

БІОСЕНСОРИ

BIOSENSORS

УДК 547.495.9

ВИВЧЕННЯ МОЖЛИВОСТІ РЕАКТИВАЦІЇ БІОСЕЛЕКТИВНОГО ЕЛЕМЕНТУ БІОСЕНСОРА НА ОСНОВІ ІММОБІЛІЗОВАНОЇ АЦЕТИЛХОЛІНЕСТЕРАЗИ ПРИ ІНГІБІТОРНОМУ АНАЛІЗІ ПЕСТИЦИДІВ

К. В. Степурська¹, О. О. Солдаткін^{1,2}, В. М. Пешкова², С. В. Дзядевич^{1,2}, О. П. Солдаткін^{1,2}

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка вул. Володимирська, 64, Київ, 01003, Україна,

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

ВИВЧЕННЯ МОЖЛИВОСТІ РЕАКТИВАЦІЇ БІОСЕЛЕКТИВНОГО ЕЛЕМЕНТУ БІОСЕНСОРА НА ОСНОВІ ІММОБІЛІЗОВАНОЇ АЦЕТИЛХОЛІНЕСТЕРАЗИ ПРИ ІНГІБІТОРНОМУ АНАЛІЗІ ПЕСТИЦИДІВ

К. В. Степурська, О. О. Солдаткін, В. М. Пешкова, С. В. Дзядевич, О. П. Солдаткін

В роботі представлено дані щодо реактивації кондуктометричного ферментного біосенсора для інгібіторного визначення пестицидів у водних розчинах. При розробці біосенсора, як кондуктометричний перетворювач використовувалася диференційна пара планарних золотих гребінчастих електродів, нанесених на ситалову підкладку. Роль біоселективного елементу відіграла ацетилхолінестераза (АцХЕ), коімобілізована з бичачим сиворотковим альбуміном на поверхню перетворювача поперечною зшивкою глутаровим альдегідом. Розроблений біосенсор характеризувався високою відтворюваністю сигналів при прямому визначенні субстрату. В роботі було підібрано оптимальну концентрацію субстрату для інгібіторного аналізу - 1 мМ ацетилхолінхлориду. Перевірено чутливість розробленого біосенсора до трихлорфону, як незворотного інгібітора АцХЕ, побудовано калібрувальну криву визначення токсиканта. Показано принципову можливість реактивації біоселективної мембрани розчином реактиватора (піридин-2-альдоксимметилйодид) після незворотнього інгібування органофосфорними пестицидами. Проаналізовано, як концентрація реактиватора та рівень інгібування біоселективного елементу впливає на реактиваційну здатність біосенсора.

Ключові слова: кондуктометричний перетворювач, біосенсор, ацетилхолінестераза, пестициди, інгібіторний аналіз, реактивація ферменту, піридин-2-альдоксимметилйодид

POSSIBILITY OF REACTIVATION BIOSELECTIVE ELEMENT ACETYLCHOLINESTERASE-BASED BIOSENSOR FOR INHIBITORY ANALYSIS OF PESTICIDE

K. V. Stepurska, O. O. Soldatkin, V. N. Peshkova, S. V. Dzyadevych, A. P. Soldatkin

The paper presents data on the reactivation of the conductometric enzyme biosensor for inhibitory determination of the pesticides in the aqueous solutions. The differential pair of planar gold interdigitated electrodes, deposited on to the ceramic support, served as a conductometric transducer. Acetylcholinesterase co-immobilised with bovine serum albumin on the transducer surface by glutaraldehyde cross-linking was used as a bioselective element. The biosensor that has been developed had a high signal reproducibility at direct determination of the substrate. 1 mM acetylcholine chloride was determined as an optimum substrate concentration for the inhibitory analysis. The biosensor sensitivity to trichlorphone as the irreversible inhibition AChE was tested; the calibration curve of the toxicant determination was plotted. The principal possibility of the bioselective membrane reactivation with the reactivator solution (pyridine-2-aldoxy methyl iodide) after irreversible inhibition by pesticides was shown. The effects of the reactivator concentration and the level of bioselective element inhibition on the biosensor reactivation ability were analysed.

Keywords: conductometric transducer, biosensor, acetylcholinesterase, pesticides, inhibitory analysis, enzyme reactivation, pyridine-2-aldoxy methyl iodide

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ РЕАКТИВАЦИИ БИОСЕЛЕКТИВНОГО ЭЛЕМЕНТА БИОСЕНСОРА НА ОСНОВЕ ИММОБИЛИЗИРОВАННОЙ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗИ ПРИ ИНГИБИТОРНОМ АНАЛИЗЕ ПЕСТИЦИДОВ

Е. В. Степурская, А. А. Солдаткин, В. Н. Пешкова, С. В. Дзядевич, А. П. Солдаткин

В работе представлены данные по реактивации кондуктометрического ферментного биосенсора для ингибиторного определения пестицидов в водных растворах. При разработке биосенсора, в качестве кондуктометрического преобразователя использовалась дифференциальная пара планарных золотых гребенчатых электродов, нанесенных на ситаловую подложку. Роль биоселективного элемента играла ацетилхолинэстераза (АцХЭ), коиммобилизованная с бычим сыворотковым альбумином на поверхность преобразователя поперечной шивкой глутаровым альдегидом. Разработанный биосенсор характеризовался высокой воспроизводимостью сигнала при прямом определении субстрата. В работе было подобрано оптимальную концентрацию субстрата для ингибиторного анализа – 1 мМ ацетилхолинхлорида. Проверена чувствительность разработанного биосенсора к трихлорфону, как необратимого ингибитора АцХЭ, построена калибровочная кривая определения токсиканта. Показано принципиальную возможность реактивации биоселективной мембраны раствором реактиватора (пиридин-2-альдоксометилйодидом) после необратимого ингибирования пестицидами. Проанализировано как концентрация реактиватора и уровень ингибирования влияет на реактивационную способность биосенсора.

Ключевые слова: кондуктометрический преобразователь, биосенсор, ацетилхолинэстераза, пестициды, ингибиторный анализ, реактивация фермента, пиридин-2-альдоксометилйодид

1. Вступ

Органофосфорні пестициди та гербіциди - один із найнебезпечніших класів забруднювачів навколишнього середовища. Це стійкі органічні сполуки, які виявляють токсичність не тільки для шкідливих організмів, на знищення яких спрямована їх дія, а і для людини та сільськогосподарських тварин [1]. Пестициди та гербіциди широко використовуються в сільському господарстві, але ефективність їх внесення традиційними способами (розпилення з літаків чи наземних машин) дуже низька, більша частина внесених хімікатів або випаровується, або змивається водою [2]. Також ці хімікати можуть потрапляти у відкриті водойми зі стічними водами підприємств, які їх випускають. Таким чином пестициди та гербіциди можуть потрапляти в організм людини та тварин і накопичуватися там у великих кількостях [3]. Це, в свою чергу, призводить до гострих отруєнь, погіршення самопочуття людей та до розвитку багатьох хронічних захворювань. Дослідження стану людей з уражених пестицидами та гербіцидами територій показують, що токсиканти впливають на такі системи людського організму, як ендокринна, дихальна, сечостатева, а також на органи зору, печінку, і, особливо, на репродуктивну систему [4].

Тому, екологічний моніторинг пестицидів та гербіцидів у навколишньому середовищі стає все більш актуальною проблемою сучасного суспільства [5]. Сучасні традиційні методи визначення органофосфатів, а саме газова та рідинна хроматографія, мас-спектроскопія, потребують наявності кваліфікованого персоналу та громіздкого і дорогого обладнання [6]. Ще одним недоліком наведених методів аналізу є необхідність в складній попередній підготовці проб, що виливається у великі затрати часу та коштів [7]. Тому, сьогодні велика увага приділяється розробленню таких методів, які мають високу чутливість, високу селективність та являються швидшими та дешевшими, а також дають можливість контролювати

наявність органофосфатів в зразках довкілля безпосередньо в польових умовах.

Розробка та створення біосенсорів для визначення фосфоорганічних речовин може найкраще задовольнити усім вищезгаданим вимогам. Для визначення в розчинах незначної кількості органофосфатів найчастіше застосовують біосенсори на основі холінестеразної реакції з використанням різноманітних перетворювачів: п'єзоелектричні, амперометричні, потенціометричні, кондуктометричні, оптичні, спектроскопічні та інші [8]. Але всі ці біосенсори мають спільну проблему – фосфорорганічні пестициди інактивують фермент необоротно. Відповідно біосенсори можна використовувати лише одноразово, що ускладнює, а іноді і унеможливує їх калібрування. Варіантом вирішення проблеми необоротного інгібування є застосування реактивації іммобілізованої ацетилхолінестерази [9]. Але реактивація біоселективних елементів біосенсорів на основі іммобілізованої АцХЕ не є тривіальною задачею. Тому дана робота присвячена вивченню та оптимізації умов реактивації біоселективного елементу кондуктометричного біосенсора на основі АцХЕ.

2. Матеріали і методи

Матеріали. У роботі використовували фермент ацетилхолінестеразу (АцХЕ) із *Electrophorus electricus* (ЕС 3.1.1.7) активністю 425,94 од. акт./мг, сироватковий альбумін бика (БСА, фракція V), 50% водний розчин глутарового альдегіду (ГА) та ацетилхолін хлорид (АцХХ) фірми Sigma-Aldrich Chemie (Німеччина). В якості інгібітора та реактиватора використовували фосфорорганічний пестицид (ФОП) – трихлорфон та реактиватор піридин-2-альдоксиметилйодид (ПАМ-2), відповідно, з фірми Riedel-de haen (Німеччина) та Sigma-Aldrich Chemie (Німеччина).

Сполуки для приготування буферів та інші неорганічні речовини, що використовувалися в роботі, були вітчизняного виробництва та мали ступінь чистоти „х.ч.“ та „ч.д.а.“.

Кондуктометричні перетворювачі. У роботі використано кондуктометричні перетворювачі, виготовлені згідно наших реко-

мендацій в Інституті фізики напівпровідників ім. Лашкарьова (м. Київ, Україна). Вони складаються з двох ідентичних пар золотих гребінчастих електродів, виготовлених вакуумним напиленням золота на основу з ситалу розміром 5x30мм (Рис. 1). Чутлива поверхня кожної електродної пари була приблизно 1,0x1,5 мм. Відстань між пальцями гребінок та ширина самих пальців складала 20 мкм. Кондуктометричні перетворювачі під'єднувались до вимірювальної установки яка детально описана в попередніх роботах [10, 11].

творювачів, їх розміщували у насичених парах глютарового альдегіду на 20 хв., а потім витримували 5 хв. на повітрі за кімнатної температури. Після цього біосенсори відмивали у робочому буфері протягом 15 хв. (кожні 5 хв. міняли буфер) від незв'язаних компонентів біоселективної мембрани.

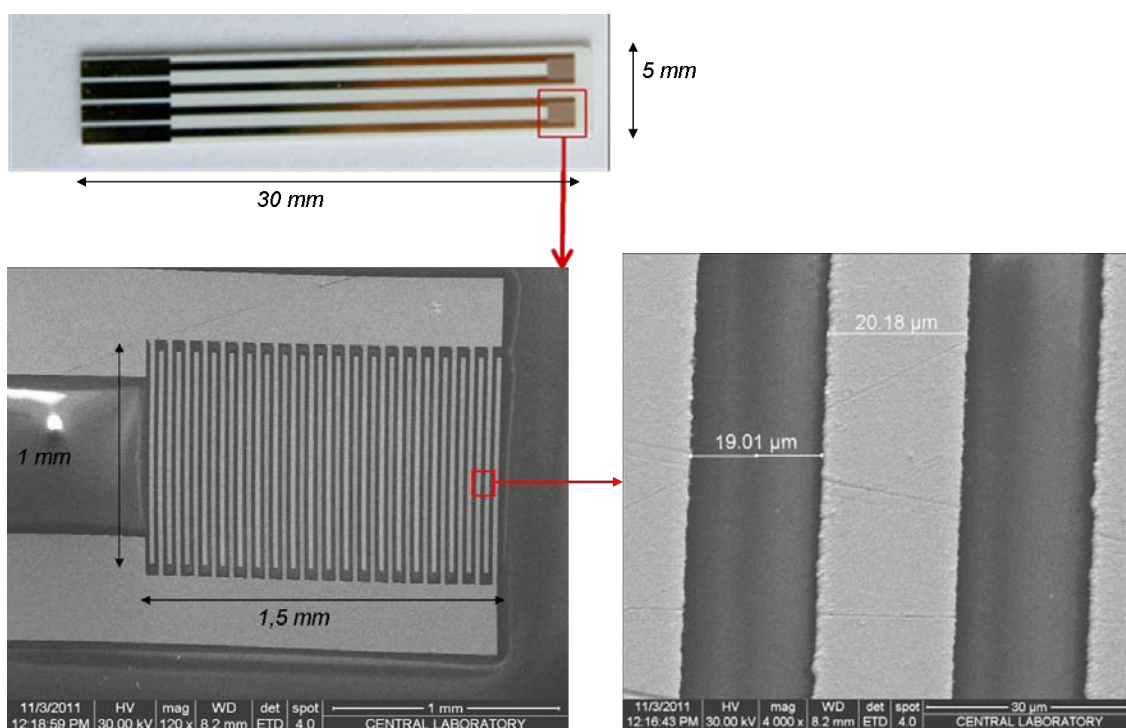


Рис. 1. Загальний вигляд кондуктометричного перетворювача та мікрофотографії золотих гребінчастих електродів отримані за допомогою скануючого електронного мікроскопа.

Виготовлення біоселективних елементів.

Для виготовлення робочих біоселективних мембран використовували розчин: 1 % ацетилхолінестераза, 4 % БСА та 10 % гліцерин у 20 мМ фосфатному буфері, рН 6.5. Суміш для приготування референтної мембрани готували таким же чином, але замість ферменту брали тільки БСА з кінцевою концентрацією 5 %. Після нанесення приготовлених розчинів на робочі поверхні кондуктометричних пере-

Методика вимірювання.

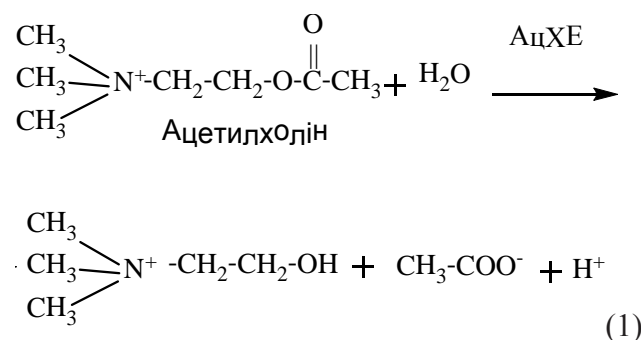
Виміри проводились у 5 мМ фосфатному буфері, рН 6,5, за кімнатної температури у відкритій комірці при постійному перемішуванні. Концентрації субстратів в комірці задавали додаванням до робочої комірки аліквот концентрованих розчинів субстратів. Для проведення інгібіторного аналізу, оцінювали відгуки на відповідну концентрацію субстрату до інгібування, а потім проводили інкубацію біосенсора в розчині різних концентрацій трихлорфону протягом

20 хвилин, відмивали від надлишку інгібітора і знову оцінювали відгук на внесення певної концентрації субстрату. Таким чином оцінювали ступінь інгібування ферменту, який і був мірою концентрації токсичної речовини в зразку. Для реактивації, заінгібовані в різній мірі біоселективні елементи біосенсора обробляли розчинами з різними концентраціями ПАМ-2 (0,01мМ, 0,1мМ, 1мМ, 10мМ) протягом 30 хвилин і відмивали від надлишку реактиватора.

Усі дослідження проводились у двох-трьох серіях. Неспецифічні зміни вихідного сигналу, пов'язані з коливаннями температури, рН середовища, електричними завадами, подавлялися завдяки використанню у роботі диференційного режиму вимірювань.

3. Результати та обговорення

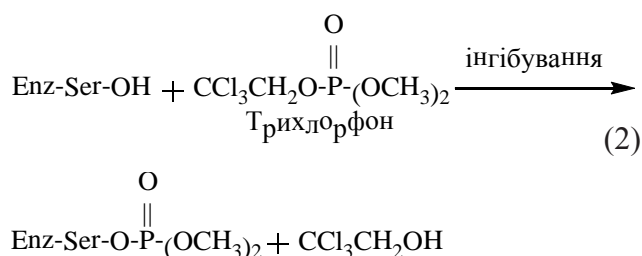
Робота біосенсора на основі АцХЕ ґрунтується на основі наступної ферментативної реакції:



В процесі проходження ферментативної реакції (1) ацетилхолінестераза розщеплює ацетилхолін на холін та оцтову кислоту. Оцтова кислота дисоціює на залишок кислоти і протон, при цьому збільшується локальна концентрація іонів в робочій мембрані. Це, відповідно, приводить до зміни провідності розчину в приелектродній області, яка реєструється кондуктометричним перетворювачем [12].

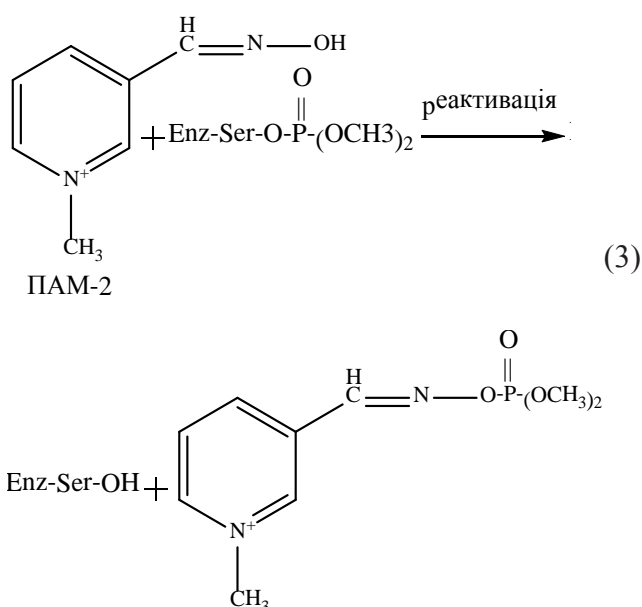
Відомо, що фосфорорганічні сполуки здатні пригнічувати біологічну активність ацетилхолінестерази через фосфорилування серинових залишків в молекулі ферменту [13]. Реакція інгібування ферменту (2) фосфорорганічним пестицидом (на прикладі трихлорфо-

ну), що лежить в основі роботи розробленого біосенсора, приведена нижче:



За рахунок протікання реакції (2) при інгібуванні ферменту пестицидами зменшується кількість іонів, утворених в результаті ферментативної реакції перетворення субстрату (1), що призводить до зменшення відгуку біосенсора. В залежності від зменшення стаціонарного відгуку біосенсора можна визначати концентрацію пестициду в досліджуваному розчині.

Процес, описаний в реакції (2), є незворотним. Активність ферменту можна відновити лише за допомогою спеціальних реактиваторів. Ці реактиватори витісняють залишок фосфорила зв'язаний з залишком серину в молекулі холінестерази, відповідно молекула ферменту відновлює свою активність (реактивується) для взаємодії із субстратом. Приклад такої реакції реактивації АцХЕ за допомогою ПАМ-2 (3), що використовувалась в нашій роботі приведено нижче:



Насамперед, необхідно було підтвердити, що зменшення відгуку на субстрат, після інкубації біосенсора в розчині трихлорфону, відбувається за рахунок інгібування біоселективного елементу, а не за рахунок самої похибки вимірювання. Тому першим етапом роботи була перевірка однієї з найбільш важливих характеристик біосенсорів - операційної стабільності. Для цього, протягом одного робочого дня, з інтервалом у 15 хв., було отримано відгуки біосенсора на одну й ту саму концентрацію субстрату (1 мМ ацетилхолінхлориду), при цьому біосенсор весь час між вимірюваннями залишався у робочому буфері з постійним переміщенням. З рис. 2 видно, що біосенсор протягом роботи характеризувався достатньо високою відтворюваністю сигналів з середньоквадратичним відхиленням не більше 2,5%.

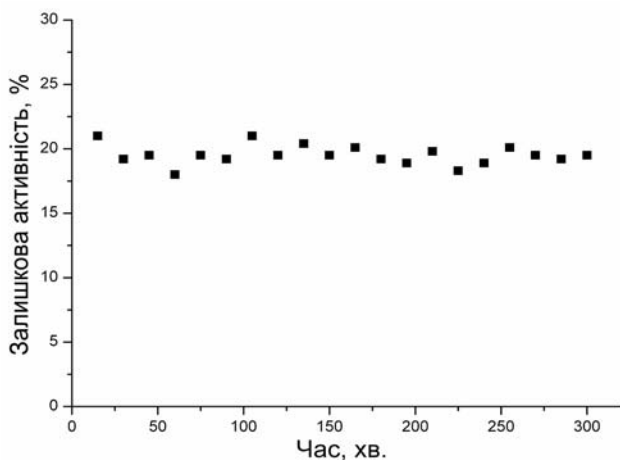


Рис. 2. Відтворюваність відгуків кондуктометричного біосенсора на основі іммобілізованої ацетилхолінестерази. Вимірювання проводили у 5 мМ фосфатному буфері, рН 6,5, за кімнатної температури, концентрація субстрату – 1 мМ.

Наступною задачею було визначити оптимальну концентрацію ацетилхолінхлориду (АцХХ), як субстрату, для проведення інгібіторного аналізу. Для цього необхідно було вибрати таку концентрацію АцХХ, за якої чутливість біосенсора до пестициду буде максимальною. Теоретично оптимальна концентрація субстрату повинна знаходитися в області насичення ферменту субстратом, коли кожна з

молекул ферменту максимально задіяна в процесі перетворення субстрату до кінцевого продукту, який призводить до зміни провідності і генерує максимальний відгук. Тому на другому етапі роботи була досліджена залежність величини відгуку біосенсора від концентрації субстрату (рис. 3). Як видно з графіку насичення спостерігалось після 1 мМ АцХХ, тому в подальших експериментах було вирішено використовувати саме цю концентрацію субстрату.

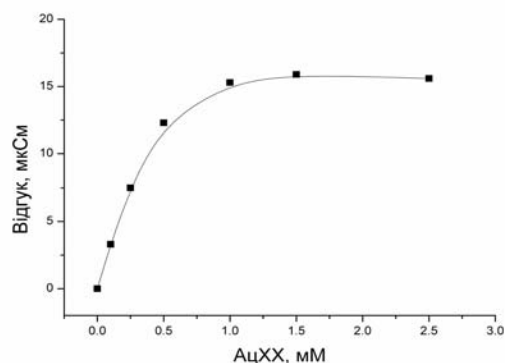


Рис. 3. Залежність величини відгуку біосенсора на основі АцХЕ від концентрації субстрату (АцХХ) у вимірювальній комірці. Вимірювання проводили у 5 мМ фосфатному буфері, рН 6,5 за кімнатної температури.

Використовуючи підібрану оптимальну концентрацію АцХХ була проведена перевірка чутливості розробленого біосенсора до різних концентрацій ФОП - трихлорфону. В результаті проведеного експерименту була отримана калібрувальна крива залежності залишкової активності біоселективного елементу на основі АцХЕ від концентрації токсиканта (рис 4). З графіка видно що залишкова активність розробленого біосенсора сильно залежить від концентрації пестициду. Біосенсор характеризувався лінійним діапазоном визначення в межах від 25 мкМ до 300 мкМ при побудові калібрувальної кривої в напівлогарифмічних координатах.

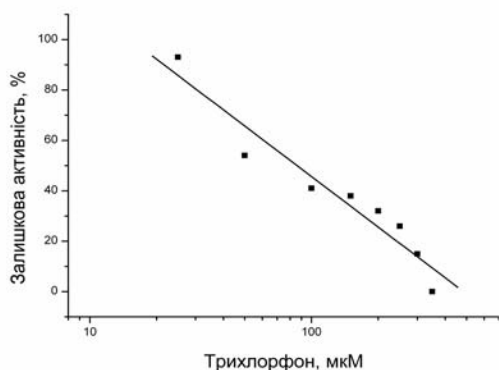


Рис. 4. Залежність залишкової активності біоселективного елементу біосенсора на основі АцХЕ від концентрації трихлорфенону. Час інгібування біосенсора в розчині трихлорфенону - 20 хвилин. Вимірювання проводили у 5 мМ фосфатному буфері, рН 6,5, за кімнатної температури, концентрація АцХХ складала 1мМ.

Як уже говорилося вище інгібування АцХЕ ФОП є незворотнім, що призводить до неефективного одноразового використання біосенсора на основі цього ферменту. Тому головним завданням даної роботи було дослідити можливість реактивації розробленого біосенсора після його інактивації токсикантом з метою повторного його використання. Відповідно, було проведено чотири серії вимірювань для різних концентрацій реактиватора ПАМ-2 (0,01мМ, 0,1мМ, 1мМ, 10мМ). Для кожної серії реактивації біосенсор інгібували різними концентраціями трихлорфенону, протягом 20 хвилин, з метою отримання різних рівнів інгібування від 0 до 100 %. Далі досліджували, як різні концентрації реактиватора (ПАМ-2) можуть реактивувати біосенсор з ферментом заінгібованим в різній мірі (біоселективні елементи характеризувалися різними залишковими активностями АцХЕ). Для цього біосенсор інкубували протягом 30 хвилин в розчині реактиватора за різних його концентрацій (0,01мМ, 0,1мМ, 1мМ, 10мМ ПАМ-2). Отримані результати приведені на діаграмі, що зображена на рис. 5.

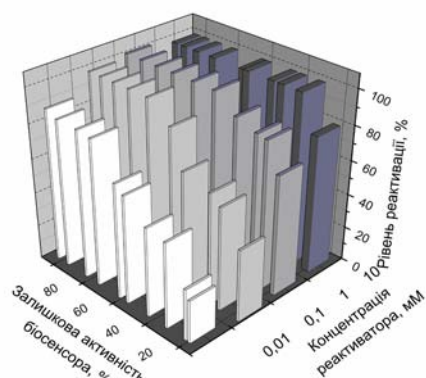


Рис. 5. Залежність рівня реактивації біосенсора різними концентраціями реактиватора (0,01мМ, 0,1мМ, 1мМ, 10мМ ПАМ-2) від залишкової активності біосенсорів після інгібування трихлорфеном. Час інгібування біосенсорів в розчинах трихлорфенону різної концентрації - 20 хв. Час реактивації біосенсорів в розчині ПАМ-2 – 30 хв. Вимірювання проводили у 5 мМ фосфатному буфері, рН 6,5, за кімнатної температури, концентрація субстрату – 1мМ.

З рис. 5. видно, що при збільшенні концентрації реактиватора збільшується розкид залишкових активностей біоселективного елементу, які можна реактивувати до 100%. Концентрації 0,01 мМ ПАМ-2 недостатньо для того, щоб біоселективний елемент повністю відновив свою активність навіть при незначному рівні інгібування. При використанні концентрації ПАМ-2 - 0,1мМ відновити активність ферменту до 100% вдавалось лише при його залишковій активності більше 50%. Концентрація ПАМ-2 - 10 мМ дає можливість реактивувати біоселективні елементи, які були сильно заінгібовані (рівень інгібування до 85%). В наступних експериментах вирішили використовувати концентрацію ПАМ-2 10 мМ.

На наступному етапі роботи необхідно було перевірити можливість саме неодноразової реактивації розробленого біосенсора з метою його багаторазового використання при інгібіторному визначенні пестицидів, а саме, продемонструвати, що біосенсор насправді можна використовувати декілька разів.

Було проведено низку експериментів по інгібуванню-реактивації біосенсора на основі АцХЕ. Для цього, ми спочатку отримували

ли відгук розробленого біосенсора на 1 мМ АцХХ. Отриману величину сигналу приймали за 100 % (перший заштрифований стовпчик на рис. 6). Далі, протягом одного робочого дня, було отримано відгуки біосенсора на одну і ту ж саму концентрацію субстрату (1 мМ АцХХ) після інгібування в розчині 100 мкМ трихлорфону (чорні стовпчики на рис. 6) та після його реактивації в розчині 10 мМ ПАМ-2 (білі стовпчики на рис. 6). З рис. 6 видно, що після інгібування та реактивації активність ферменту відновлюється повністю що найменше 3 рази. Наступні цикли інгібування-реактивації не відновлювали повністю активність ферменту, але відновлювали в значній мірі. Відповідно, можна зробити висновок, що з використанням реактивації АцХЕ за допомогою ПАМ-2, розроблений біосенсор можна використовувати повторно для інгібіторного аналізу декілька разів.

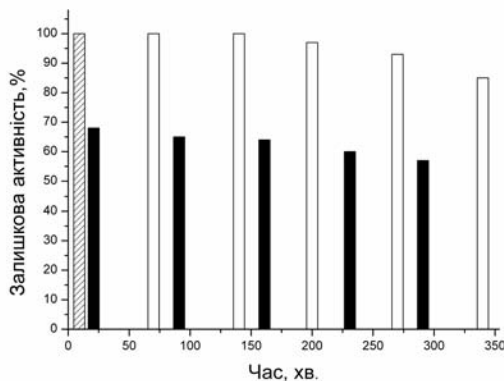


Рис. 6. Дослідження відтворюваності відгуків кондуктометричного біосенсора на основі ацетилхолінестерази після його інгібування трихлорфоном та реактивації за допомогою ПАМ-2. Час інгібування біосенсора в розчині 100 мкМ трихлорфону – 20 хв., час реактивації в розчині 10 мМ ПАМ-2 – 30 хв. Вимірювання проводили у 5 мМ фосфатному буфері, рН 6,5, за кімнатної температури.

4. Висновки

В роботі експериментально підтверджено можливість реактивації біосенсора на основі АцХЕ після інгібування його пестицидами.

Для досягнення поставленої мети, спочатку було приготовлено біосенсори на основі АцХЕ та проаналізовано основні його аналітичні характеристики (відтворюваність сигналів, чутливість до субстрата та інгібітора). Як реактиватор використовували ПАМ-2. В результаті проведених експериментів було показано, що рівень інгібування біоселективного елемента впливає на реактиваційну здатність біосенсора. Досліджено вплив концентрації реактиватора (ПАМ-2) на рівень реактивації біоселективної мембрани. Показано, що використовуючи етап реактивації, біосенсор на основі АцХЕ можливо використовувати декілька разів в інгібіторному аналізі органофосфорних пестицидів.

Автори вдячні за фінансову допомогу від Державного агентства з питань науки, інновації та інформатизації України в рамках НДР «Розробка електрохімічних і фотохімічних біосенсорів з використанням мембран на основі хлоропластів і ферментів» та фінансову підтримку від НАН України в рамках комплексної науково-технічної програми «Сенсорні прилади для медико-екологічних та промислово-технологічних потреб: метрологічне забезпечення та дослідна експлуатація».

Література

1. Телітченко М. М., Остроумов С. А., Введення в проблеми біохімічної екології. – М.: Наука, 1990. – 288 с.
2. Корсак К.В., Плахотнік О.В., Основи сучасної екології: Навч. посіб. – 4-те вид., перероб. і допов. – К.: МАУП, 2004. – 340 с.
3. Степановских А.С., Общая экология: Учебник для вузов – М.: ЮНИТИ, 2001. – 510 с.
4. Ревич Б. А., Авалиани С. Л., Тихонова Г. И., Основы оценки воздействия загрязненной окружающей среды на здоровье человека. Пособие по региональной экологической политике. – М.: Центр экологической политики России, 2004. – 268 с.
5. Yatsenko V., Determining the charac-

- teristics of water pollutants by neural sensors and pattern recognition methods // *Journal of Chromatography A*. — 1996. — Vol. 722. — P. 233–243.
6. Sherma J., Zweig G., Pesticides // *Anal. Chem.* - 1983.- V. 55.- P. 57-70.
 7. Солдаткін О.О., Пешкова В.М., Дзядевич С. В. та ін., Кондуктометричний біосенсор на основі триферментної системи для селективного визначення іонів важких металів // *Sensor Electronics and Microsystem Technologis*. – 2008. -№2. –С. 48-58.
 8. Антохин А. М., Гайнуллина Э. Т. Кондратьев К. В. и др., Направления совершенствования технических средств мониторинга воздуха на содержание фосфорорганических отравляющих веществ // *Российский химический журнал*. -2007. – Vol. 51, № 2. – С. 136-140.
 9. Tran-Minh C, Immobilised enzyme probes for determining inhibitors // *Ion-Selecc. Electrode Rev.* -1985. –Vol. 7, - P. 41-75.
 10. Дзядевич С.В., Шульга А.А., Пацковский С.В. и др., Тонкопленочные кондуктометрические датчики для ферментативных биосенсоров // *Электрохимия*. – 1994. – Т.30, № 8. – С. 982–987.
 11. Солдаткін О.О., Сосовська О.Ф., Бенілова І.В. та ін., Ензимний кондуктометричний сенсор для визначення концентрації формальдегіду у модельних зразках // *Біополімери і клітина*. – 2005. –Т.21, № 5. – С. 425–432.
 12. Дзядевич С.В., Кондуктометричні ферментні біосенсори: теорія, технологія, застосування. // *Біополімери і клітина*. – 2005, - Т.21, -С. 91-106.
 13. Jaffrezic-Renault N., Dzyadevych S. V., Conductometric Microbiosensors for Environmental Monitoring. // *Sensors*. – 2008, - Vol.8, -P. 2569-2588.