

БИОХИМИЯ

УДК 541.134

МИНИАТЮРНЫЙ рН-СЕНСОР ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ СИСТЕМ

С.С. Рясенский, А.А. Петрова

Тверской государственной университет

*Изготовлен рН-сенсор для биологических и биохимических систем на основе электропроводного полимера – политолуидина. Определены его основные метрологические характеристики. Для подтверждения возможности практического применения сенсора использован симбиотический организм *Medusomyces gisevi*.*

*Ключевые слова: рН-сенсор, электропроводный полимер, политолуидин, *Medusomyces gisevi*.*

Введение. При изучении многих биологических и биохимических систем есть необходимость контролировать величину рН. До недавнего времени для этих целей в качестве датчика было возможно использовать только стеклянный электрод. Хрупкость конструкции этого электрода, значительные габариты не позволяют воспользоваться им при проведении некоторых экспериментов. Кроме того, высокое внутреннее сопротивление стеклянного электрода определяет повышенный уровень электрических шумов при измерениях.

В литературе появлялись отдельные сообщения о рН-сенсорных свойствах некоторых электропроводных полимеров [3]. Использование электропроводных полимеров позволяет реализовать рН-сенсор минимальных размеров с высокими метрологическими характеристиками. Более того, известно [5], что некоторые электропроводные полимеры хорошо сочетаются с биологическими объектами, т.к. эти материалы не являются токсичными для живых организмов.

Целью настоящей работы – создание и апробирование миниатюрного рН-сенсора для биологических и биохимических исследований на основе электропроводного полимера – политолуидина. Выбор этого полимера обусловлен тем, что наряду с хорошими рН-сенсорными свойствами, он имеет хорошую адгезию к платине [2].

Материалы и методы. При создании рН-сенсора необходимо было нанести тонкую пленку политолуидина на поверхность платиновой подложки. Учитывая, что этот электропроводный полимер практически не растворяется в большинстве неорганических и органических растворителей, нанести эту пленку из раствора полимера не представлялось возможным. Поэтому для нанесения пленки политолуидина мы использовали метод электрохимического окисления методом циклической вольтамперометрии (ЦВА) [4]. При этом

циклирование потенциала рабочего электрода осуществлялось в интервале от -0,5 мВ до +0,8 мВ. В качестве подложки использовался платиновый электрод площадью 1 мм². В качестве электролита использовали раствор, содержащий 0,2 моль/л толуидина и 0,5 моль/л HCl. В качестве электрода сравнения и вспомогательного электрода использовались хлорсеребряный и графитовый электроды соответственно.

При всех измерениях в качестве электрода сравнения также использовался хлорсеребряный электрод. В качестве иономера при всех измерениях использовали рН-метр рН-410. Температуру (25°C) во время измерений поддерживали при помощи термостата. Измерение рН производили с использованием симбиотического организма *Medusomyces gisevi* J.Lindau, поскольку он способен продуцировать целый набор органических кислот. *M. gisevi* культивировали в лабораторных условиях в соответствии с [1].

Результаты и обсуждение. Нанесение пленки политолуидина на подложку проводили методом циклической вольтамперометрии. Результирующая кривая ЦВА представлена на рис. 1.

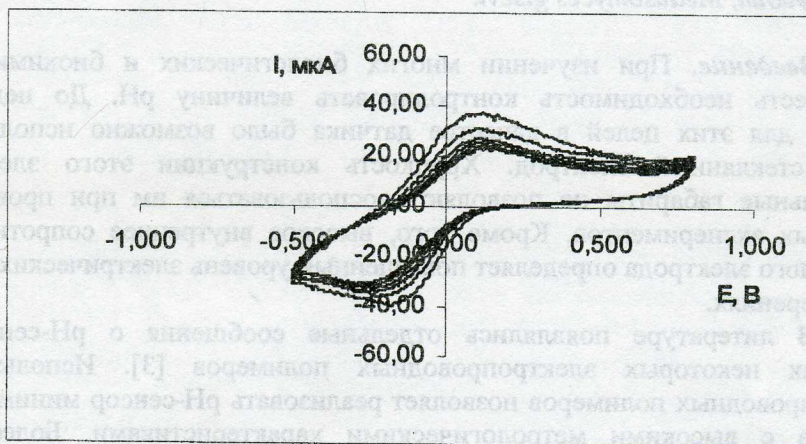


Рис. 1. Кривая ЦВА при нанесении пленки политолуидина на Pt подложку

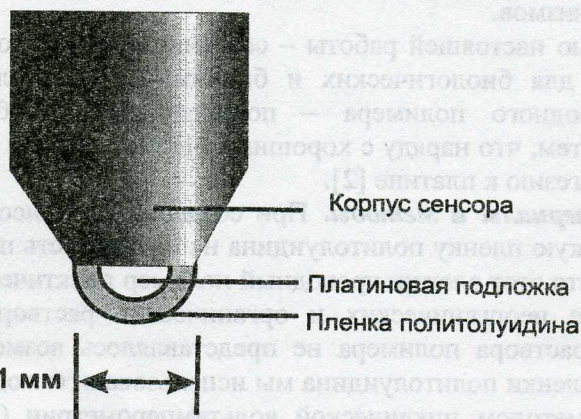


Рис. 2. Схематическое изображение рН-сенсора

Из рис. 1 видно, что в процессе циклирования потенциала от цикла к циклу возрастает как катодный, так и анодный пики, это свидетельствует о том, что происходит рост пленки политолуидина на поверхности микроэлектрода. В процессе циклирования мы визуальнo наблюдали изменение цвета пленки полимера от серебристо-серой до темно-синей. После 5 циклов развертки потенциала электрод промывался дистиллированной водой и использовался при измерениях. Внешний вид сенсора изображен на рис. 2.

При изучении рН-сенсорных свойств изготовленного электрода мы использовали набор стандартных буферных растворов для рН-потенциометрии. На рис. 3 представлена электродная функция изготовленного рН-сенсора.

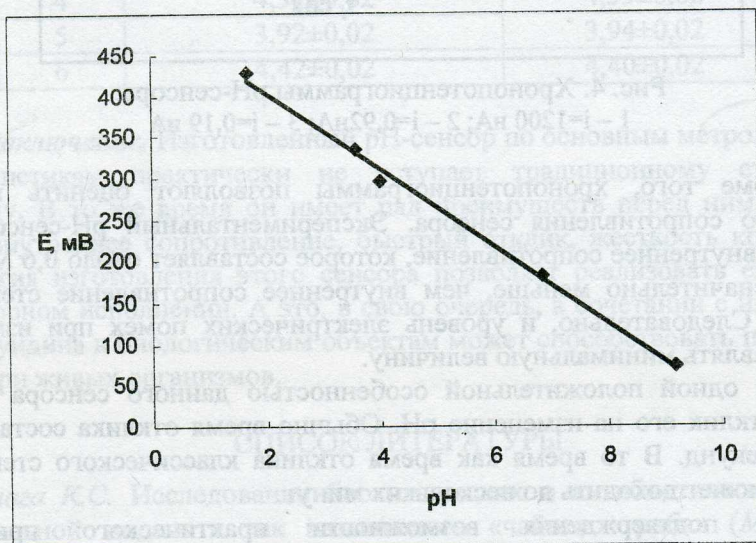


Рис. 3. Электродная функция рН-сенсора

Экспериментальные точки рис. 3 хорошо описываются уравнением прямой, что свидетельствует о высокой линейности отклика изготовленного сенсора. Линейность калибровочного графика в интервале рН от 1,68 до 9,18 была подтверждена с помощью критерия Фишера. При этом крутизна электродной функции составила 50 мВ/рН, что достаточно близко к теоретической величине. Таким образом, изготовленный рН-сенсор может быть использован для практических измерений.

Важным параметром рН-сенсоров является их устойчивость к действию поляризующего тока, который может протекать через электрод при измерениях. Для подтверждения стабильности работы данного сенсора в условиях поляризации мы воспользовались методом хронопотенциометрии. При этом величина поляризующего тока задавалась в интервале 0,1 – 1500 нА. Результаты этих измерений представлены на рис. 4. На рис. 4 видно, что при всех заданных значениях поляризующего тока дрейфа потенциала сенсора не наблюдается. Это говорит о высокой стабильности работы сенсора.

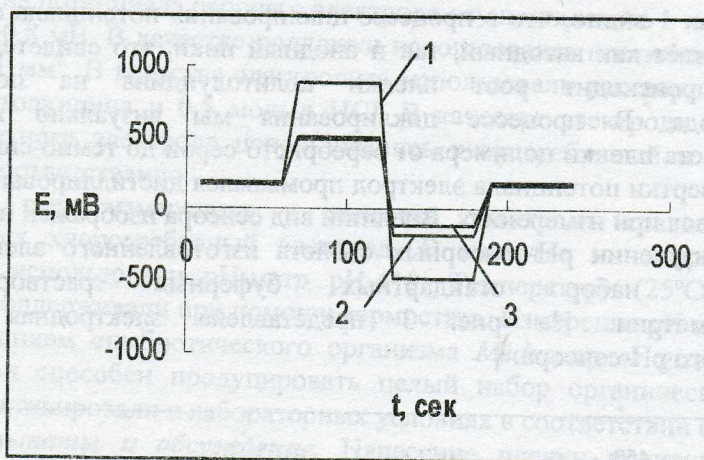


Рис. 4. Хронопотенциограммы pH-сенсора:
1 – $i=1200$ нА; 2 – $i=0,92$ нА; 3 – $i=0,19$ нА

Кроме того, хронопотенциограммы позволяют оценить величину внутреннего сопротивления сенсора. Экспериментальный pH-сенсор имеет невысокое внутреннее сопротивление, которое составляет около 0,6 МОм. Эта величина значительно меньше, чем внутреннее сопротивление стеклянного электрода. Следовательно, и уровень электрических помех при измерениях будет составлять минимальную величину.

Еще одной положительной особенностью данного сенсора является быстрый отклик его на изменение pH. Обычно время отклика составляло не более 20 секунд. В то время как время отклика классического стеклянного электрода может достигать до нескольких минут.

Для подтверждения возможности практического применения разработанного pH-сенсора при мониторинге кислотности мы использовали модельный объект – симбиотический организм *M. gisevi*. Эксперимент заключался в контроле величины pH культуральной жидкости и в биомассе. Измерения проводились с использованием стандартного стеклянного электрода и экспериментального pH-сенсора. Результаты этого эксперимента представлены в табл. 1.

Как видно из таблицы, измеренные двумя электродами значения pH, хорошо согласуются между собой. Методом математической статистики было показано, что различия в значениях pH для одного и того же образца не значимы. Следует отметить, что применение экспериментального pH-сенсора при измерениях в биомассе *M. gisevi* по сравнению со стандартным стеклянным электродом значительно меньше травмирует симбиотический организм.

Величина pH в биомассе *Medusomyces gisevi* и в культуральной жидкости

№ образца	Индикаторный электрод	
	стандартный стеклянный электрод	экспериментальный pH-сенсор
Культуральная жидкость		
1	4,25±0,02	4,24±0,02
2	3,21±0,02	3,19±0,02
3	2,87±0,02	2,87±0,02
В биомассе		
4	4,37±0,02	4,35±0,02
5	3,92±0,02	3,94±0,02
6	4,42±0,02	4,40±0,02

Заключение. Изготовленный pH-сенсор по основным метрологическим характеристикам практически не уступает традиционному стеклянному электроду. В то же время он имеет ряд преимуществ перед ним, таких как низкое внутреннее сопротивление, быстрый отклик, жесткость конструкции. Технология изготовления этого сенсора позволяет реализовать его в микро миниатюрном исполнении. А это, в свою очередь, в сочетании с инертностью политолуидина к биологическим объектам может способствовать применению его внутри живых организмов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гарнага К.С. Исследование биохимических и антибиотических свойств культуральной жидкости так называемого «чайного гриба» (*Medusomyces gisevi*): Автореф. дисс ... канд. биол. наук. Киев, 1954.
2. Ничипорович Л.Н., Волкова Т.В., Рясенский С.С., Горелов И.П. Электрохимические сенсоры на основе пленок из электропроводного полимера – поли (М-толуидина) // Физико-химия полимеров. Вып. 4. Тверь, 1998. С. 107 – 112.
3. Петрова А.А., Рясенский С.С. Полианилиновый pH-сенсор с низким внутренним сопротивлением // Физико-химия полимеров. Вып. 16. Тверь, 2010. С. 271 – 275.
4. Тарасевич М.Р., Орлов Ф.Б., Школьников Е.И. Электрохимия полимеров. М., 1990.
5. Zhe Jin, Yongxuan Su, Yixiang Duan An improved optical pH sensor based on polyaniline // Sensors and Actuators. 2000. V. 71. P. 118 – 122.

DIMINUTIVE pH-SENSOR FOR BIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL SYSTEMS

S.S. Ryasenskii, A.A. Petrova

Tver State University

The pH-sensor for biological and biochemical systems is made on a base of electroconducting polymer – poly(o-toluidine). And its basic characteristics are defined. The Medusomyces gisevi symbiotic organism was used for confirmation of the possibility of the sensor practical application.

Key words: pH-sensor, electroconducting polymer, polytoluidine, Medusomyces gisevi.