

## Сенсорна система на основі молекулярно імпринтованих полімерів з каталітичними властивостями для визначення *o*-гідроксифенолів у природних водах

Т.А. Сергєєва<sup>1</sup>, Л.А. Горбач<sup>2</sup>, О.Д. Луцик<sup>2</sup>, О.О. Бровко<sup>2</sup>, Л.М. Сергєєва<sup>2</sup>, Г.В. Єльська<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
150, вул. Заболотного, Київ, 03680, Україна

<sup>2</sup>Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України  
48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна

*За технологією молекулярного імпринтингу синтезовано органічні полімери-біоміметики, що містять у своїй структурі сайти, які імітують активний центр тирозинази грибів, і здатні високоселективно розщеплювати *o*-гідроксифеноли. На їх основі створено портативні біосенсорні пристрої для визначення *o*-гідроксифенолів у зразках води з доквілля. Розроблено методику градування лабораторного прототипу сенсорного пристрою на основі штучних аналогів тирозинази для визначення *o*-гідроксифенолів у природних і стічних водах. Порівняно дані біосенсорного аналізу із результатами традиційного інструментального методу ВЕРХ. Проаналізовано реальні зразки річкової води на вміст *o*-гідроксифенолів за допомогою розробленого біосенсора. Відпрацьовано протокол вимірювань концентрацій *o*-гідроксифенолів у реальних зразках. Запропонований біосенсорний метод визначення *o*-гідроксифенолів кращий, ніж традиційні аналітичні методи з погляду простоти процедури аналізу, його вартості, а також вартості та компактності обладнання.*

**Ключові слова:** молекулярно імпринтовані полімери, тирозиназа, каталіз, біосенсори, *o*-гідроксифенол.

Зростаюче з кожним роком забруднення доквілля різноманітними токсичними речовинами робить нагальним створення аналітичних систем для визначення ряду малих органічних молекул, які негативно впливають на організм людини.

Пірокатехол (*o*-гідроксифенол) – поширений забруднювач доквілля, який інтенсивно використовується у фармацевтичній промисловості, органічному синтезі, для просочування технічного паперу, потрапляє у доквілля з викидами в атмосферу та стічними водами коксохімічних і фармацевтичних підприємств, а також заводів з виробництва фотоматеріалів. Він викликає алергічні реакції та дерматити, має мутагенний та канцерогенний вплив. Великі дози пірокатехолу викликають пригнічення центральної нервової системи та довготривале підвищення кров'яного тиску через виникнення периферійної вазоконстрикції [1]. Крім того, ця сполука гальмує процеси біологічного очищення стічних вод, пригнічує фотосинтез і розвиток рослин, а за концентрації 5–30 мг/л викликає загибель безхребетних тварин. За цих же концентрацій він токсичний для прісноводних риб, впливаючи на склад крові, спричиняючи метгемоглобінемію, лейкоцитопенію та анемію. За концентрації 2,5 мг/л м'ясо риби набуває специфічного присмаку [2].

На сьогодні найпоширеніші методи визначення *o*-гідроксифенолів – високоефективні рідинна та газова хроматографія [3], ці методи у поєднанні з мас-спектрометрією [4], спектрофотометрією [5], а також біосенсорні методи аналізу [6].

Загальновизнано, що біосенсори на сьогодні – найефективніші із запропонованих сучасною аналітичною біотехнологією методів визначення різноманітних токсичних сполук [7, 8]. Як правило, вони забезпечують надійний, швидкий та високоселективний аналіз різноманітних речовин. Їх застосування не потребує наявності висококваліфікованого персоналу, прилади недорогі та компактні. Проте, істотна, не вирішена на сьогодні проблема біосенсорної технології та, що біомолекули в складі біосенсорних пристроїв, досить нестабільні, їхні властивості сильно залежать від змін температури, рН середовища, наявності в аналізованих зразках важких металів, органічних розчинників тощо. Альтернативний шлях розв'язання цієї проблеми – використання штучних аналогів природних рецепторів чи ферментів (зокрема, отриманих методом молекулярного імпринтингу), що забезпечили б подібну селективність і чутливість біосенсорного аналізу за значно вищої стабільності.

*Мета роботи* – синтез штучних аналогів природ-

Таблиця. Зразок таблиці для отримання градувальної характеристики біосенсорного пристрою на основі МПІв з тирозиназною активністю для визначення концентрації *o*-гідроксифенолів

№ рівня, <i>i</i>	Номінальне значення концентрації градувального розчину ( $X_i$ ), мкмоль·дм <sup>-3</sup>	Значення аналітичного сигналу, <мкМ O <sub>2</sub> / хв>									
		Номер виміру, <i>n</i>									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	100	$Y_{11}$	$Y_{12}$	$Y_{13}$	$Y_{14}$	$Y_{15}$	$Y_{16}$	$Y_{17}$	$Y_{18}$	$Y_{19}$	$Y_{20}$
2	200	$Y_{21}$									
3	300	$Y_{31}$									
4	400	$Y_{41}$									
5	500	$Y_{51}$									
6	600	$Y_{61}$									
7	700	$Y_{71}$									
8	800	$Y_{81}$									
9	900	$Y_{91}$									
10	1000	$Y_{101}$	$Y_{102}$	$Y_{103}$	$Y_{104}$	$Y_{105}$	$Y_{106}$	$Y_{107}$	$Y_{108}$	$Y_{109}$	$Y_{110}$
11	1100	$Y_{111}$									
12	1200	$Y_{121}$									
13	1400	$Y_{131}$									
14	1600	$Y_{141}$									
15	1800	$Y_{151}$									
16	2000	$Y_{161}$									
17	2200	$Y_{171}$									
18	2400	$Y_{181}$									
19	2600	$Y_{191}$	$Y_{192}$	$Y_{193}$	$Y_{194}$	$Y_{195}$	$Y_{196}$	$Y_{197}$	$Y_{198}$	$Y_{199}$	$Y_{200}$

ного ферменту тирозинази грибів і створення на їх основі високостабільних біосенсорних пристроїв, здатних селективно визначати *o*-гідроксифенол у зразках з довкілля.

#### Матеріали і методи.

##### Матеріали.

В роботі використовували диметилформамід (ДМФА); етиленглікольдиметакрилат (ЕГДМ); етилендіамінтетраоцтову кислоту (ЕДТА); 4-імідазолакриловою кислоту; фенол, *o*-гідроксифенол; 1,2,3-тригідроксibenзол; 2-(3,4-дигідроксифеніл)-етиламін; 1,2,3-тригідроксibenзол; 2-нітрофенол; 3-нітрофенол; 4-нітрофенол; *o*-крезол; *n*-крезол; *m*-крезол; 2-метоксифенол; *m*-гідроксифенол; 2,2'-диметокси-2-фенілацетон (Sigma-Aldrich, США); азобісізобутиронітрил (АІБІН) (Wako Pure Chemicals, Японія); резорцинол (Acros Organics, Бельгія). Солі та кислоти було отримано від Sigma-Aldrich (США) та використано без додаткового очищення. Виміри проводили за температури 22–25 °С. Етиловий ефір 4-імідазолакрилової кислоти був синтезований як описано у роботі [9] і люб'язно наданий к.х.н. В.Ф. Матюшовим (Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України).

##### Синтез молекулярно імпринтованих полімерів з тирозиназною активністю.

Молекулярно імпринтовані полімери (МПІ) з тирозиназною активністю отримували шляхом кополімеризації комплексу між Cu (II), *o*-гідроксифенолом та етиловим ефіром 4-імідазолакрилової кислоти з

етиленглікольдиметакрилатом. Мономерна суміш містила 375 мкМ етилового ефіру 4-імідазолакрилової кислоти, 1000 мкМ CuCl<sub>2</sub>, 62,5 мкМ *o*-гідроксифенолу, 6,06 мМ ЕГДМ, 1,25 г ДМФА та 50 мг АІБІН. Контрольні полімери синтезували з тієї ж мономерної суміші, яка не містила *o*-гідроксифенол. Радикальну термоініційовану полімеризацію здійснювали за температури 80 °С протягом 12 год. Отриманий кополімер подрібнювали та виділяли фракцію частинок розміром 50–160 мкм. Для видалення матричних молекул полімер послідовно відмивали 0,03 %-вим водним розчином ЕДТА, ДМФА, водою та висушували за температури 80 °С.

##### Отримання градувальної характеристики сенсорного пристрою для визначення *o*-гідроксифенолу за допомогою портативної сенсорної системи на основі МПІв з тирозиназною активністю.

Для визначення концентрації *o*-гідроксифенолів 50 мг зразків полімерів інкубували в 20 мл 100 мМ тріс-НСІ буфера, рН 7.0, що містить 150 мМ NaCl та 5 мМ CuCl<sub>2</sub> за температури 25 °С. Розчинений в робочому розчині кисень (0,23 мМ) використовували як джерело O<sub>2</sub> для реакції. Реакцію ініціювали інжекціями (5–100 мкл) або вихідного стандартного розчину *o*-гідроксифенолу (для отримання калібрувальної кривої біосенсорного пристрою) або аналізованого зразка в реакційну комірку. Зміну концентрації кисню в процесі окиснення *o*-гідроксифенолу вимірювали за допомогою універсального киснеміра MERA-ELWRO 5221 з кисневим електродом MERA-ELWRO 5972 (Польща).

Експеримент із отримання градуовальної характеристики біосенсорного пристрою для визначення концентрації *o*-гідроксифенолів полягає у заповненні клітин в таблиці.

З цієї метою готували 19 розчинів з номінальними значеннями, вказаними в стовпчику «Номінальне значення концентрації градуовального розчину ( $X_i$ ), мкмоль·дм<sup>-3</sup>». Для розчинів з номерами рівня *i*, рівними 1, 10 і 19, виконували по 10 вимірів значення аналітичного сигналу за умов збіжності.

Виконання вимірів за «умов збіжності» передбачає вимірювання протягом одного дня одним оператором, що користується одним набором хімічного посуду. Для інших розчинів (з номерами рівня *i* = 2–9 і 11–18) виконували по 1 виміру значення аналітичного сигналу за умов збіжності (один день, один оператор, один набір посуду). Отримані дані використовували для побудови градуовальної характеристики в діапазоні концентрацій *o*-гідроксифенолу від 100 до 2600 мкмоль·дм<sup>-3</sup>.

Для повного заповнення цієї таблиці необхідно провести 200 вимірювань, які за виключенням розчинів з номерами рівня *i* = 1, 10 і 19 мають відрізнитись умовами проведення аналізу. Для збільшення відтворюваності результатів вимірювань, а також враховуючи невисоку вартість МППів, кожне з вимірювань виконували із застосуванням нового селективного елемента біосенсора (одна наважка полімеру – 1 вимір).

#### **Визначення концентрації *o*-гідроксифенолу у річковій воді за допомогою портативної сенсорної системи на основі МППів з тирозиназною активністю.**

В електрохімічну комірку вносили  $0,0500 \pm 0,0001$  г МППу, що здатний каталітично окиснювати *o*-гідроксифенол; результат зважування ( $m_1$ , в грамах) записували з точністю до 0,0001 г. У комірку вносили 19 мл робочого буферного розчину (100 мМ Тріс-НСІ буфер, рН 7,0, що містить 150 мМ NaCl і 5 мМ CuCl<sub>2</sub>), поміщали магнітний стрижень, закривали гумовою пробкою зі вставленим у неї кисневим датчиком так, щоб робочий буферний розчин торкався поверхні пробки, повністю покривав робочу частину датчика, виключаючи наявність кисневого прошарку між робочим буферним розчином і гумовою пробкою. Стаканчик поміщали на магнітну мішалку та вмикали режим перемішування (швидкість перемішування 50 об/хв.). Отримували стабільні покази киснеміра щодо вмісту кисню в робочому буфері. Результат вимірювання  $r_1$  (покази киснеміра щодо вмісту кисню в робочому буфері) записували з точністю 0,1 мкмоль O<sub>2</sub> · дм<sup>-3</sup>. У електрохімічну комірку додавали аліквоту (1000 мкл) аналізованої річкової води, що містить *o*-гідроксифенол невідомої концентрації, та герметично закривали стаканчик гумовою кришкою, так щоб не було прошарку повітря між кришкою та аналізованим розчином. Через 10 хв. записували покази киснеміра щодо вмісту кисню в робочому буфері (результат вимірювання  $r_2$ )

з точністю 0,1 мкмоль O<sub>2</sub> · дм<sup>-3</sup>. Сенсорний відгук ( $R_1$ , мкмоль O<sub>2</sub> · дм<sup>-3</sup>/хв) розраховували за формулою:

$$R_1 = r_1 - r_2 / 10.$$

За калібрувальним графіком визначали концентрацію *o*-гідроксифенолу ( $c_1$ ), у мкмоль · дм<sup>-3</sup>, що відповідає сенсорному відгуку  $R_1$  (у мкмоль O<sub>2</sub> · дм<sup>-3</sup> / хв) і записували із точністю до 1 мкмоль · дм<sup>-3</sup>. Невідому концентрацію пірокатехіну в аналізованій пробі ( $C_1$ ) визначали за формулою:

$$C_1 = c_1 \cdot 20.$$

Як контрольний метод визначення концентрації фенолів в аналізованих зразках питної, річкової та стічних вод застосовували метод високоєфективної рідинної хроматографії (15 см C<sub>18</sub> колонка, градієнт ацетонітрилу в воді).

#### **Результати дослідження та їх обговорення.**

Тирозиназа (КФ 1.14.18.1) – мідьвмісна монофенолоксидаза, поширений фермент, який зустрічається у майже всіх представників як рослинного, так і тваринного світу. Тирозинази представників різних видів різняться за структурою, молекулярною масою та властивостями, проте вони мають однакову будову активного центра – два катіони двовалентної міді, кожен з яких орієнтовано за допомогою трьох залишків гістидину [10]. Завдяки такій будові активний центр тирозиназ здатний захоплювати одну молекулу кисню, що надалі використовується для окиснення субстрату (фенолу) до *o*-хінону. Цей процес супроводжується відновленням молекулярного кисню до води, а зменшення концентрації кисню в процесі окиснення фенолу пропорційне його концентрації [9, 10]. Цей принцип був покладений в основу запропонованого нами біосенсорного методу визначення концентрації *o*-гідроксифенолу з використанням штучного аналога тирозинази як селективного елемента такого пристрою.

Беручи до уваги загально визнані на сьогодні в науковій літературі уявлення про структуру активного центру тирозинази, ми передбачили, що аналогічні природному активні центри можна сформувати у структурі органічних полімерів, використовуючи метод молекулярного імпринтингу. Залишки гістидину можна імітувати за умови застосування як функціонального мономеру 4-імідазолакрилової кислоти. Зважаючи на те, що цей мономер погано розчиняється в органічних розчинниках, доцільно було отримати та застосувати як функціональний мономер етиловий ефір 4-імідазол-акрилової кислоти. З одного боку, ця сполука містить імідазольний залишок, здатний координувати іони міді, як це відбувається у природному ферменті, а з іншого – групу, що забезпечує його включення в полімер за рахунок утворення ковалентних зв'язків. Отже, за умови одночасної наявності у мономерній суміші молекул *o*-гідроксифенолу, здатних координувати іони міді на відстані близько 3 Å, та етилового ефіру 4-імідазол-акрилової кислоти, можна передбачити формування активних центрів, подібних до таких природного

фермента. Фіксація комплексів *o*-гідроксифенол- $\text{Cu}^{++}$  – етиловий ефір 4-імідазолакрилової кислоти шляхом проведення реакції радикальної полімеризації за наявності великої кількості біфункціональних акрилатів з подальшою екстракцією матричних молекул із повністю сформованого полімеру має привести до утворення в полімері активних центрів, здатних розпізнавати та окиснювати феноли.

Лабораторний прототип біосенсорного пристрою для визначення *o*-гідроксифенолів у річковій воді був створений на основі універсального портативного киснеміра – комерційно-доступного, стандартизованого приладу. Кисневий електрод у цьому випадку – фізичний перетворювач біосенсорної системи. При цьому для створення такої системи можна застосовувати універсальний киснемір будь-якого виробника з діапазоном вимірювання концентрації кисню 0–200 %, діапазоном роботи кисневого датчика та автоматичної компенсації змін температури 0–40 °C і границями допустимої абсолютної похибки вимірювання  $\pm 1,5$  % за температури калібрування та  $\pm 3$  % у межах температур роботи. Синтезовані у препаративних кількостях полімерні частинки з тирозиназною активністю застосовували як селективні елементи зазначених біосенсорів.

Ми показали, що процедура аналізу при застосуванні полімерних частинок як селективних елементів біосенсора може бути значно спрощена, оскільки в цьому випадку можна не проводити іммобілізацію полімерного селективного елемента на поверхні електрода. Полімерні частинки можуть перебувати безпосередньо в електрохімічній комірці (в робочому розчині у зваженому стані) поблизу фізичного перетворювача.

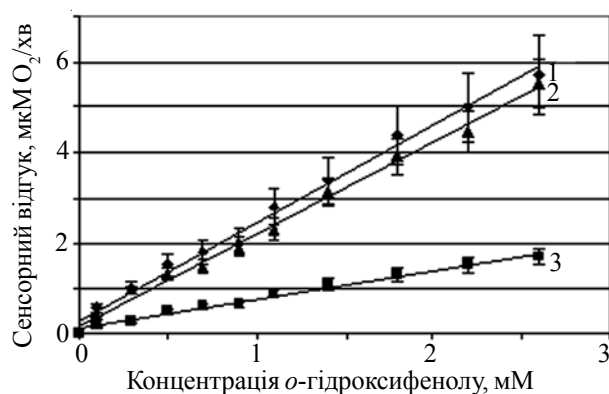


Рис. 1. Окиснення *o*-гідроксифенолів за допомогою сенсорних пристроїв на основі молекулярно імпрінтованих полімерів з каталітичними властивостями іммобілізованих (1) і неіммобілізованих (2) на поверхні робочого електрода та контрольних полімерів, синтезованих з аналогічної мономерної суміші, що не містить *o*-гідроксифенолу (3). Виміри проводили у 100 мМ тріс-НСІ буфері, рН 7,0, що містить 150 мМ NaCl і 5 мМ  $\text{CuCl}_2$

Вимірювання за допомогою такої біосенсорної системи збільшує відтворюваність аналізу (рис. 1, криві 1, 2), оскільки саме іммобілізація – одне з основних джерел похибок при біосенсорному визначенні різноманітних аналітів. Показано, що відсутність стадії іммобілізації не впливала ні на межу визначення *o*-гідроксифенолів за допомогою такого сенсора, ні на його лінійний динамічний діапазон, а крім того зменшувала похибку при аналізі *o*-гідроксифенолів (рис. 1, криві 1, 2).

Як видно з рис. 1 (крива 3), біосенсорні пристрої, сконструйовані на основі контрольних полімерів, в яких не були сформовані каталітично-активні сайти, демонстрували значно нижчі відгуки на додавання *o*-гідроксифенолів у робочий розчин. Це свідчить про те, що відсутність активних центрів, де імідазольні групи перебувають у відповідній просторовій орієнтації, не забезпечує можливості їх подальшої взаємодії з молекулами *o*-гідроксифенолу та його окиснення. Отже, має місце виражений ефект імпрінту.

Для розроблених нами біосенсорних пристроїв типовою була висока селективність щодо каталітичного розщеплення саме *o*-гідроксифенолів порівняно з їх близькими структурними аналогами (рис. 2). Отримані дані свідчать про те, що для сенсорів на основі МППів з тирозиназною активністю типовою була відсутність каталітичного окиснення інших представників цього класу сполук, а саме: фенолу, 2-нітрофенолу, 3-нітрофенолу, 4-нітрофенолу, *o*-крезолу, *n*-крезолу, 2-метоксифенолу та *m*-гідроксифенолу (рис. 2).

Надалі було проведено комплекс вимірів для визначення градуовальної характеристики біосенсорного пристрою на основі МППів з тирозиназною активністю. Отримані дані наведено на рис. 3. Межа визначення *o*-гідроксифенолу за допомогою такого сенсора становила 78 мкМ, а лінійний динамічний діапазон роботи сенсора – 0,078 – 2,500 мМ.

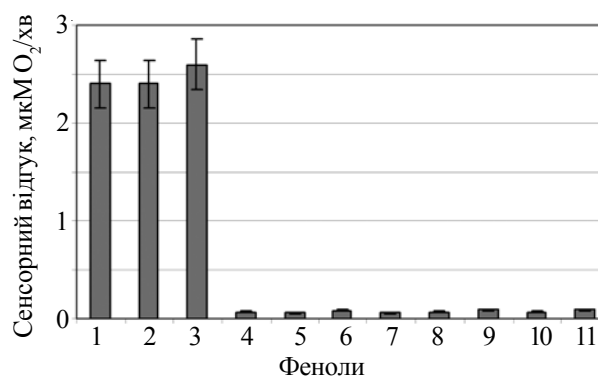


Рис. 2. Сенсорні відгуки біосенсорних пристроїв на основі МППів з тирозиназною активністю на додавання 1 мМ *o*-гідроксифенолу (1) та його структурних аналогів: 2-(3,4-дигідроксифеніл)-етиламіну (2); 2,3-дигідроксибензолу (3); фенолу (4); 2-нітрофенолу (5); 3-нітрофенолу (6); 4-нітрофенолу (7); *o*-крезолу (8); *n*-крезолу (9); 2-метоксифенолу (10) і *m*-гідроксифенолу (11)

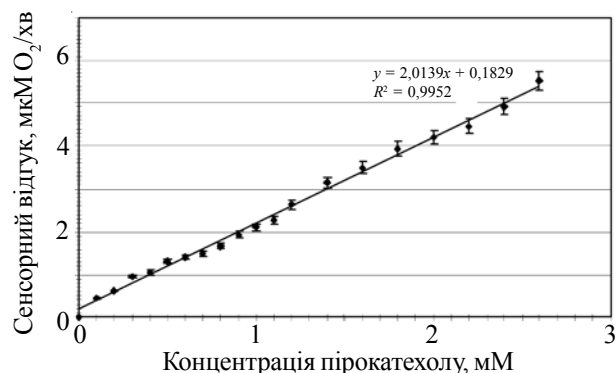


Рис. 3. Градувальна характеристика біосенсорного пристрою на основі МПІв з тирозиназною активністю для визначення концентрації *o*-гідроксифенолів. Виміри проводили у 100 мМ тріс-НCl буфері, рН 7,0, що містить 150 мМ NaCl і 5 мМ CuCl<sub>2</sub>

На сьогодні загально визнано, що полімери-біоміметики або наближаються за своєю селективністю до природних аналогів, або перевершують їх за цією характеристикою. Завдяки цьому досить ефективно застосування їх для визначення різноманітних органічних молекул у реальних зразках з довкілля. Штучні рецептори, отримані за технологією молекулярного імпринтингу, здатні до високоселективного розпізнавання цільових аналітів навіть у комплексних зразках за наявності різноманітних інтерферентів, у тому числі і близьких структурних аналогів матричної молекули. Це значно спрощує процедуру аналізу завдяки елімінації додаткової стадії, яка передбачає попередню обробку аналізованих зразків (як правило, це рідинна або твердофазна екстракція аналіту). Оскільки сенсори на основі полімерів з каталітичними властивостями виявляли дуже високу селективність (рис. 2), надалі це забезпечило високу ефективність таких сенсорів при аналізі реальних зразків води з довкілля (рис. 4). Очевидно, можливе неспецифічне зв'язування з поверхнею полімеру компонентів аналізованих комплексних зразків не впливало на швидкість окиснення *o*-гідроксифенолів, і, відповідно, на точність їх аналізу біосенсорним методом.

Отже, за допомогою створеної сенсорної системи продемонстровано можливість визначення концентрації *o*-гідроксифенолів як у модельних розчинах, так і реальних зразках води з довкілля. Для визначення впливу складу реальних зразків на точність визначення фенолів біосенсорним методом до зразків води, які, згідно з методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), не містили *o*-гідроксифенолу, додавали *o*-гідроксифенол відомих концентрацій та аналізували за допомогою створених біосенсорних систем і ВЕРХ. Згідно з отриманими нами експериментальними даними, склад досліджуваних зразків практично не впливає на точність визначення вмісту фенолів біосенсорним методом. Результати біосенсорного визначення

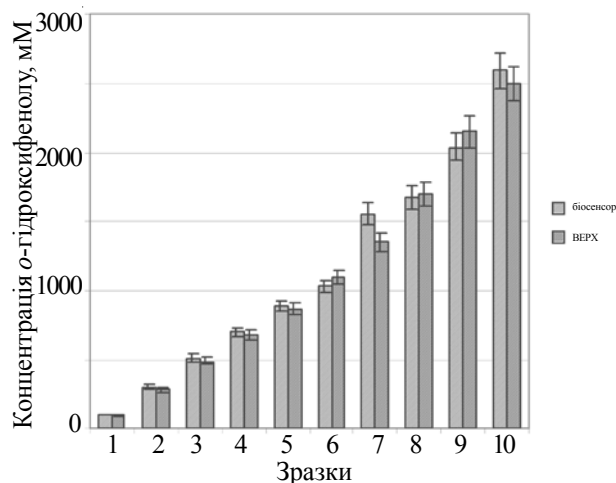


Рис. 4. Результати аналізу вмісту *o*-гідроксифенолів у зразках з довкілля, отримані за допомогою біосенсора на основі МПІв з тирозиназною активністю та традиційного інструментального методу ВЕРХ у зразках води з довкілля з відомою доданою кількістю *o*-гідроксифенолу: 1 – зразок №2 води з Канівського водосховища (район шлюзів); 2 – Канівське водосховище, зразок №1; 3 – зразок води з пляжу «Чайка», м. Іллічівськ; 4 – зразок води з Одеського порту; 5 – вода з заводу «Coca-Cola»; 6 – зразок води зі ставка с. Ічня, Черкаська обл.; 7 – вода з УкрНДІ Пластмаш; 8 – зразок води з р. Віта, район звалища, с. Пирогово, Київська обл.; 9 – зразок води зі струмка у приватному секторі м. Васильків; 10 – Київводоканал, вхідна вода

корелюють з даними, отриманими за допомогою традиційного інструментального методу ВЕРХ (рис. 4).

#### Висновки.

Створено та стандартизовано портативні сенсорні системи на основі полімерів-біоміметиків з тирозиназною активністю, придатні до швидкого високоселективного визначення *o*-гідроксифенолів у реальних зразках води з довкілля, зокрема річкової та стічних вод. Показано, що сенсорні пристрої на основі неімобілізованих на поверхні електрода полімерних частинок порівняно з пристроями на основі іммобілізованих полімерів демонстрували меншу похибку при аналізі зразків *o*-гідроксифенолів з подібними робочими характеристиками. Межа визначення *o*-гідроксифенолу за допомогою такого сенсора становила 78 мкМ, а лінійний динамічний діапазон роботи сенсора – 0,078 – 2,500 мМ. Сенсорні пристрої демонстрували надзвичайно високу селективність при розпізнаванні *o*-гідроксифенолів і неспроможність каталітичного окиснення інших представників цього класу сполук. При цьому результати сенсорного визначення *o*-гідроксифенолів у реальних зразках з довкілля корелюють з результатами визначення за допомогою традиційного інструментального методу ВЕРХ.

Автори статті щиро вдячні за фінансову підтримку Національній Академії Наук України.

## Література

1. Dangerous Properties of Industrial Materials / Ed. By N.J. Sax. – New York: VNR Company, 1984. – 3124 p.
2. Фитотоксичность органических и неорганических загрязнителей: проблемы промышленной ботаники / Под общ. ред.: Е. Н. Кондратюк АН Украинской ССР, Донецкий ботанический сад. – Киев : Наук. думка, 1986. – 215 с.
3. Xie T.M., Hulthe B., Folestad S. // Chemosphere. - 1984. - **13**, № 3. - P. 445-459.
4. Moldoveanu S.C., Kise M. // J. of Chromatography. Part A. – 2007. - **1141**, N1. - P. 90-97.
5. Nagaraja P., Vasantha R.A., Sunitha K.R. // Talanta. – 2001. – **55**, N 6. - P. 1039-1046.
6. Yue X., Pang S., Han P., Zhang C., Wang J., Zhang L. // Electrochemistry Communications. – 2013. – Vol. 34. – P. 356–359.
7. Handbook of biosensors and Biochips / Lowe C., Weetall H., Cullen D., Karube I.-New York.: John Willey and Sons Inc., 2007. – 1500 p.
8. Cooper J., Cass T. Biosensors. Practical approach. 2<sup>nd</sup> Edition. - Oxford: Oxford University Press, 2004. – 251 p.
9. Сергеева Т.А., Слінченко О.А., Бровко О.О., Пілецький С.А., Єльська Г.В. // Укр. біохім. журн. – 2009. – **81**, № 1. – С. 20–30.
10. Mayer A.M. // Phytochemistry. – 2006. – **67**, № 21. – P. 2318–2331.

*Надійшла до редакції 11 листопада 2013 р.*

## Сенсорная система на основе молекулярно импринтированных полимеров с каталитическими свойствами для определения *o*-гидроксифенолов в природных водах

*T.A. Sergeeva*<sup>1</sup>, *L.A. Gorbach*<sup>2</sup>, *E.D. Lutsyk*<sup>2</sup>, *A.A. Brovko*<sup>2</sup>, *L.M. Sergeeva*<sup>2</sup>, *A.V. El'skaya*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины

150, ул. Заболотного, Киев, 03680, Украина

<sup>2</sup>Институт химии высокомолекулярных соединений НАН Украины

48, Харьковское шоссе, Киев, 02160, Украина

*Согласно технологии молекулярного импринтинга синтезированы органические полимеры-биомиметики, содержащие в своей структуре сайты, имитирующие активный центр тирозиназы грибов, и способные высокоселективно расщеплять *o*-гидроксифенолы. На их основе создано портативные биосенсорные устройства для определения *o*-гидроксифенолов в образцах воды из окружающей среды. Разработана методика градуировки лабораторного прототипа сенсорного устройства на основе искусственных аналогов тирозиназы для определения *o*-гидроксифенолов в природных и сточных водах. Проведено сравнение данных биосенсорного анализа с результатами традиционного инструментального метода ВЭЖХ. Проведен анализ реальных образцов речной воды на содержание *o*-гидроксифенолов с помощью разработанного биосенсора. Отработан протокол по измерению концентраций *o*-гидроксифенолов в реальных образцах. Предложенный биосенсорный метод определения *o*-гидроксифенолов превосходит традиционные аналитические методы с точки зрения простоты процедуры анализа, его стоимости, а также стоимости и компактности оборудования.*

**Ключевые слова:** молекулярно импринтированные полимеры, сайты связывания, портативные биосенсоры, *o*-гидроксифенолы.

## Sensor system based on molecular imprinted polymers with catalytic properties to determination *o*-hydroxyphenol in the environment

*T.A. Sergeeva*<sup>1</sup>, *L.A. Gorbach*<sup>2</sup>, *O.D. Lutsyk*<sup>2</sup>, *O.O. Brovko*<sup>2</sup>, *L.M. Sergeeva*<sup>2</sup>, *G.V. El'ska*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine

150, Zabolotnogo str., Kyiv, 03680, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine

48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine

*Organic polymers-biomimicks, containing catalytic sites in their structure, which mimic mushroom tyrosinase active sites, that are capable of highly-selective recognition of *o*-hydroxyphenols were synthesized according to the technique of molecular imprinting. Biosensor devices for *o*-hydroxyphenols detection in environmental samples were developed on their basis. The methodology of calibration of the laboratory prototype of the biosensor based on tyrosinase mimicks for the detection of *o*-hydroxyphenols in natural and waste waters was developed. Comparison of data of the biosensor analysis and traditional HPLC method was made. Real samples of river water were analyzed as for *o*-hydroxyphenol content using developed biosensor. The protocol for the determination of *o*-hydroxyphenol concentration in real samples was worked out. As compared to traditional analytical methods of *o*-hydroxyphenol detection the proposed biosensor method is more effective from the point of view of simplicity of operation, as well as cost and size of equipment.*

**Keywords:** molecular imprinted polymers, binding sites, portable biosensors, *o*-hydroxyphenols.