

УДК 577.15+543.6

ВИКОРИСТАННЯ КЛІНОПТИЛОЛІТУ ДЛЯ МОДЕРНІЗАЦІЇ УРЕАЗНОГО БІОСЕНСОРА НА ОСНОВІ рН-ЧУТЛИВИХ ПОЛЬОВИХ ТРАНЗИСТОРІВ

*М. К. Шелякіна^{1,2}, О. О. Солдаткін¹, В. М. Архипова¹, Б. Аката³,
Н. Жаффрезик-Рено⁴, С. В. Дзядевич^{1,2}*

¹ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна, e-mail: ritunya@list.ru

² Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
м. Київ, вул. Володимирська, 64, Київ, 01003, Україна

³ Факультет мікро та нанотехнологій, Центральна Лабораторія,
Середньо-Східний Технічний Університет, Анкара, Турція

⁴ Лабораторія аналітичних наук, Університет Клода Бернара Ліон 1, Віллербан, Франція

ВИКОРИСТАННЯ КЛІНОПТИЛОЛІТУ ДЛЯ МОДЕРНІЗАЦІЇ УРЕАЗНОГО БІОСЕНСОРА НА ОСНОВІ рН-ЧУТЛИВИХ ПОЛЬОВИХ ТРАНЗИСТОРІВ

*М. К. Шелякіна, О. О. Солдаткін, В. М. Архипова, Б. Аката,
Н. Жаффрезик-Рено, С. В. Дзядевич*

Анотація. Перевірено можливість використання природного цеоліту кліноптілоліту для модернізації біоселективного елемента біосенсора на основі рН-чутливих польових транзисторів з метою покращення його аналітичних характеристик. В якості дослідної моделі було використано біоселективний елемент на основі уреазі, іммобілізованої методом ковалентної зшивки глутаровим альдегідом. Досліджено робочі характеристики біосенсорів на основі суміші уреазі та кліноптілоліту та порівняно їх з характеристиками біосенсора на основі лише уреазі.

Встановлено, що використання кліноптілоліту в складі біоселективних елементів призводить до збільшення величини відгуку розроблених біосенсорів. Досліджено залежність відгуку уреазного біосенсора від концентрації кліноптілоліту в біомембрані. Оптимальна концентрація кліноптілоліту складала 10 %. Було апробовано ряд конструкцій біоселективних елементів на основі одно- та двошарових мембран з різними комбінаціями та співвідношеннями кліноптілоліту та уреазі. Крім того, показано, що наявність кліноптілоліту в біомембрані покращує відтворюваність та операційну стабільність сигналів біосенсорів.

Показано, що застосування кліноптілоліту в складі біоселективних елементів може використовуватися для покращення характеристик уреазних біосенсорів.

Ключові слова: біосенсор, рН-чутливий польовий транзистор, уреаз, цеоліт, кліноптілоліт

APPLICATION OF CLINOPTILOLITE FOR MODERNIZATION OF UREASE BIOSENSOR BASED ON pH-SENSITIVE FIELD-EFFECT TRANSISTORS

M. Shelyakina, O. Soldatkin, V. Arkhypova, B. Akata, N. Jaffrezic-Renault, S. Dzyadevych

Abstract. A possibility of use of natural zeolite, clinoptilolite, for modernisation of a bioselective element has been checked to improve analytical characteristics of the biosensor based on pH-sensitive field-effect transistors. The urease-based bioselective element immobilized by covalent linking by glutaraldehyde has been used as an experimental model. The working characteristics of biosen-

sor with the combined urease-zeolite bioselective element have been explored and compared with those of urease-based only.

Application of clinoptilolite as a part of bioselective elements has been found to increase response of the biosensors developed. Dependence of the urease biosensor response on clinoptilolite concentration in the biomembrane has been studied, 10 % concentration shown to be optimal. A number of designs of bioselective elements with urease and two-layer membranes, different in clinoptilolite-urease mutual arrangement and ratio, have been tested. The clinoptilolite presence in biomembrane has been shown to improve the biosensor response reproducibility and operational stability.

It has been shown that clinoptilolite can be applied as a part of bioselective elements for improvement of characteristics of urease biosensors.

Keywords: biosensor, pH-sensitive field-effect transistor, urease, zeolite, clinoptilolite

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛИНОПТИЛОЛИТА ДЛЯ МОДЕРНИЗАЦИИ УРЕАЗНОГО БИОСЕНСОРА НА ОСНОВЕ PH-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ПОЛЕВЫХ ТРАНЗИСТОРОВ

*М. К. Шелякина, А. А. Солдаткин, В. Н. Архипова, Б. Аката,
Н. Жаффрезик-Рено, С. В. Дзядевич*

Аннотация. Проверена возможность использования природного цеолита клиноптилолита для модернизации биоселективного элемента биосенсора на основе pH-чувствительных полевых транзисторов с целью улучшения его аналитических характеристик. В качестве исследуемой модели был использован биоселективный элемент на основе уреазы, иммобилизированной методом ковалентной сшивки глутаровым альдегидом. Исследованы рабочие характеристики биосенсоров на основе уреазы и цеолита и сопоставлены с характеристиками биосенсоров на основе чистой уреазы.

Установлено, что использование клиноптилолита в составе биоселективных элементов приводит к увеличению величины отклика разработанных биосенсоров. Исследована зависимость отклика уреазного биосенсора от концентрации цеолита в биомембране. Оптимальная концентрация цеолита составляла 10 %. Был опробован ряд конструкций биоселективных элементов на основе одно- и двухслойных мембран с разными комбинациями и соотношением цеолита и уреазы. Кроме того, показано, что наличие цеолита в биомембране улучшает воспроизводимость и операционную стабильность сигналов биосенсоров.

Показано, что использование цеолита в составе биоселективных элементов может использоваться для улучшения характеристик уреазных биосенсоров.

Ключевые слова: биосенсор, pH-чувствительный полевой транзистор, уреазы, цеолит, клиноптилолит

1. Вступ

Цеоліти є популярною групою мінералів для колекціонерів та важливою групою мінеральної сировини для промислових та інших потреб. Вони поєднують у собі рідкісність, складність та унікальність форми кристалів [1]. В останні роки вони інтенсивно досліджуються завдяки ряду унікальних властивостей [2], які можуть бути використані для модифікації біосенсорів. Широкі можливості різних модифікацій дозволяють отримувати цеоліти з різноманітними властивостями, які можуть бути корисними при створенні біосенсорів. Тому на сьогодні

найбільш перспективним напрямком в розвитку біосенсорних технологій є використання нових нанорозмірних матеріалів для покращення аналітичних характеристик біосенсорів на їх основі.

Кліноптилоліт відноситься до групи цеолітів, які є мікропористими, алюмосилікатними мінералами, що зазвичай використовують як комерційні адсорбенти [3, 4]. Структура кліноптилоліту листоподібна. Залишаючись справжнім каркасним силікатом, де кожен кисень зв'язаний з іоном кремнію чи алюмінію (у співвідношенні $[Al + Si]/O = 1/2$), він має листоподібну структурну організацію. Листи

зв'язані один з одним кількома зв'язками, які досить широко відділені один від одного. Листки містять відкриті кільця почергово з вісьмома та десятьма сторонами. Ці кільця складаються у стоси одне на інше від листа до листа, формуючи канали крізь кристалічну структуру [3]. Розмір цих каналів визначає розмір молекул чи іонів, що можуть пройти крізь ці канали, тому цеоліт може поводитися, ніби хімічне сито, дозволяючи одним іонам проходити наскрізь, в той же час блокуючи інші. Саме кліноптилоліт вважають матеріалом, чутливим до іонів амонію. Структура кліноптилоліту ніколи не руйнується під надвисоким тиском, потребує температур, за яких плавиться скло, щоб зруйнуватися, і не може бути нічим зміненою хімічно, за винятком надзвичайно їдких (каустичних) або кислих умов [5].

Метою роботи було перевірення можливості використання природного цеоліту кліноптилоліту для модернізації біоселективного елемента біосенсора на основі рН-чутливих польових транзисторів ПТ для покращення його аналітичних характеристик на прикладі уреазного біосенсора для визначення сечовини.

Сечовина (карбамід) є одним з найважливіших продуктів життєдіяльності багатьох організмів, тому вона досить часто присутня у природних водах у помітних концентраціях. Сечовина може накопичуватися в природних водах внаслідок біохімічних процесів як продукт обміну речовин водних організмів, продукуватися рослинами, грибами, бактеріями як продукт зв'язування аміаку, що утворюється в процесі дисиміляції білків [6]. Під дією уреаз сечовина розпадається до амонійного іона і споживається водними рослинними організмами [7]. Підвищення концентрації сечовини може вказувати на забруднення водного об'єкта сільськогосподарськими стічними водами. Воно зазвичай супроводжується активізацією процесів утилізації сечовини водними організмами і споживанням кисню, що призводить до погіршення кисневого режиму [8].

Постійний контроль концентрації сечовини у водних об'єктах є дуже важливим, тому вимагає створення нових аналітичних систем, що мають високу специфічність і чутливість, і разом з тим є дешевими, компактними та простими для використання в польових умовах. Розробка і впровадження таких пристроїв дасть можливість в реальному часі успішно проводи-

ти моніторинг навколишнього середовища на наявність токсикантів. Серед таких пристроїв, останнім часом, велику увагу приділяють біосенсорам — приладам нового покоління, що поєднують у собі біологічний матеріал із фізичним перетворювачем.

2. Матеріали і методи

2.1. Матеріали

У дослідженнях використовувався фермент уреаза фірми «Sigma-Aldrich Chemie», активністю 66 од.акт./мг; бичачий сироватковий альбумін (БСА) фірми «Sigma-Aldrich Chemie» (фракція V) та 25 %-й водний розчин глутарового альдегіду (ГА) — Merck (Німеччина). В якості субстрату використовували сечовину. Як робочий буфер використовували 5 мМ фосфатний розчин ($\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-NaOH}$). Порошок кліноптилоліту мав середній розмір часток 0,4 мкм і був отриманий від «Société Méditerranéenne des Zéolithes» (Франція).

2.2. Імобілізація біологічних елементів на поверхню перетворювача

Для створення біоматриць за основу був взятий метод імобілізації ферментів за допомогою глутарового альдегіду [9, 10]. Робочі біоселективні елементи на основі уреаз та кліноптилоліту готували таким чином. Для виготовлення ферментної мембрани 5 % уреазу змішували з 5 % БСА та додавали до них 20 мМ фосфатний буфер (рН 7,2), який містив в собі 10 % гліцерин (використовувався для стабілізації ферменту при імобілізації та запобігання передчасному підсиханню розчину, нанесеного на поверхню перетворювача). Для приготування референтної мембрани 10 % БСА розчиняли у 20 мМ фосфатному буфері, який містив 10 % гліцерин. Були виготовлені суспензії кліноптилоліту різних концентрацій: 2 %, 10 %, 20 %, 30 %. Для цього наважку кліноптилоліту суспендували в 20 мМ фосфатному буфері із 10 % вмістом гліцерину для підвищення стійкості суспензії. Краплю робочої суміші фермент-БСА наносили на одну частину чутливої поверхні перетворювача (селективна мембрана), на іншу — розчин БСА без ферменту (референтна мембрана).

При створенні біосенсора, модифікованого кліноптилолітом, ферментну мембрану змішу-

вали з розчином кліноптилоліту певної концентрації у співвідношенні 1:1 та наносили суміш на один транзистор. На інший транзистор наносили референтну мембрану без додавання кліноптилоліту. Для полімеризації мембран датчики розміщували в атмосфері насичених парів глутарового альдегіду на 20–25 хв. Останній реагує з доступними аміногрупами білків, сприяючи утворенню в мембрані зшивок типу шиффових основ ($-N=CH-$). Після полімеризації датчики підсушували на повітрі та відмивали від надлишку глутарового альдегіду у буферному розчині протягом 10–15 хв. Перед початком вимірювань сенсори з нанесеним біоматеріалом витримували декілька хвилин в робочому буфері до отримання стабільного базового сигналу.

2.3. Конструкція потенціометричного перетворювача та приладу для проведення вимірювань

В роботі використовували сенсорні чипи з диференційною парою р-канальних польових транзисторів на одному кристалі загальною площею 8×8 мм. Кристал включав два ідентичні транзистори, розділені захисною n^+ - областю шириною 50 мкм з контактом до підкладинки, p^+ -дифузійні шини, виведені на край чипу з контактами до стоку й виток, вивід до вбудованого мікроелектроду порівняння, а також два тестові МДН-транзистори з металевим затвором, що призначені для перевірки електричних параметрів виготовлених кристалів.

Іон-селективні властивості транзисторів обумовлені шаром Si_3N_4 , нанесеного на їх підзатворну область [11]. рН-чутливість елементів становила близько 25 мкА/рН. Загальний вигляд рН-чутливих польових транзисторів представлений на рис. 1А.

Вимірювання проводили за допомогою портативного приладу, розробленого та виготовленого в Інституті фізики напівпровідників ім. В. Є. Лашкарьова НАН України (рис. 1Б) [12]. Прилад працює за принципом вимірювання поверхневого потенціалу затвору транзисторів за схемою стеження з негативним зворотнім зв'язком, що підтримує струм каналу польового транзистора постійним на рівні 0,3 мА при постійній напрузі витік-стік близько 2 В. Вихідний сигнал при цьому відповідає потенціалу на затворі. Прилад забезпечує можливість ро-

боти як в диференційному режимі (з підсиленням сигналу в 10 або 100 разів), так і в режимі моніторингу сигналів кожного з двох каналів. Інформація від робочої комірки з перетворювачем надходить до комп'ютера та обробляється за допомогою програми «MSW_32».

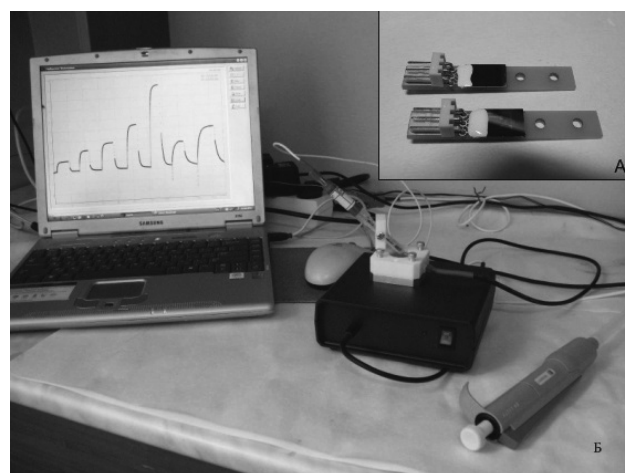


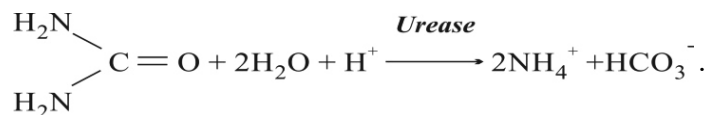
Рис. 1. Загальний вигляд рН-чутливих польових транзисторів (А) та установки, яка складається з робочої комірки, портативного приладу для проведення вимірювань та комп'ютеру для обробки даних (Б).

2.4. Методика вимірювань за допомогою біосенсорного приладу

Виміри проводились в основному у 5 мМ фосфатному буфері, рН 7,4 за кімнатної температури з використанням коміркової системи вимірювання. Концентрацію субстратів в комірці задавали додаванням до робочого буферу аліквот концентрованих вихідних розчинів субстратів. Дослідження проводилися щонайменше у трьох повторностях. Неспецифічні зміни вихідного сигналу, пов'язані з коливаннями температури, рН середовища та електричними наводками, були значно зменшені завдяки використанню в роботі диференційного режиму вимірювань. Це досягається шляхом нанесення мембран однакової густини, які мають однакові дифузійні властивості, на обидва транзистори. При цьому ферментативна реакція відбувається лише у селективній мембрані.

3. Результати та їх обговорення

Робота уреазного біосенсора базується на наступній ферментативній реакції:



В результаті цієї реакції поглинаються протони, що призводить до зміни рН всередині селективної мембрани. Зміна рН реєструється рН-чутливими польовими транзисторами, які використовуються в якості потенціометричних перетворювачів в складі біосенсорів для визначення сечовини. Крім того, в процесі реакції утворюються іони амонію, які взаємодіють з кліноптилолітом, що також призводить до зміни потенціалу.

Одними з найбільш важливих робочих характеристик кожного біосенсора є чутливість та величина лінійного діапазону його роботи. Першим етапом було дослідження зміни цих характеристик роботи біосенсорів при додаванні до складу їх біоселективних елементів кліноптилоліту. Було встановлено, що при додаванні кліноптилоліту до біомембрани величина відгуку, а отже, і чутливість сенсора, збільшується. Лінійний діапазон роботи сенсора при цьому суттєво не змінюється.

Було досліджено залежність відгуку сенсора від концентрації кліноптилоліту в біомембрані. Для біосенсорів з різними концентраціями кліноптилоліту в мембрані були побудовані калібрувальні криві, які представлені на рис. 2. Можна бачити, що збільшення вмісту кліноптилоліту в біомембрані призводить до збільшення відгуку сенсора. Однак, при використанні кліноптилоліту з концентрацією 15–20 % спостерігалось погіршення адгезії мембран на поверхню перетворювачів, розпушування мембран, а також складності при крапельному нанесенні біомембран із використанням мікропіпетки. Було показано, що додавання до мембрани більше, ніж 10 % кліноптилоліту нерационально.

Отриманий в наведених вище експериментальних даних ефект збільшення чутливості біосенсора за рахунок присутності в біомембрані кліноптилоліту було отримано при іммобілізації ферменту та кліноптилоліту разом в суміші. Далі було запропоновано провести двохшарову іммобілізацію з різними комбінаціями та співвідношенням кліноптилоліту та ферменту в біомембрані. Наприклад, в першому випадку в якості ферментної мембрани наносили 5 % уреазу, в якості референтної — 10 % БСА.

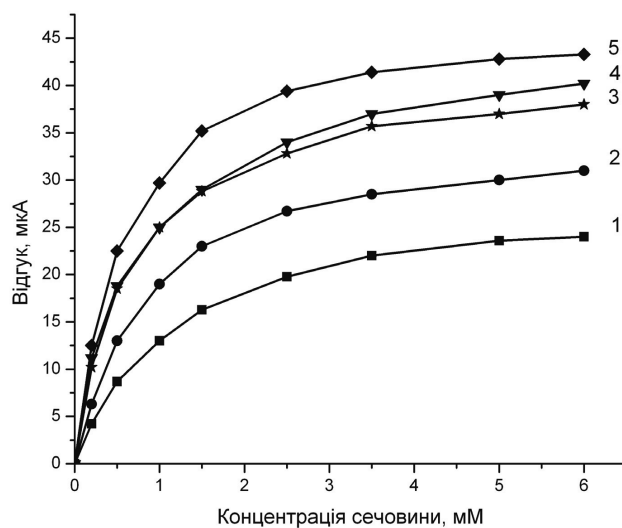


Рис. 2. Калібрувальні криві уреазного біосенсора, отримані без додавання кліноптилоліту (1) та при додаванні різних концентрацій кліноптилоліту до біомембрани: 1 % (2); 5 % (3); 10 % (4); 15 % (5). Вимірювання проводились у 5 мМ фосфатному буфері, рН 7,2

Після цього проводили іммобілізацію та відмивали сенсор від залишків ГА. Далі на цей же сенсор другим шаром наносили: на ферментну мембрану — 10 % кліноптилоліт, на референтну — 5 % БСА. В іншому випадку, першим шаром в якості ферментної мембрани наносили кліноптилоліт, другим шаром — уреазу. Концентрації всіх компонентів залишались такими ж, як в попередньому експерименті. Наступний біоселективний елемент було створено таким чином. Першим шаром в якості ферментної мембрани наносили 5 % кліноптилоліт, другим шаром суміш 5 % уреазу та 5 % кліноптилоліту. В якості референтної мембрани першим шаром наносили 5 % БСА, другим — 10 % БСА. Наступним кроком була зміна концентрації кліноптилоліту в мембрані. Для цього в складі першого шару ферментної мембрани наносили 10 % кліноптилоліт, в складі другого — суміш 10 % кліноптилоліту та 5 % уреазу. В результаті отримали 20 % кліноптилоліт в складі ферментної мембрани. Концентрацію БСА в референтній мембрані не змінювали. В останньому випадку до складу ферментної мембрани і першим і другим шаром наносили суміш 5 % кліноптилоліту та 5 % уреазу. Згідно до таких схем

було отримано та протестовано ряд біосенсорів. Калібрувальні криві, отримані за допомогою цих біосенсорів представлені на рис. 3.

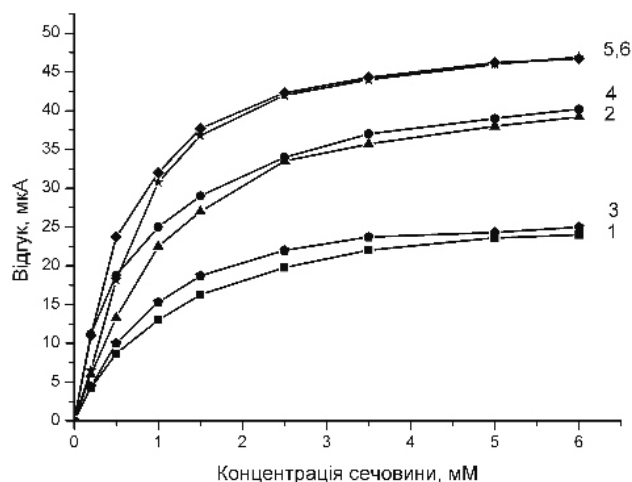


Рис. 3. Калібрувальні криві уреазного біосенсора для одно- та двошарових мембран: 1 — одношарова уреазна мембрана без додавання кліноптилоліту; 2 — одношарова мембрана, до складу якої входила суміш 5 % кліноптилоліту та 5 % уреаз; двошарові біоселективні мембрани, що містили в собі: 3 — перший шар-5 % уреазу, другий шар-5 % кліноптилоліт; 4 — перший шар-5 % кліноптилоліт, другий шар-5 % уреазу; 5 — перший шар-5 % кліноптилоліт, другий шар-суміш 5 % кліноптилоліту та 5 % уреаз; 6 — перший шар-10 % кліноптилоліт, другий шар-суміш 10 % кліноптилоліту та 5 % уреаз. Вимірювання проводились в 5 мМ фосфатному біфері, рН 7,2

Як видно з рис. 3, при іммобілізації на сенсорну поверхню першим шаром ферменту, а другим шаром кліноптилоліту (крива 3), чутливість сенсора майже не змінювалась в порівнянні з уреази сенсори без кліноптилоліту (крива 1). Нанесення в якості першого шару 5 % кліноптилоліту, а другим — 5 % уреаз (крива 4) збільшувало відгуки сенсорів більш, ніж в 1,5 рази, і вони були подібні до відгуків сенсорів з одношаровими мембранами із суміші ферменту та кліноптилоліту (крива 2). Нанесення першим шаром 5 % кліноптилоліту, а другим — суміші 5 % кліноптилоліту та 5 % уреазу призводило до ще суттєвішого збільшення відгуку сенсорів (крива 5). Однак, подальше збільшення вмісту кліноптилоліту в мембрані не призвело до помітної зміни чутливості біосенсорів (крива 6).

Отримані результати можна пояснити тим, що при нанесенні кліноптилоліту в якості першого шару, покращувались дифузійні властивості мембрани, що і призводило до збільшення чутливості. Додавання більших концентрацій кліноптилоліту до складу мембрани не покращувало характеристики сенсорів.

Крім того, коли частки кліноптилоліту були розташовані в мембрані вище уреазного шару, можливо, вони викликали просторові обмеження для проникнення сечовини до мембрани. Тому зміна сигналу після реакції зменшується порівняно з уреази мембраною без кліноптилоліту.

Рис 3. показує, що NH_4^+ іони, які продукувалися під час ферментативного гідролізу, значно змінили провідність біоселективної мембрани. Коли уреазу і частинки кліноптилоліту були змішані в одному шарі біоселективної мембрани (крива 2), контактна взаємодія сайтів обміну кліноптилоліту та іонів амонію не обмежена в просторі. В результаті спостерігалось збільшення чутливості до NH_4^+ іонів в порівнянні з уреази мембраною без кліноптилоліту.

Ще одними з важливих характеристик біосенсорів є операційна стабільність роботи та відтворюваність відгуків. Щоб дослідити, як наявність кліноптилоліту у мембрані впливає на ці показники, протягом одного робочого дня з інтервалом 30 хвилин було отримано відгуки біосенсорів на основі лише уреази мембрани та на основі уреази мембрани, модифікованої кліноптилолітом на 6 мМ сечовину, при цьому самі перетворювачі з іммобілізованими на них біомембранами весь час між вимірюваннями залишались у робочому буферному розчині за кімнатної температури. На рис. 4 представлені відтворюваності відгуків сенсора на насичуючу концентрацію субстрату. Як видно з отриманих графіків, біосенсори на основі уреазу та кліноптилоліту, при безперервній роботі протягом дня характеризувалися кращою відтворюваністю сигналів порівняно з біосенсором на основі лише уреазу.

Крім того, біосенсор на основі кліноптилоліту характеризувався досить високою операційною стабільністю (рис. 5). Відгуки отримувались кожні 10 хв сенсором на основі уреазу, модифікованої кліноптилолітом впродовж двох днів. Протягом цього часу сенсор показував досить високу стабільність сигналу, що говорить про можливість його використання на протязі тривалого часу.

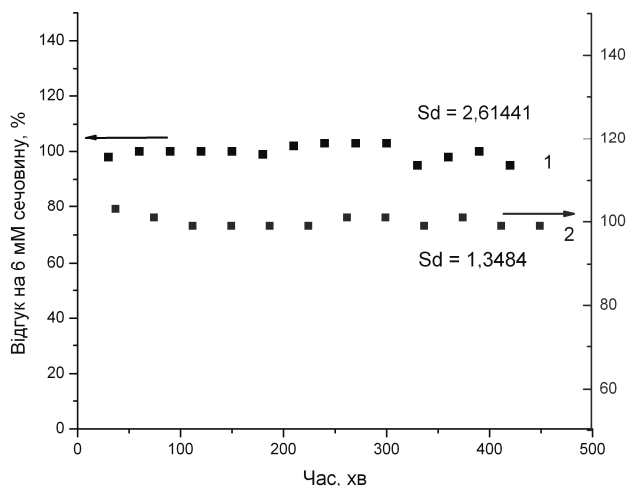


Рис. 4. Відтворюваність відгуків сенсора без додавання кліноптилоліту (1) та сенсора, до складу якого входили двошарові біомембрани (2): ферментна — перший шар-10 % кліноптилоліт, другий шар-суміш 10 % кліноптилоліту та 5 % уреазі; референтна — 10 % БСА

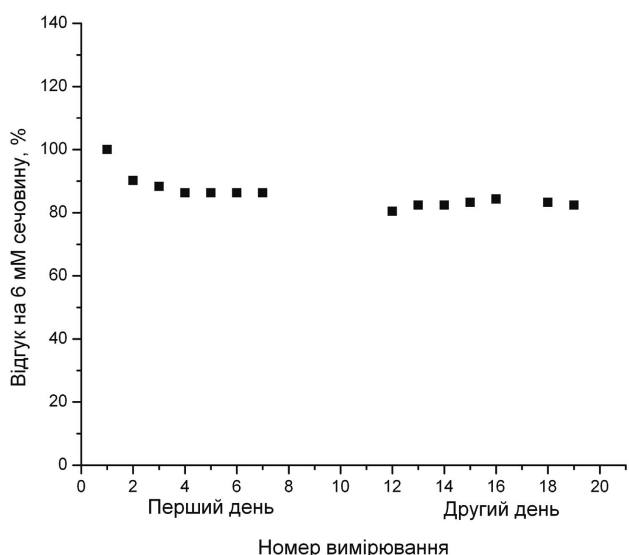


Рис. 5. Операційна стабільність сенсора на основі двошарових біомембран: ферментна — перший шар-10 % кліноптилоліт, другий шар-суміш 10 % кліноптилоліту та 5 % уреазі; референтна — 10 % БСА. Вимірювання проводились в 5 мМ фосфатному біфері, рН 7,2

4. Висновки

В роботі досліджено робочі характеристики розроблених потенціометричних біосенсорів на основі уреазі та кліноптилоліту в мембрані, та порівняно їх з характеристиками біосенсора на основі лише уреазі. Підібрано оптимальну концентрацію кліноптилоліту в біоселективних елементах біосенсорів — 10 %,

за якої спостерігалось підвищення чутливості. Досліджено декілька варіантів конструкції біоселективного елемента на основі кліноптилоліту, та обрано біоселективний елемент, більш чутливий до сечовини. Крім того операційна стабільність та відтворюваність відгуку розроблених біосенсорів на основі кліноптилоліту є вищою за відтворюваність сенсорів на основі уреазі без кліноптилоліту. Отримані результати свідчать про можливість використання біосенсорів на основі уреазі та кліноптилоліту при аналізі сечовини в більш низьких концентраціях порівняно з біосенсором на основі лише уреазі.

Робота була виконана при підтримці проекту Європейського Союзу із проектним номером PIRSES-GA-2008-230802 та НАТО із проектним номером СВР.NUKR.CLG 984221.

Список літератури

1. Stryczek S., Gonet A., Wiśniowski R., Brylicki W. The Influence of Clinoptilolite on Technological Properties of Fresh and Set Slag-Alkaline Slurries // *Acta Montanistica Slovaca Ročník 11 (2006)*, mimoriadne číslo 1, 198–203.
2. <http://www.galleries.com/minerals/silicate/zeolites.htm>
3. Kuliyeva T. Z., Lebedeva N. N., Orbuh V. I., Sultanov Ch.A. Natural zeolite — clinoptilolite identification // *Fizika*. — 2009. — № 3. — P. 43–45.
4. Breck D. W., *Zeolite Molecular Sieves: Structure, Chemistry and Use*, Wiley, New York, USA, 1974. — 784 p.
5. Scott M., Kathleen A., Prabir K., *Handbook of zeolite science and technology*, eds. CRC Press, 2003, p. 16.
6. Израэль Ю. А., *Экология и контроль состояния природной среды*. — М.: Гидрометеиздат, 1984. — 560 с.
7. Кучерявый В. И., Лебедев В. В., *Синтез и применение карбамида*, Л.: Химия, 1970. — 447 с.
8. *Вредные химические вещества. Азотсодержащие органические соединения: Справ. изд./ Под ред. Б. А. Курляндского и др.* — Л.: «Химия», 1992. — 432 с.
9. Arkhypova V., Dzyadevych S., Soldatkin A., El'skaya A., Martelet C., Jaffrezic-Renault N. Development and optimisation of biosensors based on pH-sensitive field effect transistors and cholinesterases for sensitive detection of solanaceous glycoalkaloids // *Biosens. Bioelectron.* — 2003. — Vol.18. — P. 1047–1053.
10. Bilitewski U., Drewes W., Schmid R. D. Thick film biosensors for urea // *Sensors and Actuators*. — 1992. — 7. — P. 321–326.

11. Дзядевич С. В. Биосенсоры на основе ионселективных полевых транзисторов: теория, технология, практика // Біополімери і клітина. — 2004. — Т. 20, № 1–2. — С.7–16.
12. Кукла А. Л., Павлюченко А. С., Голтвянский Ю. В., Ширшов Ю. М., Многоэлементные сенсорные массивы на основе интегральных кремниевых ионселективных полевых транзисторов для систем химического мониторинга // Оптоэлектроника и полупроводниковая техника. — 2007. — Вып.42. — С. 72–79.