

# МЕТОД ТА НАНОФОТОННИЙ СЕНСОРНИЙ ПРИСТРІЙ ДЛЯ РЕЄСТРАЦІЇ БІОГЕННИХ АМІНІВ

Білаш О.М., Галайченко О.М.

Лабораторія «Аналітичної оптохемотроніки»,  
Харківський національний університет радіоелектроніки  
61166, м. Харків, пр. Леніна 14, кафедра біомедичних електронних  
пристроїв та систем, тел./факс 8(057)70-20-369,

E-mail: rzh@kture.kharkov.ua, galaychenko\_alen@ukr.net

In this work electrochemiluminescent (ECL) assay method and new nanophotonical sensor instrument for detection of biological amines with the purpose of early diagnostics are considered. For realization of mentioned goals there were conducted a set of researches: a) biomedical one; b) preliminary technological and experimental ones. The prototype of nanotechnological sensor's instrument with semiconductor quantum dots as detector's elements was developed and its electrochemical and spectroscopy investigations were conducted.

## 1. Вступ

Значна кількість процесів, що протікають в людському організмі (процеси гальмування в корі головного мозку та підкоркових центрах, зміни артеріального тиску, спазми гладкої мускулатури, загустіння крові, гормональні зміни тощо) є наслідком дії біогенних амінів (гістаміну, серотоніну, норадреналіну, адреналіну тощо), що є біологічно та фармакологічно активними речовинами. Їх фізіологічна роль є безумовно важливою. Так, навіть незначне перевищення вмісту біогенних амінів в людському організмі порівняно з нормою негативно відображається на фізіологічному статусі та викликає серйозні порушення його функціонування [1].

В даній роботі в якості *предмету дослідження* обрано біогенний амін гістамін. Вміст його в крові визначається станом біосинтезу, депонування, секреції, взаємодії з ефекторними органами, інактивації та виведення його з організму. На сьогодні для визначення гістаміну існує ряд методів - методи тонкошарової, газової хроматографії, ультрафільтрація, електродіаліз, але вони є складними, тривалими та коштовними для використання в клініко-діагностичних лабораторіях (табл. 1). Хімічні способи визначення гістаміну базуються на взаємодії певних реактивів з функціональними групами, що входять до складу гістаміну. Вони також займають досить багато часу й потребують висококваліфікованого персоналу. Колориметричні способи визначення даного біогенного аміну в крові практично не використовуються, оскільки вони мають низьку чутливість [2].

Табл. 1. Методи визначення гістаміну в біологічних зразках

Метод	Пробопідготовка	Тривалість аналізу	Межа виявлення
Тест система «RidascreEn»	1 година	2 години	2,5 мг/кг
Флюорометричний	20 хвилин	1,5 години	2,4 мкмоль/л
Імуноферментний	30 хвилин	4 години	10 нг/мл
Мас-спектрометрія	1 год	50 хвилин	1 мкг/л

**Метою** даної роботи є використання явища електрогенерованої хемілюмінесценції (ЕХЛ) та напівпровідникових квантово-розмірних структур (наноматеріалів) для визначення гістаміну в сироватці крові.

## 2. Метод та нанофотонний сенсорний пристрій

Для проведення експериментальних досліджень в даній роботі було використано матеріали: гістамін (Sigma-Aldrich, Німеччина), N,N'-диметилформаїд, бідистильована вода, тетрабутиламонію перхлорат, фосфатний буфер, сореагент; апаратура: стандартна триелектродна комірка, електрохемілюмінесцентний комплекс ЕЛАН-2, електрод зі скловуглею, електрод порівняння - Ag|AgCl. Окрім того, в якості робочого електроду було використано розроблений нанофотонний сенсорний пристрій [3, ], структура якого зображена на рис. 1.

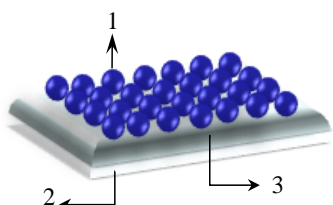


Рис. 1. Схематичне зображення сенсорного пристрою (1 – плівка квантових точок, 2 – скляна підкладка, 3 – струмопровідне покриття)

зменшити кількість витрачаємих реактивів, покращити реєструємі сигнали та створити багаторазово використовуваний сенсорний пристрій.

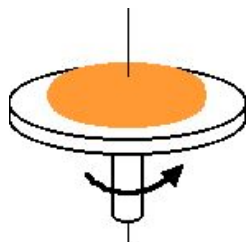


Рис. 2. Схематичне зображення spincoating методу

Принцип його роботи полягає у випромінюванні світлового аналітичного сигналу квантово-розмірними структурами (квантовими точками) при електронній їх взаємодії з визначаємою речовиною (аналітом) – гістаміном.

Мономолекулярна плівка квантових точок (КТ) CdSe/ZnS була адсорбована за допомогою методу spincoating (нанесення рідкого матеріалу на підкладку, що швидко обертається з метою отримання тонкого рівномірного шару покриття) (рис. 2) [5, 6]. Використання адсорбції наночастинок на підкладку дозволило суттєво

### 3. Спектроскопічні дослідження розчину квантових точок та метод визначення гістаміну в тестових зразках

Для спектроскопічних досліджень CdSe/ZnS КТ було використано їх розчин в гексані. Спектри люмінесценції та поглинання були отримані за допомогою спектрофлуоресцентного комплексу QE500 та наведені на рис. 3а,б, відповідно.

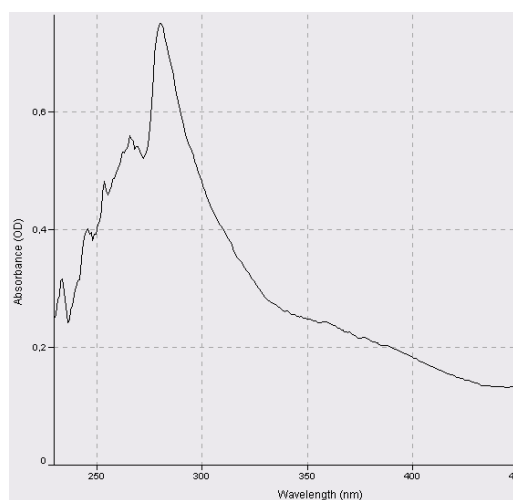
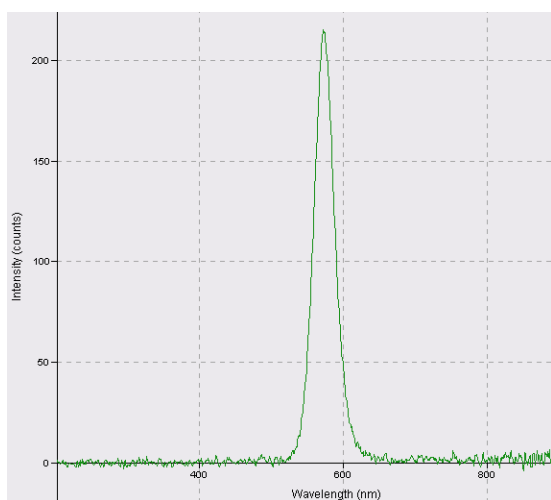


Рис.3. Спектр люмінесценції та поглинання розчину CdSe/ZnS КТ в гексані

Виходячи з даних рис. 3 було проведено розрахунок діаметру CdSe/ZnS КТ та їхньої концентрації у розчині за методикою Peng [7].

З метою визначення електрохімічних та ЕХЛ властивостей CdSe/ZnS КТ було проведено дослідження розчину CdSe/ZnS КТ ( $3 \cdot 10^8$  М) на скловуглецевому електроді в 0,1 М розчині ТБАП в ДМФА. Явище ЕХЛ не спостерігалось. При додаванні невеликих кількостей аміну ( $1 \cdot 10^{-5}$  М) було зареєстровано ЕХЛ з інтенсивністю 0,5 нА при потенціалі піку 1,5 В, що співпало з вольтамперометричним потенціалом піку аміну. Чутливість ЕХЛ методу з використанням розробленого нанофотонного сенсорного пристрою визначення біогенного аміну склала  $10^{-7}$  М, що значно перевищує відомі методи реєстрації гістаміну (табл. 1).

### 4. Висновки

Запропоновано нанофотонний сенсорний пристрій та електрохемілюмінесцентний метод визначення біогенних амінів. Отримані дані свідчать про перспективність використання запропонованої розробки для реєстрації слідових кількостей біологічно значимих речовин в біорідинах. Поєднання вибірових якостей наноматеріалів з високоточним методом ЕХЛ дав

позитивний результат в експериментальних дослідженнях, перевищивши показник чутливості методу на декілька порядків у порівнянні з відомими методами реєстрації гістаміну.

## 5. Література

1. Комова, В.П., Шведова, В.Н. Биохимия / В.П. Комова, В.Н. Шведова.-М.: Дрофа, 2006.-638 с.
2. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников.-М.: МЕДпресс-информ, 2004.- 920 с.
3. Galaichenko O.M. Investigation of the Interaction of Amino Acids with Nanoparticles in Electrochemiluminescence Sensor / O.M. Galaichenko, M.M. Rozhitskii // 3rd ECHEMS Meeting Electrochemistry in “Nanosystems and Molecules at Work”: Abstracts, June 28 – July 1, 2007, Czech Republic.–Czech Republic.–2007.– P. 40
4. Галайченко Е.Н. К возможности использования квантовых точек в качестве детекторных элементов нанотехнологических оптических сенсоров / Е.Н, Галайченко, Н.Н. Рожицкий // Радиотехника.–2008.–№153.–С. 90–95.
5. Itsuo Fujii, Toshikazu Sato, Kazuhar Kawashima. Spin coating method and device // United States Patent 4822639 (Application Number: 07/088052; Publication Date: 04/18/1989).
6. Wang, Z.L. Nanomaterials for Nanoscience and Nanotechnology / Z.L. Wang -Verlag: Wiley-VCH, 2000.-132 p.
7. Peng, X. Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals / X. Peng, W. Yu, L. Qu, W. Guo// Chem. Mater. –2003.– 15.– p. 2854–2860.