



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **27284** (13) **U**  
(51) МПК (2006)  
**G01N 33/18**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) МУЛЬТИБІОСЕНСОР ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЙ ТОКСИЧНИХ РЕЧОВИН У ВОДНИХ РОЗЧИНАХ**

1

2

(21) u200706400

(22) 08.06.2007

(24) 25.10.2007

(72) СОЛДАТКІН ОЛЕКСАНДР ОЛЕКСІЙОВИЧ, UA,  
АРХІПОВА ВАЛЕНТИНА МИКОЛАЇВНА, UA,  
ДЗЯДЕВИЧ СЕРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, UA,  
НАЗАРЕНКО ОЛЕНА АНАТОЛІЇВНА, UA,  
СОЛДАТКІН ОЛЕКСІЙ ПЕТРОВИЧ, UA, ЄЛЬСЬКА  
ГАННА ВАЛЕНТИНІВНА, UA, ПАВЛУЧЕНКО  
ОЛЕКСІЙ СЕРГІЙОВИЧ, UA, КУКЛА ОЛЕКСАНДР  
ЛЕОНІДОВИЧ, UA

(73) ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І  
ГЕНЕТИКИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК  
УКРАЇНИ, UA, ІНСТИТУТ ФІЗИКИ  
НАПІВПРОВІДНИКІВ ІМ. В.Є.ЛАШКАРЬОВА  
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ, UA

(56)

(57) Мультібіосенсор для визначення  
концентрацій токсичних речовин у водних

розчинах, що містить напівпровідникові  
перетворювачі, який відрізняється тим, що  
мультібіосенсор складається з п'яти  
перетворювачів на основі рН-чутливих польових  
транзисторів, на які нанесено робочі мембрани,  
кожна з яких складається з ферментів, відповідно,  
ацетилхолінестерази, бутерилхолінестерази,  
уреази, глюкозооксидази, мутаротрази-інвертази-  
глюкозооксидази, селективних до токсичних  
речовин - важких металів, пестицидів та  
гербіцидів, а також один рН-чутливий польовий  
транзистор, на який нанесено референтну  
мембрану з сироватковим альбуміном бика, а  
вказаний мультібіосенсор призначений для його  
підключення до відповідних входів  
потенціометричного мультібіосенсорного  
приладу.

Корисна модель відноситься до галузі екології  
і може бути використана, зокрема, для експрес-  
аналізів стічних вод, у тому числі поблизу місць  
можливих забруднень, для оцінки наявності та  
визначення концентрацій іонів важких металів,  
карбаматних гербіцидів та фосфорорганічних  
пестицидів, а більш конкретно, до конструкції  
аналітичних систем для моніторингу токсичних  
речовин у водних розчинах, а саме, до  
мультібіосенсора на основі рН-чутливих польових  
транзисторів для визначення концентрацій  
токсичних речовин - пестицидів та важких металів  
- у водних розчинах.

З кожним роком екологічний моніторинг  
навколишнього середовища набуває все більшої і  
більшої важливості в усьому світі [1]. Це виникає у  
зв'язку із значним розвитком хімічної  
промисловості та інтенсивним використанням  
різноманітних хімічних препаратів в сільському  
господарстві, збільшенням використання  
різноманітних хімічних продуктів в різних галузях  
людської діяльності. Ці хімічні речовини, будучи  
часто токсичними, в свою чергу, потрапляють у

повітря, землю, воду, тим самим забруднюють  
великі території та потрапляють в продукти  
харчування людей та сільськогосподарських  
тварин. Це в свою чергу призводить до погіршення  
самопочуття людей та виникнення різних  
захворювань [2].

Загальновідомо, що серед токсичних речовин,  
які забруднюють навколишнє середовище,  
особливе місце належить пестицидам та важким  
металам. Важкі метали та їх сполуки  
характеризуються відносно високою стійкістю до  
деградації у зовнішньому середовищі, розчинністю  
в атмосферних опадах, здатністю до сорбції  
грунтами і акумуляцією рослинами. Вони здатні  
накопичуватися в організмах і є отруйними для  
людини в будь-якому своєму стані та  
відрізняються широким спектром і різноманітним  
проявом шкідливих впливів [3].

Наряду з важкими металами, забруднення  
пестицидами навколишнього середовища є ще  
одним фактором високого ризику для здоров'я  
людини [4, 5]. Стійкі до розпаду токсичні сполуки  
фосфорорганічних пестицидів, що широко

(13) **U**

(11) **27284**

(19) **UA**

використовувались і ще використовуються в деяких країнах у сільському господарстві, та їх не менш токсичні залишки [6] характеризуються високим ступенем проникнення і потрапляють в продукти харчування людей [7].

Такі токсини, як карбаматні гербіциди є менш шкідливими ніж фосфорорганічні пестициди та важкі метали. Але проблема полягає в використанні гербіцидів все в більшій і більшій кількості з кожним роком (до 10 разів більше норми). Це відбувається по причині виникнення стійкості деяких бур'янів до цих токсичних речовин [8], тому їх визначення є не менш важливим.

У зв'язку з вищесказаним, постійний ефективний контроль наявності цих токсичних речовин (перевищення допустимих концентрацій) в навколишньому середовищі та продуктах споживання є необхідним для охорони природи та покращення якості життя [9]. Сучасні стандартні методи високоточного визначення токсичних речовин, а саме газова та рідинна хроматографії, спектрофотометрія, різноманітні хімічні та фізичні методи потребують наявності кваліфікованого персоналу та складного і дорогого обладнання [10, 11]. Ще одним недоліком наведених традиційних методів аналізу є необхідність в складній попередній підготовці проб, що виливається у значні затрати часу та коштів.

Альтернативою для вирішення вказаних вище проблем є використання біосенсорів - нових біоаналітичних приладів. На цей час вже розроблено ряд моно-біосенсорів для визначення токсичних речовин. Деякі з цих біосенсорів розроблені для прямого ферментного аналізу [12], інші - для інгібіторного аналізу [13]. Але всі ці біосенсиори можна використовувати лише для визначення однієї токсичної речовини, або класу токсичних сполук. Також проаналізовані і висунуті концепції мультибіосенсорів для використання в екологічному моніторингу та показана принципова можливість їх створення [6]. На сьогодні вже розроблено кілька мультибіосенсорних приладів [14, 15]. Але, найбільш перспективним, на наш погляд, є створення мультибіосенсора на основі матриці рН-чутливих польових транзисторів та ряду іммобілізованих ферментів (чи каскаду ферментів) з використанням ферментного інгібіторного аналізу токсичних речовин. Такий тип мультибіосенсора ще не застосовувався.

Найбільш близьким до запропонованого за технічною суттю є мультибіосенсор для визначення концентрацій токсичних речовин у водних розчинах, що містить напівпровідникові перетворювачі [14]. Згаданий мультибіосенсор має ряд емнісних напівпровідникових структур, на які нанесені робочі ферментні мембрани з уреаз, холінестерази та глюкозооксидази.

Недоліком описаного пристрою є те, що його чутливість та селективність щодо визначення концентрації важких металів у водних розчинах є недостатньою, оскільки у описаному мультибіосенсорі не використовують, зокрема, диференційний метод вимірювання, використовують меншу кількість біоселективних

елементів, що суттєво знижує селективність цього мультибіосенсора.

В основу запропонованої корисної моделі поставлено задачу створення такого мультибіосенсора для аналізу токсичних речовин у водних розчинах, який би був більш чутливим та селективним. Поставлена задача вирішується за рахунок застосування матриці рН-чутливих польових транзисторів, можливості застосування диференційного методу вимірювань та використання більшої кількості різних ферментних систем для селективної оцінки вмісту важких металів та пестицидів у досліджуваних зразках.

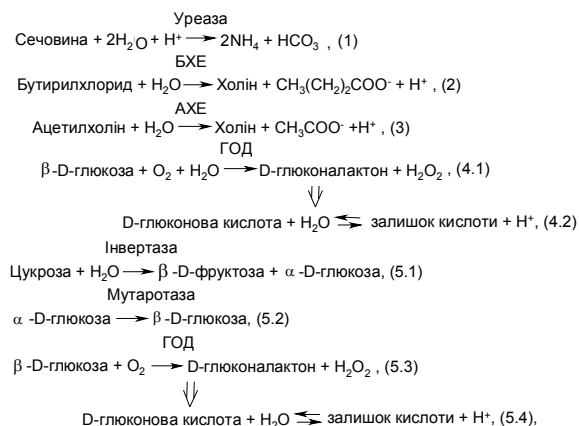
Пропонований, як і відомий мультибіосенсор для визначення концентрацій токсичних речовин у водних розчинах, містить напівпровідникові перетворювачі, а, відповідно до пропозиції, мультибіосенсор складається з п'яти перетворювачів на основі рН-чутливих польових транзисторів, на які нанесено робочі мембрани, кожна з яких складається з ферментів, відповідно, ацетилхолінестераза, бутирилхолінестераза, уреаза, інвертаза, глюкозооксидаза, мутаротаза, селективних до токсичних речовин - важких металів, пестицидів та гербіцидів, а також один рН-чутливий польовий транзистор, на який нанесено референтну мембрану з сироватковим альбуміном бика, а вказаний мультибіосенсор призначений для його підключення до відповідних входів потенціометричного мультибіосенсорного приладу.

Пропонований мультибіосенсор, призначений для визначення різних токсичних речовин на основі ферментного інгібіторного аналізу. Для створення біоселективних елементів мультибіосенсора авторами експериментально було визначено оптимальний склад ферментів, а саме: ацетилхолінестераза (АХЕ) із електричного вугря з активністю 2920д.акт./мг фірми "Sigma-Aldrich Chemie", бутирилхолінестераза (БХЕ) із сироватки крові коня з активністю 130д.акт./мг фірми "Sigma-Aldrich Chemie", уреаза із бобів сої з активністю 310д.акт./мг фірми "Fluka", глюкозооксидаза (ГОД) з *Penicillium vitale* з активністю 1300д.акт./мг фірми "Діагностікум" та трьох ферментна система (інвертаза з пекарських дріжджів з активністю 3550д.акт./мг фірми "Sigma-Aldrich Chemie", мутаротаза з активністю 1000д.акт./мг фірми "Biozyme Laboratories Ltd, глюкозооксидаза з *Penicillium vitale* з активністю 1300д.акт./мг фірми "Діагностікум"). Використання вказаних ферментних систем дозволяє визначити вміст у водному розчині таких токсичних речовин, як фосфорорганічні пестициди, карбаматні гербіциди та іони важких металів.

Серед токсичних речовин, які забруднюють навколишнє середовище, особливе місце належить пестицидам та важким металам. Їх вважають найбільш шкідливими для здоров'я людини. Навіть дуже малі концентрації можуть впливати на здоров'я людини. Різні класи токсичних речовин, як і окремі токсини можуть специфічно впливати на організм людини і викликати різноманітні захворювання. Тому було поставлено задачу створити такий селективний

мультибіосенсор для визначення важких металів та пестицидів, який би мав більш високу, порівняно з прототипом, чутливість та селективність. Щоб створити селективний мультибіосенсор, який можна було б використати для роботи з реальними зразками, вирішено застосовувати потенціометричний метод вимірювання на основі рН-чутливих польових транзисторів. Необхідну чутливість та селективність до окремих токсинів отримано завдяки застосуванню диференційного методу вимірювання та використанню у складі мультибіосенсора 5 перетворювачів з чутливими ферментними мембранами, яких, по-перше, вистачає вже для більш селективного визначення класів токсинів, а по друге, використання 5-ти чутливих елементів в мультибіосенсорі ще не є дуже громіздким і дає можливість його підключення до портативного потенціометричного мультибіосенсорного приладу ІСПТ-2, який розроблено в рамках наукового проекту "Мультибіосенсор для визначення загальної токсичності розчинів та окремих токсичних речовин" комплексної науково-технічної програми НАН України "Сенсорні системи для медико-екологічних та промислово-технологічних потреб" [16].

В основі роботи пропонованого мультибіосенсора для визначення важких металів та пестицидів лежить ефект ферментного інгібування п'яти систем на основі таких ферментативних реакцій:



В процесі проходження одно-ферментних реакцій (1-4) та каскаду ферментних реакцій (5) змінюється концентрація протонів  $\text{H}^+$  в мембрані (відповідно має місце локальна зміна рН розчину). Це дозволяє використовувати матрицю рН-чутливих польових транзисторів для перетворення біохімічного сигналу в електричний [17] і реєструвати відгуки мультибіосенсора на додавання специфічних субстратів.

Після цього необхідно провести інкубацію мультибіосенсора у досліджуваному розчині з можливим вмістом в ньому токсичних речовин. В ході цієї інкубації певні токсичні речовини інгібують активність ферментів в різній мірі. Наприклад, один чи два ферменти сильно інгібуються певними іонами важких металів, і практично не чутливі до

пестицидів. На інші ферменти важкі метали діють в меншому ступеню, але, в той же час, вони сильно інгібуються фосфорорганічними пестицидами.

Оптимальне співвідношення компонентів в ферментних мембранах було отримано авторами експериментально за умов оцінки оптимальних аналітичних характеристик окремих моноелементів мультибіосенсору таких як чутливість, селективність, операційна стабільність та стабільність при зберіганні, а також мінімальна собівартість.

Суть запропонованої корисної моделі пояснюється графічними матеріалами, де на:

Фіг.1 показано блок-схему пропонованого пристрою;

Фіг.2 схематично зображено кремнієву лінійку з 6-елементним масивом р-канальних іоноселективних польових транзисторів;

Фіг.3 показано відгуки мультибіосенсора на основі ІСПТ на додавання суміші субстратів до та після інгібування ферментів іонами ртуті.

Пропонований мультибіосенсор [М] (Фіг.1, 2) для визначення концентрацій токсичних речовин у водних розчинах складається з п'яти перетворювачів на основі рН-чутливих польових транзисторів 1, 2, 3, 4, 5 (ІСПТ), на які нанесено робочі мембрани, кожна з яких складається з ферментів, відповідно, ацетилхолінестераза 6, бутирилхолінестераза 7, уреаза 8, глюкозооксидаза 9, мутаротаза-інвертаза-глюкозооксидаза 10, селективних до токсичних речовин - важких металів, пестицидів та гербіцидів. Пропонований мультибіосенсор має у своєму складі також один рН-чутливий польовий транзистор 11, на який нанесено референтну мембрану 12 з сироватковим альбуміном бика. Вказаний мультибіосенсор [М] призначений для його підключення до відповідних входів потенціометричного мультибіосенсорного приладу 13 типу "ІСПТ2" [ІСПТ2] [16]. Виходи приладу 13 підключені до відповідного входу комп'ютера 14 [К] (типу IBM PC AT, Pentium 133 Processor, 16Mb memory), призначеного для перетворення одержаних з приладу 13 електричних сигналів у значення концентрацій токсичних речовин у досліджених водних розчинах.

Робота згаданого приладу ґрунтується на формуванні багатовимірного відгуку масиву електрохімічних сенсорів на основі ІСПТ з рН-чутливим шаром нітриду кремнію. Функціонування мультибіосенсора відбувається шляхом вимірювання зміни поверхневого потенціалу на межі розподілу електроліт - чутлива мембрана - затвор транзистора одночасно для кожного сенсорного елемента масиву з послідовною обробкою вимірювального сигналу масиву даних за допомогою спеціальних математичних методів та формування унікального хімічного образу досліджуваної речовини.

Запропонований мультибіосенсор на основі ферментного інгібіторного аналізу важких металів та пестицидів працює так.

Попередньо на робочу поверхню ІСПТ 1 мультибіосенсора (Фіг.2) наносять робочу

мембрану 6, яку формували із 20мМ фосфатного буфера, рН 7,2 і наступних інгредієнтів у такому їх співвідношенні (у мас %):

глюкозооксидаза (ГОД)	4,5-5,5
сироватковий альбумін бика(БСА)	4,5-5,5
гліцерин	8-12
глутарового альдегіду (ГА)	0,5-5,5.

На робочу поверхню ІСПТ 2 мультибіосенсора нанесено робочу мембрану 7, яку формували з 20мМ фосфатного буфера, рН 7,2 і наступних інгредієнтів у такому їх співвідношенні (у мас %):

Ацетилхолінестераза (АХЕ)	4,5-5,5
БСА	4,5-5,5
гліцерин	8-12
ГА	0,5-5,5.

На робочу поверхню ІСПТ 3 мультибіосенсора нанесено робочу мембрану 8, яку формували з 20мМ фосфатного буфера, рН 7,2 і наступних інгредієнтів у такому їх співвідношенні (у мас %):

бутирилхолінестераза(БХЕ)	4,5-5,5
БСА	4,5-5,5
гліцерин	8-12
ГА	0,5-5,5.

На робочу поверхню ІСПТ 4 мультибіосенсора нанесено робочу мембрану 9, яку формували з 20мМ фосфатного буфера, рН 7,2 і наступних інгредієнтів у такому їх співвідношенні (у мас %):

уреаза	4,5-5,5
БСА	4,5-5,5
гліцерин	8-12
ГА	0,5-5,5.

На робочу поверхню ІСПТ 5 мультибіосенсора нанесено робочу мембрану 10, яку формували з 20мМ фосфатного буфера, рН 7,2 і наступних інгредієнтів у такому їх співвідношенні (у мас %):

інвертаза	2-4
мутаротаза	1-3
ГОД	4-6
БСА	0,5-5,5
гліцерин	8-12
ГА	0,5-5,5.

На робочу поверхню ІСПТ 11 мультибіосенсора нанесено референтну мембрану 12, яку формували з 20мМ фосфатного буфера, рН 7,2 і наступних інгредієнтів у такому їх співвідношенні (у мас %):

БСА	9,5-11,5
гліцерин	8-12
ГА	0,5-5,5.

Згаданий мультибіосенсор підключають до портативного мультибіосенсорного приладу 13 ("ІСПТ-2"). Виходи приладу 13 підключають до відповідних входів комп'ютера 14. До пробного стакану (не показано) заливають зразок рідини для її дослідження. Робота згаданого приладу основана на формуванні багатовимірного відгуку масиву електрохімічних сенсорів на основі ІСПТ з рН-чутливим шаром нітриду кремнію. Функціонування мультибіосенсора відбувається шляхом вимірювання зміни поверхневого потенціалу на межі електроліт - чутлива мембрана - затвор транзистора одночасно для кожного сенсорного елемента масиву з послідовною обробкою вимірювального сигналу масиву даних

за допомогою спеціальних математичних методів та формування унікального хімічного образу досліджуваної речовини у комп'ютері 14.

Біоселективні мембрани 6-10 та 12 виготовляли так.

Готували розчин з вмістом 5% ферментів, 5% БСА та 10% гліцерину у 20мМ фосфатному буфері, рН 7,2. Референтну мембрану 12 виготовляли таким же чином, але замість наважки ферментів брали 10% БСА. Гліцерин у складі мембран 6, 7, 8, 9, 10, 12, використовувався для стабілізації ферменту при іммобілізації та запобігання передчасного підсихання розчину, нанесеного на поверхню перетворювача. В свою чергу, БСА в складі робочих мембран відігравав роль стабілізуючого агенту для ферментів.

Для створення робочих мембран мультибіосенсора для визначення токсинів готували розчини з вмістом 5% відповідних ферментів, у 20мМ фосфатному буфері, рН 7,2. Розчин для референтної мембрани 12 створювали таким же чином, але замість наважки ферментів брали 5% БСА. Всі мембрани мали однаковий вміст білку. Перед нанесенням змішували рівні об'єми наведених розчинів з 1% водним розчином ГА. Суміші з ферментами наносили на ІСПТ 1, 2, 3, 4, 5 (як описано вище), а референтну суміш - на ІСПТ 11. Нанесення проводили за допомогою мікропіпетки Eppendorf (загальною ємністю 0,1-2,5мкл), що становило приблизно 100нл кожного розчину на один ІСПТ. Потім мультибіосенсор висувували 12 годин на спокійному повітрі при кімнатній температурі. Перед початком роботи для видалення надлишку глутарового альдегіду сенсор відмивали у буферному розчині, в якому і проводились подальші досліді.

Протокол аналізу токсинів в модельних розчинах.

Спочатку отримували залежності величин відгуків мультибіосенсора на субстрати до і після інкубації його в розчинах з різними концентраціями деяких токсинів, одержували калібрувальні графіки. Потім, таким же чином, отримували калібрувальні графіки але вже на різні комбінації токсинів.

Визначення степеню інактивації ферментів, а відповідно і концентрації токсичних речовин, проводилась таким чином:

- мультибіосенсор розміщували у буферному розчині та реєстрували вихідний сигнал (базова лінія "0");

- отримували відгук на суміш субстратів відповідної концентрації і приймали його за 100%, після чого мультибіосенсор відмивали буферним розчином 2-3 рази;

- мультибіосенсор розміщували у розчин токсичних речовин, що аналізується, на 20 хвилин (процес інгібування) і потім перетворювачі відмивали робочим буферним розчином от незв'язаних з ферментом інгібіторів;

- величина відгуку мультибіосенсора на додавання суміші субстратів тієї ж концентрації визначалась знову.

Рівень інгібування визначалась по зменшенню відгуку мультибіосенсора після інгібування.

Оскільки рівень інгібування відомий, то по калібрувальним графікам відповідних ІСПТ по токсичним речовинам, використовуючи спеціальний математичний пакет комп'ютерних програм для дискримінантного аналізу Sirius 6.0 for Windows (Pattern Recognition Systems A/S, Norway), отримуємо концентрації відповідних токсичних речовин в зразку, що аналізується.

З протоколу, описаного вище, видно, що запропонований мультибіосенсор на основі іон селективних польових транзисторах є функціонально придатним і дозволяє отримувати результати з більш високим ступенем достовірності, порівняно із прототипом та проводити селективний кількісний аналіз токсичних речовин в реальних зразках.

Приблизний вплив різних груп токсинів на різні ферментні системи наведено у таблиці. Тому, після інгібування, при додаванні специфічних субстратів концентрації протонів в ході ферментативних реакцій міняються, але у іншій мірі ніж до інгібування. В залежності від цієї різниці (ступеню інгібування) і визначають наявність та концентрацію різних токсинів в досліджуваних зразках. На Фіг.3 показані основні етапи використання мультибіосенсора для аналізу токсинів на прикладі 50мкМ Hg<sup>2+</sup>.

Таблиця 3  
Ступень інгібування ферментів токсичними речовинами порівняно із прототипом та проводити селективний кількісний аналіз токсичних речовин в реальних зразках

	Уреаза	БухЭ	АХЭ	Література:	ІОД	Кроек ферментна система
10мкМ трихлорфон	0	50	72	1. V. Yatsenko Journal of Chromatography A, 722 (1996) 233-243.	0	0
50мкМ трихлорфон	0	70	72	2. Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für die Lebensmittelerzeugung (Trinkwasserverordnung - TrinkwV) // Bundesgesetzblatt, Jahrgang - 1986, Teil 1, P. 760.	0	0
1мМ трихлорфон	0	100	100	3. П.О. Горобец, И.Н. Ильченко, С.М. Ляпунов, Е.Н. Шугаева Распространенность экологически зависимых нарушений нервно-психического развития у детей 18 возрасте 4-22 лет при хроническом воздействии тяжелых металлов в малых дозах. Забол. Креп. Здоров. 2006, 1:14-20.	15	11
10мкМ Ag <sup>+</sup>	0	0	3	4. S.H: Schuman, W.M. Simpson Jr., A clinical historical overview of pesticide health issues, Occup. Med. 12 (1997) 203-207.	60	65
10мкМ Ag <sup>+</sup>	0	3	7	5. B.L. Johnson, A review of health-based comparative risk assessments in the United States, Rev. Environ. Health 15 (2000) 273-287.	70	89
50мкМ Ag <sup>+</sup>	10	7	0	6. V.N. Arkhipova, S.V. Dzyadevych, A.P. Soldatkin, A.V. El'skaya, N. Jaffrezic-Renault H. Jaffresic, C. Martlet. Multibiosensorbased on enzyme inhibition analysis for determination of different toxic substances. // Talanta 55 (2001) 919-927.	100	100
1мкМ Hg <sup>2+</sup>	4	0	0	7. K. Verscheuren. Handbook of environmental data on organic chemicals, 2nd edn // New York: Van Norstrand Reinhold, 1983. - 673p.	19	22
10мкМ Hg <sup>2+</sup>	15	3	0	8. http://www.baikalwave.eu.org.	29	30
50мкМ Hg <sup>2+</sup>	40	7	0	9. B.B. Dzantiev, E.V. Yazynina, A.V. Zherdev at al Sensors and Actuators B 98 (2004 254-261).	90	100

Перед початком роботи для видалення надлишку глутарового альдегіду сенсор відмивали у буферному розчині, в якому і проводились подальші досліді.

Протокол аналізу токсинів в модельних розчинах.

Спочатку отримували залежності величин відгуків мультибіосенсора на субстрати до і після інкубації його в розчинах з різними концентраціями деяких токсинів, одержували калібрувальні графіки. Потім, таким же чином, отримували калібрувальні графіки але вже на різні комбінації токсинів.

Визначення степеню інактивації ферментів, а відповідно і концентрації токсичних речовин, проводилась таким чином:

- мультибіосенсор розміщували у буферному розчині та реєстрували вихідний сигнал (базова лінія "0");

- отримували відгук на суміш субстратів відповідної концентрації і приймали його за 100%, після чого мультибіосенсор відмивали буферним розчином 2-3 рази;

- мультибіосенсор розміщували у розчин токсичних речовин, що аналізується, на 20 хвилин (процес інгібування) і потім перетворювачі відмивали робочим буферним розчином от незв'язаних з ферментом інгібіторів;

- величина відгуку мультибіосенсора на додавання суміші субстратів тієї ж концентрації визначалась знову.

Рівень інгібування визначалась по зменшенню відгуку мультибіосенсора після інгібування.

Оскільки рівень інгібування відомий, то по калібрувальним графікам відповідних ІСПТ по токсичним речовинам, використовуючи спеціальний математичний пакет комп'ютерних програм для дискримінантного аналізу Sirius 6.0 for Windows (Pattern Recognition Systems A/S, Norway), отримуємо концентрації відповідних токсичних речовин в зразку, що аналізується.

З протоколу, описаному вище, видно, що запропонований мультибіосенсор на основі іон селективних польових транзисторах є функціонально придатним і дозволяє отримувати результати з більш високим ступенем достовірності, порівняно із прототипом та проводити селективний кількісний аналіз токсичних речовин в реальних зразках

10. J. Sherma, G. Zweig, Pesticides // Anal. Chem. - 1983. - V.55. - P.57.

11. C. Tran-Minh, P.C Pandey, S. Kumaran. Studies on acetylcholine sensor and its analytical application based on the inhibition of cholinesterase // Biosensors Bioelectronics. - 1990. - V.5. P.461-471.

12. О.О. Солдаткін, О.Ф. Сосовська, І.В. Бенілова, М.В. Гончар, Я.І. Корпан. Ензимний кондуктометричний сенсор для визначення формальдегіду у модельних розчинах // Біополімери і клітина. 2005. Т.21. №5. С.425-432.

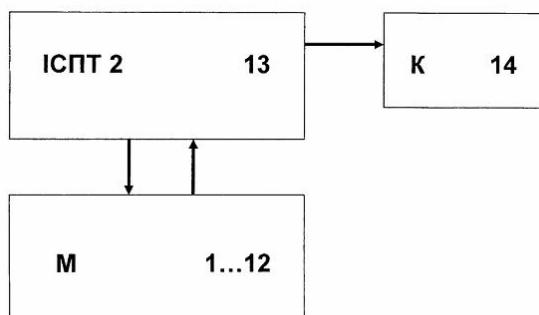
13. G.A. Zhylyak, S.V. Dzyadevich, Y.I. Korpan, A.P. Soldatkin, A.V. El'skaya. Application of urease conductometric biosensor for heavy-metal ion determination. - // Sensors and Actuators. - 1995. - V.24-25. - P.145-148.

14. A.L. Kukla, N.I. Kanjuk, N.F. Starodub, Yu.M. Shirshov. Multienzyme electrochemical sensor array for determination of heavy metal ions // Sensors and Actuators B 57 (1999) 213-218.

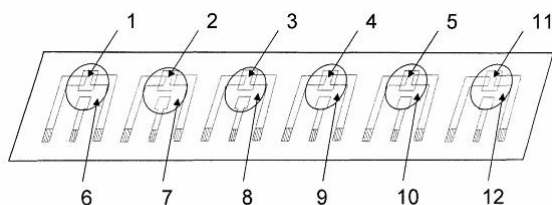
15. L. Moreno, A. Merlos, N. Abramova, C. Jim'enez, A. Bratov. Multi-sensor array used as an "electronic tongue" for mineral water analysis // Sensors and Actuators B 116 (2006) 130-134.

16. <http://www.ukrsmb.info/mlt-snsr.html>.

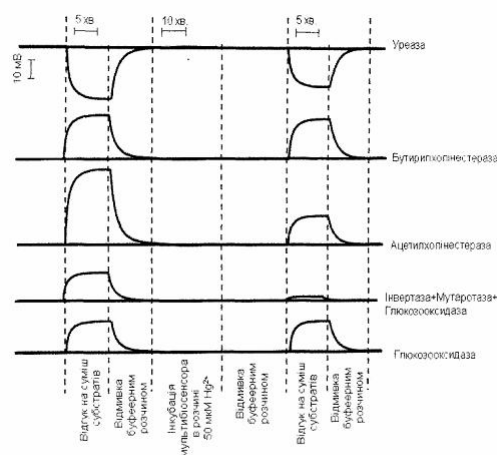
17. A.P. Soldatkin, A.V. El'skaya, A.A. Shul'ga, L.I. Netchiporouk, A.M. Nyamsi Hendji, N Jaffrezic-Renault, C. Martelet, Glucose-sensitive field-effect transistor with additional Nafion membrane // Analytica Chimica Acta 283(1993) 695-701.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3