

BIOSENSORS

БІОСЕНСОРИ

УДК 541.13+543.553.8+544.653.23

DOI <http://dx.doi.org/10.18524/1815-7459.2017.1.96439>

АДАПТАЦІЯ ПРОЦЕДУРИ НАНЕСЕННЯ ПОЛІФЕНІЛЕНДІАМІНОВОЇ МЕМБРАНИ НА ДИСКОВІ ПЛАТИНОВІ ПЕРЕТВОРЮВАЧІ

І. С. Кучеренко¹, О. В. Солдаткіна², Д. Ю. Кучеренко², О. О. Солдаткін^{1,2}, С. В. Дзядевич^{1,2}

¹Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, вул. Заболотного, 150, 03680, м. Київ, Україна;

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

e-mail авторів: kucherenko.i.s@gmail.com, olgasoldatkina@yahoo.com, didukh.d@gmail.com, alex_sold@yahoo.com, dzyad@yahoo.com.

АДАПТАЦІЯ ПРОЦЕДУРИ НАНЕСЕННЯ ПОЛІФЕНІЛЕНДІАМІНОВОЇ МЕМБРАНИ НА ДИСКОВІ ПЛАТИНОВІ ПЕРЕТВОРЮВАЧІ

І. С. Кучеренко, О. В. Солдаткіна, Д. Ю. Кучеренко, О. О. Солдаткін, С. В. Дзядевич

Анотація. Селективність амперометричних біосенсорів залежить від чутливості перетворювачів до електроактивних речовин. Одним із варіантів зменшення чутливості перетворювачів до електроактивних речовин є нанесення на них напівпроникних мембран. Метою даної роботи була оптимізація умов нанесення напівпроникної мембрани на основі поліфенілендіаміну (ПФД) на амперометричні перетворювачі, в якості яких використовували дискові платинові електроди. В роботі перевірено чутливість перетворювачів до ряду електроактивних речовин до та після нанесення додаткової напівпроникної мембрани. Досліджено ефективність ПФД мембрани, нанесеної при різній тривалості електрополімеризації та різних концентраціях мономеру *m*-фенілендіаміну, та вибрано оптимальні умови електрополімеризації. Показано, що перетворювачі залишаються нечутливими до електроактивних речовин при тривалій роботі та під час зберігання протягом тижня. Таким чином перетворювачі, модифіковані ПФД мембраною, можна ефективно використовувати для роботи з реальними біологічними зразками, такими як сироватка крові.

Ключові слова: амперометричний перетворювач, біосенсор, поліфенілендіамінова мембрана, електроактивні речовини, платиновий дисковий електрод.

ADAPTATION OF THE PROCEDURE FOR POLYPHENYLENE MEMBRANE DEPOSITION ON THE DISK PLATINUM TRANSDUCERS

I. S. Kucherenko, O. V. Soldatkina, D. Yu. Kucherenko, O. O. Soldatkin, S. V. Dzyadevych

Abstract. The selectivity of biosensors depends on the sensitivity of transducers to electroactive substances. One of the options for decreasing this characteristic is deposition of semipermeable membranes on their surface. This study was aimed at optimization of the conditions of deposition of semipermeable membrane based on polyphenylenediamine (PPD) onto the surface of amperometric transducers. Disc platinum electrodes were used as transducers. In the study presented, the transducer sensitivity to a number of electroactive substrates was tested before and after deposition of the additional semipermeable membranes using different methods. Efficiency of PPD membranes was investigated depending on the time of electropolymerization and concentration of monomer m-phenylenediamine, optimal conditions were determined. It was shown that the transducers stayed insensitive to the electroactive substances over long-term operation and during one-week storage. According to the results obtained, the transducers modified with PPD membrane can be effectively used for analysis of real biological samples, e.g. blood serum assays.

Keywords: Amperometric transducer, biosensor, polyphenylenediamine membrane, interfering substances, platinum disc electrode

АДАПТАЦИЯ ПРОЦЕДУРЫ НАНЕСЕНИЯ ПОЛИФЕНИЛЕНДИАМИНОВОЙ МЕМБРАНЫ НА ДИСКОВЫЕ ПЛАТИНОВЫЕ ПРЕОБРАЗОВАТЕЛИ

И. С. Кучеренко, О. В. Солдаткина, Д. Ю. Кучеренко, А. А. Солдаткин, С. В. Дзядевич

Аннотация. Селективность амперометрических биосенсоров зависит от чувствительности преобразователей к электроактивным веществам. Одним из вариантов уменьшения чувствительности преобразователей к электроактивным веществам является нанесение на них полупроницаемых мембран. Целью данной работы была оптимизация условий нанесения полупроницаемой мембраны на основе полифенилендиамина (ПФД) на амперометрические преобразователи, в качестве которых использовали дисковые платиновые электроды. В работе было проверено чувствительность преобразователей к ряду электроактивных веществ до и после нанесения полупроницаемой мембраны. Исследована эффективность ПФД мембраны, нанесенной при разной продолжительности электрополимеризации и различных концентрациях мономера м-фенилендиамина, и выбраны оптимальные условия электрополимеризации. Показано, что преобразователи остаются нечувствительными к электроактивным веществам при длительной работе и во время хранения в течение недели. Согласно приведенным результатам, преобразователи, модифицированные ПФД мембраной, можно эффективно использовать для работы с реальными биологическими образцами, такими как сыворотка крови.

Ключевые слова: амперометрический преобразователь, биосенсор, полифенилендиаминовая мембрана, электроактивные вещества, платиновый дисковый электрод

1. Вступ

Біосенсори представляють собою групу новітніх аналітичних приладів, які є альтернативою для класичних методів, таких як хроматографія, спектроскопія, колориметрія, тощо [1, 2]. У порівнянні із традиційними методами, біосенсори є набагато дешевшими і простішими у використанні, проте іноді мають дещо гірші аналітичні характеристики. Тому наразі біосенсорика активно розвивається [3, 4].

Важливою аналітичною характеристикою біосенсорів є їхня селективність, тобто здатність визначати лише одну цільову сполуку і не реагувати на інші супутні речовини. Селективність біосенсора визначається двома факторами – селективністю біологічного матеріалу та селективністю перетворювача [5]. Зазвичай в електрохімічних біосенсорах використовують дуже селективний біоматеріал типу ферментів чи антитіл, проте перетворювачем слугує електрод, який є відносно неселективним. Селективність біосенсора є важливим фактором при роботі з реальними біологічними рідинами та іншими складними зразками, тому дослідження та покращення селективності біосенсора до можливих інтерферуючих сполук є обов'язковим етапом при розробці біосенсорів.

Причиною неспецифічного сигналу амперометричного біосенсора є можливе окиснення або відновлення ряду електроактивних сполук на поверхні електроду. В біологічних зразках, таких як сироватка крові, сеча, спинномозкова рідина, тощо, присутні речовини, які можуть вступати в хімічні реакції на поверхні перетворювачів, спричиняючи утворення помилкового сигналу біосенсора, що, в свою чергу, призводить до помилкових (завищених) результатів біосенсорних вимірювань [6]. Такі речовини називаються інтерферуючими речовинами, або інтерферентами. У випадку амперометричних біосенсорів головними інтерферентами виступають електроактивні речовини, які здатні окиснюватись на робочому електроді і генерувати струм. Основними інтерферентами в біологічних зразках є наступні речовини: аскорбінова кислота, цистеїн, гомоцистеїн, сечова кислота, дофамін, глутатіон, та інші.

Існує два основних напрямки для запобігання окиснення інтерферуючих речовин на електродній поверхні – зменшення робочого потенціалу за рахунок введення в склад біоселективної мембрани додаткових речовин, або нанесення додаткових напівпроникних мембран, які селективно пропускають до поверхні електрода цільову речовину [7]. При цьому, нанесення напівпроникних мембран є методологічно простішим і незначно впливає на роботу біосенсорів, в той час як зменшення робочого потенціалу певними методиками може значно змінити аналітичні характеристики біосенсорів.

Дуже часто в амперометричних біосенсорах використовуються ферменти оксидази, які в процесі ферментативної реакції утворюють перекис водню. Ця сполука відновлюється на електроді, при цьому генерується сигнал біосенсора. Тому розробка нанопористих плівок, які б пропускали до поверхні електроду перекис водню і запобігали проникненню інших речовин, є вельми актуальною. Серед таких мембран значну увагу привертають полімерні плівки на основі фенілендіаміну [8]. Ця мембрана утворює пори, розмір яких є достатнім для проходження низькомолекулярних сполук, зокрема перекису водню, до поверхні електрода, та є недостатнім для проходження більших за розміром речовин. Було запропоновано різні методики формування поліфенілендіамінових мембран, з різними тривалостями та потенціалами окиснення фенілендіаміну. Часто дані методики є складними та суперечливими, оскільки розроблялись для різних електродів та біосенсорів. При використанні різних ізомерів фенілендіаміну, найкраща однорідність пор та селективність була досягнута із використанням мета-ізомеру [9]. Тому метою даної роботи було порівняти різні методики нанесення фенілендіаміну та підібрати оптимальні умови для нанесення поліфенілендіаміну на амперометричні перетворювачі на основі дискових платинових електродів.

2. Матеріали і методи

2.1. Матеріали

В роботі було використано аскорбінову кислоту, сечову кислоту, дофамін, перекис вод-

ню, *m*-фенілендіамін та HEPES фірми Sigma-Aldrich Chemie (США). Інші сполуки, що використовувалися в роботі, були вітчизняного виробництва та мали ступінь чистоти „х.ч.“ та „ч.д.а.“.

Розчини електроактивних сполук у робочому буфері готували безпосередньо перед проведенням експериментів через спонтанне окиснення даних сполук у розчині. Розчини сечової кислоти готували у дистильованій воді з 5 мМ NaBrO₃ через слабку розчинність сечової кислоти в інших випадках. Фенілендіамін розчиняли у 40 мМ фосфатному буфері, рН 7.4.

2.2. Конструкція амперометричних перетворювачів

В роботі використовували амперометричні перетворювачі власного виробництва на основі платинових дискових електродів. Виготовлення мікроелектродів проводили за відпрацьованим алгоритмом. При їх створенні, спочатку платиновий дріт діаметром 0,4 мм і довжиною 3 мм запаювали в кінцевій частині скляного капіляра із зовнішнім діаметром 3,5 мм. Відкритий торець дроту виступав робочою поверхнею перетворювача. Потім платиновий дріт за допомогою легкоплавкого сплаву Вуда з'єднували з провідником, розміщеним всередині капіляра. На другому кінці провідника приєднували контактну площадку для підключення до вимірювальної установки. Робочу поверхню електродів отримували шліфуванням із використанням порошку оксиду алюмінію (розмір частинок 0,1 мкм та 0,05 мкм) та обробляли спиртом перед іммобілізацією біоселективного елементу. Періодично електродну поверхню поновлювали за допомогою такого ж шліфування. Схематичний вигляд даних перетворювачів наведено в роботі [10].

2.3. Методика вимірювань

В роботі використовувалась триелектродна схема амперометричного аналізу. Робочі амперометричні електроди, допоміжний платиновий електрод та Ag/AgCl електрод порівняння підключались до потенціостату PalmSens

(Palm Instruments BV, Нідерланди). 8-ми канальний пристрій (CH-8 multiplexer) того ж виробника, що підключався до потенціостату, дозволяв отримувати сигнали одночасно з 8 робочих електродів, проте зазвичай до нього були підключені 2 – 3 робочі електроди. Виміри проводили за кімнатної температури у відкритій вимірювальній комірці об'ємом 3,5 мл. У випадку хроноамперометричних вимірювань отримання сигналу проводилось при прикладеному до робочого електроду постійному потенціалі +0,6 В відносно Ag/AgCl електрода порівняння при постійному перемішуванні. Робочим буфером виступав 10 мМ HEPES з рН 7,4. Концентрації субстратів у робочій комірці задавали внесенням до комірки концентрованих розчинів речовин.

Циклічну вольтамперометрію проводили в тій же комірці без перемішування. Початковий потенціал складав 0 В, кінцевий потенціал був +0.9 В, швидкість зміни потенціалу була 20 мВ на секунду, крок зміни потенціалу 5 мВ.

Усі дослідження проводились у трьох повторностях.

3. Результати та їх обговорення

3.1. Дослідження чутливості перетворювача до електроактивних речовин без мембрани

Для того щоб зрозуміти доцільність нанесення додаткової мембрани для покращення селективності амперометричного перетворювача необхідно було перевірити його чутливість та селективність до перекису водню відносно можливих інтерферентів. При перевірці було використано електроактивні речовини в концентраціях, що зустрічаються в сироватці крові, оскільки використання біосенсорів при роботі з даним типом реальних зразків є дуже поширеним. На першому етапі роботи було отримано відгуки перетворювача без мембран на додавання електроактивних речовин (Рис. 1) та вирахована чутливість перетворювача до даних речовин без нанесення додаткової ПФД мембрани (Рис. 2) Як видно з рисунків, перетворювач був найбільш чутливим до аскорбінової кислоти та дофаміну. Чутливість до цистеїну була найменшою. Втім, зважаючи на велику різницю у концентраціях електроак-

тивних речовин в біологічних зразках, зокрема крові, головними інтерферентами можна вважати аскорбінову та сечову кислоти – їх концентрації у біологічних зразках є досить великими, і величина відгуку перетворювача на ці речовини є на порядок більшою за відгук на цільову речовину – пероксид водню. Таким чином, проводити вимірювання біологічних зразків неможливо без зменшення впливу інтерферентів на роботу перетворювача.

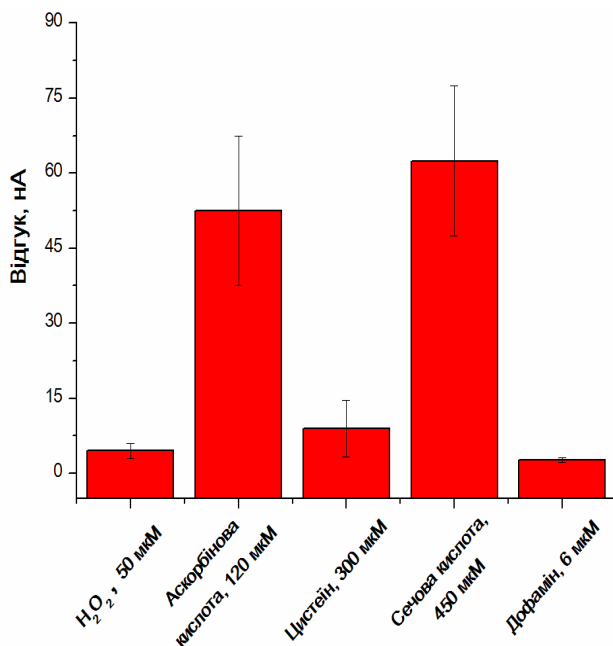


Рис. 1. Величини відгуків платинових дискових перетворювачів на електроактивні речовини без ПФД мембрани. Відгуки отримані в 10 мМ НЕРЕС буфері, рН 7,4, за постійного потенціалу +0,6 В відносно Ag/AgCl електрода порівняння. Концентрації інтерферуючих речовин були використані такі, які в середньому присутні в сироватці крові.

3.2. Вибір оптимального методу нанесення ПФД мембрани на перетворювач

На даний момент існує розрізнена інформація стосовно методів нанесення ПФД мембран на перетворювачі. Тому, необхідно було зрозуміти, яка саме методика найбільш перспективна для створення біосенсорів на основі платинових дискових електродів. Відповідно нанесення ПФД мембрани проводили шляхом електрополімеризації молекул мономера – фе-

нілендіаміну на поверхні платинового дискового електрода двома найбільш розповсюдженими та перспективними методами. Було порівняно два варіанти нанесення ПФД мембрани – електрополімеризацію при змінному потенціалі (циклічна вольтамперометрія) та при постійному потенціалі.

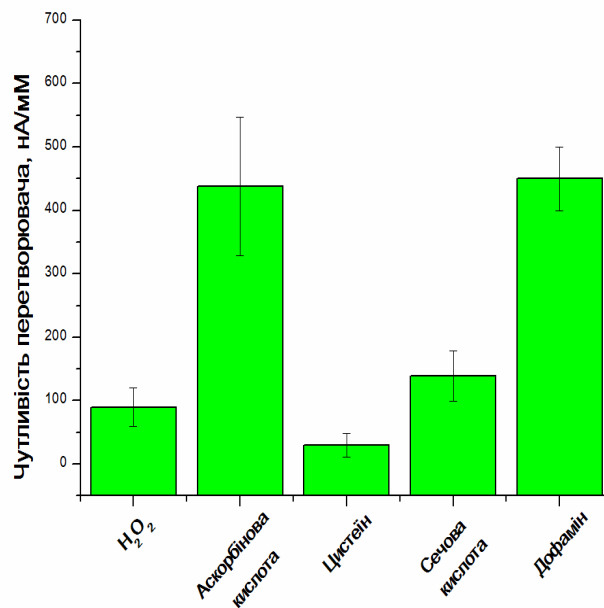


Рис. 2. Чутливість платинового дискового перетворювача без мембран до електроактивних речовин в 10 мМ НЕРЕС буфері, рН 7,4 за постійного потенціалу +0,6 В відносно Ag/AgCl електрода порівняння.

Для проведення циклічної вольтамперометрії, робочі перетворювачі разом з електродом порівняння та допоміжним електродом розміщують в робочій комірці з розчином фенілендіаміну, після чого отримують певну кількість циклічних вольтамперограм [9]. Під час першої вольтамперограми мало місце значне збільшення струму в діапазоні потенціалів від +0,5 В до +0,9 В, викликане окисненням фенілендіаміну. Під час другої та наступних вольтамперограм сила струму значно зменшується, що свідчить про зменшення швидкості електрополімеризації. Втім, ПФД мембрана продовжує формування протягом всіх циклічних вольтамперограм. Типовий вигляд вольтамперограм при окисненні фенілендіаміну було наведено в попередній роботі [11].

Другий метод нанесення ПФД мембрани полягає в окисненні фенілендіаміну на поверхні платинових електродів при постійному потенціалі протягом сталого часу [12]. Порівняння відгуків перетворювачів з мембранами, нанесеними обома методами, наведено на Рис. 3. Оскільки відгуки були практично відсутні, це свідчить, що мембрана, нанесена обома методами, непогано затримувала інтерференти – залишилась лише невелика чутливість до цистеїну. З іншого боку, чутливість перетворювача до пероксиду водню після проведення вольтамперометрії зростає в 2,6 рази. Це пояснюється електроактивацією платини, яка виступає чутливою областю перетворювача, під час вольтамперометрії, а не ефектом від ПФД мембрани. Подібне збільшення чутливості перетворювачів до пероксиду водню спостерігається і після отримання циклічних вольтамперограм у фосфатному буфері без фенілендіаміну. Після нанесення мембрани при сталому потенціалі електроактивації платини не відбувалось і відгуки на пероксид водню залишились незмінними. Таким чином, використання циклічної вольтамперометрії виявилось більш ефективним з трьох причин – менша кількість часу для нанесення одного електроду (15 хвилин проти 40 хв), більш ефективне затримання цистеїну та збільшення відгуків на пероксид водню.

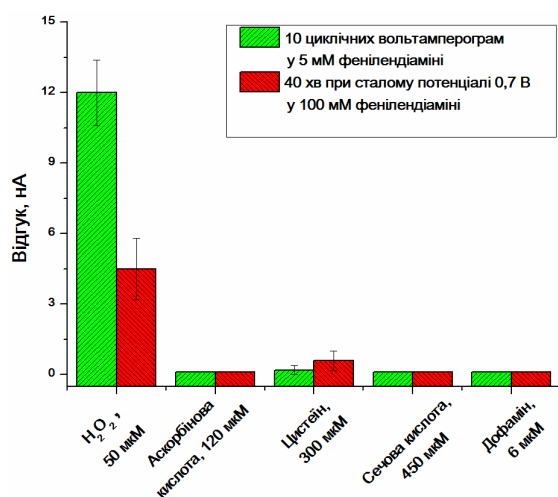


Рис. 3. Порівняння ефективності роботи мембран, нанесених при постійному та змінному потенціалі. Відгуки на електроактивні речовини отримані в 10 мМ HEPES буфері, рН 7,4, за постійного потенціалу +0,6 В відносно Ag/AgCl електрода порівняння. Концентрації інтерферуючих речовин були використані такі самі, які в середньому присутні в сироватці крові.

Втім, методика на основі циклічної вольтамперометрії має один недолік – одночасно можливе отримання вольтамперограм лише на одному амперометричному перетворювачі, в той час як при нанесенні мембрани при постійному потенціалі можливо підключати одночасно до 8-16 робочих електродів (в залежності від типу мультиплексора). Тому подальшу роботу необхідно зосередити на оптимізації методики нанесення ПФД мембран на основі циклічної вольтамперометрії з метою зменшення тривалості нанесення напівпроникних мембран на перетворювачі.

Було перевірено ефективність ПФД мембран, які наносили при різних кількостях циклічних вольтамперограм. Нанесення ПФД мембрани лише однією вольтамперограмою було очевидно недостатнім для повного усунення впливу інтерферентів. Проте ефект від електроактивації платини при цьому був найбільшим. При подальшому збільшенні кількості вольтамперограм, відгуки сенсора на інтерференти зменшувались, проте також знижувалась і чутливість перетворювача до пероксиду водню, ймовірно через надто товстий шар ПФД, який створював обмеження для дифузії речовин. Вже трьох циклічних вольтамперограм було достатньо для повного зникнення відгуків сенсора на сечову кислоту та дофамін, і дуже суттєвого зменшення відгуків на аскорбінову кислоту та цистеїн. Тому було вирішено прийняти дану кількість вольтамперограм за оптимальну і збільшити концентрацію фенілендіаміну для повного усунення впливу інтерферентів.

Слід відзначити, що використання 5 мМ фенілендіаміну під час нанесення ПФД мембран було достатнім для усунення відгуків сенсора на невеликі концентрації інтерферуючих речовин, які залишаються після розведення зразків, проте недостатнім для роботи з нерозведеними зразками. Як виявилось, збільшення концентрації фенілендіаміну до 20 мМ і проведення трьох ЦВА під час нанесення мембрани було достатнє для отримання перетворювачів, які були не чутливі до цистеїну та мінімально чутливі до аскорбінової кислоти (0,1% від відгуку на аскорбінову кислоту без ПФД мембрани). У випадку модифікації перетворювачів при концентрації фенілендіаміну

100 мМ, отримані перетворювачі мали вдвічі меншу чутливість до перекису водню, очевидно через надто товстий шар ПФД. Таким чином, оптимальним варіантом нанесення ПФД мембрани є проведення трьох циклічних вольтамперограм у 20 мМ фенілендіаміні. Оскільки тривалість однієї вольтамперограми складає близько 1,5 хв, то для нанесення мембрани на один сенсор достатньо 4,5 хвилин.

Після оптимізації умов нанесення ПФД мембран на платинові дискові електроди була досліджена стабільність додаткових мембран протягом двох годин. Перетворювачі з нанесеною мембраною залишались в робочому буфері і періодично отримували відгуки на електроактивні речовини (Табл. 1). Було з'ясовано, що відгуки перетворювачів на перексид водню зростають протягом роботи, в той час як

Таблиця 1

Відгуки амперометричного перетворювача з ПФД мембраною на електроактивні речовини при безперервній роботі протягом двох годин

Речовина \ Час	Відгуки перетворювача, %*					
	1 хв	20 хв	40 хв	60 хв	90 хв	120 хв
Перексид водню	100	109,5	101,6	121,6	126,1	127,6
Аскорбінова кислота	5,9	2,4	1,6	1,2	1,0	0,8
Цистеїн	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

*за 100% прийнято відгук перетворювача на перексид водню на 1-й хвилині експерименту.

відгуки на інтерференти залишаються дуже маленькими і навіть зменшуються ще більше. Ймовірно цей ефект пояснюється поступовою адсорбцією інтерферуючих речовин на порах мембрани, що утруднює доступ до електроду наступним молекулам інтерферентів. З іншого боку, ПФД мембрана поступово розбухає у робочому буфері і краще пропускає до поверхні маленькі речовини, такі як перексид водню. В цілому, перетворювачі з нанесеною мембраною можуть використовуватись для безперервної роботи щонайменше 2 години без втрати захисних властивостей мембрани.

Крім того, було показано, що при зберіганні перетворювача з ПФД мембраною протягом 8 діб у морозильній камері холодильника чутливість перетворювача до інтерферуючих речовин залишилась незмінно малою, що вказує на гарне зберігання ПФД мембрани.

4. Висновки

В роботі досліджено покращення селективності амперометричних перетворювачів біосенсорів шляхом нанесення на них додаткових мембран на основі поліфенілендіаміну. Порівняно різні методики електрополімеризації фенілендіаміну на поверхню амперометричних перетворювачів, зокрема полімеризацію при змінному та постійному потенціалі і при різних концентраціях мономеру. Оптимізовано методику нанесення ПФД мембрани на дискові платинові електроди. Найкращим варіантом нанесення ПФД мембрани було електрополімеризація протягом трьох циклічних вольтамперограм у 20 мМ фенілендіаміні, при цьому тривалість модифікації одного перетворювача становила 4,5 хвилин. Показано, що нанесена за оптимальних умов напівпроникна ПФД

мембрана дозволяє практично повністю усунути чутливість перетворювачів до інтерферуючих речовин (аскорбінової кислоти, цистеїну, сечової кислоти та дофаміну) при збереженні чутливості до пероксиду водню.

Подяка

Робота виконана за фінансової підтримки НАН України в рамках комплексної науково-технічної програми «Сенсорні прилади для медико-екологічних та промислово-технологічних потреб: метрологічне забезпечення та дослідна експлуатація».

Список використаної літератури

- [1]. R. A. Potyrailo, N. Nagraj, C. Surman, H. Boudries, H. Lai, J.M. Slocik, N. Kelley-Loughnane, R. R. Naik. Wireless sensors and sensor networks for homeland security applications // *TrAC Trends Anal. Chem.*, 40, pp. 133–145 (2012).
- [2]. D. Grieshaber, R. MacKenzie, J. Vörös, E. Reimhult. *Electrochemical Biosensors - Sensor Principles and Architectures* // *Sensors*, 8(3), pp. 1400–1458 (2008).
- [3]. A. P. F. Turner. Biosensors: sense and sensibility // *Chem. Soc. Rev.*, 42(8), pp. 3184–96 (2013).
- [4]. D. W. Kimmel, G. LeBlanc, M. E. Meshievitz, D. E. Cliffel. *Electrochemical Sensors and Biosensors* // *Anal. Chem.*, 84(2), pp. 685–707 (2012).
- [5]. O. M. Schuvailo, O. O. Soldatkin, A. Lefebvre, R. Cespuoglio, A. P. Soldatkin. Highly selective microbiosensors for in vivo measurement of glucose, lactate and glutamate // *Anal. Chim. Acta*, 573–574, pp. 110–116 (2006).
- [6]. S. V. Dzyadevych, V. N. Arkhypova, A. P. Soldatkin, A. V. El'skaya, C. Martelet, N. Jaffrezic-Renault. Amperometric enzyme biosensors: Past, present and future // *IRBM*, 29(2–3), pp. 171–180 (2008).
- [7]. S. Cosnier, M. Holzinger. Electrosynthesized polymers for biosensing // *Chem. Soc. Rev.*, 40(5), p. 21–46 (2011).
- [8]. J. Stejskal. Polymers of phenylenediamines // *Prog. Polym. Sci.*, 41, pp. 1–31 (2015).
- [9]. S. J. Killoran, R. D. O'Neill. Characterization of permselective coatings electrosynthesized on Pt–Ir from the three phenylenediamine isomers for biosensor applications // *Electrochim. Acta*, 53(24), pp. 7303–7312 (2008).
- [10]. O. Soldatkin, A. Nazarova, N. Krisanova, A. Borysov, D. Kucherenko, I. Kucherenko, N. Pozdnyakova, A. Soldatkin, T. Borisova. Monitoring of the velocity of high-affinity glutamate uptake by isolated brain nerve terminals using amperometric glutamate biosensor // *Talanta*, 135, pp. 67–74 (2015).
- [11]. I. S. Kucherenko, O. O. Soldatkin, D. Y. Didukh, A. P. Soldatkin. Study of analytical characteristics and optimal working conditions of amperometric biosensor for ATP determination // *Biotechnol. acta*, 7(1), pp. 66–74 (2014).
- [12]. O. O. Soldatkin, O. M. Schuvailo, S. Marinesco, R. Cespuoglio, A. P. Soldatkin. Microbiosensor based on glucose oxidase and hexokinase co-immobilised on platinum microelectrode for selective ATP detection // *Talanta*, 78(3), pp. 1023–1028 (2009).

Стаття надійшла до редакції 05.03.2017 р.

UDC 541.13+543.553.8+544.653.23

DOI <http://dx.doi.org/10.18524/1815-7459.2017.1.96439>

ADAPTATION OF THE PROCEDURE FOR POLYPHENYLENE MEMBRANE DEPOSITION ON THE DISK PLATINUM TRANSDUCERS

I. S. Kucherenko¹, O. V. Soldatkina², D. Yu. Kucherenko², O. O. Soldatkin^{1,2}, S. V. Dzyadevych^{1,2}

¹Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine, Zabolotnogo Str., Kyiv, 150, 03680, Ukraine.

²Taras Shevchenko National University of Kyiv, olodymyrska Str. Kyiv, 64, 01003, Ukraine.

Summary

The biosensor selectivity is an important factor when working with real biological fluids and other complex samples; therefore, study on the biosensor selectivity towards possible interfering compounds and its improvement is a mandatory step in the development of biosensors. In case of amperometric biosensors, the main interfering compounds are electroactive substances able to oxidize on the working electrode and generate electric current. To eliminate the impact of these compounds, the deposition of semipermeable membranes onto transducer surface may be used, the procedure being methodologically simple and having no significant effect on the biosensor performance.

The aim of this work was to optimize the conditions of deposition of polyphenylenediamine (PPD) based semipermeable membrane onto amperometric transducers.

Methods: Amperometric method of analysis was used. Platinum disc electrodes served as amperometric transducers, they were connected to potentiostat PalmSens (Netherlands) via three-electrode measurement circuit. PPD membranes were deposited onto transducers by phenylenediamine electropolymerisation at a constant or variable potential.

Results: The transducers sensitivity to a number of electroactive substances was determined before and after deposition of the additional semipermeable membrane by different methods. The efficiency of PPD membrane deposited at different time of electropolymerisation and various concentrations of monomer m-phenylene diamine was studied. The transducers were shown to remain insensitive to the electroactive substances over long-term use and during one-week storage.

Conclusion: The PPD membrane deposited under optimal conditions allows virtual elimination of transducers sensitivity to interfering substances (ascorbic acid, cysteine, uric acid and dopamine). Therefore, the transducers modified with PPD membranes can be effectively used to work with real biological samples such as blood serum assays.

Keywords: Amperometric transducer, biosensor, polyphenylenediamine membrane, interfering substances, platinum disc electrode

УДК: 541.13+543.553.8+544.653.23

DOI <http://dx.doi.org/10.18524/1815-7459.2017.1.96439>

АДАПТАЦІЯ ПРОЦЕДУРИ НАНЕСЕННЯ ПОЛІФЕНІЛЕНДІАМІНОВОЇ МЕМБРАНИ НА ДИСКОВІ ПЛАТИНОВІ ПЕРЕТВОРЮВАЧІ

І. С. Кучеренко¹, О. В. Солдаткіна², Д. Ю. Кучеренко², О. О. Солдаткін^{1,2}, С. В. Дзядевич^{1,2}

¹Інститут молекулярної біології та генетики НАН України,
вул. Заболотного, 150, 03680, м. Київ, Україна

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

Реферат

Селективність біосенсора є важливим фактором при роботі з реальними біологічними рідинами та іншими складними зразками, тому дослідження та покращення селективності біосенсора до можливих інтерферуючих сполук є обов'язковим етапом при розробці біосенсорів. У випадку амперометричних біосенсорів головними інтерферуючими сполуками виступають електроактивні речовини, які здатні окиснюватись на робочому електроді і генерувати струм. Для усунення впливу даних сполук можливе нанесення напівпроникних мембран на перетворювачі, що є методологічно простою процедурою і незначно впливає на роботу біосенсорів.

Метою даної роботи була оптимізація умов нанесення напівпроникної мембрани на основі поліфенілендіаміну (ПФД) на амперометричні перетворювачі.

Методи дослідження: В роботі використовували амперометричний метод аналізу. Як амперометричні перетворювачі в роботі використовували платинові дискові електроди, які за триелектродною схемою вимірювання приєднувались до потенціостату PalmSens (Нідерланди). Нанесення ПФД мембрани на перетворювачі проводили шляхом електрополімеризації фенілендіаміну при прикладанні до електродів постійного чи змінного потенціалу.

Результати дослідження: Перевірено чутливість перетворювачів до ряду електроактивних речовин до та після нанесення різними методами додаткової напівпроникної мембрани. Досліджено ефективність ПФД мембрани, нанесеної при різній тривалості електрополімеризації та різних концентраціях мономеру *m*-фенілендіаміну. Показано, що перетворювачі залишаються нечутливими до електроактивних речовин при тривалій роботі та під час зберігання протягом тижня.

Висновки: Нанесена за оптимальних умов ПФД мембрана дозволяє практично повністю усунути чутливість перетворювачів до інтерферуючих речовин (аскорбінової кислоти, цистеїну, сечової кислоти та дофаміну), тому перетворювачі, модифіковані ПФД мембраною, можна ефективно використовувати для роботи з реальними біологічними зразками, такими як сироватка крові.

Ключові слова: амперометричний перетворювач, біосенсор, поліфенілендіамінова мембрана, електроактивні речовини, платиновий дисковий електрод