

ґратками, зокрема, сполуки CeCoIn_5 та Ce_2CoIn_8 є важкоферміонними системами і за низьких температур характеризуються антиферомагнітним упорядкуванням і наявністю надпровідного стану.

Слід відзначити значні досягнення науковців Львівської кристалохемічної школи (кафедра неорганічної хемії ЛНУ), засновниками якої були професори Євген Черкашин, Євген Гладішевський, Петро Крип'якевич. Доробок школи у

дослідженні інтерметалевих сполук зі середини минулого століття становить майже п'яту частину світових результатів. Особливо слід відзначити досягнення у дослідженні силіцидів та германидів (Є. Гладішевський)⁵, боридів (Ю. Кузьма)⁶, інтерметалідів рідкісноземельних металів (О. Бодак)⁷, алюмінідів (О. Заречнюк), станідів (Р. Сколоздра)⁸, галідів (Я. Ярмолук), фосфідів (Ю. Кузьма, С. Чихрій, С. Оришин)⁹.

Ярослав КАЛИЧАК

БІОСЕНСОРІ: НАУКОВІ ОСНОВИ КОНСТРУЮВАННЯ ТА ПРИКЛАДИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ ДЛЯ АНАЛІЗУ ТОКСИЧНИХ СПОЛУК

Інтенсивний розвиток промисловості і широке використання хемікатів у виробництві та народному господарстві зумовлює забруднення повітря, ґрунту і води багатьма різними токсинами. Загальновідомо, що серед токсичних речовин, які забруднюють навколишнє середовище, особливе місце належить важким металам, пестицидам та формальдегіду. Важкі метали та їх сполуки характеризуються порівняно високою стійкістю до деградації у зовнішньому середовищі, розчинністю в атмосферних опадах, здатністю до сорбції ґрунтами й акумуляцією рослинами. Вони здатні нагромаджуватися в організмі, відрізняються широким спектром і різноманітним проявом шкідливих впливів та часто отруйні для людини. Багато досліджень сфокусовано на вивченні метало-індукованої токсичності та канцерогенності перехідних металів у зв'язку з їх роллю у генерації активних форм кисню та азоту в живих організмах. Індуковане металами утворення вільних радикалів викликає різноманітні модифікації азотистих основ ДНК, посилює процеси пероксидації ліпідів, а також зміни в кальцієвому та тіоловому гомеостазі. Відомо багато біохемічних, фізіологічних та клінічних доказів того, що існує безперечна кореляція між збільшенням пулу іонів металів в організмі та підвищеним ризиком розвитку злоякісних пухлин, зокрема, легень (мідь, хром), простати (залізо, цинк, кобальт і кадмій) та підшлункової залози (нікель). На рівні з важкими металами забруднення пестицидами навколишнього середовища — ще один фактор високого ризику для здоров'я людини. Токсичні сполуки фосфорорганічних пестицидів стійкі до розкладання, характеризуються високим ступенем проникнення і потрапляють у продукти харчування людей.

На екологічний стан навколишнього середовища значно впливає забруднення формальдегі-

дом (ФА). Аналіз ФА у зразках морепродуктів є одним із основних критеріїв їх сертифікації, а наявність цього аналіту в інших зразках харчових продуктів (соках, чіпсах і т. ін.) чітко свідчить про екологічне забруднення вихідної сировини. Токсичність ФА як високореакційноздатної сполуки не викликає сумніву. Небезпечними є генотоксична, мутагенна, цитотоксична (за типом апоптозу, іммуногенна (в т. ч. алергенна) й онкогенна (індукує плоскоклітинну карциному носової порожнини у щурів і мишей) дії. Особливо небезпечна мутагенна дія, яка зумовлена здатністю ФА утворювати ДНК-білкові поперечні зшивки з алкілюванням аміногруп амінокислот та основ нуклеїнових кислот. ФА розглядають як основну причину SBS-синдрому (sick building syndrome) — певного набору симптомів, пов'язаних з подразненням верхніх дихальних шляхів та очей, які викликані компонентами (зокрема ФА), що виділяються із будівельних матеріалів у домашніх та службових приміщеннях. Шкідливого для життя рівня ФА може досягати в повітрі за фотохімічного смогу, природних та техногенних катастроф, які супроводжуються пожежами. Багато ксенобіотиків (N-нітрозамін, метиламін, гідроксиламін, метансульфанова кислота, метилхлорид, спирт, нікотин, ефіри) є екзогенним джерелом згаданої токсичної сполуки. Ендогенними джерелами ФА є гліцерол, креатин, адреналін, холін. Дослідження останніх років показали, що ФА є у фруктах, овочах, м'ясі та біологічних рідинах людини та вакцинах. Він виявлений у фруктових-овочевих соках деяких виробників, у копчених м'ясних продуктах, деяких видах італійського сиру, в молочній продукції — у зв'язку з тим, що ФА використовують як бактеріостатичний агент, пестицид, фунгіцид і консервант. Особливо високий рівень ФА може тестуватися у деяких рибних продуктах, зокрема

⁵ Гладішевський Е. И. Кристаллохимия силицидов и германидов.— Москва, 1971.— 296 с.

⁶ Кузьма Ю. Б. Кристаллохимия боридов.— Львов, 1983.— 164 с.

⁷ Бодак О. И., Гладішевський Е. И. Тройные системы, содержащие редкоземельные металлы.— Львов, 1985.— 328 с.

⁸ Skolozdra R. V. Stannides of rare earth and transition metals // Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths.— Amsterdam, 1997.— Vol. 24.— P. 199—517.

⁹ Kuz'ma Yu. B., Chykhrij S. I. Phosphides // Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths.— Amsterdam, 1996.— Vol. 23.— Chapter 156.— P. 285—434.

хеку, мінтаї. Вміст ФА може сягати від 210 і навіть до 780 мг на кг вологої маси, що не просто знижує харчову якість продукту, а й становить серйозну токсикологічну проблему, що аргументує потребу постійного контролю цього параметру при сертифікації в Україні рибних продуктів. У зв'язку з широким використанням та поширенням ФА є гостра потреба в контролі цієї речовини в багатьох продуктах і в навколишньому середовищі з допомогою високочутливих і селективних методів.

Найгостріше потреба в оцінюванні якості сільськогосподарської сировини та готової харчової продукції постала у зв'язку з намаганнями України інтегруватися до Європейського Союзу, розширенням ринків збуту української сировини та готової продукції. Унаслідок упровадження в Україні стандартизованих технологій виробництва сільськогосподарської продукції на принципах „Усталеної сільськогосподарської практики (Good agricultural practice)“ відбувається сприяння розробленню і впровадженню систем управління якістю на основі принципів ISO 9000 та системи управління безпекою харчових продуктів ХАССП (Hazard Analysis and Critical Control Point, скорочено НАССР). Ця система у розвинутих країнах уже давно стала нормою виробництва і визнана найдієвішим засобом забезпечення безпеки продовольчих товарів. В умовах ринкової економіки швидкий та якісний аналіз харчових продуктів та напоїв набуває особливо значення через загальні зусилля з досягнення їх високої якості та конкурентоспроможності як на внутрішньому ринку, так і за межами України. Потреба в контролі якості харчових продуктів, моніторинзі багатьох технологічних процесів вимагає розробки новітніх методів якісного, швидкого і недорогого аналізу найрізноманітніших речовин. Незамінним інструментом сучасної аналітичної біотехнології стали біосенсори, які поєднали досягнення аналітичної біохемії, ензимології, імунології, генної інженерії та електроніки в єдиному руслі.

Згідно з класифікацією IUPAC, біосенсор — це автономний інтегральний аналітичний прилад, який забезпечує кількісний чи напівкількісний аналіз з використанням біологічного розпізнавального елемента, який прямо контактує з фізичним перетворювачем. Рушійною силою у дослідженні сенсорів було яскраво виражене розуміння їх широких практичних можливостей. Ці дослідження зумовлені постійною потребою поліпшення охорони навколишнього середовища, контролю біотехнологічних процесів, перевірки якості харчових продуктів і питної води, збільшення кількості клінічних тестів у медичній та ветеринарній діагностиці. Водночас інтереси військовиків незмінно зосереджені на спеціальних вимогах біологічного та хімічного захисту. Також привабливою є можливість безперервного *in vivo* моніторингу метаболітів, лікарських препаратів і білків з допомогою мініатюрних і портативних систем. Прикладом клінічного застосування є сенсор глюкози для хворих на діабет, що став класичним об'єктом досліджень у сфері біосенсорів.

Біосенсори складаються з трьох частин:

- біоселективного елемента (біологічний матеріал, наприклад тканини, мікроорганізми, органи, рецептори, ферменти, антитіла, нуклеїнові кислоти і т. д.), матеріал біологічного походження або біоміметик. Чутливий елемент може бути створений з допомогою біоінженерії.

- перетворювач (працює на фізико-хімічному принципі; оптичний, п'єзоелектричний, електрохімічний і т. д.), який перетворює сигнал, що створюється внаслідок взаємодії аналіта з біоселективним елементом, в інший сигнал, який вимірюється;

- реєструвальний прилад, який відповідає насамперед за відображення результатів у зручному для користувача вигляді.

Важливими перевагами біосенсорів є висока селективність і чутливість (особливо у випадку антиген-антитіло), можливість мініатюризації і сумісність з комп'ютерними процесами; недоліками — обмежена стабільність та складність у приготуванні біоелемента. Нині опубліковано низку оглядів, монографій, багато експериментальних праць, в яких описано різні типи біосенсорів. Залежно від типу перетворювача, біосенсори класифікують на оптичні, акустичні, калориметричні, термічні і електрохімічні (Іл. 1).

Електрохімічні біосенсори своєю чергою ділять на потенціометричні, амперометричні і кондуктометричні.

Амперометричний метод ґрунтується на вимірюванні густини чи сили струму, що проходить крізь електрохімічну комірку за постійного потенціалу. Амперометрична система складається з трьох електродів (Іл. 2): один з них робочий, на нього



1. Класифікація біосенсорів

наносять біологічно чутливий шар, другий — допоміжний, а третій — електрод порівняння, який містить відому хімічну сполуку, зазвичай це Hg/HgCl (насичений каломельний електрод) або Ag/AgCl (хлоросрібний електрод).

Амперометричні біосенсори можна поділити на три типи:

1. Безмедіаторні (основною яких є вимірювання концентрацій природних субстратів і продуктів ферментативної реакції). Під час перебігу будь-якої реакції утворюються продукти і поглинаються субстрати. Якщо вони електроактивні, то їх концентрацію можна вимірювати безпосередньо з допомогою амперометричного перетворювача. Ферменти, які каталізують реакції такого типу, — це оксидази.

2. Медіаторні (сенсори в них — низькомолекулярні частинки або медіатори, які використовуються як переносники електронів з активного центра ферменту на електрод). Це дає змогу працювати з нижчими потенціалами і таким чином зменшувати вплив кисню на відгук (у разі оксидації). Медіатори можна додавати до вимірювального розчину або іммобілізувати їх на поверхню електрода.

3. Амперометричні біосенсори, основою роботи яких є пряме перенесення електронів між активним центром ферменту та електродом. Це пов'язано з каталітичною природою процесу загалом і з тим, що перенесення електрона з електрода на молекулу субстрату і навпаки відбувається

безпосередньо через активний центр ферменту за відсутності будь-яких переносників електронів. Таким сенсорам притаманні висока селективність, чутливість і брак впливу інтерферуючих частинок і реакцій.

Кондуктометричні біосенсиори — дуже перспективний клас високочутливих приладів. Кондуктометрія — це метод, за якого електродні електрохімічні реакції не відбуваються взагалі або є допоміжними і не враховуються. Цей метод ґрунтується на вимірюванні провідності розчинів електролітів. Провідність рідин — результат дисоціації розчиненої речовини (електроліту) на іони та їх міграції під дією електричного поля. Під час проходження електричного струму крізь електроліти останні розкладаються на атоми чи групи атомів, які є частинами молекули розчиненої речовини, а саме іонами. Провідність розчину залежить від концентрації та рухливості його іонів. Під час реакції можуть утворюватись нові іони, змінюватись їх концентрація та рухливість. Все це призводить до зміни провідності розчину, що й реєструється кондуктометричним датчиком. Кондуктометричний перетворювач — це мініатюрний

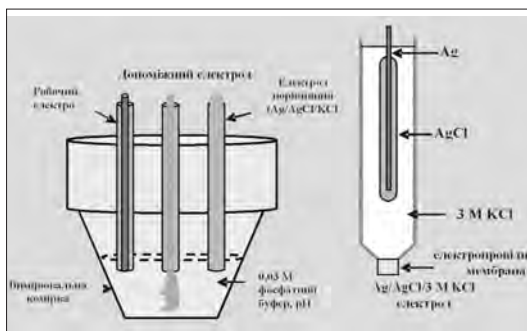
двохелектродний пристрій для вимірювання провідності тонкого шару розчину, який міститься безпосередньо біля поверхні електродів. У цих приладах використовують дві пари ідентичних електродів. Мембрана, що містить іммобілізований фермент, розташовується між однією парою електродів, а „чиста” мембрана — між іншою парою. Якщо є ферментна активність, то спостерігається зміна електричного опору. Класичний кондуктометричний метод вимірювання застосовують у ферментативному каталізі для визначення концентрації певних речовин та активності ферментів.

Потенціометричний ферментний електрод характеризується тим, що різниця потенціалів формується на чутливому елементі і вона вимірюється дуже чутливим приладом, до того ж не виникає струму крізь мембрану і тому рівень дифузії не є важливим. Потенціометричні сенсори, що використовуються в біосенсорах, включають іоноселективні електроди, газочутливі електроди та польові транзистори. Іоноселективні та газочутливі електроди вже широко застосовуються в клінічному аналізі і знайшли місце в біосенсорах. Іоноселективний польовий транзистор (ІСПТ) включає іоноселективну мембрану, яка дозволяє пройти тільки одному типу іонів. Водневий іоноселективний електрод (рН-електрод) був використаний для аналізу пеніциліну за використанням ферменту бета-лактамази, яка перетворює пеніцилін на пеніцилову кислоту. Електрод рН визначає концентрацію кислоти. Амонійний іоноселективний електрод використано в поєднанні з іммобілізованою уреазною мембраною для визначення сечовини в крові. Також відомі йодид та фторид — іоноселективні електроди як компоненти біосенсори. Польовий транзистор (ПТ) — це перетворювач, в якому провідність напівпровідникового матеріалу контролює електричне поле. ПТ піддається мініатюризації і зберігає високу чутливість, що робить цей прилад

дуже перспективним до використання *in vivo*.

Для аналізу ФА запропоновано кілька типів біосенсори, які відрізняються як природою біоелемента (клітинні, ензимні), так і за характером перетворювача: потенціометричні, кондуктометричні, амперометричні. Потенціометричні біосенсиори базувались на рН-чутливих польових транзисторах (рН-ПТ) та чутливих до ФА біоелементах, іммобілізованих на поверхні електрода: клітинах метилотрофних дріжджів *Hansenula polymorpha*, неметилотрофних дріжджів *Candida maltosa*, *Saccaromyces cerevisiae*, а також ферментів — алкогольоксидази (АО) метилотрофних дріжджів і алкогольдегідрогенази (АдДГ) бактерій. Ці сенсори ґрунтуються на утворенні мурашиної кислоти під час окислення ФА біорозпізнавальним елементом та зміні під впливом дифундуючих протонів електронної провідності елемента. Ферментні біосенсиори на базі рН-чутливих польових транзисторів більш чутливі, ніж клітинні. Біосенсор з використанням АО є високоселективним до ФА, не дає потенціометричних відгуків на первинні спирти, проявляє високу стабільність при зберіганні — 30 днів, його операційна стабільність —

не менше 7 год. (70 аналізів). Час відповіді біосенсора на аналіт — 10—60 сек., лінійний діапазон концентрацій — 10—300 мМ ФА. Описано інший потенціометричний біосенсор з використанням АО та золь-гелю і полі(2-гідроксиетилметакрилату) (рНЕМА) як матриці для іммобілізації ензиму, який має перевагу над згаданим. Цей сенсор давав відгук на 1—100 мМ ФА і був селективним до ФА, хоча деякі спирти (метанол, етанол та гліцерол)



2. Принципова схема триелектродної конфігурації амперометричного сенсора

та інші субстрати (ацетальдегід і глюкоза) виявляли інтерферуючий вплив під час визначення ФА. Потенціометричний біосенсор з використанням АдДГ *Pseudomonas putida*, іммобілізованої на поверхні рН-ПТ карбодіімідним методом, виявляв вищу чутливість до ФА (лінійний діапазон — 20—200 μ М, нижня межа визначення — 10 μ М), ніж біосенсор з АО із *H. polymorpha*. Основними хибами рН-ПТ біосенсори є залежність відгуку від буферної ємності зразків та нижча чутливість порівняно з іншими типами сенсори.

Показано, що високу селективність до ФА, крім потенціометричних, мають кондуктометричні біосенсиори. В основі роботи цих сенсори лежить ферментативна реакція, яка призводить до генерації іонів і спричинює зміну провідності аналізованого розчину, що і фіксується з допомогою кондуктометричного аналізу. Як біоеlement для конструювання такого типу біосенсори використано формальдегіддегідрогеназу (ФдДГ) *P. putida* і АО *H. polymorpha*. Лінійний діапазон роботи сенсори лежить у межах 1—50 мМ і 0,05—500 мМ відповідно. Обидва біосенсиори проявили високу стабільність при зберіганні 90 днів (ФдДГ-біосенсор) і 30 днів (АО-біосенсор). Важливою характеристикою такого типу сенсори є залежність відгуку від рН розчину. Кондуктометричний біосенсор на основі ФдДГ проявив високу селективність до ФА, хоча давав незначні відгуки на метанол (2,7 відсотка відгуку на ФА), етанол (2,2 відсотка) і гліцерол (7 відсотків).

Описано амперометричну детекцію ФА, яка полягає у генерації струму на робочому електроді в процесі передачі електронів від аналіту через посередництва NADH і синтетичного медіатора. Під час створення ФА-чутливих амперометричних біосенсорів у ролі біоселективного елементу широко використовують NAD^+ -залежну ФдДГ бактерій *P. putida*, *Pseudomonas* sp. Останнім часом використовують осмієвісміні медіатори, які переносять електрони з утвореного в дегідрогеназній реакції NADH на електрод. Розроблені біосенсиори характеризувались хорошою стабільністю. Наприклад, сенсор із використанням ФдДГ *Pseudomonas* sp. зберігав до 50 відсотків відгуку протягом 25 днів, його операційна стабільність — 10 днів (за 20 вимірів протягом дня). Сенсор є селективним до ФА (100 відсотків), хоча давав відгуки на ацетальдегід (18,6 відсотка), пропіональдегід (16 відсотків) та масляний альдегід (6,5 відсотка), але на первинні спирти відгуку не було. Сконструйовано амперометричні біосенсиори з використанням бактерійного ферменту (ФдДГ) та хінонів як електрохімічних медіаторів перенесення електронів від NADH на електрод. Такі біосенсиори дають можливість визначати 0,2—2 мМ ФА в розчині.

Для кількісного визначення ФА ми розробили безреагентні амперометричні біосенсиори, здатні до функціонування без внесення в аналізований розчин жодних із реагентів, включаючи медіатори, з використанням NAD^+ і глутатіонзалежної рекомбінантної ФдДГ метилотрофних дріжджів (*Il. 3*) або клітин дріжджів з надпродукцією цього ферменту. Для ензимного біосенсора максимальна відповідь становить $250 \pm 5,3$ мкА для електрода діаметром 3,05 мм. Км для ФА становить $120 \pm 5,3$ мМ. Верхня межа лінійної області калібрувальної кривої для створеного біосенсора становить 20 мМ.

Як медіатори для передачі сигналу використовували осмієвісміні полімери для ензимного сенсора і вільнодифундуючий 2,6-дихлорофеноліндофенол (ДХІФ) для клітинного сенсора. Амперометричні біосенсиори з використанням клітин (діапазон лінійності в межах 1—7 мМ) є менш чутливими порівняно з ензимними, але їх переважає дешевизна. Показано використання описаних сенсорів для аналізу концентрації ФА у фармацевтичних та дезінфікуючих засобах, стічних водах, рибних продуктах та вакцинах.

Як відомо з літератури, багато сенсорів для аналізу ФА ґрунтуються на хімічних реагентах як чутливих елементів. Описано ручний ФА-чутливий газовий сенсор із використанням 4-аміногідразин-5-меркапто-1,2,4-тіазолу (АГМТ), який адсорбовано на скляному фільтрі. Лінійний діапазон хемосенсора лежить у межах 0,08—1 ppm ФА в повітрі, мінімум визначення — 0,04 ppm. Сенсор володіє швидкою відповіддю (в межах 3 хв.) порівняно з описаним раніше.

Для аналізу ФА в повітрі описано біля 15 сенсорів, основою яких є окиси металів (NiO , SnO_2 - NiO , $\text{NiO}/\text{Al}_2\text{O}_3$, $\text{ZnO}/\text{ZnSnO}_3$, $\text{CdO}-\text{In}_2\text{O}_3$, $\text{SnO}_2-\text{In}_2\text{O}_3$, CdO , $\text{LaFe}_{1-x}\text{Zn}_x\text{O}_3$). Сенсори на основі оксидів не-

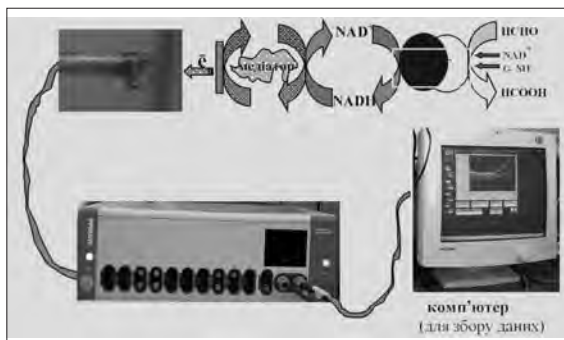
дорогі та прості у користуванні, але проблемою у їх експлуатації є потреба високотемпературного режиму, тому їх застосування обмежене через енергетичні затрати споживання. Розроблено газові біосенсиори, чутливі до дії ФА за кімнатної температури і дії ультрафіолетового світла.

Нещодавно сформовано новий напрям науково-технічних та біохімічних досліджень, що об'єднує нанонауку, нанотехнологію, нанобіотехнологію, наномедицину. Основним продуктом нанотехнологій є наночастинки (НЧ) — органічні та неорганічні структури, що мають розмір менше 100 нанометрів. Особливі властивості НЧ пов'язані як з надзвичайно розвинутою поверхнею, так і з властивими їм електронними та квантовими ефектами. Використання НЧ у нових сигнальних технологіях виготовлення перетворювачів, нановимірювання дають змогу розробити прості і швидкі методи аналізу ФА *in vivo*, що суттєво розширює можливості методів біоелектрохімічного аналізу.

Перспективним у сенсорних технологіях є використання тонких шарів полімеру в поєднанні з НЧ, які володіють високою чутливістю, швидкою відповіддю, здатністю працювати за кімнатної температури. Наприклад, Зенг показує альтернативне використання полімеру поліаніліну (ПАНі) з TiO_2 частинками на електроді, таке доповнення підвищило термостабільність сенсора. Інша група дослідників пропонує інші композиції: поліпірол з MoO_3 та ПАНі з MoO_3 . На відповідь до аналізу згаданих сенсорів впливають розмір і форма оксидних частинок, ступінь дисперсії, вид взаємодії між органічною та неорганічною фазами безпосередньо. Для амперометричного визначення ФА у

водних розчинах описано використання сенсора, основою якого є поєднання платинових НЧ з ПАНі, який покриває вуглецеві нанотрубки на поверхні графітового електрода. Його лінійний діапазон — 10^{-9} до 10^{-3} М, діапазон чутливості — $4,6 \cdot 10^{-11}$ М, що переважає відомі аналоги. Описано електрохімічний сенсор з основою НЧ Pt-Pd, нанесених на поверхню нафтонової плівки карбонового електрода. Лінійний діапазон — до 10 μM , з межею детекції 3 μM . Вперше Кюрі описав біосенсор із ковалентно іммобілізованою ФдДГ на нанокристалі CdS , якими модифіковано золотий електрод. Сенсор проявляє хорошу операційну стабільність — 6 год., мінімум визначення для ФА — 41 млрд. Показано, що кристали CdS можуть збільшити ефективність фотохімічного відгуку, бути пов'язані з ензимом (для генерації нових фотохімічних систем) і слугувати ефективним світлочутливим матеріалом, щоб замінити кофактори NAD^+/NADH для передачі сигналу в дегідрогеназній реакції.

Показано використання електрохімічного біосенсора для аналізу ФА, який вивільнюється під час лікування ракових захворювань деякими препаратами. Основою сенсора є іммобілізована ФдДГ на вуглецевих нанотрубках (CNT), якими модифіковано SPE. Використання НЧ розширює можливості методів аналізу ФА, що може бути доповненням до класичних біохімічних методів.



3. Принципова схема функціонування безреагентного формальдегідного біосенсора на основі рекомбінантної ФдДГ

Уже розроблено низку ензимних біосенсорів для аналізу токсикантів у водних зразках: ацетилхолінестеразу (АцХЕ) використовували для визначення пестицидів і α -анатоксинів, лактатдегідрогеназу — для аналізу пентахлорофенолу, целобіаздегідрогеназу — для дослідження фенольних похідних, глутатіон-S-трансферазу — для визначення каптану, уреазу — для ртуті, міді й кадмію, карбоксилестеразу — для селену. Оптичний біосенсор на основі АцХЕ розроблено для визначення параоксону та каптану у водних зразках.

Біосенсиори, які базуються на АцХЕ, карбоксилестеразі, альдегіддегідрогеназі та уреазі і глутаматдегідрогеназі, застосовано для визначення пестицидів в екстрактах ґрунту. Незважаючи на значну активність, спрямовану на розроблення біосенсорів на основі ензимного інгібіторного аналізу, аналітичне застосування їх обмежене. Це пов'язано з тим, що більша частина із розроблених біосенсорів не здатна розрізняти різні токсичні речовини в одному й тому самому зразку. Наприклад, біосенсиори на основі холінестераз є чутливими як до пестицидів, так і до іонів важких металів. Відповідно, одночасна наявність іонів важких металів і пестицидів не дає змоги визначати специфічний аналіт з необхідною точністю. Сьогодні дослідники спрямували значні зусилля на розв'язання цих проблем шляхом створення мультибіосенсорів.

Наприклад, для створення мультисенсора на основі рН-чутливих польових транзисторів підібрано оптимальні умови для одночасної роботи біоселективних елементів на основі АцХЕ, уреаз, бутирилхолін естерази, глюкозооксидази та триензимної системи — інвертази, мутаротази, глюкозооксидази у складі. Розроблений варіант мультибіосенсора та запропонована методика визначення токсикантів може бути використана для визначення певних пестицидів та іонів важких металів.

Для визначення іонів важких металів, зокрема іонів Hg^{2+} та Ag^+ , створено кондуктометричні біосенсиори на основі триферментної системи (інвертаза, мутаротаза, глюкозооксидаза). Для такого сенсора використовували диференційну пару планарних золотих гребінчастих електродів, нанесених на ситалову підкладку. В основі роботи біоселективного елементу розробленого кондуктометричного біосенсора лежить каскад ферментативних реакцій з участю згаданих ферментів. У ході реакцій генеруються протони, при цьому змінюється рН і провідність розчину, яку і можна реєструвати з допомогою кондуктометричного перетворювача.

Останні дослідження показали можливість застосування електрохімічних біосенсорів як непрямих методів для визначення важких металів. Так, іони Cd^{2+} , Cu^{2+} , Cr^{3+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} і Pb^{2+} та Hg^{2+} можна визначати із використанням уреазного біосенсора. Cd^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} і Pb^{2+} — з допомогою біосенсора на основі лужної фосфатази; Cd^{2+} , Cu^{2+} і Pb^{2+} — на базі глюкозооксидази; Hg^{2+} — за використанням глюкозооксидази, інвертази та мутарози;

Cu^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} та Fe^{3+} із застосуванням ацетилхолінестерази; Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} та Pb^{2+} — нітрат редуктази, Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} — пероксидази хрому.

Крім того, є речовини, контроль яких може свідчити про якість харчових продуктів та напоїв, а перевищення концентрацій деяких із них може бути токсичним для людини. Визначення вмісту лактату та етанолу має важливе значення в клінічній діагностиці, в бродильному виробництві та контролі якості харчових продуктів. Так, дія етанолу на організм призводить до змін у багатьох системах та органах, оскільки він залучається до найважливіших процесів життєдіяльності. Дія етанолу спричиняє різноманітні розлади внутрішньоклітинного обміну. Рівень молочної кислоти в крові слугує важливим клініко-діагностичним індикатором гіпоксії, молочнокислого ацидозу, шокового стану, гострого інфаркту міокарда і має значне прогностичне значення в реанімаційній терапії.

Створено лабораторні прототиби амперометричних сенсорних систем для аналізів лактату та етанолу. Сконструйовано новітній L-лактат-селективний біосенсор на основі флавоцитохрому b^2 із термотолерантних дріжджів *H. polymorpha* та показано можливість прямого переносу електронів із відновленого флавоцитохрому b^2 на поверхню графітового електроду. Це відкриває широкі перспективи для його застосування під час створення лактат-селективних амперометричних біосенсорів третього покоління. Завдяки використанню оригінальної сендвіч-архітектури біоселективного шару, розроблено бі-ензимні амперометричні біосенсиори для аналізу етанолу, метанолу та ФА на основі пероксидази хрому та АО зі клітин штаму метилотрофних дріжджів *H. polymorpha*. Сенсор характеризувався високою операційною стабільністю та стабільністю при зберіганні.

У світі існує низка промислових біосенсорних приладів для аналізу глюкози, сечовини та ін., але аналітичних пристроїв для визначення іонів важких металів, пестицидів та формальдегіду ще немає. Створені лабораторні моделі ферментних біосенсорів та мультибіосенсора для експресного визначення концентрацій токсичних речовин у водних розчинах можуть бути основою під час розробки та налагодження промислового випуску вимірювальних приладів для інтегрального та селективного аналізу певних забруднювачів води.

Біосенсиори¹ можуть бути використані в широкому спектрі наук, зокрема в медицині, для самообстеження та самоконтролю пацієнтами, для моніторингу навколишнього середовища, для контролю за якістю харчових продуктів. Але особливу увагу привертає придатність деяких типів біосенсорів для використання *in vivo*. Отже, біосенсиори — надзвичайно вдале досягнення сучасної науки, перед яким необмежене поле діяльності.

Галина ГАЙДА,
Михайло ГОНЧАР, Ольга ДЕМКІВ

¹ Дзядевич С. В., Солдаткін О. П. Наукові та технологічні засади створення мініатюрних електрохімічних біосенсорів. 1-ше вид.— К., 2006.— 256 с.; Оптимізація кондуктометричного триензимного біосенсора для визначення іонів важких металів / І. С. Кучеренко, О. О. Солдаткін, В. М. Пешкова та ін. // Біотехнологія.— 2009.— Т. 2.— № 3; Розроблення процедури мультибіосенсорного визначення важких металів і пестицидів у довкіллі / О. О. Солдаткін, О. С. Павлюченко, О. Л. Кукла та ін. // Там само.— 2010.— Т. 3.— № 2; Formaldehyde oxidizing enzymes and genetically modified yeast *Hansenula polymorpha* cells in monitoring and removal of formaldehyde / V. Sibirny O. Demkiv, S. Sigawi et al. // Chapter 6 in the Book „Waste Water — Evaluation and Management“ / Ed. F. S. G. Einschlag.— In Tech. (Croatia).— 2011.— P. 115—154 та ін.