альдегіду [9]. ГА є сильним біофункціональним реагентом, що здатен формувати ковалентні зв'язки з білками. При виготовленні ферментної (активної) мембрани глюкозного біосенсора готували розчин з вмістом 5 % глюкозооксидази, 5 % БСА, 20 % гліцерину у 20 мМ фосфатному буферному розчині рН 6.5. Розчин для приготування пасивної мембрани готували таким же чином, але замість ферменту брали лише БСА з 10 % загальним вмістом. До складу розчинів для приготування мембран додавався гліцерин для стабілізації ферменту при іммобілізації та запобігання передчасному підсиханню розчину, нанесеного на поверхню перетворювача. В свою чергу, БСА в складі ферментної мембрани відіграє роль стабілізуючого реагенту для ферментів, оскільки він сприяє утворенню міжмолекулярних зв'язків, але в той же час запобігає внутрішньомолекулярним взаємодіям ГА з ферментом, які можуть призвести до небажаних змін в структурі останнього та повної втрати його активності [10].

Результати і обговорення

Електрохімічна імпедансна спектроскопія давно та широко використовується як метод дослідження розчинів [11]. Цей метод аналізу є потужним інструментом дослідження електричних параметрів розчинів, які можуть зазнавати змін внаслідок біохімічної реакції. Систему електрод - розчин характеризують амплітудно-частотні та амплітудно-фазові частотні характеристики, зокрема діаграми Найквіста, які пов'язують реактивну і активну компоненти комплексного опору (або провід-

ності) на різних частотах. У відповідності до частотної залежності імпедансу система може моделюватись тією чи іншою еквівалентною електричною схемою заміщення. У випадку аналізу системи в широкому діапазоні частот ця схема може бути досить складною, проте в певному її діапазоні з певною точністю вона може бути замінена двохелементним послідовним RC-колом [12]. Необхідність цього спрощення пов'язана з тим, що відносно прості вимірювальні пристрої, які можуть використовуватись в біосенсорних системах, визначають одну або дві складові комплексного опору на одній частоті.

У випадку співпадіння або близькості амплітудно-частотних характеристик (АЧХ) реальних перетворювачів та моделюючої схеми, досягаються мінімальні методичні похибки та зменшується вплив неінформативних факторів на результати вимірювань.

Тому дослідження кондуктометричних перетворювачів методом імпедансної спектроскопії дозволяє визначити оптимальну робочу частоту біосенсорних приладів і забезпечити стабільність та повторюваність отриманого результату. Частотний діапазон, який доцільно використовувати в портативних біосенсорних приладах, зазвичай становить 10-40 кГц. На більш високих частотах (40-100 кГц) зростає енергоспоживання приладу та його ціна, на частотах нижче 10 кГц RC - параметри двохелементної схеми заміщення перетворювача мають значну залежність від частоти та від нестабільних неінформативних параметрів повної схеми заміщення.

Дослідимо частотні залежності активної та реактивної компоненти імпедансу для різних перетворювачів в буферному розчині (рис.2,а,б), та побудуємо діаграму значень компонент R та C послідовної еквівалентної схеми, що відповідають цьому імпедансу, зображено на рис.2,в.

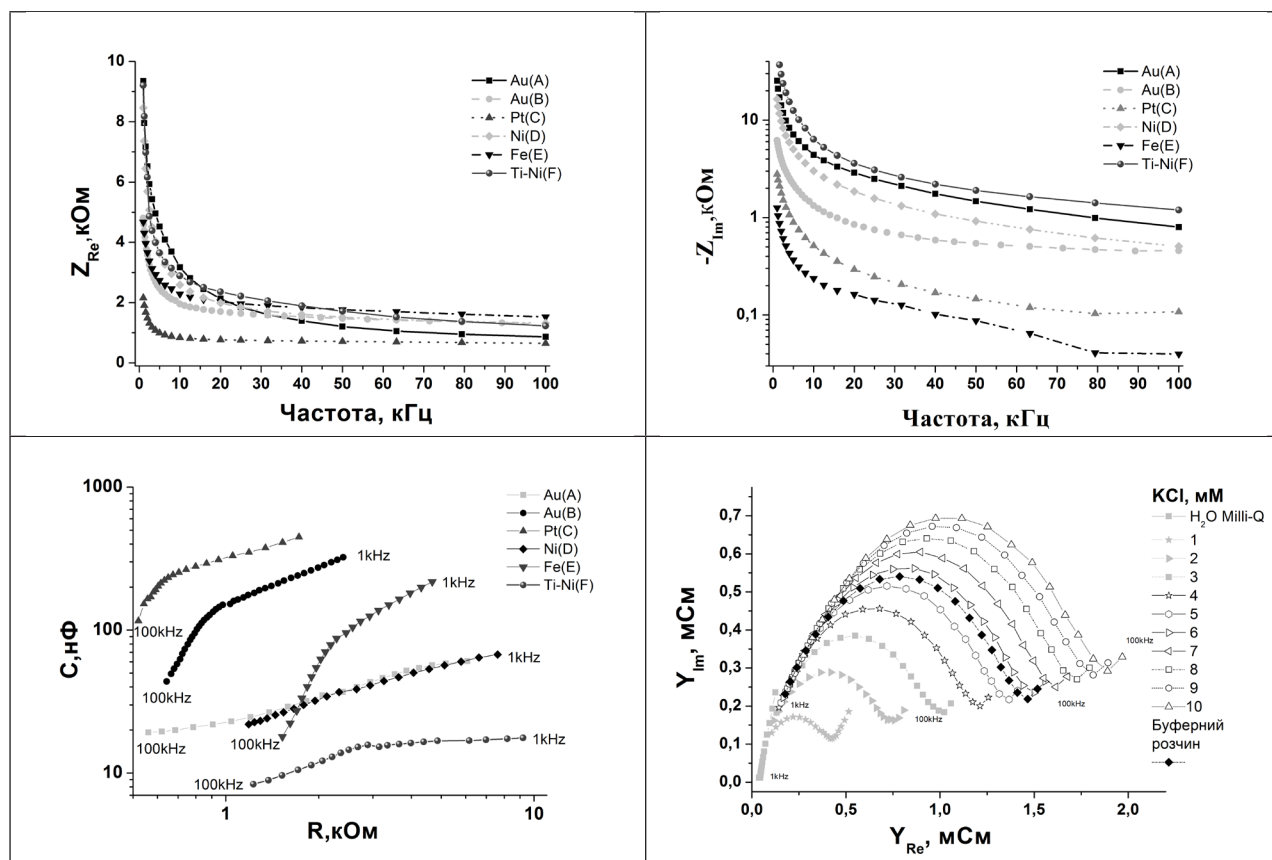
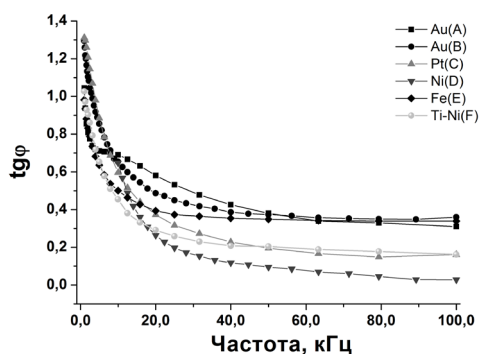
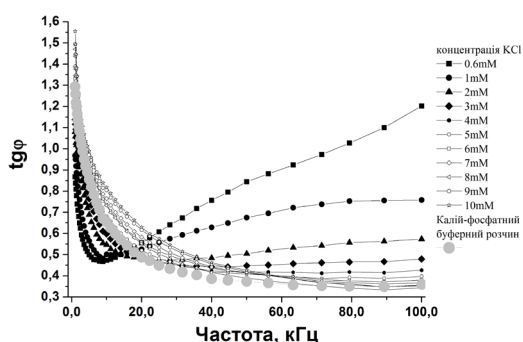


Рис.2. Частотні залежності активної (а) і реактивної (б) компоненти імпедансу, діаграма значень компонент R та C послідовної еквівалентної схеми (в), діаграма Найквіста адмітансу платинового перетворювача в низько концентрованих розчинах (г)

На основі діаграм, наведених на рис.2,а,б, можна побудувати частотну залежність відношення активної та реактивної компонент імпедансу $tg\varphi = -Z_{Im}/Z_{Re}$ для системи перетворювач – буферний розчин (рис.3,а). Розрахуємо також подібні частотні залежності для всіх перетворювачів в розчинах різної фонової провідності (остання визначається концентрацією KCl). Типову поведінку цих кривих, характерну також для всіх типів досліджених електродів, демонструють наведені на рис.3,б залежності для перетворювача типу Au(B).



(а)



(б)

Рис.3. Частотна залежність відношення реактивної та активної компоненти імпедансу для різних перетворювачів (а), та його значення для перетворювача типу Au(B) в розчинах KCl різних концентрацій (б).

Як видно з цього рисунку, якщо в якості робочого буферного розчину використовується досить високопровідний, то частотна залежність $tg\varphi(\nu)$ буде близька до $1/\nu$, що означає схожість схеми заміщення перетворювача до послідовної двохелементної. Для низьких значень провідності розчину можуть спостерігатися ділянки, де $tg\varphi(\nu) \sim \nu$, тоді схема заміщення наближається до паралельної. Але в сильно розбавлених розчинах вимірювання за допомогою кондуктометричних біосенсорів зазвичай не проводяться. Наведені на рис.3,б діаграми вказують на те, що вплив робочих умов на еквівалентну схему може бути дуже значним. Таким чином, для робочого буферного розчину, що найчастіше використовується, частотна залежність співвідношення компонент імпедансу може бути апроксимована як $tg\varphi(\nu) \sim 1/\nu$.

Зазвичай портативні прилади працюють на одній, рідше на декількох частотах, для зменшення розміру вимірювальної системи. Тому важливо щоб характеристики елементів еквівалентної схеми в околі точки вимірювання дрейфували не сильно, і вона якомога більш вдало описувала систему перетворювач-розчин. В відповідності до задачі вимірювальної системи вибирається мостова схема, що включає аналог еквівалентної комірки. Змоделуємо діаграму Найквіста в координатах $Y_{Re} = f(\nu)$, $Y_{Im} = f(\nu)$ в околі частоти 50 кГц для платинового перетворювача з нанесеною активною мембраною в буферному розчині (рис.4). Моделювання проводилось шляхом співставлення реальної та уявної компоненти адмітансу системи з характеристиками еквівалентної комірки, в широкому діапазоні частот (100 кГц; 79,365 кГц; 63,291 кГц; 50 кГц; 40 кГц; 31,646 кГц; 25 кГц; 20 кГц; 15,823 кГц; 12,5 кГц; 10 кГц; 7,9365 кГц; 6,3291 кГц; 5 кГц; 4 кГц; 3,1646 кГц; 2,5 кГц; 2 кГц; 1,5823 кГц; 1,25 кГц; 1 кГц). Варто зауважити, що таке співставлення неоднозначне, особливо коли схема багатоелементна. Декілька її елементів одночасно і складно впливають на адмітанс системи, іноді цей вплив може бути нерозрізним. При моделюванні вибирались такі параметри комірки, щоб вдало описати реальну компоненту адмітанса в якомога ширшому діапазоні і водночас задовільно змоделювати уявну.

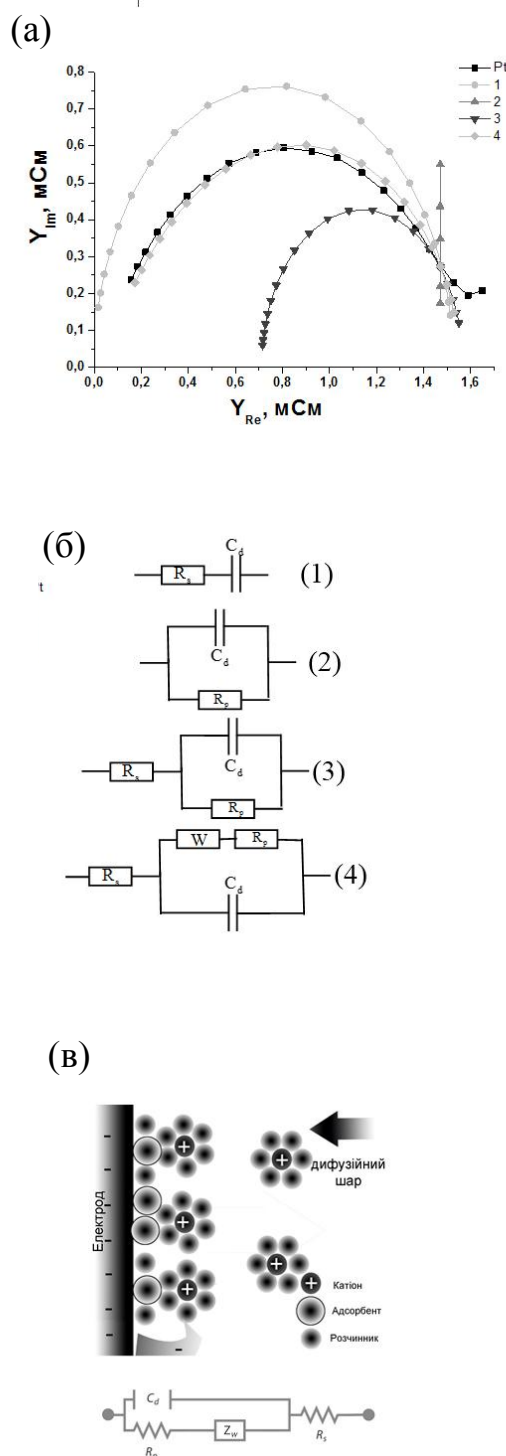


Рис. 4. Діаграма Найквіста для активного каналу платиного перетворювача в 5 мМ калій-фосфатному буферному розчині та результати її моделювання рядом вказаних еквівалентних схем (а), діаграми еквівалентних схем (б) значення параметрів еквівалентних схем: (1) $R_s=658$ Ом, $C_d=164$ пФ; (2) $R_p=680$ Ом, $C_d=5.5$ пФ; (3) $R_s=652$ Ом, $R_p=768$ Ом, $C_d=200.6$ пФ; (4) $R_s=644$ Ом, $R_p=450$ Ом, $A_w=1,06 \cdot 10^5$ (коефіцієнт Варбурга), $C_d=153.3$ пФ.

З результатів моделювання видно, що послідовна елементарна комірка (1) може задовільно моделювати вимірювальну систему лише в вузькому діапазоні частот (на краях діапазону 40-63,291 кГц втрачається відповідність). В той же час паралельна комірка (2) незадовільно моделює систему, відповідність досягається лише в одній точці. Послідовно-паралельна комірка (3) краще моделює систему в ширшому частотному діапазоні (31,646-79,365 кГц). Повна еквівалентна схема Рендлеса (рис.4,в) найбільш вдало моделює експериментальну криву у всьому діапазоні частот крім, можливо, 79,365-100 кГц, де уявна компонента адмітансу моделюється незадовільно.

Важливим питанням є дослідження основних робочих характеристик перетворювача, тому це питання вивчалось детально. Як вже вказувалось, досліджувані кондуктометричні перетворювачі складаються з двох пар електродів (двох каналів). Для їх ефективного використання в диференціальному режимі важливо, щоб ці пари мали якомога більш схожі характеристики. Необхідно відзначити, що різна чутливість каналів перетворювача не призводить до похибок безпосередньо. Вона призводить до підвищення впливу зовнішніх неінформативних параметрів, що діють на перетворювачі в одній фазі (температура, фонові провідність і т. ін.) [13]. Залежності реальної компоненти адмітансу від концентрації КСІ показано на рис.5. Наведені діаграми демонструють їх нелінійний характер, отже перетворювач в розчинах різної провідності може мати різні робочі характеристики. Дослідження цих характеристик дозволило визначити вплив провідності буферного розчину та робочої частоти на ефективність роботи біосенсора.

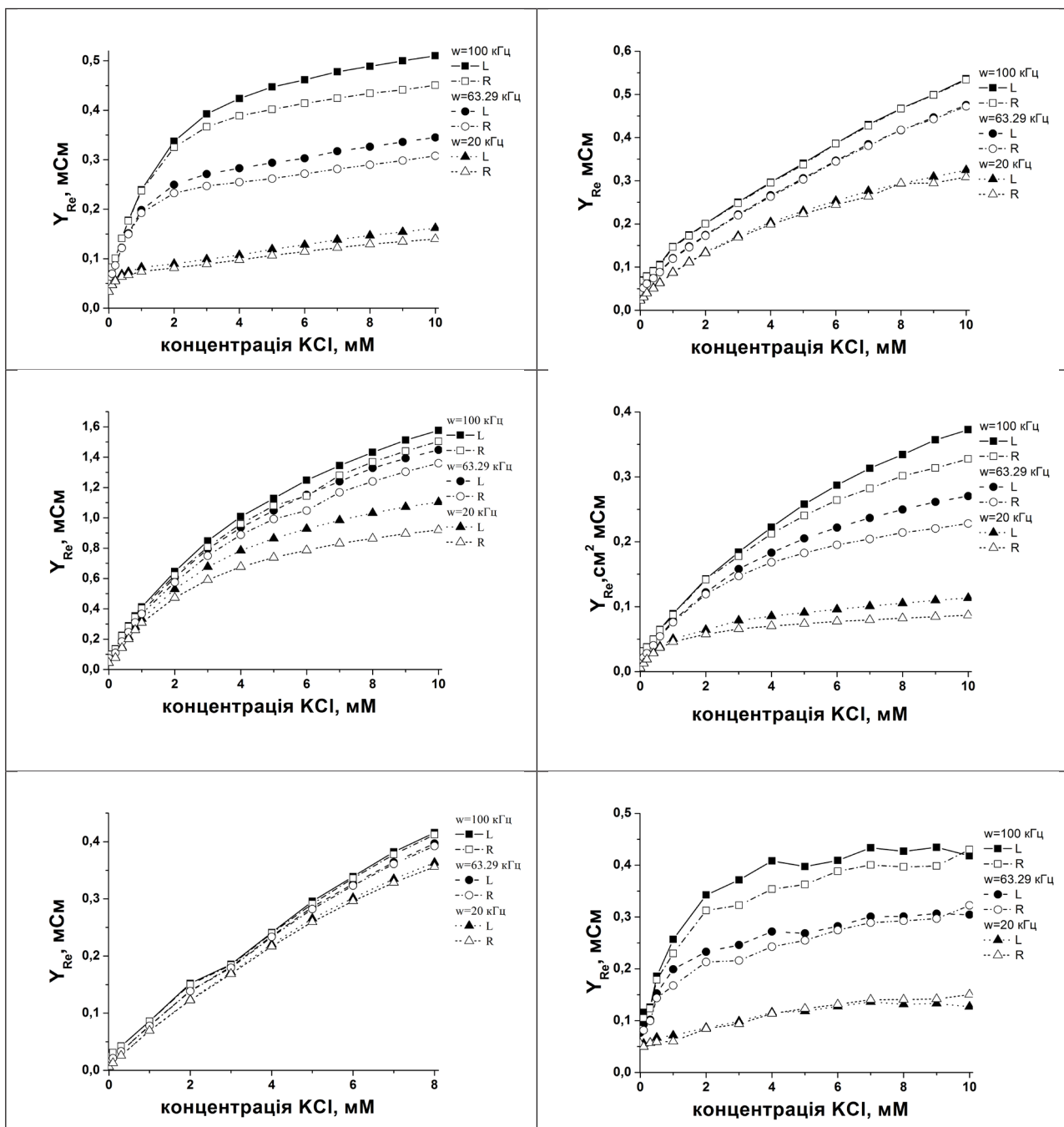


Рис.5. Залежності реальної компоненти провідності перетворювача від концентрації KCl для наступних електродів: золотий А (а), золотий В (б); платиновий (в), нікелевий (г), з нержавіючої сталі (д), титан – нікелевий (е)

На рис.2(г) наведено типову, для перетворювачів в низько концентрованих розчинах, діаграму Найквіста адмітансу. А саме, характерною особливістю є те, що розчини різних солей з рівною іонною силою мають приблизно однакову провідність. Тому, оскільки, 5 мМ буферний розчин має характеристики схожі на

5-6 мМ розчин KCl, то цю ділянку кривої можна лінійно апроксимувати. Як видно з наведених залежностей, це наближення виконується доволі добре. Крутизна цієї кривої (S) буде визначати чутливість перетворювача до зміни провідності розчину в околі робочої точки $\langle Y_{Re} \rangle$, яку можна оцінити як ординату середини лінійної ділянки. Різниця відгуків каналів перетворювача була визначена безпосередньо з рис.5, а отримані результати для всіх досліджених електродів були занесені в табл.1.

Ці характеристики дозволяють зробити певні висновки щодо ефективності роботи перетворювача та можливості його використання в приладах, які працюють на частотах від 20 до 100 кГц.

Нікелевий перетворювач виявився найменш придатним для створення біосенсора. Хоч варто зауважити, що параметри перетворювачів співрозмірні і кожен з них може бути використаний для створення біосенсора, який працює з тою чи іншою ефективністю.

Табл.1. Характеристики досліджуваного набору перетворювачів.

	Au(A)			Au(B)			Pt(C)		
ν , кГц	100	63.29	20	100	63.29	20	100	63.29	20
S, мкСм/мм КСІ	21	11	11	43	39	25	120	110	70
$\langle Y_{Re} \rangle$, мкСм	410	270	110	318	285	210	1050	960	800
$(Y_{Re}^L - Y_{Re}^R) / Y_{Re}^L$	9%	11%	11%	1%	1%	3%	5%	6%	12%
	Ni(D)			Fe(E)			Ti-Ni(F)		
ν , кГц	100	63.29	20	100	63.29	20	100	63.29	20
S, мкСм/мм КСІ	30	18	4	54	48	42	25	19	10
$\langle Y_{Re} \rangle$, мкСм	217	180	80	270	260	240	410	280	120
$(Y_{Re}^L - Y_{Re}^R) / Y_{Re}^L$	18%	27%	37%	1%	1%	2%	4%	3%	3%

Спробуємо охарактеризувати досліджені перетворювачі з точки зору розглянутих параметрів. Ефективність роботи диференційної схеми може суттєво зменшуватись у випадку відчутної нееквівалентності каналів та співрозмірності значення відгуку та провідності робочої точки. З такої точки зору вона може спостерігатися для золотого перетворювача Au(A,B), і однозначно буде наявною в Ni(D). Варто зауважити, що перетворювачі відмиті для повторного біосенсорного використання зазвичай мають більшу нееквівалентність каналів, а крутизна і робоча точка майже не змінюються.

Найкращі характеристики демонструє платиновий перетворювач Pt(C), він об'єднує в собі високу чутливість, можливість ефективної роботи диференціальної схеми, можливість використання в широкому частотному діапазоні. Сталевий перетворювач Fe(E) демонструє високу чутливість, лінійність та частотну стабільність характеристик. Золоті Au(A,B) та титан-нікелевий Ti-Ni(F) перетворювачі мають меншу чутливість ніж, наприклад, платиновий. Інші характеристики у них доволі схожі, хоч Au(B) має дещо кращі.

Дослідження ферментних біосенсорів на основі кондуктометричних перетворювачів.

Після іммобілізації ферменту на поверхню кондуктометричного перетворювача він перетворюється в біосенсор. Для створення біосенсорів було вибрано електроди з золота (А), платини (С), нержавіючої сталі (Е), титан-нікелеві (F). Експерименти показали, що адсорбція мембран на поверхні перетворювача з нержавіючої сталі виявилась слабкою, тому його в подальшій роботі не використовували.

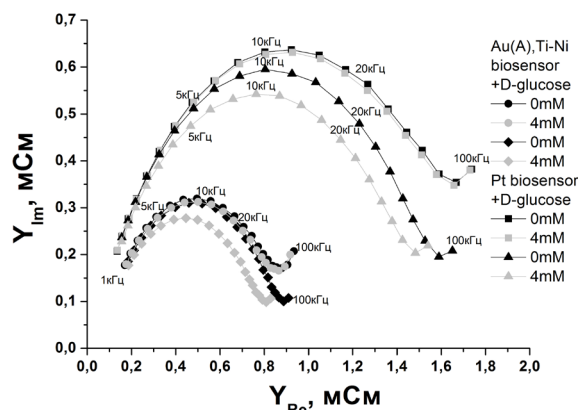


Рис.6. Адмітанс активного і пасивного каналу платинового та титан-нікелевого перетворювача, перед додаванням D-глюкози та після внесення концентрації насичення.

На рис.6,а наведено діаграми Найквіста для платиного та титан-нікелевого біосенсора, зануреного в робочий буферний розчин до та після внесення субстрату до насичення.

Величина відгуку біосенсора в цілому визначається рядом його параметрів (концентрацією ферменту в мембрані, характеристиками буферного розчину, параметрами перетворювача та іншими), проте характеристики перетворювача впливають на нього досить вагомим. Саме тому вибір ефективного перетворювача є вкрай важливим етапом створення біосенсора, а отже заслуговує детального вивчення. Серед досліджуваних біосенсорів найкращі характеристики демонструє платиновий, титан-нікелевий та золоті. Розглянемо їх з точки зору трьох факторів: ефективність роботи диференціальної схеми, чутливість біосенсора до субстрату, ефективність роботи датчика в певному частотному діапазоні. Діаграми, наведені на рис.6, наочно показують, що реальна компонента адмітансу активного каналу біосенсора в буфері до внесення глюкози є доволі схожою на його значення для пасивного каналу.

Необхідно відмітити, що чутливість біосенсора не є повним аналогом чутливості власне перетворювача, вона значно більш комплексна по своїй природі (бо пов'язана з активністю ферменту, прозорістю мембрани до субстрату, особливостей її нанесення, тощо). Але безперечно, що чутливість біосенсора пов'язана з чутливістю первинного перетворювача та може бути їй пропорційна при однаковому впливі побічних факторів.

Висновки

В роботі досліджено 6 типів кондуктометричних гребінчастих перетворювачів, створених із різних електродних матеріалів (золота, платини, нікелю, нержавіючої сталі та титан-нікелю) з типовими конструктивними параметрами. Досліджено поведінку системи перетворювач - розчин та біосенсор - розчин для різних значень концентрації KCl (0.1-10 мМ) та фосфатного буферного розчину.

На основі отриманих експериментальних залежностей імпедансу вказаних систем від частоти та концентрації розчину досліджено особливості поведінки системи та її екви-

валентну схему. З'ясовано, що в 5 мМ фосфатному буферному розчині для діапазону частот 20-60 кГц послідовне RC- коло вдало описує систему перетворювач - розчин лише в вузькому (~5-10кГц) частотному діапазоні, а трьох-елементна схема може його значно розширити (~10-20кГц).

Запропоновано метод дослідження і відбору перетворювачів для створення біосенсора з оптимальними характеристиками за рахунок прогнозування максимально можливої його чутливості та забезпечення ефективної роботи в диференційному режимі. Визначено також оптимальний частотний діапазон для функціонування досліджених кондуктометричних перетворювачів, що є важливим для реалізації серійно придатних біосенсорних приладів, створених на основі таких перетворювачів.

Список літератури

1. Дзядевич С.В., Солдаткін О.П. Наукова та технологічні засади створення мініатюрних електрохімічних біосенсорів. – К.: Наукова думка, 2006. - 256 с.
2. Arkhypova V.M., Breghetsky A.L., Shul'ga O.A., Chovelon J.-M., Soldatkin O.P., Dzyadevych S.V. Investigating transducers based on planar technology // *Sensor Electronics and Microsystem Technologies*. - 2005. – №2. – P. 48-55.
3. Мельник В.Г. Исследование чувствительности мостовой измерительной цепи с дифференциальным кондуктометрическим датчиком // *Праці Інституту електродинаміки Національної академії наук України*. - 2009. - №22. - С. 115-118.
4. Дзядевич С.В. Биосенсоры на основе ион-селективных полевых транзисторов: теория, технология, практика // *Биополимеры и клетка* - 2004. - Т.20, №1-2. - С. 7-16.
5. Дзядевич С.В. Амперометрические биосенсоры. Современные технологии и кондуктометрические варианты анализаторов // *Биополимеры и клетка*. - 2002. - Т.18, №5. - С. 363-376.
6. Hall E. *Biosensors*. – С.: Open University Press, 1991. – 351 p.

7. Tran Minh C. Biosensors. – L.: Chapman & Hall, 1993. – 217 p.
8. Kress-Rogers E. Handbook of biosensors and electronic noses medicine, food, and environment. - New Y.: CRC Press, 1997. - p. 633.
9. Дзядевич С. В., Шульга А.А., Пацковський С.В., Архипова В.Н., Солдаткин А. П., Стриха В.И. Тонкопленочные кондуктометрические датчики для ферментных биосенсоров // Электрохимия. - 1994. – Т.30, №8. – С. 982-987
10. M.D. Gouda, M.A. Kumar, M.S. Thakur. Enhancement of operational stability of an enzyme biosensor for glucose and sucrose using protein based stabilizing agents // Biosensors&Bioelectronics. – 2002. – Vol. 17, №6-7. – P. 503-507.
11. Macdonald J.R. Impedance spectroscopy // Annals of Biomedical Engineering. - 1992. - Vol. 20, P. 289-305.
12. В.Г. Мельник, С.В. Дзядевич, А.В. Иващук, В.А. Ульянова, Я.И. Лепих, В. А. Романов. Экспериментальное исследование микроэлектронных датчиков для кондуктометрических биосенсорных систем // Сенсорная электроника и микросистемные технологии. - 2011. - Т.2, №3. – С. 81-90.
13. Мельник В. Г., Дзядевич С В., Новик А. И., Погребняк В. Д., Слицкий А. В., Лепих Я. И., Ленков С. В., Проценко В. О. Обеспечение метрологической надежности кондуктометрических систем с дифференциальными датчиками // Сенсорна електроніка і мікросистемні технології. – 2011. - Т.2, №8. - С. 53-62.