

бальту та нікелю $m(\text{Co}(\text{detm})\text{Hdetm})\cdot n(\text{NiCl}_2)$, де detm — $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2^{2-}$. Встановлено, що оптимальне співвідношення $\text{Co}^{3+}:\text{Ni}^{2+}$ в біметалічних комплексах для отримання активних каталізаторів складає 2:1. Отримані каталізатори можуть бути використані в металоповітряних ХДС, електрохімічних генераторах та сенсорах.

SUMMARY. Oxide electrocatalysts, based on bimetallic diethanolamine complexes with different cobalt and nickel content, $m(\text{Co}(\text{detm})\text{Hdetm})\cdot n(\text{NiCl}_2)$ (where detm — $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2^{2-}$), for the reduction of molecular oxygen have been synthesized. It has been found that the optimum ratio of Co^{3+} to Ni^{2+} in bimetallic complexes for the production of active catalysts is 2:1. The catalysts obtained can be used in air-metal electrochemical cells, electrochemical generators and sensors.

1. *Soriaga M.P.* // Chem. Rev. -1990. -**90**, № 5. -Р. 771—793.
2. *Пирский Ю.К., Прокопчук А.Л.* // Укр. хим. журн. -2003. -**69**, № 3. -С. 72—75.
3. *Пирский Ю.К., Левчук Я.Н., Рейтер Л.Г., Кублановский В.С.* // Там же. -2003. -**69**, № 3. -С. 77—80.

4. *Разина Н.Ф.* // Окисные электроды в водных растворах. -Алма-Ата: Наука, 1982.
5. *Проблемы электрокатализа* / Под ред. В.С. Багоцкого. -М.: Наука, 1980.
6. *Ефремов Б.Н., Тарасевич М.Р.* // Электрокатализ и электрокаталитические процессы. Сб. науч. тр. -Киев: Наук. думка, 1986. -С. 44—71.
7. *Makhankova V.G., Vassilyeva O.Yu., Kokozay V.N. et al.* // Eur. J. Inorg. Chem. -2002. -№ 8. -Р. 2163—2169.
8. *Makhankova V.G., Vassilyeva O.Yu., Kokozay V.N. et al.* // J. Chem. Soc., Dalton Trans. -2002. -Р. 4253—4259.
9. *Степаненко О.Н., Рейтер Л.Г.* // Укр. хим. журн. -1992. -**58**, № 12. -С. 1047—1053.
10. *Степаненко О.Н., Потаскалов В.А., Русанов Э.Б.* // Там же. -2001. -**67**, № 9. -С. 9—11.
11. *Мазус М.Д., Коваленко А.Л., Поляков В.Н. и др.* // Журн. неорган. химии. -1986. -**31**, № 3. -С. 716—719.
12. *Степаненко О.Н., Потаскалов В.А., Потаскалова Н.И.* // Укр. хим. журн. -2003. -**69**, № 2. -С. 78—80.
13. *Тарасевич М.Р., Радюшкина К.А.* // Катализ и электрокатализ металлопорфиринами. -М.: Наука, 1982.
14. *Штейнберг Г.В., Кукушкина И.А., Багоцкий В.С., Тарасевич М.Р.* // Электрохимия. -1979. -**15**, № 4. -С. 527—532.

Институт общей и неорганической химии им. В.И. Вернадского
НАН Украины, Киев
Национальный технический университет Украины "КПИ", Киев

Поступила 12.08.2005

УДК541.64+541.13

Є.П. Ковальчук, Б.Б. Остапович, З.Л. Турик, Я.С. Ковалишин, М.В Гончар

СИНТЕЗ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЕЛЕКТРОПРОВІДНИХ ПОЛІМЕРНИХ ПЛАТФОРМ ДЛЯ БІОСЕНСОРІВ

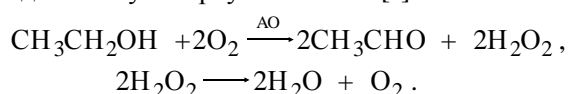
Досліджено вплив природи електропровідних полімерів, електрохімічно осаджених на поверхні платиного електрода, на їхню здатність адсорбувати на своїй поверхні ферменти глюкозооксидазу, алкогольоксидазу або біферментну систему алкогольоксидаза+пероксидаза (АО+ПО). Імобілізація ферментів на поверхні електродів, модифікованих електропровідними полімерами, дозволяє застосувати одержані ферментні електроди в ролі амперометричних біосенсорів.

Електропровідні органічні полімери (ЕПП) із системою спряжених π -зв'язків у макроланцюгу знайшли застосування у багатьох областях науки та техніки [1—3] і продовжують привертати до себе увагу дослідників, оскільки поєднують електричну провідність металів і неорганічних напівпровідників та можуть служити платформою для інкорпорації ферментів, що при використанні електрохімічних методів осадження дає можливість локалізувати біологічно активні молекули на електродах будь-якого розміру чи форми [4].

Сьогодні існує велика потреба у виготовленні електродів, які є сумісними із біологічними компонентами, що служить умовою забезпечення швидкого переносу електрона на поверхні. Провідні полімери розглядаються як перспективний матеріал для такого застосування, тому ключовою проблемою при використанні ЕПП для створення амперометричних біосенсорів є стабільна іммобілізація макромолекулярних ферментів на провідній мікропористій поверхні із повним збереженням їхніх біологічних властивостей [5].

© Є.П. Ковальчук, Б.Б. Остапович, З.Л. Турик, Я.С. Ковалишин, М.В Гончар, 2006

Дана робота присвячена дослідженню впливу природи ЕПП (поліанілін, політіофен, поліпірол, полікарбазол, полімета-амінофенол), електрохімічно осаджених на поверхні платинового електроду, на їхню здатність іммобілізувати на своїй поверхні алкогольоксидазу або біферментну систему пероксидаза+алкогольоксидаза (АО+ПО) з метою застосування сконструйованих ферментних електродів у якості сенсорів, оскільки АО-електрод, із амперометричною детекцією пероксиду водню може служити алкогольчутливим елементом біосенсора, в якому струм, що генерується в результаті відновлення кисню, є пропорційним до вмісту спирту в аналіті [6]:



У залежності від режимів електролізу, складу реакційного середовища можливе одержання електрохімічно активних полімерних шарів різної товщини, мікропористості, ступеня допудування, що впливатиме на їхню здатність до адсорбції фер-

ментів та переносу заряду при використанні модифікованих з допомогою ЕПП електродів в якості платформ для біосенсорів [7].

При вивченні особливостей електрохімічного синтезу плівок ЕПП на поверхні платинового дискового електроду ($d=3$ мм) електроосадження полімерів проводили в потенціостатичному та потенціодинамічному режимах (електрод порівняння — Ag/AgCl), використовуючи розчини мономерів у воді або в ацетонітрилі із додаванням

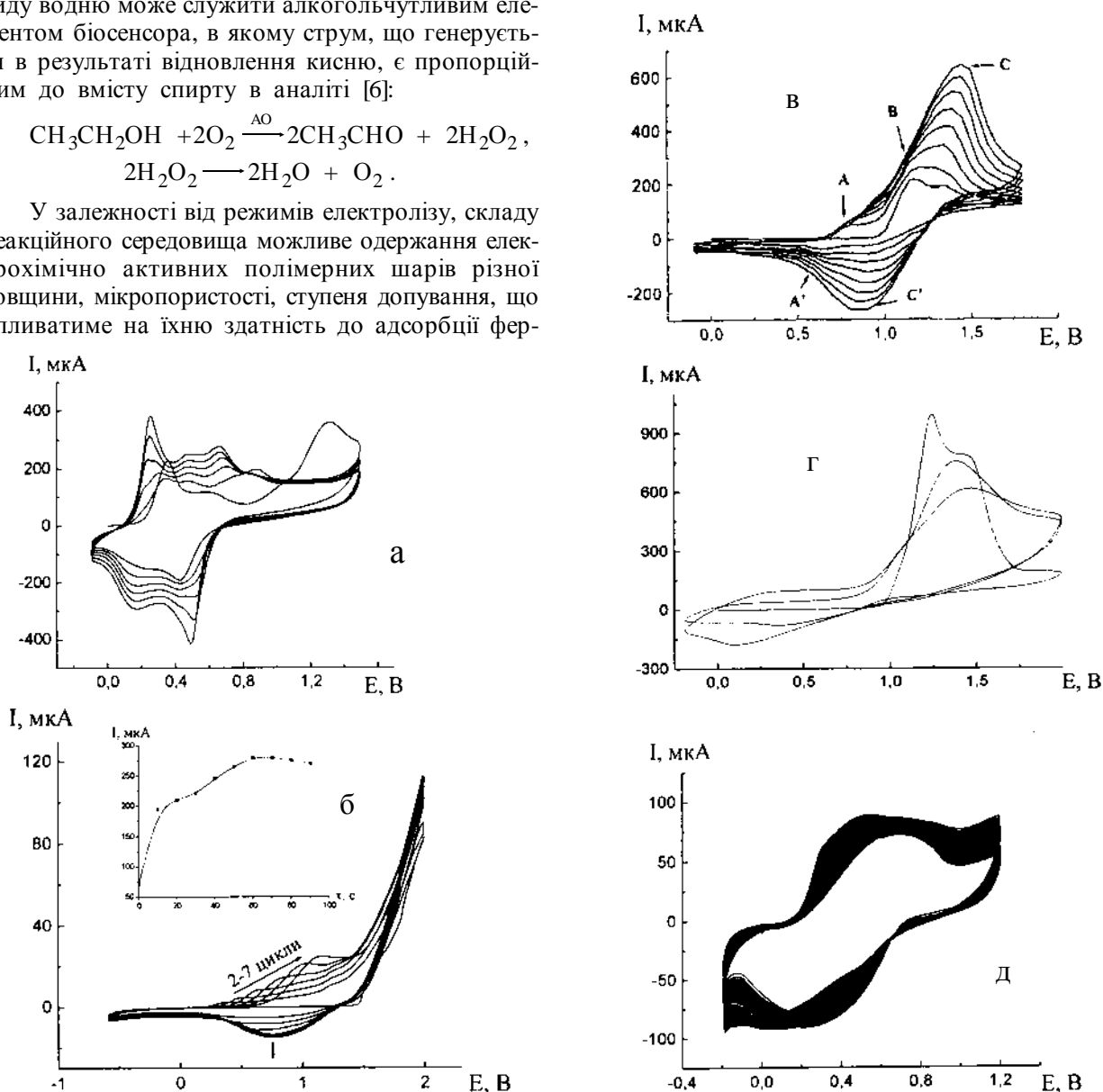


Рис. 1. Циклічні вольтамперограми окиснення мономерів на платиновому електроді. Умови синтезу: $C(\text{аніліну}) = 0.2 \text{ M}$; $C(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0.25 \text{ M}$; $v = 20 \text{ мВ/с}$ (а); $C(\text{тіофену}) = 0.1 \text{ M}$; $C(\text{LiClO}_4) = 1.0 \text{ M}$; $v = 20 \text{ мВ/с}$ (б); $C(\text{карбазолу}) = 0.1 \text{ M}$; $C(\text{LiClO}_4) = 1.0 \text{ M}$; $v = 50 \text{ мВ/с}$ (в); $C(\text{піролу}) = 0.2 \text{ M}$; $C(\text{LiClO}_4) = 1.0 \text{ M}$; $v = 50 \text{ мВ/с}$ (г); $C(\text{амінофенолу}) = 0.5 \text{ M}$; $C(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0.5 \text{ M}$; $v = 50 \text{ мВ/с}$ (д).

Характеристики амперометричних біосенсорів на основі платиного електрода, модифікованого електропровідними полімерами

Модифікатор поверхні Pt-електрода	Імобілізовані ферменти	K_M , мкМ	I_{max} , нА	Чутливість, нА/мкМ	Лінійна область, мМ
Поліанілін	АО	409.4 ± 328.2	33.02 ± 3.0	0.80	1000–3000
	АО+ПО	377.96 ± 11.4	410.74 ± 1.56	1.08	1000–5000
Політіофен	АО+ПО	30.2 ± 2.5	889.1 ± 60.3	29.4	1000–5000
	АО+ПО	33.74 ± 0.79	860.0 ± 0.28	26.0	1000–5000
Полікарбазол	ГО	1980.1 ± 60.9	917.1 ± 8.26	0.46	1000–5000
	АО+ПО	344.8 ± 4.76	177.5 ± 0.25	0.51	1000–5000
Поліпірол	ГО	2874.8 ± 69.4	2313.4 ± 18.7	0.82	1000–10000
	АО	292.82 ± 7.55	126.5 ± 0.29	0.43	1000–5000
Полі- <i>m</i> -амінофенол	АО+ПО	1142.8 ± 37.165	1824 ± 126	1.59	1000–5000
	ГО	2245.9 ± 1265.8	888.9 ± 15.4	0.39	1000–5000
	АО	-23.7 ± 0.3	2094.4 ± 0.29	48.1	—
Безполімерний немодифікований електрод	АО+ПО	232.8 ± 2.7	314.45 ± 0.3	1.3	1000–4000
	ГО	3856.6 ± 182.6	2336.5 ± 24.7	0.6	1000–5000

H_2SO_4 і $LiClO_4$ відповідно для надання полімерам електропровідності.

Для синтезу поліаніліну в 0.25 М розчині H_2SO_4 нами був використаний потенціодинамічний метод із розгорткою потенціалу в інтервалі (-0.1 — +1.5) В [8] (рис. 1, *a*).

На першому циклі (рис. 1, *a*) видно чіткий максимум окиснення аніліну біля 1.2 В, якому відповідає утворення катіон-радикала, наступні хімічні перетворення останнього приводять до одержання поліаніліну і його осадження на поверхні електрода, що супроводжується одночасним окисненням до пернігралінової основи. Наступні сканування потенціалу супроводжуються прогресуючим окисненням-відновленням утвореного в першому циклі поліаніліну і його переходом від лейкомеральдину до перніграліну. Близькі до оборотних піки струмів при 0.26, 0.4, 0.8 В відповідають утворенню полярона, окисненню продуктів електрохімічної деструкції поліаніліну і утворенню біполярона відповідно [9].

Для створення амперометричного біосенсора в якості платформи використовували модифікований нанорозмірною поліаніліновою плівкою Pt-електрод, що забезпечувалось часом електролізу, достатнім для проходження 5–6 циклів розгортки потенціалу в інтервалі (-0.1 — +1.5) В (таблиця).

Для вивчення особливостей електрохімічного одержання полімерних плівок політіофену проводились вольт-амперометричні дослідження синтезу даного полімеру на платиновому електроді

(рис. 1, *b*). Аналіз загального вигляду одержаних циклічних вольтамперограм електрохімічного синтезу плівок політіофену із 0.1 М розчину тіофену в ацетонітрилі в присутності 1 М перхлорату літію при розгортці потенціалу від -0.6 до +2.1 В і оцінка величини струмів окиснення і відновлення свідчать про доцільність синтезу політіофену потенціостатичним методом, який проводили із 0.3 М розчину в ацетонітрилі на фоні $LiClO_4$ при потенціалі +1.6 В. Кінетична залежність $I=f(t)$ (вставка на рис. 1, *b*, потенціал +1.6 В) дає можливість розрахувати товщину плівки політіофену, нанесеної на Pt-електрод (≈ 60 нм), а високі значення струмів електролізу (≈ 300 мкА) свідчать про електропровідність одержаної плівки.

Аналіз ЦВА, які відображають процеси, що відбуваються під час полімеризації карбазолу в ацетонітрилі (рис. 1, *в*) — окиснення мономеру при +(0.75—0.85) В, власне полімеризаційний процес при +(1.15—1.20) В, окиснення полімеру при +(1.30—1.50) В дозволяє обґрунтувати доцільність синтезу полікарбазольної плівки на Pt-електроді потенціостатичним методом при потенціалі +1.2 В.

Для модифікації поверхні Pt-електрода плівкою електропровідного поліпіролу застосовували потенціостатичний метод синтезу із ацетонітрильного розчину мономеру при потенціалі +1.1 В, змінюючи час експозиції (2—5 с), одержували полімерну плівку товщиною 40—100 нм. Оптимальні умови синтезу поліпіролу вибрані на основі аналізу ЦВА електрохімічної полімеризації

цього мономеру в ацетонітрилі (рис. 1, з), на яких процесам полімеризації піролу відповідає максимум при $+ (0.85—0.95)$ В, а одночасному протіканню полімеризації та окиснення — максимум при $+ (1.30—1.50)$ В та $+ (1.60—1.70)$ В.

Синтез поліамінофенольної плівки на платиновому електроді проводили потенціодинамічним методом із 0.1 М водного розчину в 0.5 М H_2SO_4 при розгортці потенціалу в межах $(-0.2—1.2)$ В (рис. 1, д).

На ЦВА, які характеризують електросинтез амінофенолу, проявляються два анодних максимуми, характер зміни яких є різним при повторних накладаннях розгортки потенціалу. В області потенціалів $E=0.6—0.9$ В спостерігаються необоротні максимуми струму, які, очевидно, відповідають окисненню вихідної речовини по гідроксильній групі фенолу. На відміну від необоротного електронного переносу при окисненні гідроксильної групи анодна реакція із участю аміногрупи носить необоротний характер, який спостерігається в діапазоні потенціалів $0—0.5$ В. Багатократне циклювання потенціалу в досліджуваному інтервалі приводить до росту як катодного, так і анодного максимумів струму, що може бути зв'язане з утворенням на поверхні електрода шару електроактивної речовини. Для нанесення ферментних систем використовували плівки полі-*m*-амінофенолу, одержаного 4–10-кратним циклюванням у діапазоні розгортки потенціалу $(-0.2—1.2)$ В.

На поверхню Pt-електрода, модифікованого одним із досліджуваних ЕПП, які одержували, використовуючи обговорені вище режими електрохімічної полімеризації, адсорбувалися із буферних водних розчинів протеїнові молекули фермента, іммобілізація яких на поверхні макромолекулярного шару ЕПП проводилась з допомогою парів глутарового альдегіду. Для запобігання швидкого змивання адсорбованих ферментних протеїнів на поверхню сформованого електрода накладалась пориста діалізна плівка, яка є проникною для молекул субстрата і низькомолекулярних продуктів реакції (виробництво Sigma-Aldrich.com, D9777, Lot2140628).

В роботі використовували алкогольоксидазу (АО) — фермент із *Hansenula polymorpha* з активністю 4 од./мг, пероксидазу хрону (ПО) з питомою активністю 90 од./мг та глюкозооксидазу (ГО) — фермент із *Penicillium Vitale* з активністю 85 од./мг, препарат виробництва КНПО Діагностикум (Львів), глюкозу, етанол і 50 %-й водний розчин глутарового альдегіду (Sigma-Aldrich Chimie S.a.r.l, Франція).

В ролі робочого фосфатного буферу використовували $(KH_2PO_4-Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O)$ із рН 7.4. Дослідження проводили в електрохімічній комірці з постійним перемішуванням реакційної суміші з допомогою потенціостата ПІ-50 із використанням трьохелектродної системи вимірювань: робочий електрод (платиновий дисковий, $D=3$ мм), хлорсрібний електрод порівняння і допоміжний Pt-електрод. На поверхню синтезованих електропровідних нанорозмірних плівок (поліаніліну, поліпіролу, політіюфену, полікарбазолу, поліамінофенолу) нами іммобілізовано алкогольоксидазу, глюкозооксидазу або біферментну систему (алкогольоксидаза + пероксидаза) і проведено порівняння електрохімічних та аналітичних характеристик ферментних електродів на платформах вказаних електропровідних полімерів з аналогічними параметрами для немодифікованого ЕПП платинового електрода.

На рис. 2 зображені циклічні вольтамперограми ферментних електродів у чистому буферному розчині та при додаванні до нього субстрату, з яких видно, що для поліпірольного біферментного (АО+ПО) електрода, наприклад, при додаванні в комірку етанолу спостерігається пік з максимумом при $\sim +0.5$ В, який може бути наслідком анодного окиснення H_2O_2 . Аналогічне збільшення анодного струму окиснення має місце при додаванні етанолу та глюкози до сконструйованих на платформі ЕПП до алкогольоксидазних та глюкозооксидазних електродів відповідно, що свідчить про можливість використання їх для ам-

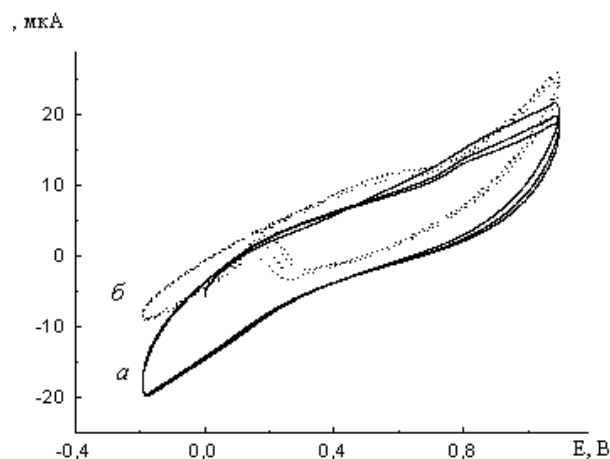


Рис. 2. Циклічні вольтамперограми біоелектрокаталітичного окиснення етанолу на ферментних електродах, модифікованих ЕПП: поліпірол + (АО+ПО), 50 мМ фосфатний буфер, рН 7.4 (а); поліпірол + (АО+ПО), 100 мМ етанол, 50 мМ фосфатний буфер, рН 7.4 (б).

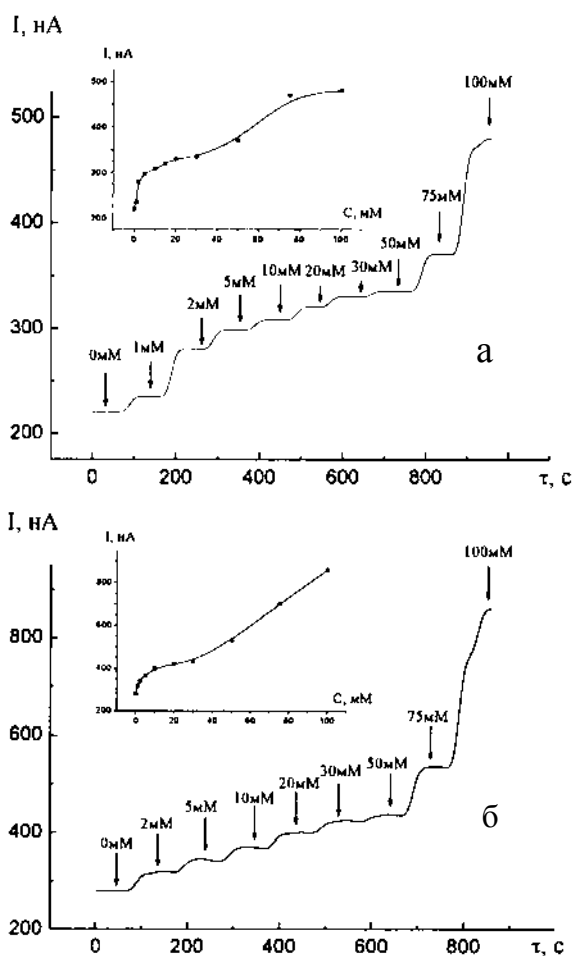


Рис. 3. Амперометричні відклики електрохімічної ячейки на додані кількості етанолу. Pt-електрод, модифікований поліаніліном в присутності алкогольоксидази (а) та біферментної системи (алкогольоксидаза+пероксидаза) (б). Вимірювання проводились в 50 мМ фосфатному буферному розчині (рН 7.4) при потенціалі +0.5 В. Графік на вставці: калібрувальна крива для визначення етанолу.

перометричної детекції сигналу при збільшенні концентрації субстрату. Виготовлені АО-ферментні електроди були протестовані на вміст етанолу в аналіті в інтервалі концентрацій 0.2—100 мМ при рН 7.4. На рис. 3 зображені криві залежності струму відклику електрохімічної ячейки від концентрації етанолу у фосфатному буфері при потенціалі +0,5В та величин струму відклику від часу експозиції при додаванні фіксованих кількостей етанолу.

Аналогічні дослідження були проведені для платиногового електрода, модифікованого досліджуваними ЕПП у присутності глюкозооксидази (GOx) при реєстрації амперометричних відкликів на

глюкозу, а також для платиногового електрода із ферментною системою, нанесеною безпосередньо на поверхню металу.

Сумарний вигляд калібрувальних кривих амперометричного відклику ферментних електродів на етанол та глюкозу приведено на рис. 4.

На основі експериментальних даних (рис. 4) були розраховані величини констант Міхаеліса (K_M) для дослідження ферментно-каталітичних реакцій, які протікають між субстратом та ферментом на поверхні електрода (таблиця).

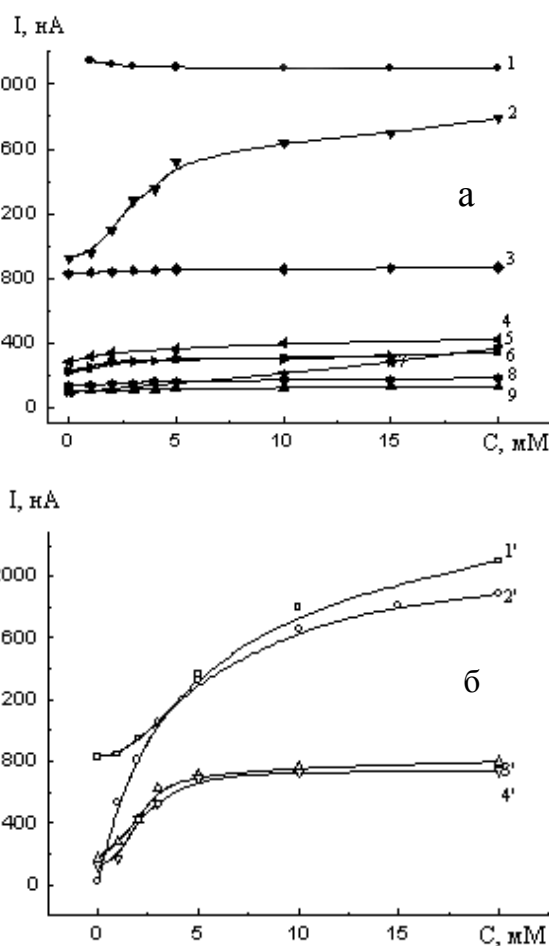


Рис. 4. Калібрувальні криві амперометричного відклику на етанол (а) і глюкозу (б), виміряного при +0.5 В відносно електрода порівняння Ag/AgCl при рН 7.4 для платиногового електрода, модифікованого електропровідними полімерами з адсорбованими на їхній поверхні ферментами. Будова поверхневого шару на Pt-електроді: 1 — без полімеру (АО); 2 — поліамінофенол (АО+ПО); 3 — полікарбазол (АО+ПО); 4 — поліанілін (АО+ПО); 5 — поліанілін (АО); 6 — без полімеру (АО+ПО); 7 — поліпірол (АО+ПО); 8 — поліамінофенол (АО) (а); 1' — поліпірол (ГО); 2' — без полімеру (ГО); 3' — полікарбазол (ГО); 4' — поліамінофенол (ГО) (б).

Порівнюючи електрохімічні та аналітичні характеристики електродів на основі електропровідних полімерів, можна відмітити, що при адсорбції самої алкогольоксидази на поверхні платини, сенсор практично не реагує на додавання етанолу, хоча загальний фоновий струм у цьому випадку є високим, що може бути обумовлено процесами електрохімічного окиснення функціональних груп макромолекулярного ланцюга білка, які каталізуються платиновою поверхнею у випадку прямого нанесення фермента на неї.

Відомо, що у білковому середовищі, яке вважається діелектриком, перенос електрона із донора на акцептор носить переважно "тунельний" характер [10]. Надлишковий електрон, здійснивши "тунельний" перехід від "збудженого" активного центру фермента до "кінцевого" атомного угруповання білка, попадає на границю розділу фаз платина—білок, тобто на електронні орбіталі металу, який є матеріалом електрода. У випадку немодифікованого електрода швидкість передачі електрона залежить як від тунельних факторів, так і від взаємного розміщення рівнів енергії атомів макромолекули білка і деталей розподілу електронної густини в молекулах-переносчиках.

Наявність ароматичних амінокислотних залишків у макромолекулі фермента або наявність системи спряжених зв'язків і неподілених електронних пар на атомах азоту, які утворюють рухливу систему π -електронів, забезпечує достатню кількість π -мостиків, які утворюють у структурі білка подібність "доріжки", вздовж якої тунелювання електрона іде ефективніше, аніж по інших шляхах, чим можна пояснити зміну провідності фонового струму залежно від природи фермента. Важливу роль в організації процесів електронного транспорту в молекулах білків (ферментів) відіграють також електронно-конформаційні взаємодії, які обумовлені відносним зміщенням білкових груп з амплітудами, що перевищують амплітуди валентних коливань атомів ($>1 \text{ \AA}$) (обмежена дифузія). Спонтанний тепловий рух білкових груп по конформаційних ступенях свободи сприяє виходу системи в реакційно-здатну конфігурацію, яка при адсорбції фермента на макромолекулярній поверхні ЕПП буде також залежати від розподілу заряджених центрів у ланцюгах полімерних матриць, що модифікують поверхню платинового електрода, а розподіл визначається хімічною природою елементарної ланки ЕПП, способом допування і видом допуючого агенту, умовами електрохімічного синтезу плівки ЕПП. Основною моделлю переносу заряду в полімерах на

сьогодні признана поляронна теорія провідності, згідно з якою при окисненні полімеру спочатку відбувається утворення поляронів, а при збільшенні окисленості можливе утворення біполяронів, кожний з яких локалізується протягом кількох мономерних ланок [2, 3]. Після акту переносу електрона з'являються нові заряджені центри і змінюється баланс електростатичних сил у молекулі білка. Це приводить до зміни рівноважних положень молекулярних груп, тобто до певної зміни просторової форми білка або до конформаційного переходу. В новій конформації мікротоочення окремих груп може істотно змінитися і, як наслідок, зміниться їхня реакційна здатність. Тим самим створюються передумови для регулювання в ланцюжку послідовних реакцій.

Чутливість немодифікованого полімером платинового електрода до етанолу підвищується при адсорбції на його поверхні біферментної системи АО+ПО. Очевидно, в присутності ПО покращується передача електрона до поверхні електрода. Зростання струмів миттєвих відкликів для ферментного електрода АО+ПО (рис. 4, крива 4), модифікованого поліаніліном, порівняно із АО-електродом (крива 5) теж може бути пов'язано із покращенням транспорту електрона із зони біохімічної реакції (активний центр фермента) до поверхні поліанілінової плівки внаслідок кращої здатності пероксидази до передачі електрона, оскільки приблизно 50 % її активних центрів розміщені на поверхні макромолекул фермента. На відміну від пероксидази, у якої гем-вмісний редокс-центр виявляється доступним для електронного переносу, алкогольоксидаза містить два редокс-центри, тому електронний перенос відбувається направлено від периферійного центру до внутрішнього компонента реакції [11]. Особливо яскраво ефект покращення передачі електрона у присутності пероксидази проявляється для Pt-електрода, модифікованого поліамінофенольною плівкою (рис. 4, а, крива 2), очевидно, це обумовлено зростанням функціональності модифікуючої плівки полімеру і здатності до окисно-відновних взаємодій із пероксидазою. Приведені результати дослідження, а також порівняння параметрів одержаних сенсорів, числові значення яких подано у таблиці, свідчать про вплив природи модифікуючого полімера на швидкість досліджуваних ферментно-каталітичних реакцій, розраховані величини констант Міхаеліса–Ментен (K_M) змінюються в межах від 11.64 ± 2.9 до $4391.2 \pm 169.6 \text{ мМ}$ при адсорбції на поверхні електропровідного полімеру самої алкогольоксидази та в межах від 33.74 ± 0.79 до

1142.8 ± 37.16 мМ — у випадку адсорбованої суміші ферментів (алкогольоксидаза + пероксидаза). Тип і природа фермента, адсорбованого на поверхні макромолекулярної плівки, яка модифікує Pt-електрод, теж впливає на величину струмів відклику амперометричної комірки і на характер взаємодії протеїн—електропровідний полімер: I_{\max} для поліамінофенольного електрода зростає при переході від алкогольоксидази (≈100 нА) до глюкозооксидази (120—600 нА) і до біферментної системи АО+ПО (900—1700 нА). Глюкозооксидаза, яка в водному розчині несе негативний заряд, може при накладанні електричного потенціалу доуватись у макромолекулярний ланцюг електропровідного полімеру [12]. Покращення операційної стабільності глюкозооксидазного електрода після циклювання (рис. 5, 6), очевидно, теж зв'язано з додатковою інкорпорацією фермента в полікарбазольну та в поліамінофенольну плівки [13]. Операційна стабільність алкогольоксидазного та (АО+ПО)-електрода, визначена через 2 год, навпаки, дещо зменшується порівняно із первинним відкликом (12 та ≈30 % відповідно), що може обумовлюватись складними йонообмінними, електростатичними та окисно-відновними взаємодіями в системі електропровідний полімер—функціональні групи макромолекул фермента, оскільки, згідно із літературними даними, електрохімічні властивості поліаніліну, наприклад, не залежать від наявності H_2O_2 , який є основним електроактивним продуктом даної ферментативної реакції [12].

При адсорбції АО та АО+ПО на немодифікованому платиновому електроді його чутливість до зміни концентрації субстрату спостерігається тільки для біферментної системи, максимальна величина струму відклику якої знаходиться в межах 170—1820 нА і зростає в ряду модифікуючих плівок: поліпірол > поліанілін > чистий Pt-електрод < полікарбазол < поліамінофенол (рис. 4, а).

Отже, при глобулярній структурі ЕПП внаслідок розвинутої площі поверхні контакту фермент—полімер можуть бути покращені механізми транспорту електронів між ферментами і електродом, що впливатиме на активність іммобілізованих молекул. Змінюючи природу електропровідного полімеру, з допомогою якого модифіковано поверхню електрода чи товщину полімерного шару, яку можна регулювати кількістю сканувань електродного потенціалу в заданих межах в потенціодинамічному режимі чи кількістю пропущеної електрики через систему в

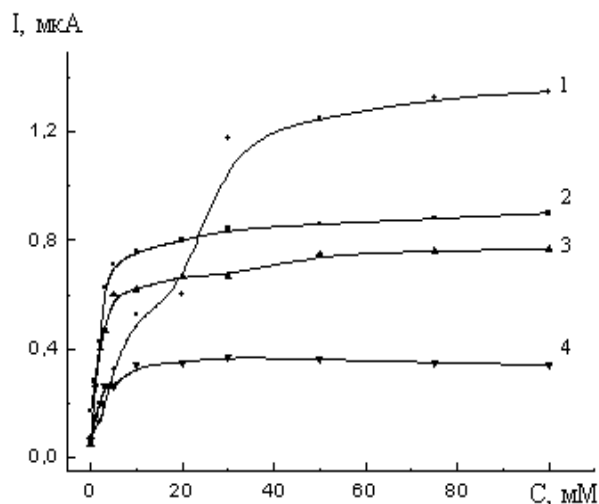


Рис. 5. Визначення операційної стабільності ферментного електрода ГО: 1 — відклик через 1 добу; 2 — первинний відклик; 3 — відклик через 3 доби; 4 — через 6 діб. Pt-електрод, модифікований полікарбазолом. $E = +0.5$ В.

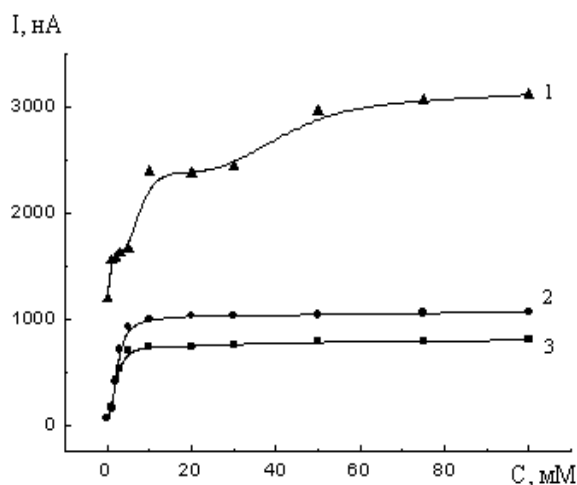


Рис. 6. Оцінка операційної стабільності ферментного електрода ГО: 1 — відклик через 3 доби; 2 — через 2 год; 3 — початковий відклик. Pt-електрод, модифікований поліамінофенолом. $E = +0.5$ В.

гальваностатичному режимі електролізу, можна впливати на характеристики амперометричних алкогольоксидазних біосенсорів, працездатність яких забезпечується перш за все сумісністю синтезованих ЕПП із даними ферментами, що свідчить про перспективність досліджень їх одночасного електроосадження на струмопровідних поверхнях.

Досліджені ферментні електроди, для яких іммобілізація біологічно активних компонентів

у матрицю ЕПП проводилась шляхом адсорбційної інкорпорації, характеризуються пропорційним зростанням струмового відклику ензимного електрода до кількості субстрату в аналіті, що може бути використано з діагностичною метою в медицині, для аналізу харчових продуктів та в екології.

РЕЗЮМЕ. Исследовано влияние природы электропроводных полимеров, электрохимически осажденных на поверхности платинового электрода, на их способность адсорбировать на своей поверхности ферменты глюкозооксидазы, алкогольоксидазы или биферментную систему алкогольоксидаза + пероксидаза (АО+ПО). Имобилизация ферментов на поверхности электродов, модифицированных электропроводными полимерами, позволяет применять полученные ферментные электроды в качестве амперометрических биосенсоров.

SUMMARY. The influence of nature of electroconductive polymers on their ability to adsorb on it's surfaces ferments: glucose oxidase; alcohol oxidase; alcohol oxidase + peroxidase biferment system were studied. Polymers were electrochemically precipitated on platinum electrode surface. The ferments immobilization on surface of electrodes, modified by the electroconductive polymer

allows to use the prepared ferment electrodes as the amperometric biosensors.

1. Alan J. Heeger // *Current Appl. Physics.* -2000. -№ 1. -P. 247—267.
2. Alan G. MacDiarmid. // *Ibid.* -2001. -№ 1. -P. 269—279.
3. Saraswathi R., Gerard M., Malhotra B.D. // *J. Appl. Polym. Sci.* -1999. -74. -P. 145—150.
4. Manju Gerard, Asha Chaubey, Malhotra B.D. // *ELSEVIER. Biosensors and Bioelectronics.* -2002. -17. -P. 345—359.
5. Шеллер Ф., Киришайн Д., Шуберт Ф. и др. Ферменты в электрохимических биосенсорах. *Электрохимия.* -1993. -29, № 12. -С. 1522—1527.
6. Gonchar M., Maidan M., Korpan Ya. et al. // *ELSEVIER.* -2002. -2. -P. 307—314.
7. Тарасевич М.Р., Богдановская В.А., Жутаева Г.В. // *Электрохимия.* -1993. -23, № 12. -С. 1554—1561.
8. Koval'chuk E.P., Whittingham S., Skolozdra O.M. et al. // *Mater. Chem. Phys.* -2001. -69. -P. 154—162.
9. Genies E. M., Lapkowski M. // *J. Electroanal. Chem.* -1987. -236. -P. 189—197.
10. Шайтан К.В. // *Соросовский образовательный журн.* -1999. -№ 3. -С. 55—62.
11. Cass A.E.G., Davis G., Francis G.D. et al. // *Anal. Chem.* -1984, -56. -P. 667—671.
12. Shaolin Mu., Huaiguo Xue. // *Sensors and actuators.* -1996. -B31. -P. 155—160.
13. Bartlett P.N., Caruana D.J. // *Analyst.* -1992. -117. -P. 1287—1292.

Львівський національний університет ім. Івана Франка

Надійшла 16.06.2005