

# ДЕГРАДАЦІЯ, МЕТРОЛОГІЯ І СЕРТИФІКАЦІЯ СЕНСОРІВ

## SENSOR'S DEGRADATION, METROLOGY AND CERTIFICATION

УДК 543.94+57.088.1

### МЕТОДИКА ТЕСТУВАННЯ КОНДУКТОМЕТРИЧНИХ ПЕРЕТВОРЮВАЧІВ ДЛЯ ПОДАЛЬШОГО БІОСЕНСОРНОГО ВИКОРИСТАННЯ

*О. Є. Дудченко<sup>1,2</sup>, М. Й. Мацішин<sup>1,2</sup>, В. М. Пешкова<sup>1,2</sup>, О. О. Солдаткін<sup>1,2</sup>, О. П. Солдаткін<sup>1,2</sup>,  
С. В. Дзядевич<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, 03143, м. Київ, вул. Заболотного,  
150, dc182@yandex.ru

<sup>2</sup>Інститут високих технологій Київського національного університету ім. Тараса Шевченка,  
02003, м. Київ, просп. Глушкова, 4 г

### МЕТОДИКА ТЕСТУВАННЯ КОНДУКТОМЕТРИЧНИХ ПЕРЕТВОРЮВАЧІВ ДЛЯ ПОДАЛЬШОГО БІОСЕНСОРНОГО ВИКОРИСТАННЯ

*О. Є. Дудченко, М. Й. Мацішин, В. М. Пешкова, О. О. Солдаткін, О. П. Солдаткін,  
С. В. Дзядевич*

**Анотація.** В роботі розроблено універсальну методику тестування кондуктометричних перетворювачів з метою подальшого їхнього використання при створенні ферментних біосенсорів. Така процедура передбачає контроль основних характеристик перетворювачів (чутливість, ідентичність каналів перетворювача, співвідношення сигнал/шум тощо) та дозволяє виявити різноманітні дефекти в них. Використовуючи розроблену методику було протестовано низку перетворювачів з електродами на основі золота, нікелю, нержавіючої сталі та платини, з різною геометрією та технологією виготовлення. Обрано оптимальні для створення біосенсорів перетворювачі. Показано, що відібрані перетворювачі можна з успіхом використовувати при роботі на різних видах приладів для кондуктометричних вимірювань. Застосування запропонованої методики може значно спростити та скоротити затрати часу на процес відбору кондуктометричних перетворювачів з оптимальними аналітичними параметрами для подальшого створення ефективних високочутливих біосенсорів.

**Ключові слова:** кондуктометричний біосенсор; гребінчастий електрод, імпедансна спектроскопія

## METHOD OF TESTING CONDUCTOMETRIC TRANSDUCERS FOR FURTHER BIOSENSOR APPLICATION

*O. Y. Dudchenko, N. J. Matsishin, V. N. Pyeshkova, O. O. Soldatkin, O. P. Soldatkin,  
S. V. Dzyadevych*

**Abstract.** A universal method of testing conductometric transducers for further creation of enzyme-based biosensors is described. The method provides for control of main characteristics of transducers (sensitivity, identity of transducer channels, signal-to-noise ratio, etc.), which permits to reveal various defects and damages. Using the method developed, we tested a number of transducers with gold, platinum, nickel, stainless steel electrodes of different geometry and production technology. Optimal variants were chosen for the development of biosensors. It was shown that the transducers chosen may be successfully used with different devices for conductometric measurements. Application of the method proposed can save time and facilitate the procedure of selection of conductometric transducers with optimal analytical parameters in further endeavors to develop effective, highly sensitive biosensors.

**Keywords:** conductometric biosensor, interdigitated electrode, impedance spectroscopy

## МЕТОДИКА ТЕСТИРОВАНИЯ КОНДУКТОМЕТРИЧЕСКИХ ПРЕОБРАЗОВАТЕЛЕЙ ДЛЯ ДАЛЬНЕЙШЕГО БИОСЕНСОРНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

*А. Е. Дудченко, Н. Й. Мацишин, В. Н. Пешкова, А. А. Солдаткин, А. П. Солдаткин,  
С. В. Дзядевич*

**Аннотация.** В работе разработана универсальная методика тестирования кондуктометрических преобразователей с целью дальнейшего их использования при создании ферментных биосенсоров. Такая процедура предвидит контроль основных характеристик преобразователей (чувствительность, идентичность каналов преобразователя, соотношение сигнал/шум и т.д.) и позволяет обнаружить разнообразные дефекты в них. Используя разработанную методику было протестировано ряд преобразователей с электродами на основе золота, никеля, нержавеющей стали и платины с разной геометрией и технологией производства. Выбрано оптимальные для создания биосенсоров преобразователи. Показано, что отобранные преобразователи можно успешно использовать при работе на разных видах приборов для кондуктометрических измерений. Использование предложенной методики может значительно упростить и сократить затраты времени на процесс отбора кондуктометрических преобразователей с оптимальными аналитическими параметрами для дальнейшего создания эффективных высокочувствительных биосенсоров.

**Ключевые слова:** кондуктометрический биосенсор, гребёнчатый электрод, импедансная спектроскопия

## ВСТУП

Постійний розвиток аналітичних технологій, що тісно пов'язаний з загальним науково-технічним поступом, забезпечується як економічними чинниками, так і сучасним станом мікроелектроніки. Потреба у високоточних, експресних, та водночас якомога дешевших методах визначення речовин існує в майже усіх галузях народного господарства, а саме харчове та фармацевтичне виробництво, біотехнологія, екологічний моніторинг, медична сфера, тощо. Біосенсорні методи визначення сполук стрімко розвиваються в останні десятиріччя, адже здатні забезпечити ряд переваг над традиційними методами кількісного та якісного аналізу [1].

З-поміж відомих електрохімічних біосенсорних методів визначення кондуктометричний метод реалізується переважно за відсутності електродних електрохімічних реакцій, технологічно складних електродів порівняння, та дозволяє уникнути фарадеївських процесів на електродах, використовуючи змінну напругу малої амплітуди [2]

Ефективними перетворювачами для створення кондуктометричних біосенсорів є гребінчасті тонкоплівчасті електроди – мініатюрні датчики, сконструйовані на основі двох зустрічно-гребінчастих металевих електродів для вимірювань провідності шару розчину, що знаходиться безпосередньо біля поверхні електродів [3, 4].

При використанні кондуктометричних біосенсорів з метою реєстрації змін провідності, застосовують диференційні методи вимірювань, що дозволяє уникнути впливу на величину сигналу фонові провідності, температури середовища та інших можливих неінформативних параметрів. Такий диференційний метод вимірювання може бути реалізовано шляхом використання спарених кондуктометричних датчиків у вигляді тонкоплівчастих зустрічно-гребінчастих електродів, підключених до мостової вимірювальної схеми [5].

На практиці з'ясовано, що існує ряд обставин, які перешкоджають проведенню коректних кондуктометричних вимірювань,

як то недостатня чутливість перетворювачів та погана ідентичність каналів, зумовлені недосконалою технологією виготовлення, неповною очисткою їх робочих поверхонь, механічними пошкодженнями при експлуатації та іншими дефектами [6, 7].

Тому вельми виправданою є потреба у методиці швидкої та нескладної оцінки базових характеристик кондуктометричних перетворювачів, від яких залежить робота створених на їх основі біосенсорів. В цій роботі описується ряд процедур, що повинні дозволити оцінити придатність кондуктометричних перетворювачів для подальшого їх використання при розробці біосенсорів.

## 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

### 2.1. Реактиви

У дослідженнях використовувався ліофілізований фермент глюкозооксидаза (ГОД) з *Penicillium vitale* виробництва фірми КНПО “Діагностикум” (Львів, Україна) з активністю 130 од. акт./мг; розчин хлориду калію, бичачий сироватковий альбумін (V фракція), 1 %-й водний розчин глутарового альдегіду та глюкоза виробництва „Sigma-Aldrich Chemie” (Німеччина); фосфатний розчин ( $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ ) виробництва “Merck” (Німеччина). Інші неорганічні сполуки, використані в роботі, були вітчизняного виробництва зі ступенем чистоти «х.ч.» і «ч.д.а.».

### 2.2. Кондуктометричний планарний перетворювач

У роботі використовувалися тонкоплівчасті кондуктометричні перетворювачі (КП), виготовлені на основі електродів з різних металів: золота, платини, нікелю та сплаву нержавіючої сталі. Кожен з КП є мініатюрним датчиком на основі двох пар зустрічно-гребінчастих металевих електродів, нанесених на підкладку з ситалу або скла розміром 5×30 мм.

Площа чутливої поверхні кожної електродної пари становила близько 1,5 мм<sup>2</sup> для КП з золота, 1,8 мм<sup>2</sup> для КП з платини, та

1,9 мм<sup>2</sup> для КП з нікелю та сплаву нержавіючої сталі. Відстань між зустрічними контактами гребінок в КП з золота, нікелю та сплаву нержавіючої сталі складала 20 мкм, з платини – 10 мкм.

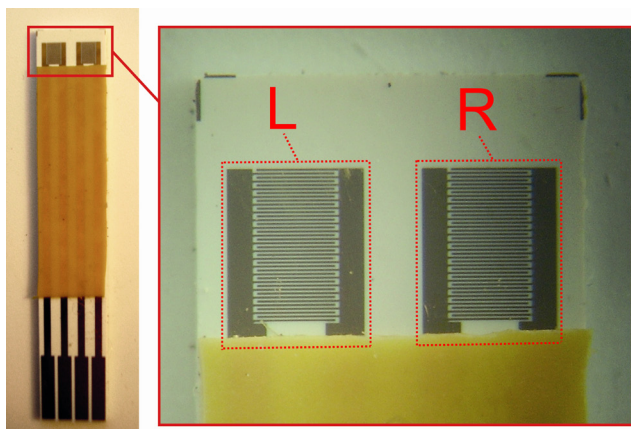


Рис. 1. Зовнішній вигляд кондуктометричного перетворювача на основі диференційної пари золотих гребінчастих електродів: L – ліва пара електродів, R – права пара електродів.

### 2.3. Метод імпедансної спектроскопії та вимірювальна система для електрохімічних вимірювань Voltalab 40 (Radiometer Analytical, Франція)

Вимірювальним приладом слугувала багатофункціональна електрохімічна система VoltaLab® 40 (PGZ 301) з пакетом програмного забезпечення VoltaMaster4 (Radiometer Analytical, Франція). КП підключався до вимірювальної системи і занурювався у робочу комірку з розчином, в якій постійно відбувалось перемішування за допомогою магнітної мішалки.

Вимірювання виконували при напрузі 10 мВ в діапазоні частот змінного струму 1 Гц – 100 кГц при температурі 20 – 22°C. До вимірювальної комірки з бідистильованою водою об'ємом 2 мл вносили розчин хлориду калію в різних концентраціях, моделюючи цим зміну провідності, яка викликається ферментативною реакцією в приелектродній ділянці КП в товщі біологічної мембрани. Сигнали оцінювали по відрізу кривої імпедансного спектру, що проектується на вісь абсцис, активний опір  $Z_{real}$ . В ході вимірювань були одержані імпедансні

спектри при додаванні розчину хлориду калію для КП, виготовлених на основі електродів з різних металів. Оцінювалися частотні залежності реальної складової адмітансу від концентрації розчину хлориду калію. При цьому одну пару електродів умовно приймали за праву, позначаючи «R», а іншу – за ліву, позначаючи «L». Усі вимірювання повторювалися щонайменше три рази з подальшим статистичним врахуванням похибки вимірювань.

### 2.4. Метод кондуктометричних вимірювань та стаціонарна експериментальна установка (Інститут молекулярної біології та генетики НАН України)

Для вимірювання зміни провідності в приелектродному шарі КП в нашій роботі було використано вимірювальну установку, схематично зображену на рис. 2.

З низькочастотного генератора сигналів ГЗ-118 (Україна) (1) змінна напруга з частотою 100 кГц та амплітудою 10 мВ подається на диференційну пару електродів КП (2), розміщеного в робочій комірці (8) з досліджуваним розчином, який перемішується за допомогою магнітного перемішувача пристрою (7). Отриманий на електродах перетворювача сигнал знімається з опорів навантаження  $R_H = 1$  кОм (3) та надходить через диференційний підсилювач “Unipan-233-6” (Польща) (4) на фазочутливий нановольтметр “Unipan-232-B” (Польща) (5), а далі подається на реєструючий пристрій (6).

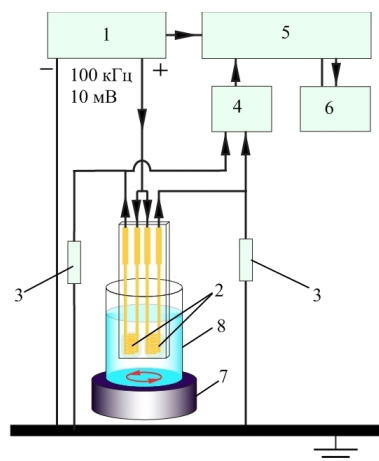


Рис. 2. Схема установки для проведення кондуктометричних вимірювань

Після одержання базової прямої лінії на реєструючому пристрої, до вимірювальної комірки об'ємом 2 мл з бідистильованою водою додавали розчин хлориду калію, та реєстрували одержаний диференційний кондуктометричний відгук, зумовлений різницею зміни провідності досліджуваного розчину між обома парами електродів. Наступним ті ж самі маніпуляції проводили при по чергово від'єднаних парах електродів (L) та (R), одержуючи відгук кожної з пар електродів окремо.

### 2.5. Методика проведення вимірювань кондуктометричним портативним приладом МХР-3 (Інститут електродинаміки НАН України)

Вимірювальним приладом був портативний кондуктометр МХР-3, розроблений та виготовлений в Інституті електродинаміки НАН України (Рис.3). До сенсорного блоку входить диференційний КП (1), тримач КП (2) і штатив (3). При проведенні вимірювань на основу штативу встановлюють робочу комірку з досліджуванним розчином (4), а весь сенсорний блок встановлюють на магнітний перемішувач (5). Портативний прилад МХР-3 (6) підключається до електромережі через адаптер мережі живлення (7), до сенсорного блоку сполучними дротами через контакт «8», а до персонального комп'ютера (9) зі встановленим пакетом відповідного програмного забезпечення через контакт «10».

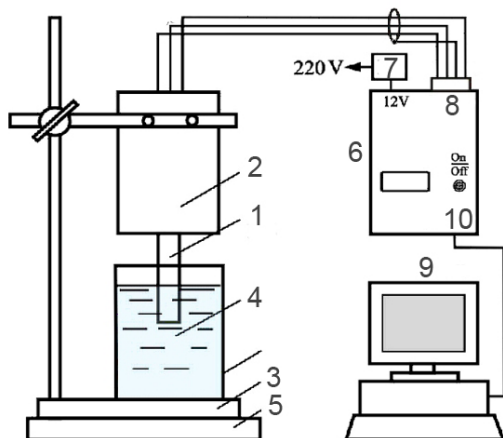


Рис.3. Схема підключення приладу МХР-3 в систему для кондуктометричних вимірювань.

Вимірювання проводили при частоті струму 37 кГц та амплітуді 14 мВ. Після підключення КП (1) до тримача (2) одержували початкову базову лінію на графіку, а далі додавали досліджувану речовину (хлорид калію у випадку перевірки перетворювачів за описаною методикою, та глюкоза у випадку роботи з біосенсором для визначення глюкози). Відгук реєстрували на екрані персонального комп'ютера.

### 2.6. Методика створення біоселективних мембран

Для створення біосенсорів для визначення глюкози готували розчин для отримання робочої ферментної мембрани наступного складу: глюкозооксидаза – 5 %, бичачий сироватковий альбумін – 5 %, гліцерин – 20 % у 20 мМ фосфатному буферному розчині, рН 7,5. Розчин для отримання референтної мембрани замість наважки ферменту містив тільки 10 % БСА для того, щоб вміст білку в обох мембранах був однаковим.

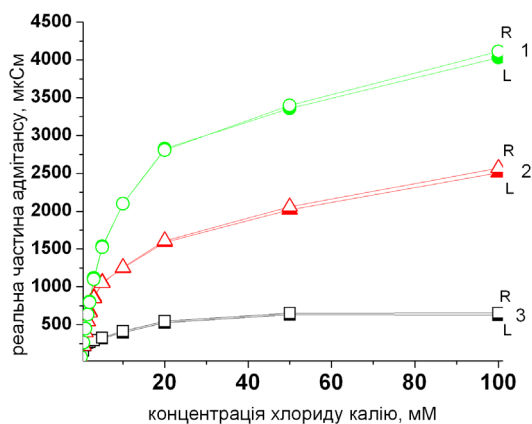
Нанесення розчинів на поверхню відповідної пари електродів проводили мікропіпеткою «Eppendorf» об'ємом 0,1–2,5 мкл. На одну пару електродів наносили 50–100 нл суміші розчину для робочої мембрани з 1% водним розчином глутарового альдегіду, на іншу – 50–100 нл суміші розчину для мембрани порівняння з 1% водним розчином глутарового альдегіду. Після цього щойно одержані біосенсори витримували протягом 15 хв під витяжною шафою при кімнатній температурі. Перед початком роботи біосенсори щонайменше 10 хвилин відмивали у фосфатному буферному розчині з метою видалення глутарового альдегіду, що не зв'язався.

## 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

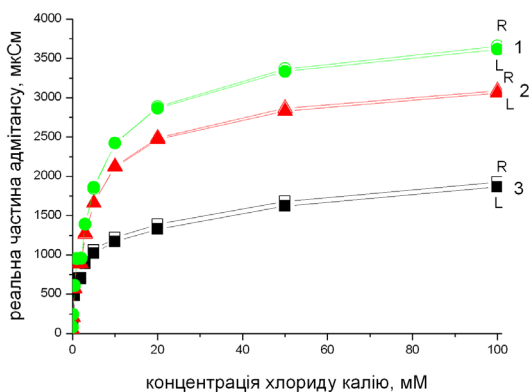
### 3.1. Дослідження імпедансних характеристик кондуктометричних перетворювачів.

Електрохімічна імпедансна спектроскопія (EIS) є ефективним потужним методом дослідження електрохімічних характеристик розчинів, з її допомогою можна визначити чутливість системи до змін

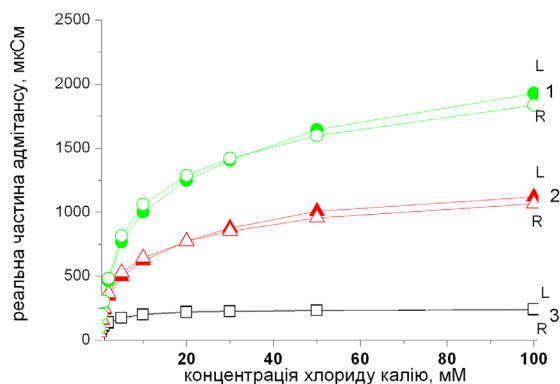
провідності на різних частотах змінного струму, що дозволяє отримати цілісне уявлення про електрохімічні параметри системи [8]. Хлорид калію є підходящою речовиною для тестування КП. Зручність його використання пояснюється близькими значеннями граничної еквівалентної провідності ( $\lambda_{K^+}=73.5 \cdot 10^4 \text{ Ом}^{-1} \text{ м}^2 \text{ моль}^{-1}$ ,  $\lambda_{Cl^-}=76,3 \cdot 10^4 \cdot \text{ Ом}^{-1} \text{ м}^2 \text{ моль}^{-1}$  при  $25^\circ\text{C}$ ) і коефіцієнтів дифузії іонів  $K^+$ ,  $Cl^-$  ( $D_{K^+}=1.96 \cdot 10^9 \text{ с}^{-1} \text{ м}^2$ ,  $D_{Cl^-}=2,04 \cdot 10^9 \cdot \text{ с}^{-1} \text{ м}^2$ ) [9]. Метод ЕІС використовувався для тестування 4 груп електродів, виготовлених з різних матеріалів (золото, платина, нікель, сплав нержавіючої сталі). В результаті експериментів були одержані імпедансні спектри для водних розчинів хлориду калію з концентраціями (0,5; 1; 2; 3; 5; 10; 20; 30; 50; 100 мМ). На рис. 4 зображено адаптовані для аналізу результати у вигляді залежності реальної частини адмітансу від концентрації хлориду калію для трьох частот - 10, 50 та 100 кГц.



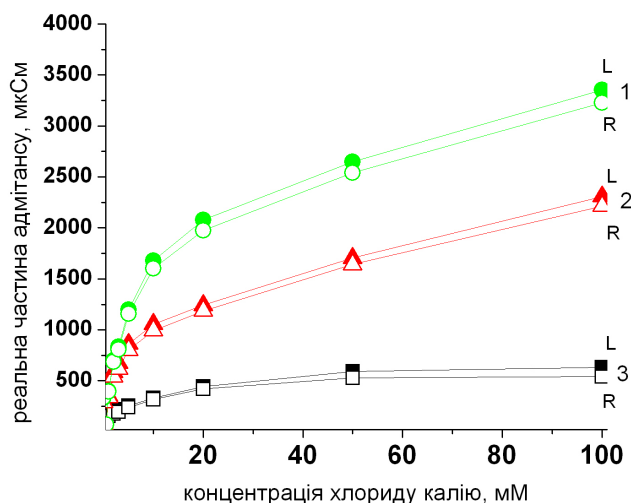
а)



б)



в)



г)

Рис.4. Графіки залежності реальної складової адмітансу від концентрації хлориду калію на частотах 100 кГц (1), 50 кГц (2), 10 кГц (3) для правої (R) та лівої (L) пар електродів з золота (а), платини (б), нікелю (в), сплаву нержавіючої сталі (г).

Як видно з графіків (рис. 4), для всіх типів КП, зміна реальної частини адмітансу при додаванні хлориду калію по-різному зростає з підвищенням частоти струму в залежності від металу КП. Розбіжність відгуків лівої пари електродів (L) та правої (R) кожного з КП свідчить про еквівалентність його каналів: чим більша величина цієї розбіжності, тим більше неінформативного вкладу в сигнал можна одержати при роботі.

### 3.1.1. Перевірка чутливості кондуктометричного перетворювача

Чутливістю каналу перетворювача називається відгук на одиницю внесеного аналіту (в випадку внесення солі це  $\Delta Y_{Re} / \Delta C_{KCl}$ ), що чисельно визначається похідною від концентраційної залежності наведеної Рис. 4. Візьмемо дану похідну чисельно і приведемо її значення для однієї з пар електродів типових перетворювачів з золота, платини, нікелю, та сплаву нержавіючої сталі (рис. 5). Результати на рисунках приведено лише для однієї пари електродів, адже для наведених КП значення по обох парах збігались не менш ніж на 95%. Як можна побачити, чутливість залежить від концентрації хлориду калію нелінійно, чутливість в низькопровідних розчинах відчутно вище і відносно швидко спадає з ростом концентрації хлориду калію. Найкращими перетворювачами вважаються такі, в яких зменшення чутливості відбувається повільно і є можливість роботи в широкому діапазоні концентрації солі. Продемонстровано що даний діапазон практично завжди не перевищує 10мМ в найкращому випадку, для низьких частот він відчутно менший.

Аналізуючи данні, зображені на рис.5, видно, що показник  $dY_{Re}/dC(KCl)$ , який виражає чутливість до хлориду калію загалом найвищий у КП з платини, та найнижчий для КП з нікелю. Крім того, виконавши відповідний експеримент і проаналізувавши отримані результати можна відібрати для подальшої роботи лише найкращі перетворювачі і видалити брак. Наприклад, з графіків видно (рис. 4), що КП «Au2», «Ni2» володіють суттєво нижчою чутливістю до хлориду калію ніж інші КП в кожній групі. Це свідчить про можливі дефекти їх виготовлення, пошкодження при використанні тощо, тому варто уникати використання таких КП при подальшому створенні кондуктометричних біосенсорів.

### 3.1.2. Перевірка ідентичності пар електродів кондуктометричних перетворювачів

В більшості кондуктометричних біосенсорних систем використовується диференційний режим вимірювання, що

полягає у зчитуванні різниці сигналів з біоселективної робочої мембрани та референтної мембрани. Це дозволяє підвищити чутливість сенсора та мінімізувати шуми та неінформативні впливи (температура, рН, світло та ін.). Одним з ключових параметрів КП є ідентичність обох пар електродів, адже це дозволяє уникнути похибок вимірювання при функціонуванні у диференційному режимі. Неідентичність пар електродів може бути спричинена недосконалою технологією виготовлення КП, механічним пошкодженням, або забрудненням їх активних поверхонь. Погана диференційність датчика є головною причиною некоректної його роботи, внаслідок різної чутливості до зміни провідності кожної пари електродів КП.

Щоб переконатися в правильній роботі диференційного режиму необхідно впевнитися в тому, що чутливості правої (R) та лівої (L) пар електродів близькі, а різниця між відгуками двох пар електродів є невеликою і постійною. Якщо ця різниця відгуків мало змінюється в залежності від зміни концентрації аналізованого розчину, то диференційний режим працює ефективно і може подавляти

неінформативний сигнал. За формулою

$$\left( \frac{Y_{Re(L)} - Y_{Re(R)}}{Y_{Re(L)}} \right) \cdot 100 \text{ розраховували}$$

різницю відгуків між двома парами електродів,

де  $Y_{Re(L)}$  та  $Y_{Re(R)}$  – реальні складові адмітансу по лівій та правій парі електродів відповідно. За цим параметром було протестовано 4 групи КП, виготовлених з різних матеріалів (золото, платина, нікель, сплав нержавіючої сталі) (рис.6). При цьому за межу критичної розбіжності значень реальної складової адмітансу між парами електродів кондуктометричного перетворювача прийняли 3% відхилення.

Відзначається, що майже в усіх КП різниця між відгуками на хлорид калію обох пар електродів (R і L) знаходились в межах 3%. Лише для КП «Au3», «Ni3», «Fe3» ця розбіжність чутливості пар електродів перевищувала значення 3% і може в подальшому критично позначитись на

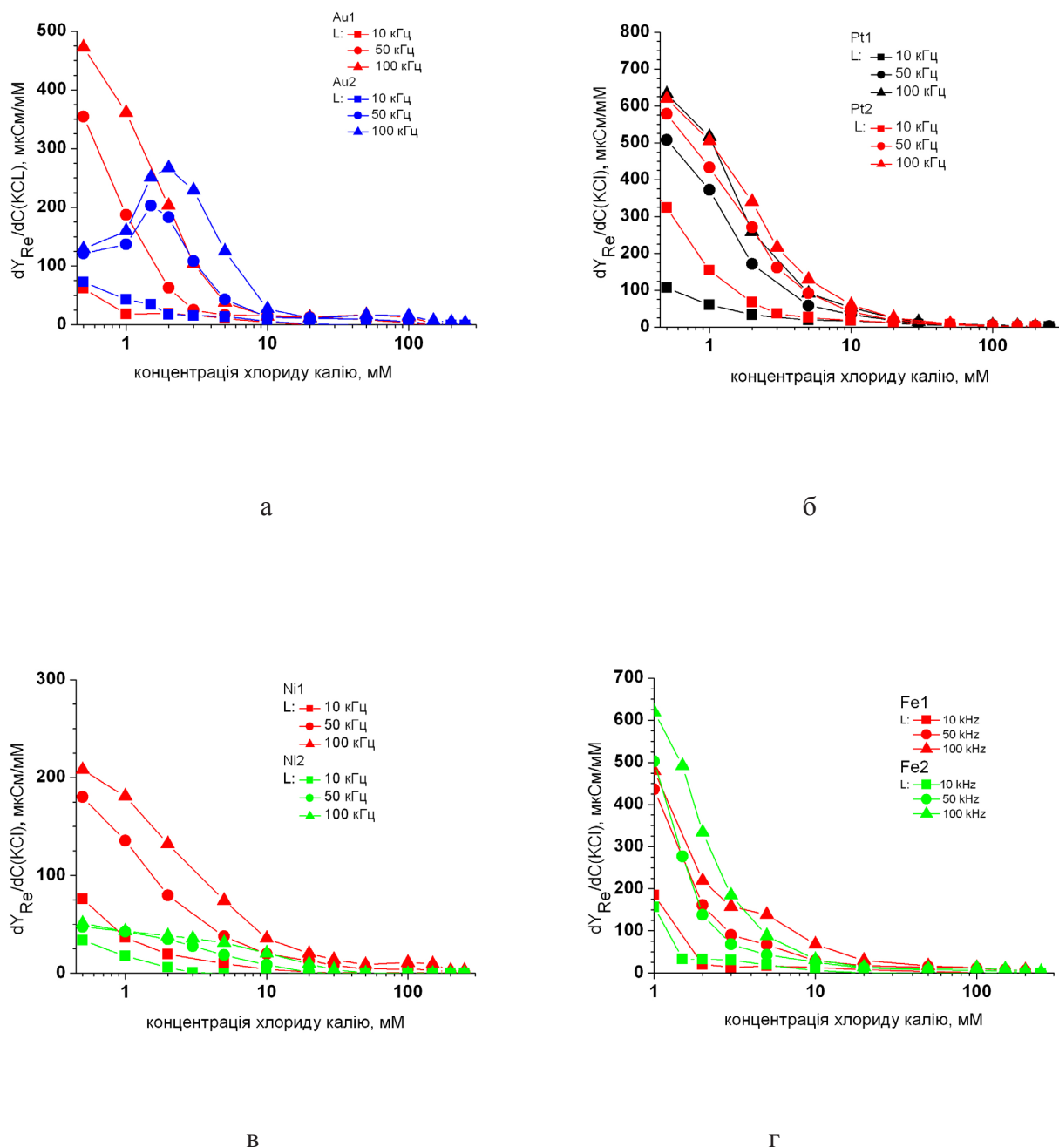
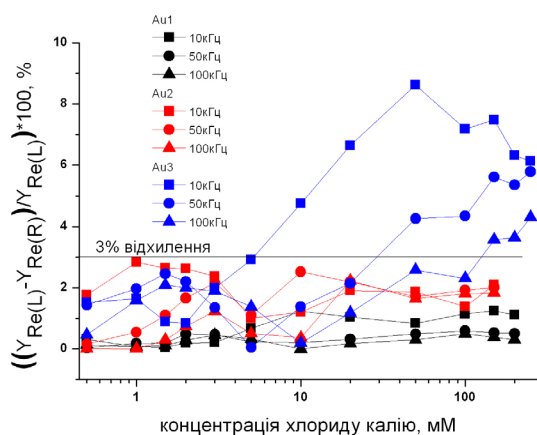
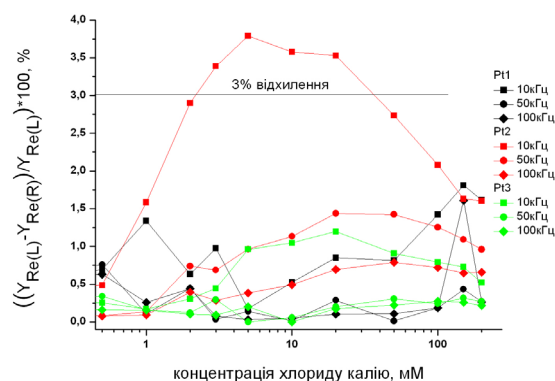


Рис.5. Графік залежності чутливості кондуктометричних перетворювачів з золота (а), платини (б), нікелю (в) та сплаву нержавіючої сталі (г) від концентрації хлориду калію у вимірювальній комірці

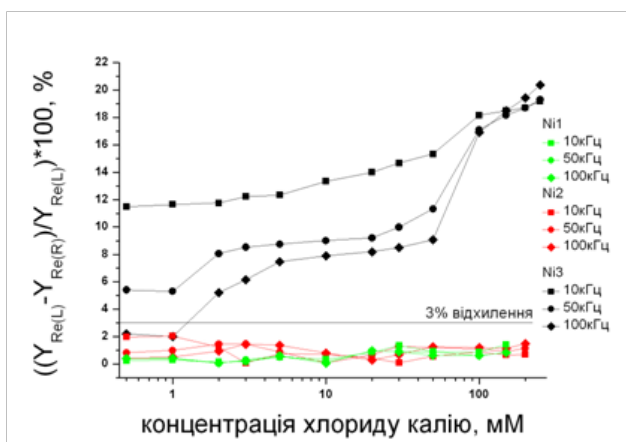




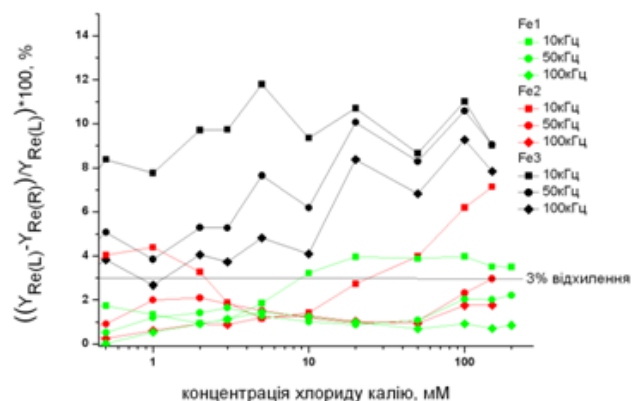
а



б



в



г

Рис. 6. Графіки залежності різниці реальної складової адмітансу між парами електродів кондуктометричних перетворювачів з золота (а), платини (б), нікелю (в), та сплаву нержавіючої сталі (г) від концентрації хлориду калію у вимірювальній комірі

роботі біосенсорів, виготовлених на основі цих КП. Відповідно, дані перетворювачі були відбраковані, оскільки слід уникати використання КП, що характеризуються різницею чутливості пар електродів понад 3%. На КП «P2» була отримана розбіжність чутливості пар електродів понад 3% при використанні частоти 10 кГц, що також свідчить про необхідність його відбракування, або доцільність використання вищих частот струму при роботі з такими КП.

### 3.1.3. Оцінка співвідношення шум/сигнал кондуктометричних перетворювачів

Для коректної роботи перетворювача важливо також оцінити співвідношення його сигналу і шуму. Таку оцінку можна провести наступним чином. В якості малого параметра вибирається вузький діапазон концентрації  $\Delta C_{KCl}$ , що відповідає поділці шкали (для платинового перетворювача P2  $\Delta C_{KCl} \sim 0,1$  mM). Корисний сигнал ототожнюється з чутливістю біосенсора  $S = dY_{Re} / dC_{KCl}$ . Шум дрейфу базової лінії вважається рівним різниці чутливостей каналів ( $\Delta S$ ) та варіацією показів по лівій і правій границі поділки ( $\delta S$ ).

$$\text{Noise} = \delta S + \Delta S = \frac{d^2 |Y_{Re}^R - Y_{Re}^L|}{dC_{KCl}^2} \Delta C_{KCl} + |S_R - S_L|.$$

Проведені дослідження демонстрували дві закономірності: високочастотні криві поведуться більш стабільно і мають краще співвідношення сигнал/шум, робота в насичених сольових розчинах є більш нестабільною.

### 3.2. Порівняння чутливості пар електродів кондуктометричного перетворювача в диференційному та моно режимах роботи

Для порівняння чутливості пар електродів КП застосували також стаціонарну експериментальну установку для кондуктометричних вимірювань, адже вона дозволяє проводити вимірювання як в диференційному режимі, що найчастіше використовується при роботі з біосенсорами, так і моно режимі, коли одержують сигнал тільки з однієї пари електродів.

В роботі було протестовано в диференційному та моно режимах низку

КП, виготовлених на основі різних металів. За допомогою усіх перетворювачів на трьох частотах (10, 50 та 100 кГц) було отримано відгуки на додавання у вимірювальну комірку різних концентрацій хлориду калію. Одержані дані представлені на Рис. 7.

Рис. 7. Діаграми частотної залежності чутливості пар електродів типових КП з золота (а), платини (б), нікелю (в), сплаву нержавіючої сталі (г) від концентрації хлориду калію, одержані в моно та диференційному режимах.

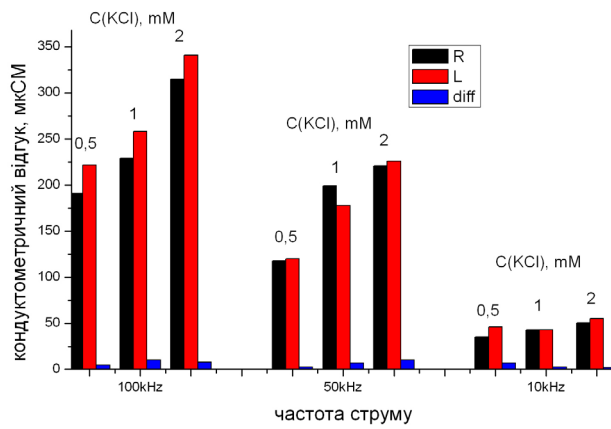
Помітно, що кондуктометричний відгук на внесення хлориду калію зростає при підвищенні частоти струму. При використанні частоти 100 кГц відзначається найбільший приріст відгуку, а при частоті 10 кГц – найнижчий, тому для досягнення найбільшої чутливості краще проводити роботу КП на високих частотах.

Завдяки можливості проводити вимірювання кожною з пар електродів окремо на даній установці можна оцінити також розбіжність відгуків між парами електродів КП. Наприклад, для типового КП з платини диференційна здатність виявилась найвищою, адже різниця відгуків між обома парами не перевищувала 3%.

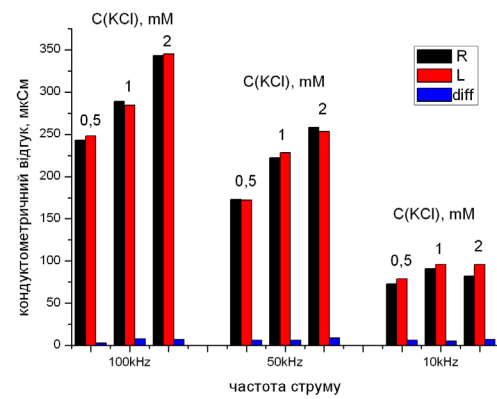
Таким чином показано, що такі тестувальні процедури можна застосовувати і використовуючи стаціонарну експериментальну установку для кондуктометричних вимірювань.

### 3.3. Перевірка роботи біосенсора на основі відібраних кондуктометричних перетворювачів для визначення глюкози

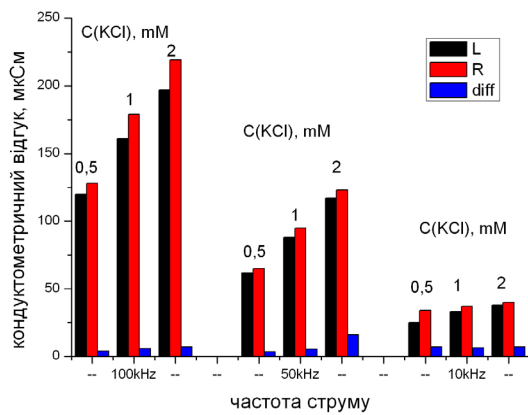
Для апробації обраних за описаною в даній роботі методикою КП з найкращими показниками чутливості та диференційності на їх основі було створено біосенсори для визначення глюкози. Їх роботу перевіряли протягом одного робочого дня на трьох різних приладах: на установці для кондуктометричних вимірювань (УКВ), портативному приладі для кондуктометричних вимірювань (ПКВ), та на приладі Voltalab 40 (PGZ 301) (принципи роботи кожної установки дивись в «Матеріали і методи»). Для оцінки функціональності самих біосенсорів та перевірки можливості



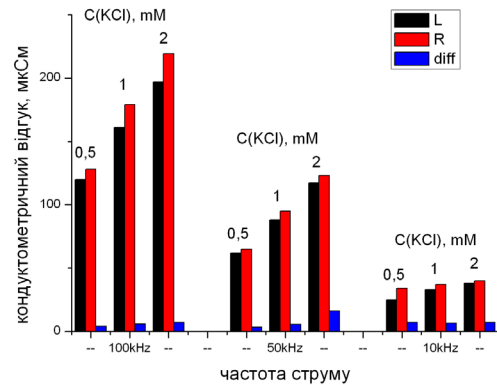
а



б



в



г

Рис. 7. Діаграми частотної залежності чутливості пар електродів типових КП з золота (а), платини (б), нікелю (в), сплаву нержавіючої сталі (г) від концентрації хлориду калію, одержані в моно та диференційному режимах.

їх роботи з усіма трьома різними приладами було отримано калібрувальні криві біосенсорів (рис. 8).

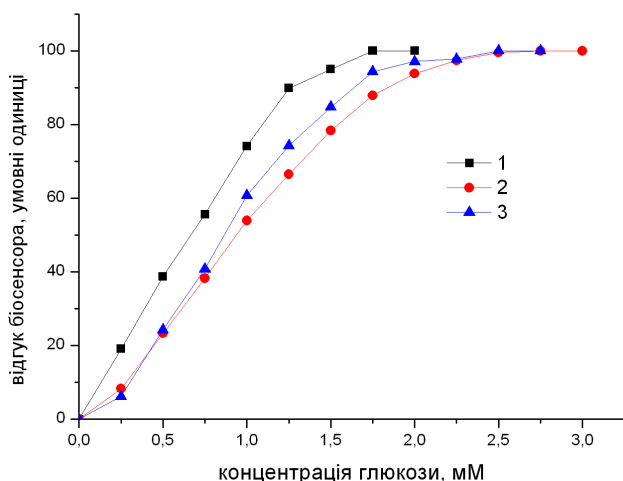


Рис. 8. Графіки залежності відгуків біосенсора від концентрації глюкози, при роботі на стаціонарній експериментальній установці для кондуктометричних вимірювань (1), на портативному приладі для кондуктометричних вимірювань (2), на приладі Voltalab 40 (PGZ 301) (3).

З рис. 8 видно, що калібрувальні криві біосенсора для визначення глюкози практично не відрізнялись одна від одної, лише дещо змінився лінійний діапазон визначення на різних приладах. Наприклад, при використанні ПКВ лінійний діапазон був 0 – 1,5 мМ, а при використанні УКВ та Voltalab 40 - 0 – 1,25 мМ. Мінімальна концентрація глюкози, яку дозволяв визначити такий біосенсор складала 0,01 мМ на УКВ, 0,005 мМ на ПКВ, та 0,001 мМ на Voltalab 40, при співвідношенні сигналу і шуму не менше 3.

При дослідженні відтворюваності показань біосенсора впродовж робочого дня вимірювали відгуки на повторні внесення однакової кількості глюкози до вимірювальної комірки на трьох приладах. Було з'ясовано, що стандартне відхилення результатів не перевищувало 5% при роботі на усіх трьох приладах.

Біосенсор проявляв високу селективність по відношенню до глюкози при роботі на усіх трьох установках, не реагуючи на такі інтерференти, як фруктоза, арабіноза, лактоза, мальтоза, галактоза, маноза.

## ВИСНОВОК

В роботі розроблено методику тестування кондуктометричних перетворювачів, яка здатна забезпечити нескладний і швидкий відбір оптимальних по своїм характеристикам перетворювачів для використання в складі біосенсорних систем. Запропонована методика дозволяє, промірявши залежність провідності від концентрації солі, отримати ряд важливих робочих характеристик перетворювача та створити так званий «паспорт перетворювача»:

- Чутливість перетворювача в різних середовищах ( $S = \frac{dY_{Re}}{dC_{KCl}}$ ), що зале-

жить від частоти.

- Оцінка ідентичності його каналів, що також залежить від частоти.
- Оцінка співвідношення шум/сигнал, знаючи різницю чутливості каналів, що також залежить від частоти.

Протестовано кондуктометричні перетворювачі на основі електродів з золота, платини, нікелю, та нержавіючої сталі на різних частотах (10, 50 та 100 кГц). Виявилось, що золоті та платинові перетворювачі характеризувались найвищою чутливістю до хлориду калію, найкращою ідентичністю каналів та найменшим співвідношення шум/сигнал.

Відібрані за допомогою запропонованої методики перетворювачі були використані при створенні біосенсорів для визначення глюкози. Показано, що отримані біосенсори можуть з успіхом функціонувати у складі біосенсорних систем на основі УКВ, ПКВ та Voltalab 40.

Запропонована методика здатна систематизувати, суттєво полегшити, та скоротити витрати часу на процес вибору кондуктометричних перетворювачів на етапі створення кондуктометричних біосенсорів.

Автори вдячні за фінансову підтримку НДР проектів «Розробка біосенсорних тест систем та підходи до покращення їхніх аналітичних характеристик» та «Розробка електрохімічних і фотохімічних біосенсорів з використанням мембран на основі хлоропластів і ферментів» від Державного агентства з питань науки, інновації та інформатизації України

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».

#### Список літератури

1. A. Turner, B. Malhotra. *Advances in Biosensors: Perspectives in Biosensors* // Amsterdam: Jai Press, Vol.5, pp. 196 (2003);
2. S. V. Dzyadevych. *Conductometric enzyme biosensors: theory, technology, application* // *Biopolym. Cell.*, 21(2), pp. 91 – 106 (2005).
3. A. R. Varlan, W. Sansen. *Characterisation of planar electrodes realised in planar microelectronic technology* // *Med Biol Eng Comput.*, 34(4), pp. 308 – 312 (1996).
4. S. V. Dzyadevych, A. A. Shulga, S. V. Patskovsky, V. N. Arkhipova, A. P. Soldatkin, V. I. Striha. *Thin-films conductometric transducer for enzyme biosensor* // *Russian Journal of Electrochemistry.*, 30(8), pp. 982-987 (1994).
5. S. V. Dzyadevych, A. P. Soldatkin. *Naukovi ta tekhnologichni zasady stvorennya miniatiurnyh elektrohimiichnyh biosensoriv*. Nauk. Dumka, K. 256 s. (2006)
6. V. G. Melnik, S. V. Dzyadevych, A. V. Ivashchuk, V. A. Ulyanova, Ya. I. Lepikh, V. O. Romanov. *The experimental studies of microelectronic transducers for conductometric biosensor systems* / *Sensor Electronics and Microsystem technologies.*, 2(8), pp. 81–90 (2011).
7. N. J. Matsishin, V. N. Pyeshkova, V. G. Melnik, A. L. Kukla, A. V. Mamykin, L. N. Semenycheva, S. V. Dzyadevych, A. P. Soldatkin. *Influence of characteristics of the system thin film transducer-buffer solution on conductometric biosensor functionality* // *Sensor Electronics and Microsystem technologies.*, 10(2), pp. 73–83 (2013).
8. E. Barsoukov, J. Ross Macdonald.

*Impedance Spectroscopy. Theory, Experiment and Applications*, 2<sup>nd</sup> edition. Wiley, N.Y., p. 616 (2005).

9. *Spravochnik po elektrohimii* // Pod. red. A.M. Sukhotina. Himiya, L. 488 s. (1981).

Стаття надійшла до редакції 04.11.2013 р.