

# Стабильность алкогольоксидазного биосенсора, модифицированного терморасширенным графитом

*А.Е. Китова, Ю.В. Плеханова, А.Н. Решетиллов*

ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»,  
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН;  
[kitova@ibpm.pushchino.ru](mailto:kitova@ibpm.pushchino.ru)

Электроды, полученные методом матричной печати (МП), модифицированные различными наноматериалами, часто используются при создании биосенсоров [1, 2]. Модификация наноматериалами позволяет увеличить эффективную площадь поверхности и за счет этого повысить чувствительность электродов, а также уменьшить внутреннее сопротивление измерительных электродов [3]. Графеноподобный материал - терморасширенный графит (ТРГ) обладает высокой электропроводностью, большой удельной поверхностью, химической стойкостью и биосовместимостью [4]. Ранее было показано, что модификация ТРГ печатных электродов, содержащих иммобилизованные бактерии *Gluconobacter oxydans* или глюкозооксидазу позволяет существенно улучшить их характеристики - амплитуду сигнала и чувствительность сенсора к глюкозе и этиловому спирту [5], что связано с уменьшением внутреннего сопротивления измерительных электродов [3].

Использование берлинской лазури в качестве медиатора электронного транспорта при создании биосенсоров позволяет детектировать пероксид водорода, образующийся в результате ферментативной реакции, при низком прикладываемом потенциале. Такие биосенсоры обладают высокой чувствительностью и селективностью [6]. При создании биосенсора важен также выбор метода иммобилизации биоматериала. В последнее время часто используется включение в гель хитозана [7]. Хитозан является природным полисахаридом, который обладает такими свойствами как хорошая адгезия, высокая гидрофильность, механическая прочность и невысокая стоимость [8].

В данной работе исследованы параметры электродов, полученных методом матричной печати, модифицированных берлинской лазурью, ТРГ и алкогольоксидазой.

Исследованы калибровочные зависимости АО-биосенсоров. Для АО-биосенсора без нанесения ТРГ линейный диапазон детекции составлял 0.1 – 2.0 мМ, при этом чувствительность в области линейного диапазона соответствовала 0.35 мкА/мМ. Для АО-биосенсора, модифицированного ТРГ, линейный диапазон детекции находился также в пределах от 0.1 до 2.0 мМ. При этом, чувствительность в области линейного диапазона составляла 2.43 мкА/мМ, что в 7 раз выше аналогичного параметра немодифицированного ТРГ АО-биосенсора.

Стабильность в течение 10 дней измерений представлена на рис. 1. Амплитуда сигнала немодифицированного ТРГ АО-биосенсора (кривая 1) снижалась в 2 раза на второй день измерений. На 10-й день измерений амплитуда сигнала снижалась на 70% по сравнению с начальным уровнем сигнала. АО-биосенсор, модифицированный ТРГ (кривая 2) отличался в 5 раз большей амплитудой сигнала и к концу периода измерений величина сигнала снижалась на 40% по сравнению с исходным значением.

Стабильность при хранении при +4°C в течение 45 дней представлена на рис. 2. При хранении в течение 15 дней параметры АО-ТРГ-биосенсора не изменялись существенно. На 45-й день хранения линейный диапазон уменьшился вдвое, при этом чувствительность биосенсора в области линейного диапазона не изменилась.

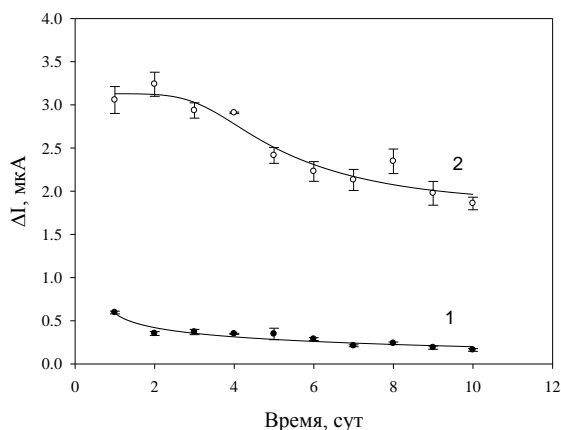


Рис. 1. Стабильность АО-биосенсоров в течение 10 дней измерений (кривая 1 – АО-биосенсор, кривая 2 – АО-ТРГ-биосенсор).

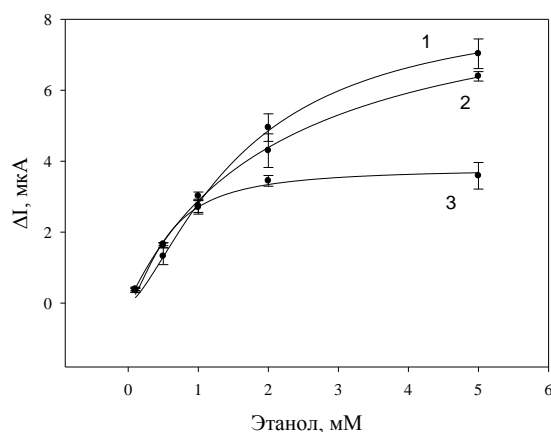


Рис. 2. Калибровочные зависимости АО-ТРГ-биосенсора при хранении (кривая 1 – первый день измерений, кривая 2 – 15-й день хранения, кривая 3 – 45-й день хранения).

Таким образом, модификация измерительного электрода ТРГ приводит к росту значений регистрируемых токов, а также позволяет существенно повысить чувствительность биосенсора. Исследована долговременная стабильность АО-ТРГ-биосенсора. Показано, что, иммобилизация ферментов в геле хитозана на подложке из ТРГ позволяет сохранять стабильность биосенсоров в течение 45 дней.

#### Литература

- Nicholas P., Pittson R., Hart J. P. Development of a simple, low cost chronoamperometric assay for fructose based on a commercial graphite-nanoparticle modified screen-printed carbon electrode // *Food Chemistry*. 2018. V.241. P. 122–126.
- Arduini F., Micheli L., Moscone D., Paleschi G., Piermarini S., Ricci F., Volpe G. Electrochemical biosensors based on nanomodified screen-printed electrodes: Recent applications in clinical analysis // *Trends in Analytical Chemistry*. 2016. V. 79. P. 114–126.
- Решетилов А.Н., Китова А.Е., Мачулин А.В., Тарасов С.Е., Гуторов М.А., Алферов С.В., Колесов В.В., Готовцев П.М., Василев Р.Г. Биосенсор на основе клеток *Gluconobacter* и терморасширенного графита // *Сенсорные системы*. 2016. Т. 30. № 4. С. 351-354
- Горшенев В.Н., Илюшин А.С., Колесов В.В., Фионов А.С., Петрова Н.Г. Композиционные материалы на основе терморасширенного графита // *Перспективные материалы*. 2008. Вып. 6. Ч. 1. С. 351-355.
- Китова А.Е., Плеханова Ю.В., Колесов В.В., Решетилов А.Н. Глюкозооксидазный биосенсор на основе печатного электрода, модифицированного терморасширенным графитом // *Известия Тульского государственного университета. Естественные науки*. 2018. № 2. С. 34-40.
- Cinti S., Cusenza R., Moscone D., Arduini F. Paper-based synthesis of Prussian Blue Nanoparticles for the development of whole blood glucose electrochemical biosensor // *Talanta*. 2018. V. 187. P. 59–64.
- Le T. X. H., Flaud V., Bechelany M., Cretin M., Tingry S. Optimal direct electron transfer between MWCNTsCOOH/BOD/chitosan layer and porous carbon felt for dioxygen reduction // *Electrochimica Acta*. 2017. V. 230. P. 373–381.
- Wang X., Gu H., Yin F., Tu Y. A glucose biosensor based on Prussian blue/chitosan hybrid film // *Biosensors and Bioelectronics*. 2009. V. 24. № 5. P. 1527-1530.