

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-82

**РЕДОКС-АКТИВНЫЙ ПОЛИМЕР «БЫЧИЙ СЫВОРОТОЧНЫЙ АЛЬБУМИН — САФРАНИН»,  
ПРИМЕНЯЕМЫЙ В КАЧЕСТВЕ ОСНОВЫ БИОСЕНСОРА  
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЕНОЛА И МОЧЕВИНЫ\***

**REDOX-ACTIVE POLYMER “BOVINE SERUM ALBUMIN — SAFRANIN”, USED AS THE BASIS  
OF A BIOSENSOR FOR THE DETERMINATION OF PHENOL AND UREA**

Т. В. Лаврова, А. С. Харькова

*Тульский государственный университет*

T. V. Lavrova, A. S. Kharkova

*Tula State University*

✉ lavrova0000@yandex.ru

**Аннотация**

В работе предлагается использование редокс-активного полимера «бычий сывороточный альбумин — сафранин» при создании биосенсоров на определение фенола и мочевины. Биосенсор на основе тирозиназы имеет диапазон определяемых концентраций 47–600 мг/дм<sup>3</sup>. Уреазный биосенсор показал хорошие результаты: диапазон определяемых концентраций составил 68–410 ммоль/дм<sup>3</sup>, что позволяет использовать данную систему для контроля содержания мочевины.

**Abstract**

The work proposes the use of the redox-active polymer “bovine serum albumin — safranin” in the creation of biosensors for the determination of phenol and urea. The biosensor based on tyrosinase has a detectable concentration range of 47–600 mg/dm<sup>3</sup>. The urease biosensor showed good results: the range of detected concentrations was 68–410 mmol/dm<sup>3</sup>, which allows the use of this system for monitoring the urea.

На сегодняшний день существует потребность в оперативном анализе различных компонентов окружающей среды. В связи с этим разрабатываются биосенсоры, способные быстро и количественно определять концентрации тех или иных компонентов в пробе. Такие датчики могут состоять из электрохимического преобразователя и фермента. Ферменты обеспечивают высокую селективность анализа, но из-за сложности и высокой стоимости выделения и очистки необходимо совершенствовать способы иммобилизации, позволяющие сохранять активность биоконпонента и обеспечивать высокий срок эксплуатации тест-систем. В данном исследовании предлагается использование редокс-активного полимера для иммобилизации двух ферментов: тирозиназы и уреазы.

Бычий сывороточный альбумин (БСА) выбран в качестве полимерной основы матрицы, так как он обладает высокой биосовместимостью, содержит много функциональных групп для модификации редокс-частицами. В работе [1] редокс-активный полимер на основе ферроценкарбальдегида и БСА использовался в качестве основы для определения БПК. При выборе редокс-частиц для получения матриц для иммобилизации необходимо учитывать устойчивость соединения в окисленной и восстановленной формах, отсутствие снижения активности фермента. Данным условиям соответствует сафранин — электроактивное соединение из класса азиновых красителей.

Для обеспечения высокой селективности при количественном определении компонентов в пробах применяют различные ферменты в качестве биоматериала биосенсора. Например, для определения фенольных токсиантов принято использовать тирозиназу, лакказу [2, 3]. В случае анализа биологических жидкостей для определения глюкозы применяют глюкозоксидазу, для анализа концентрации мочевины — уреазу.

Целью работы является синтез универсального редокс-активного полимера БСА-сафранин для иммобилизации ферментов тирозиназы и уреазы.

Для синтеза матрицы бычий сывороточный альбумин растворяли в буферном растворе с pH = 6,8 (33 мМ КН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub> + 33 мМ Na<sub>2</sub>НРO<sub>4</sub>), добавляли насыщенный раствор медиатора сафранина О и перемешивали в течение 5 мин. После этого прибавляли глутаровый альдегид и 10 мкл смеси наносили на электрод. Рабочий графитопастовый электрод состоял из пластиковой трубки, заполненной пастой, состоящей из графитовой пудры и мине-

\* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (№ 23-73-01220)

© Т. В. Лаврова, А. С. Харькова, 2024

рального масла. После нанесения и подсыхания редокс-активного полимера и раствора фермента закрывали электрод диализной мембраной, закрепляли пластиковым кольцом. Для приготовления раствора тирозиназы 0,0001 г растворяли в 80 мкл буферного раствора. Отдельно был приготовлен раствор уреазы — в 20 мкл буферного раствора растворяли 0,0001 г фермента.

Измерения проводили с помощью гальванопотенциостата Corrtest, используя двухэлектродную ячейку. Графито-пастовый электрод с иммобилизованным ферментом использовали в качестве рабочего. В качестве электрода сравнения использовали насыщенный хлоридсеребряный электрод. Измерения проводили при температуре 20 °С в калий-натрий фосфатном буфере (рН = 6,8). За ответ принимали изменение силы тока при введении раствора анализируемого вещества. Тирозиназа катализирует реакцию окисления фенола, электроны поступают на редокс-активный полимер, а затем на электрод. В случае анализа мочевины уреазы катализирует ее гидролиз, после чего один из продуктов реакции — аммиак — окисляется на электроде при приложенном потенциале до азота.

Нижняя граница определяемых концентраций для биосенсора на определение мочевины составила 68 ммоль/дм<sup>3</sup>, а верхняя — 410 ммоль/дм<sup>3</sup>. В моче здорового человека концентрация мочевины варьируется в пределах от 110 до 390 ммоль/дм<sup>3</sup> [4]. Следовательно, диапазон определяемых концентраций позволяет использовать рецепторную систему на основе уреазы для контроля концентрации карбамида в моче. Для биосенсора на определение фенола константа Михаэлиса составила 600 ± 200 мг/дм<sup>3</sup>, нижняя граница определяемых концентраций — 47 мг/дм<sup>3</sup>. Можно предложить использование данной системы для анализа сточных вод, где значение концентрации фенола превышает нижнюю границу определяемых содержаний.

### Литература

1. Arlyapov V.A., Kharkova A. S., Kurbanaliyeva S.K. et al. Use of biocompatible redox-active polymers based on carbon nanotubes and modified organic matrices for development of a highly sensitive BOD biosensor // *Enzyme and microbial technology*. 2021. Vol. 143. P. 109706.
2. Bounegru A. V., Apetrei C. Tyrosinase Immobilization Strategies for the Development of Electrochemical Biosensors — A Review // *Nanomaterials*. 2023. Vol. 13, No. 4. P. 760.
3. Tarasov A. et al. Biosensors Based on Phenol Oxidases (Laccase, Tyrosinase, and Their Mixture) for Estimating the Total Phenolic Index in Food-Related Samples // *Life*. 2023. Vol. 13, No. 2. P. 291.
4. Савинова А. А., Нора В. И. Биохимическое исследование крови // *Научный потенциал молодежных исследований*. 2021. С. 162–165.