

БІОСЕНСОРИ BIOSENSORS

УДК 547.495.2, 543.92, 543.066

ОПТИМІЗАЦІЯ ОДНОЧАСНОЇ РОБОТИ ТРЬОХ МІКРОБІОСЕНСОРІВ ДЛЯ МУЛЬТИАНАЛІЗУ ГЛЮКОЗИ, ЛАКТАТУ ТА ГЛЮТАМАТУ

О. О. Солдаткін

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, вул. Академіка Заболотного, 150,
Київ, 03143, Україна, тел.: +380442000328, alex_sold@yahoo.com

ОПТИМІЗАЦІЯ ОДНОЧАСНОЇ РОБОТИ ТРЬОХ МІКРОБІОСЕНСОРІВ ДЛЯ МУЛЬТИАНАЛІЗУ ГЛЮКОЗИ, ЛАКТАТУ ТА ГЛЮТАМАТУ

О. О. Солдаткін

Анотація. Масив амперометричних біосенсорів використано для одночасного селективного визначення глюкози, лактату та глютаму. Для створення біоселективних елементів мікробіосенсорів використовували ферменти глюкозооксидазу, лактатоксидазу та глютаматоксидазу, що були іммобілізовані поперечною зшивкою глутаровим альдегідом з бичачим сироватковим альбуміном на поверхнях амперометричних мікроперетворювачів. Отримані біосенсори в прямому ферментному аналізі демонстрували високу чутливість до відповідних субстратів. Час проведення аналізу складав менше хвилини. Діапазони біосенсорного визначення субстратів мало відрізнялись один від одного і знаходились в межах від 0,005-0,01 мМ до 0,5-1 мМ. Також, в роботі досліджено селективність амперометричних мікро перетворювачів до електроактивних речовин та наведено дані по перехресному впливу субстратів усіх використаних ферментів. Показано, що розроблені мікробіосенсори характеризуються доброю відтворюваністю сигналів та можуть бути використані для одночасного селективного мультианалізу глюкози, лактату та глютаму.

Ключові слова: амперометричний мікроперетворювач, біосенсор, полі-діамінобензол, лактат, глюкоза, глютамат, мультианаліз, фермент

OPTIMIZATION OF SIMULTANEOUS WORK OF THREE MICROBIOSENSORS FOR MULTYANALYSIS OF GLUCOSE, LACTATE AND GLUTAMATE

O. O. Soldatkin

Abstract. An array of amperometric biosensors was used for simultaneous selective determination of glucose, lactate and glutamate. To create the bioselective elements of microbiosensors we utilized the enzymes glucose oxidase, lactate oxidase and glutamate oxidase immobilized by transverse crosslinking glutaraldehyde with bovine serum albumin onto the surfaces of amperometric microtransducers. The developed biosensors showed high sensitivity to the corresponding substrates in direct enzyme analysis. The analysis time was less than a minute. The determination ranges for diverse substrates slightly

differed from each other and were 0.5-1 mM to 0.005-0.01 mM. We also studied the selectivity of amperometric microtransducers towards electroactive substances; the data on cross-influence of the substrates of all the enzymes used are presented. It is shown that the developed microbiosensors are characterized by good reproducibility of signals and, thus, can be applied for simultaneous selective multianalysis of glucose, lactate and glutamate.

Keywords: amperometric microtransducer, biosensor, diaminobenzene, lactate, glucose, glutamate, multianalys, enzyme

ОПТИМИЗАЦИЯ ОДНОВРЕМЕННОЙ РАБОТЫ ТРЕХ МИКРОБИОСЕНСОРОВ ДЛЯ МУЛЬТИАНАЛИЗА ГЛЮКОЗЫ, ЛАКТАТА И ГЛЮТАМАТА

А. А. Солдаткин

Аннотация. Массив амперометрических биосенсоров использовано для одновременного селективного определения глюкозы, лактата и глютамата. Для создания биоселективных элементов микробиосенсоров использовали ферменты глюкозооксидазу, лактатоксидазу и глютаматоксидазу, что были иммобилизованы поперечной шивкой глутаровым альдегидом с бычим сывороточным альбумином на поверхностях амперометрических микропреобразователях. Полученные биосенсоры в прямом ферментном анализе демонстрировали высокую чувствительность к определенным субстратам. Время проведения анализа было меньше минуты. Диапазоны биосенсорного определения субстратов мало отличались один от одного и находились в границах от 0,005-0,01 мМ до 0,5-1 мМ. Также, в работе было изучено селективность амперометрических микропреобразователей к электроактивным веществам и приведено данные по перекрестному влиянию субстратов всех использованных ферментов. Показано, что разработанные микробиосенсоры характеризуются хорошей воспроизводимостью сигналов, и могут быть использованы для одновременного селективного мультианализа глюкозы, лактата и глютамата.

Ключевые слова: амперометрический микропреобразователь, биосенсор, поли-диаминобензол, глюкоза, лактат, глютамат, мультианализ, фермент

1. Вступ.

Останнім часом, в світі, безперервно зростає попит на високочутливі, селективні, експрес методи аналізу в медичній діагностиці, охороні навколишнього середовища, контролі біотехнологічних процесів та перевірці якості харчових продуктів [1].

Сучасні стандартні методи високоточного визначення аналітів, а саме газова та рідинна хроматографія, спектрофотометрія, різноманітні хімічні та фізичні методи потребують наявності кваліфікованого персоналу та складного і дорогого обладнання [2, 3]. Ще одним недоліком наведених традиційних методів аналізу є необхідність в складній попередній підготовці проб, що виливається у значні затрати часу. Альтернативою для вирішення указаних вище проблем є використання біосенсорів, нових біоаналітичних приладів [1].

Найбільш поширеним та перспективним вважається клас біосенсорів на основі амперометричного методу визначення. Але на ряду з перевагами амперометричні біосенсори мають певні проблеми з селективністю, пов'язану з низькою селективністю самого перетворювача, що дійсно негативно може вплинути на роботу біосенсорів, особливо, при мультианалізах. Ця проблема виникає за рахунок необхідності використання відносно високого робочого потенціалу, необхідного для визначення перекису водню, що може спричинити електрохімічні впливи інших електроактивних сполук (інтерферентів), присутніх в аналізованому середовищі. Щоб покращити селективність перетворювачів використовують додаткові полімерні мембрани, що обмежують дифузію електроактивних речовин до поверхні перетворювача. На даний момент вже існують по-

відомлення про мікроперетворювачі модифіковані електрохімічно осадженими полімерними мембранами [4, 5]. Такі модифіковані перетворювачі успішно застосовуються при розробці глюкозних [6, 7], лактатних [8, 9] і глутаматних [8, 10] біосенсорів. Але ці біосенсори можна використовувати лише для визначення однієї речовини. Відповідно, невідомо, як мікробіосенсори будуть працювати в мультирежимі при одночасному визначенні декількох субстратів за різних їх концентрацій.

Виходячи з вищесказаного, в даному дослідженні було розпочато роботу з дослідження роботи масиву ферментних мікробіосенсорів для одночасного визначення різних субстратів в одному зразку. Для створення біоселективних елементів мікробіосенсорів використовували ферменти: глюкозооксидазу, лактатоксидазу та глутаматоксидазу. Використання вказаних ферментів дало можливість селективного визначення трьох субстратів (глюкоза, лактат та глутамат). Основною метою даної роботи є вибір оптимальних умов для одночасної роботи усіх мікробіосенсорів, оцінка взаємного впливу субстратів і перевірка можливості використання розроблених біосенсорів для мультианалізу відповідних субстратів.

2. Матеріали та методи.

2.1 Реактиви.

Глюкоза, лактат натрію, глутамат натрію, бичачий сироватковий альбумін (БСА), 50% водний розчин глутарового альдегіду (ГА), водний розчин перекису водню (3 ваг. %), метадіамінобензол, NERES, гомованілінова, аскорбінова, аспарканова, сечова кислоти, цистеїн, глутамін, допамін, ацетамінофен використано виробництва Sigma–Aldrich Chimie S.a.r.l. (Франція).

2.2 Ферменти.

Глюкозооксидаза із *Aspergillus niger* (КФ 1.1.3.4), активність 181,6 од.акт.мг-1, лактатоксидаза із *Pedicoccus* sp. (КФ 1.1.3.2), активність 35 од.акт.мг-1 використовувались виробництва Sigma–Aldrich Chimie S.a.r.l. (Франція). Глутаматоксидаза із *Streptomyces* sp. (КФ 1.4.3.11), активність 7 од.акт.мг-1, виробництва Yamasa Co. (Японія).

2.3 Циліндричний мікроелектрод на основі платиного дроту.

Матеріали, що найчастіше використовуються при виготовленні амперметричних мікроелектродів, це благородні метали та різні форми вуглецю. Найчастіше, це такі метали, як платина, золото, срібло і високоякісна сталь, оскільки вони мають чудові електричні і механічні властивості.

В нашій роботі ми використовували мікроелектроди на основі платиного дроту ($D = 25$ мкм) виготовлені в нашій лабораторії, оскільки платина є одним з найбільш інертних металів, крім того вона нерозчинна в кислотах і лугах, за винятком царської горілки. Виготовлення мікроелектродів проводили за відпрацьованим алгоритмом. Брали скляний капіляр з відтягнутим кінцем, який обрізали таким чином, щоб отримати тупий зріз з внутрішнім діаметром біля 35 мкм, в який вставляли платиновий дріт діаметром 25 мкм та довжиною 8-10 мм. З'єднання капіляра з платиновим дротом герметизували епоксидною смолою. Після з'єднання кінець платиного дроту обрізався до необхідної довжини (200 мкм) за допомогою скальпеля під мікроскопом. Якісний електричний контакт між платиновим та мідним провідником забезпечувався через затискний контакт. Інший край мідного дроту виконував роль контактної зони для під'єднання до потенціостату. Розміри мікроелектродів та особливо чутливої їх частини підбирались експериментально, намагаючись мініатюризувати їх, але ж враховуючи складність нанесення біологічного матеріалу на маленькі перетворювачі.

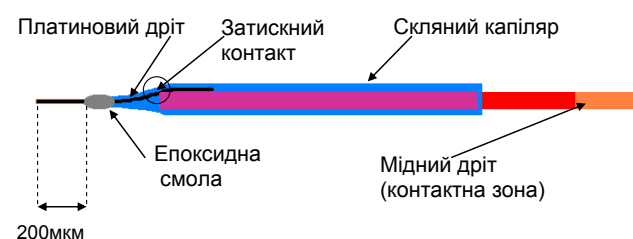


Рис. 1. Конструкція амперметричного циліндричного мікроелектроду на основі платиного дроту.

2.4 Методика модифікації мікроелектродів.

Для досягнення необхідної селективності амперметричних мікроперетворювачів до перекису водню відносно електроактивних речовин необхідно було провести модифікацію чутливої поверхні перетворювача. Електрохімічне нанесення шару полімеру на основі полі-діамінобензолу (полі-ДАБ) з розчину мономеру діамінобензолу (ДАБ) з концентрацією 0,1 М проводили у фосфатному буфері (рН 7,0). Перед використанням розчини ДАБ обезкиснювали шляхом 15-хвилинного продування аргоном. Електрохімічне осадження плівки на чутливі поверхні платинових електродів здійснювали впродовж 45 хвилин при постійному потенціалі (+0.7 В). Перед подальшим нанесенням біоселективної мембрани модифіковану полі-ДАБ поверхню перетворювача ретельно промивали дистильованою водою.

2.5 Методика виготовлення біоселективних ферментних мембран.

Біоселективні ферментні мембрани для глюкозного, лактатного і глютаматного мікробіосенсорів виготовляли, застосовуючи суміш відповідного ферменту з БСА, отриману в 0,1 М фосфатному буфері, рН 6,5. Кінцева концентрація ферменту становила 40 мг мл⁻¹, а БСА — 20 мг мл⁻¹. До кожної суміші додавали також гліцерин (5 ваг. %), щоб стабілізувати ферменти впродовж їх іммобілізації, запобігти передчасному висиханню і поліпшити адгезію мембрани до поверхні перетворювача. Розчин глутарового альдегіду (ГА) з кінцевою концентрацією 0,2 ваг. % застосовували для перехресного зв'язування молекул ферменту та молекул БСА. Суміш, що містила відповідний фермент, БСА, гліцерин та ГА, наносили на чутливу поверхню перетворювача, після чого витримували впродовж 1 години за кімнатної температури. Перед початком роботи мікробіосенсиори відмивали в робочому буферному розчині від незв'язаних компонентів біомембрани.

2.6 Експериментальна установка для амперметричних вимірювань.

В роботі використовується триелектродна схема амперметричного аналізу. Розроблені робочі амперметричні мікроелектроди разом

з допоміжним платиновим електродом (значно більша поверхнева площа порівняно з робочими електродами) та Ag/AgCl електродом порівняння (хлорсрібним) підключаються до потенціостату PalmSens (Нідерланди).

Кожен з перелічених вище електродів виконує свою функцію при амперметричному аналізі. Коли до робочого мікроелектроду прикладається позитивний потенціал, всі молекули, що окислюються на поверхні електроду, віддають свої електрони електроду, тобто відбувається перехід електронів із розчину до електроду. За відсутності другого електроду через стехіометричний розбаланс генерувалася б велика різниця потенціалів. Тому функція допоміжного електроду полягає в замиканні ланцюга, щоб електрони через зовнішній ланцюг під дією прикладеної напруги поверталися назад до розчину. Очевидно, що це спричиняє процес відновлення на допоміжному електроді, еквівалентний за величиною процесу окислення на робочому електроді. Цей потік електронів і формує струм амперметричного датчика. Третій електрод системи — це електрод порівняння, який повинен мати в своєму складі відому хімічну сполуку, що включає обидві форми редокс-пари. Звичайно це Hg/HgCl₂ (насичений каломельний електрод) чи Ag/AgCl (хлор-срібний електрод). Завдяки тому, що прикладений потенціал є фіксованим, електрод порівняння має стабільну точку, відносно якої може вимірювати робочий електрод. Тобто прикладений потенціал контролюється між робочим електродом і електродом порівняння, позаяк струм вимірюється між робочим і допоміжним електродами [1].

Розроблені мікробіосенсиори на основі ГОД, ЛОД та ГЛОД під'єднувалися до потенціостату PalmSens через 8-ми канальний пристрій (CH-8 multiplexer Palm Instruments BV, Нідерланди), що мультиплексував сигнал з потенціостату по робочим мікроелектродам. Відстань між допоміжним платиновим електродом та усіма робочими мікробіосенсорами, в процесі вимірювання, була однаковою і складала приблизно 5 мм. Усі представлені в роботі результати вимірювань проводили у відкритій вимірювальній комірці при постійному перемішуванні та

при постійному потенціалі +0,6 В відносно Ag/AgCl електрода порівняння. Схема експериментальної установки приведена на рис. 2.

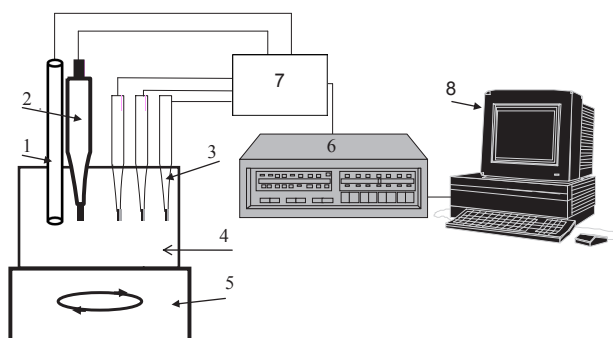


Рис. 2. Схематичний вигляд основних частин експериментальної установки для амперометричних вимірювань: 1 — Ag/AgCl електрод порівняння; 2 — допоміжний платиновий електрод; 3 — циліндричний мікроелектрод на основі платинового дроту (мікробіосенсор); 4 — вимірювальна комірка 3 мл.; 5 — магнітна мішалка; 6 — потенціостат; 7 — 8-ми канальний мультиплексор; 8 — комп'ютер.

2.7 Методика вимірювання.

Усі представлені в роботі результати отримано в мультирежимі, за одночасної роботи

усіх трьох мікробіосенсорів в єдиній вимірювальній комірці. Виміри проводились у 25 мМ фосфатному буфері рН=7,4 при постійному потенціалі + 0,6 В відносно Ag/AgCl електрода порівняння у відкритій комірці при інтенсивному перемішуванні. Концентрацію субстратів у вимірювальній комірці задавали внесенням до робочого буферу порцій стандартних концентрованих вихідних розчинів субстратів. Усі дослідження проводилися щонайменше у трьох серіях.

3. Результати та обговорення.

Відомо, що в основі селективності кожного біосенсора лежить, як селективність самого перетворювача, з одного боку, так і селективність ферментної системи, з іншого боку. У нашому випадку селективність перетворювача - це селективність платинового електрода до визначення перекису водню при постійному потенціалі +0,6 В відносно Ag/AgCl електрода порівняння. Платиновий електрод без спеціальної модифікації поверхні не є селективним перетворювачем, оскільки багато електроактивних речовин можуть окислюватися на ньому при даному потенціалі, генеруючи електрохімічний сигнал. Тому, першим етапом нашої роботи було підвищення селективності викорис-

Таблиця 1. Відгуки амперметричних мікро-електродів до та після нанесення полімерної мембрани на основі мета-діамінобензолу на внесення в електрохімічну комірку перекису водню та інших електроактивних речовин (n=4).

Електроактивні речовини	Відгуки мікроелектроду на основі голого платинового дроту, нА	Відгуки мікроелектроду на основі платинового дроту модифікованого полі-ДАБ мембраною, нА
Аскорбінова кислота, 500 мкМ	28.56±3,16	0.2±0,05
Сечова кислота, 100 мкМ	10.04±1,02	0±0,05
Аспарагінова кислота, 100мкМ	0.1±0,07	0±0,02
L-цистеїн, 100 мкМ	0.98±0,07	0.2±0,05
Ацетамінофен, 100 мкМ	4.5±0,53	0±0,04
Допамін, 20 мкМ	3.02±0,48	0±0,02
Перекис водню, 50 мкМ	1.98±0,2	1.7±0,15

таних в роботі мікроперетворювачів на основі платинового дроту, за рахунок нанесення на електрод додаткової полімерної мембрани, яка обмежувала б дифузію інтерферуючих речовин до поверхні електроду. Як відомо з-поміж широкого класу окси- та аміноароматичних речовин, які здатні до електрополімеризації, в біосенсорах найчастіше використовують ізомери діамінобензолу [11-15]. Раніше вже було проведено ряд порівняльних досліджень щодо властивостей полімерних мембран на основі полі-ДАБ, отриманих з різних мономерів. В результаті виявилось, що найкращою селективністю характеризувались перетворювачі модифіковані полімерною плівкою на основі мета-діамінобензолу [13-15]. Відповідно, в нашій роботі, цю речовину і було використано в якості мономеру для створення додаткової полімерної мембрани на поверхні платинового мікроелектроду. Отримані результати по перевірці селективності мікроелектродів на основі платинового дроту до та після нанесення полімерної плівки представлені в Табл. 1.

Як можна бачити з таблиці, ми досягли досить високої селективності мікроперетворювача при визначенні перекису водню відносно можливих електрохімічно активних інтерферентів (аскорбінова, сечова, аспарагінова кислоти, L-цистеїн, ацетамінофен, допамін). Відповідно, модифікований мікроперетворювач, з таким рівнем селективності, вже можна було використовувати для розробки ферментних мікробіосенсорів.

Далі на модифіковані полі-ДАБ амперометричні мікроелектроди були іммобілізовані біоселективні мембрани на основі однієї з трьох оксидоредуктаз (які каталізують окислення субстратів з накопиченням перекису водню, як одного із продуктів реакції). Таким чином, було створено мікробіосенсори на основі глюкозооксидази (ГОД), лактатоксидази (ЛОД) та глютаматоксидази (ГЛОД) для визначення глюкози, лактату та глютамату, відповідно. Робота мікробіосенсорів базується на таких ферментативних реакціях:

ГОД



ЛОД



ГЛОД



Перетворення кожного з субстратів супроводжується накопиченням електрохімічно-активного перекису водню, що дає можливість визначати субстрат за допомогою амперометричних біосенсорів на основі відповідних оксидаз.

Типові залежності відгуків отриманих мікробіосенсорів від концентрацій відповідних субстратів представлені на Рис. 3. Як видно з рисунка розроблені біосенсори характеризувалися широкими лінійними діапазонами визначення до 1 мМ, 0.5 мМ та 0.5 мМ концентрацій глюкози, лактату та глютамату, відповідно. Мінімальна межа визначення субстратів становила 10 мкМ концентрацією для глюкози та 5 мкМ – для лактату і глютамату.

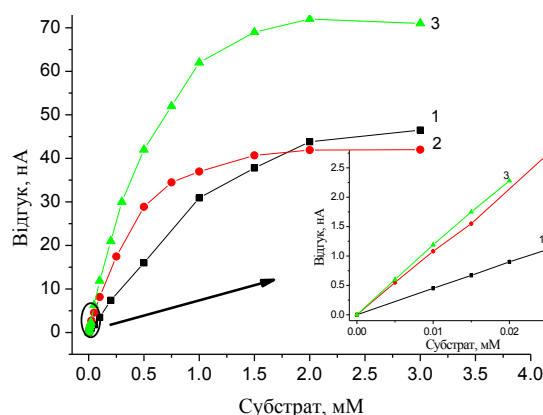


Рис. 3. Залежність відгуків біосенсорів на основі ГОД, ЛОД та ГЛОД від концентрації глюкози (1), лактату (2) та глютамату (3), відповідно. Виміри проводились у 25 мМ фосфатному буфері рН=7,4 при постійному потенціалі +0,6 В відносно Ag/AgCl електрода порівняння.

Наступним етапом роботи була перевірка можливості використання розроблених мікробіосенсорів при одночасному визначенні кількох субстратів. Мікробіосенсори на основі

ГОД, ЛОД та ГЛОД повинні працювати одночасно в одному і тому ж середовищі та за однакових умов, крім того продуктом усіх ферментативних реакцій є перекис водню, тому необхідно було перевірити наявність перехресного впливу субстратів для окремих біосенсорів. В Табл. 2. представлено відгуки розроблених мікробіосенсорів на кожний субстрат окремо та на їх суміші. Виміри, як і в попередніх експериментах, проводились у 25 мМ фосфатному буфері рН=7,4 при постійному потенціалі +0,6 В відносно Ag/AgCl електрода порівняння. В перших трьох строчках таблиці показано послідовні відгуки мікробіосенсорів на окремі субстрати. В наступних чотирьох строчках, представлено відгуки мікробіосенсорів на різні суміші субстратів. У всіх випадках використовувались концентрації насичення ферментів субстратами — 1,5 мМ. Як видно з Табл. 2, усі три мікробіосенсиори (на основі ГОД, ЛОД та ГЛОД) виявились високоселективними до своїх субстратів: глюкози, лактату та глютаамату. Перехресного впливу продуктів ферментативних реакцій також не виявлено.

Ще однією з важливих характеристик біосенсорів є стабільність роботи та відтворюваність відгуків. Щоб дослідити цей показник ми протягом одного робочого дня з інтервалом 45 хвилин отримували відгуки трьох розроблених мікробіосенсорів на одну і ту ж суміш субстратів (100 мкМ глюкоза + 100 мкМ лактат + 100 мкМ глютаамат) (рис. 4), при цьому мікробіосенсиори весь час між вимірюваннями залишались у робочому буферному розчині за кімнатної температури. Вибрані для досліджень концентрації субстратів знаходились в межах лінійних діапазонів калібрувальних кривих мікробіосенсорів. З Рис.4 видно, що усі три мікробіосенсиори при одночасній квазібезперервній роботі протягом дня характеризувались високою відтворюваністю сигналів, з середньоквадратичним відхиленням не більше 7 % (sd). Отримані результати свідчать про можливість використання розроблених амперметричних мікробіосенсорів для одночасного мультианалізу усіх трьох субстратів.

Таблиця 2. Відгуки розроблених мікробіо-сенсорів на окремі субстрати та їх суміші (n=4).

Субстрати та їх суміші	Відгуки мікробіосенсора на основі ГОД, нА	Відгуки мікробіосенсора на основі ЛОД, нА	Відгуки мікробіосенсора на основі ГЛОД, нА
1,5 мМ Глюкоза	37.93±3,86	0	0
1,5 мМ Лактат	0	40.52±3,46	0
1,5 мМ Глютаамат	0	0	69.02±7,12
1,5 мМ Глюкоза + 1,5 мМ Лактат	36.51±5,44	39.80±5,36	0
1,5 мМ Глюкоза + 1,5 мМ Глютаамат	37.26±3,87	0	68.14±6,54
1,5 мМ Лактат + 1,5 мМ Глютаамат	0	40.26±4,23	68.62±6,96
1,5 мМ Глюкоза + 1,5 мМ Лактат + 1,5 мМ Глютаамат	36.60±5,23	38.92±5,66	67.71±7,50

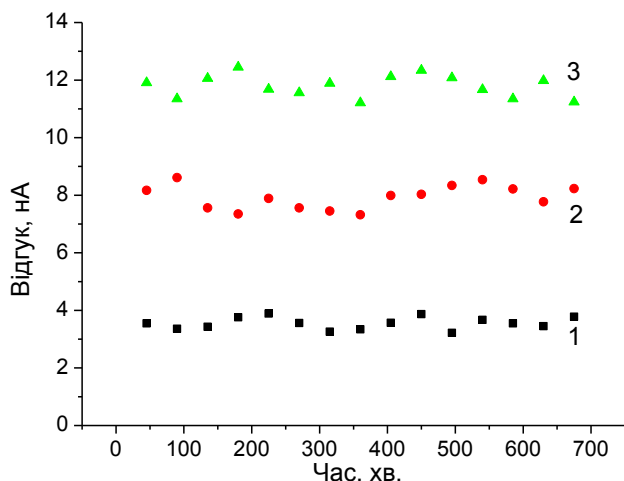


Рис. 4. Відтворюваність сигналів мікробіо-сенсорів на основі іммобілізованих ферментів (ГОД (1), ЛОД (2), ГЛОД (3)) протягом одного робочого дня. Концентрація субстратів — 100мкМ. Вимірювання проводились у 25мМ, фосфатному буфері, рН 7.4, при постійному потенціалі +0,6 В відносно Ag/AgCl електрода порівняння.

4. Висновки.

Мікробіосенсори на основі платинових мікроелектродів з іммобілізованими відповідними ферментами (ГОД, ЛОД, ГЛОД) було протестовано при одночасному визначенні трьох субстратів (глюкози, лактату та глютамату). Використані мікробіосенсори характеризувались високою чутливістю до специфічних субстратів з мінімальною межею визначення - 10 мкМ глюкози та 5 мкМ лактату і глютамату. Була показана непогана селективність мікроперетворювача відносно можливих електроактивних інтерферентів. Також показана висока селективність усіх, використаних в роботі, мікробіосенсорів відносно відповідних субстратів. Показано, що розроблені мікробіосенсори при мультианалізі субстратів характеризувалися високою відтворюваністю сигналів, з середньоквадратичним відхиленням не більше 7 %

Відповідно, мікробіосенсори на основі ГОД, ЛОД і ГЛОД можуть використовуватись для одночасного селективного мультианалізу глюкози, лактату та глютамату в біологічних зразках.

Робота виконана за фінансової підтримки НАН України в рамках комплексної науково-технічної програми «Сенсорні системи для

медико-екологічних та промислово-технологічних потреб».

Список використаної літератури

1. Дзядевич С. В., Солдаткін О. П., Наукові та технологічні засади створення мініатюрних електрохімічних біосенсорів // Київ: Наукова думка. — 2006. — 255с.
2. Herbreteau B., Lafosse M., Morin-Al-lory L., Dreux M. Automatic sugar analysis in the beet industry. Part I // High Res. Chromatogr.— 1990. — Vol.13. — P. 239–243.
3. Vercelotti S. V., Clarke M. A. Comparison of modern and traditional methods of sugar analysis // Int Int. Sugar J. — 1994.— Vol.96.— P. 437–445.
4. Daly D. J., O’Sullivan C. K., Guil-bault G.G., The use of polymers coupled with metallised electrodes to allow H₂O₂ detection in the presence of electrochemical interferences // Talanta. — 1999.— Vol. 49, №3. — P.667–678.
5. Yang Q., Atanasov P., Wilkins E., Development of needle-type glucose sensor with high selectivity // Sensors and Actuators B: Chemical. — 1998.— Vol.46, №3. — P.249–256.
6. Sakslund H., Wang J., Lu F., Ham-merich, O., Development and evaluation of glucose microsensors based on electroche-mical codeposition of ruthenium and glucose oxidase onto carbon fiber microelectrodes // Journal of Electroanalytical Chemistry.— 1995.— Vol.397, №1–2.— P.149–155.
7. Wang J., Angnes L., Miniaturized glucose sensors based on electrochemical codeposition of rhodium and glucose oxidase onto carbon-fiber electrodes // Analytical Chemistry.—1992. —Vol.64, №4. — P.456–459.
8. White S. F., Turner A. P. F., Bilitewski U., Schmid R. D., Bradley J., Lactate, glutamate and glutamine biosensors based on rhodinized carbon electrodes // Analytica Chimica Acta.— 1994. — Vol.295, №3. — P.243–251.
9. Солдаткін О. О., Щувайло О. М., Сеспугліо Р., Солдаткін О. П., Розробка високочутливого та селективного ампероме-

- тричного перетворювача для створення in vivo біосенсорів // Sensor Electronics and Microsystem Technologies. — 2010, — Т.1(7), N. 2, — С. 51–60.
10. O'Neill R. D., Chang S.-C., Lowry J. P., McNeil C. J., Comparisons of platinum, gold, palladium and glassy carbon as electrode materials in the design of biosensors for glutamate // Biosensors and Bioelectronics.-2004.— Vol.19, №11.— P.1521–1528.
 11. Zhang Y., Hu Y., Wilson G. S., Moatti-Sirat D., Poitout V., Reach G., Elimination of the acetaminophen interference in an implan-table glucose sensor // Analytical Chemistry.-1994.— Vol.66, №7.— P.1183–1188.
 12. Moussy F., Harrison D. J., O'Brien D. W., Rajotte R. V., Performance of subcutaneously implanted needle-type glucose sensors employing a novel trilayer coating // Analytical Chemistry. — 1993. — Vol.65, №15. —P.2072-2077.
 13. Yang Q., Atanasov P., Wilkins E., Development of needle-type glucose sensor with high selectivity // Sensors and Actuators B: Chemical. — 1998. —Vol.46, №3. — P.249–256.
 14. Schuvailo O. M., Soldatkin O. O., Lefebvre A., Cespuglio R., Soldatkin A. P., Highly selective microbiosensors for in vivo measurement of glucose, lactate and glutamate // Analytica Chimica Acta — 2006. — Vol.573. — P.110–116.
 15. Kelly S. C., O'Connell P. J., O'Sullivan C. K., Guilbault G. G., Development of an interferent free amperometric biosensor for determination of L-lysine in food // Analytica Chimica Acta. — 2000. — Vol.412, №1–2. — P.111–119.